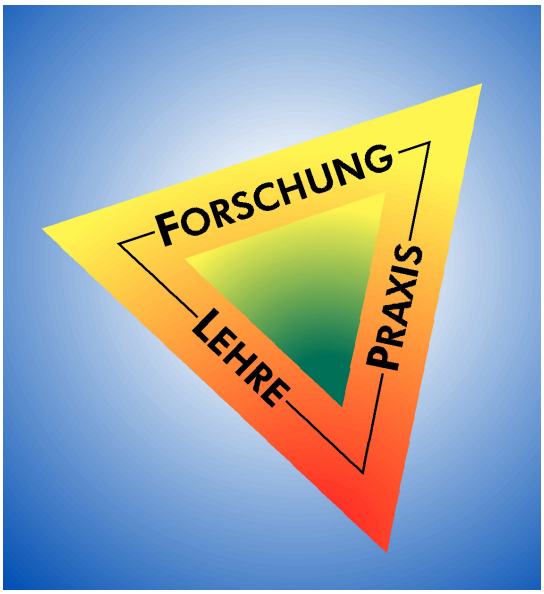
TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

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

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt Technische Universität München



Jahresbericht 2011

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am ZIEL

Milchwissenschaftliche Forschung am ZIEL Weihenstephan

Jahresbericht 2011
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 2011 bis 31. Dezember 2011

54. Band 2011
Weihenstephan, März 2012

IMPRESSUM

Herausgeber:

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

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

Verantwortlich für den Inhalt:

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

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

Bestellungen und Tauschsendungen werden ausschließlich zu Händen der Geschäftsführung erbeten.

Printed in Germany, 2012

ISBN 978-3-939182-34-4

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

Inhaltsverzeichnis

Seite

Vorwort 1

ZIEL - Abteilung Physiologie
Lehrstuhl für Physiologie 2
Personal 2
Ernennungen, Ehrungen 3
Forschung 4
I. Laktationsphysiologie 4
II. Reproduktionsbiologie 8
III. Lebensmittel, Ernährung und Umwelt 13
IV. Wachstumsphysiologie und Anabolika 16
V. Bioanalytik 17
Habilitationen, Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 21
Vorträge 23
Tagungen des Lehrstuhls 26
Veröffentlichungen 27

Versuchsstation Veitshof 30
Personal 30
Lehre 31
Forschung 31

Lehrstuhl für BWL – Marketing und Konsumforschung 32
Personal 32
Forschung 33
Master- und Bachelorarbeiten 41
Veröffentlichungen 42
Vorträge 43

ZIEL - Abteilung Mikrobiologie
Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie 45
Personal 45
Einführung 46
Forschung 46

Seite

Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Habitaten..... 46
Arbeitsgruppe: Molekulare Ökologie pathogener Bakterien 52
Arbeitsgruppe: Regulation überlappender Gene von pathogenen *Escherichia coli* durch Umweltsignale 56
Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an pathogenen Lebensmittelkeimen 58
Arbeitsgruppe: Toxinbildung von *Bacillus cereus* in Lebensmitteln 63
Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten 65
Veröffentlichungen..... 66

Lehrstuhl für VWL – Umweltökonomie und Agrarpolitik..... 68
Personal 68
Forschung 68

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik
Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik
und Verpackung – IVV 78
Personal 78
Forschung 78

ZIEL - Abteilung Technologie
Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie..... 87
Personal 87
Vorwort 88
Auszeichnungen 89
Forschung 89
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Bioprozesstechnik / Aseptik 89
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Membrantechnologie 104
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Mikrostrukturaufklärung und -gestaltung 112
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Proteintechnologie..... 118
ZIEL-Nachwuchsforschergruppe „Bioaktive Peptide und Proteintechnologie“..... 139
Dissertationen, Bachelorarbeiten, Diplom- und Masterarbeiten..... 143
Vorträge..... 145
Posterpräsentationen..... 150
Veröffentlichungen..... 151
Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen 154
Partnerschaft Technische Universität München in den bayerischen Gymnasien 155
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen 155

Seite

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. 156
Verbandsinformation 156
Geförderte Exkursionen 156
Ehrungen 157
Verleihungsrichtlinien 159

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. 160
Vorstand 160
Zweck und Ziele der Fördervereinigung 160
Beitragsordnung 162
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.

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:	Dr. vet. med. Heike Kliem	08161 986 8442
	Prof. 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. med. Enrique Viturro del Rio	-3510
Sekretariat:	Gertraud Mayer	-3508
	Daniela Königsdorf	-5549
Mitarbeiter:	Elisabeth Aberl, TA	-5549
	Inge Celler, TA	-5559
	Brigitte Dötterböck, TA	-5544
	Stefanie Dommel, TA	08161 986 8398
	Christine Fochtmann, Veterinärtechnikerin	08161 986 8398
	Angela Sachsenhauser, TA	-5559
	Waltraud Schmid, TA	-5544

Gäste: Prof. Adj. Guilherme de Paula Nogueira, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus Aracatuba, Curso de Medicina Veterinária Departamento de Apoio, Producao e Saude Animal, Rua Clovis Pestana, 793 – B. Dona Amélia, CEP 16050-680-Aracatuba, Sao Paulo, Brasilien, 30.11.2010 – 05.02.2011

Dr. Tsuyoshi Abe, Div. 3 Molecular Genetics, Department of Technology, National Livestock Breeding Center (NLBC), Fukushima, Japan: bis 15.10.2011

Prof. Dr. Bukkaraya S. Prakash, Indian Council of Agricultural Research, National Dairy Research Institute, Deemed University, Karnal, Indien: 22.03.2011 – 31.03.2011

Dr. Mihir Sarkar, Senior Scientist, Physiology & Climatology Divisions, Indian Veterinary Institute, Izathagar, Bareilly, Indien: 26.03.2011 – 02.04.2011

Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:

Diplom-Agrar-Ingenieure: Katrin Danowski (seit 01.08.2008); Tanja Sigl (bis 31.10.2011)

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

Tierärzte: Christian Altenhofer (seit 01.12.2010); Ines Ballweg (seit 01.04.2011); Katharina Gellrich, geb. Dolle (seit 01.04.2009); Margarita Köpf (seit 01.02.2011)

Diplom-Biologen: Anna Gröbner (bis 31.07.2011); Christine Kaufmann (seit 02.05.2011); Jakob Müller (seit 16.01.2008)

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

Ernährungswissenschaft: Veronika Pistek (seit 01.03.2010)

M.Sc. Molekular-Biotechnologie: Rainer Fürst (seit 01.06.2007); Swanhild Urda Meyer (seit 01.02.2008)

Ehrungen, Ernennungen

Mit Wirkung vom 25. Januar 2011 wurde Herrn Dr. Michael Pfaffl der Titel „außerplanmäßiger Professor“ verliehen.

Die Dr. Heinrich-Baur-Stiftung verlieh Frau Dr. Susanne E. Ulbrich in Anerkennung ihrer Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der „Versorgung des Präimplantationsembryos: Herausforderungen an die Mutterkuh während der Frühgravidität“ den Dr. Heinrich-Baur-Preis für herausragende wissenschaftliche Leistungen 2011. Die Preisverleihung fand im Rahmen des 10. Hochschultag des WZW am 08.07.2011 statt.

Seminar Tierwissenschaft

Endokrinologisch-Molekularbiologisches Kolloquium

Folgende Vorträge wurden von Gastreferenten übernommen:

11.05.2011: „Malnutrition during the critical stages of development & reproductive performance of progeny"
Referentin: Dr. Monika Kaczmarek, Department of Hormonal Action Mechanisms, Polish Academy of Sciences

10.06.2011: „Wachstumshormon und insulinähnliche Wachstumsfaktoren bei der Milchkuh"
Referentin: Dr. Marion Piechotta, Stiftung Tierzärztliche Hochschule Hannover, Klinik für Rinder

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Die gesamte phagozytäre Leistung von neutrophilen Granulozyten *ex vivo* und der Zusammenhang mit den Plasma IGF-1 Konzentrationen bei Milchkühen während der Transitperiode

Ex vivo phagocytic overall performance of neutrophilic granulocytes and the relation to plasma insulin-like growth factor-I concentrations in dairy cows during the transition period

Sander, A. K.[1]; Piechotta, M.[1]; Schlamberger, G.; Bollwein, H.[1]; Kaske, M.[1]; Sipka, A.[2]; Schuberth, H.J.[2]: J Dairy Sci. 94 (2011) 1762-1771

Eine beeinträchtigte Funktion der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (PMNL) im geburtsnahen Zeitraum ist die Hauptursache für eine erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionskrankheiten bei Milchkühen. Faktoren die die Funktion der PMNL dysregulieren sind weitgehend unbekannt. Der insulinähnliche Wachstumsfaktor (IGF-1) verstärkte die Funktion der PMNL in vitro. Ziel dieser Studie war es, die Einflüsse der Konzentrationen von IGF-1, Hydroxybuttersäure und nicht veresterte freie Fettsäuren auf die Phagozytose Aktivität (PA, Anteil der lebenden PMNL) und die Phagozytose Kapazität (PK, mittlere Fluoreszenz Intensität der PMNL) mittels Durchflusszytometrie zu bestimmen. Antepartum (Wochen -3. -2, und -1; vor der Kalbung)waren die IGF-1 Plasmakonzentrationen hoch (80-110 ng/mL) ohne Unterschiede zwischen erstkalbigen und mehrkalbigen Kühen (n = 18 bzw. n = 41). Bis zur Kalbung (Woche 1) nahmen die Konzentrationen von IGF-1 ab. Postpartum (Wochen 2, 3 und 4; nach der Kalbung) blieben die Konzentrationen geringer als vor der Kalbung, wobei die Konzentrationen bei den erstkalbigen Kühen höher waren als bei den mehrkalbigen Kühen. Während der gesamten Studie war die PA bei den erstkalbigen Kühen konstant. Hingegen hatten die PMNL der mehrkalbigen Kühe eine signifikant erhöhte PA in den Wochen 2 und 3 verglichen mit der der erstkalbigen Kühe.

[1] Clinic for Cattle, University of Veterinary Medicine, Hannover
[2] Immunology Unit, University of Veterinary Medicine, Hannover

Die PK nahm nur bei Hydroxybuttersäure und nicht veresterte freie Fettsäuren auf die Phagozytose Aktivität (PA, Anteil der lebenden PMNL) und die Phagozytose Kapazität (PK, mittlere Fluoreszenz Intensität der PMNL) mittels Durchflusszytometrie zu bestimmen. Antepartum (Wochen -3. -2, und -1; vor der Kalbung)waren die IGF-1 Plasmakonzentrationen hoch (80-110 ng/mL) ohne Unterschiede zwischen erstkalbigen und mehrkalbigen Kühen (n = 18 bzw. n = 41). Bis zur Kalbung (Woche 1) nahmen die Konzentrationen von IGF-1 ab. Postpartum (Wochen 2, 3 und 4; nach der Kalbung) blieben die Konzentrationen geringer als vor der Kalbung, wobei die Konzentrationen bei den erstkalbigen Kühen höher waren als bei den mehrkalbigen Kühen. Während der gesamten Studie war die PA bei den erstkalbigen Kühen konstant. Hingegen hatten die PMNL der mehrkalbigen Kühe eine signifikant erhöhte PA in den Wochen 2 und 3 verglichen mit der der erstkalbigen Kühe. Die PK nahm nur bei den erstkalbigen Kühen signifikant ab bis zur Woche der Kalbung, wobei die Zahl der PMNL deutlich höher war als bei den mehrkalbigen Kühen. Die Phagozytose Power (PP, ein Produkt aus PA und PK), aber nicht die gesamte phagozytäre Leistung (phagocytic overall performance POP, ein Produkt aus PA, PK und Zahl der PMNL) unterschieden sich zwischen den erstkalbigen und mehrkalbigen Kühen in der Woche 3 postpartum. Es gab bei der POP keine Unterschiede zwischen den erstkalbigen und mehrkalbigen Kühen außer in der Woche 4 postpartum. In beiden Gruppen stieg die POP in der Woche der Kalbung. Im Gegensatz zu β-Hydroxybuttersäure, das schwach positiv korreliert war mit PA und PK in der Transitperiode (Wochen -3 antepartum bis 4 postpartum) bei den mehrkalbigen Kühen, zeigten die mehrkalbigen Kühe schwach negative Korrelationen bei der Zahl der PMNL, der PA, PP, POP und IGF-1 Konzentrationen in diesem Zeitraum. Bei den erstkalbigen Kühen waren in der Transitperiode nur PP und PK schwach negativ korreliert mit IGF-1. Erhöhte Plasma IGF-1 Konzentrationen standen in keinem Zusammenhang zur Phagozytose Funktion der bovinen Blut PNML ex vivo, so dass diese nicht als geeigneter Indikator für diese Funktion herangezogen werden können.

Bovines Kolostrum: Bestimmung der natürlich vorkommenden Steroidhormone mittels Flüssigkeitschromatographie-Tandemmassenspektroskopie (LC-MS/MS)

Bovine colostrum: determination of naturally occurring steroid hormones by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

Farke, C.[3]; Rattenberger, E.[3]; Roiger, S.U.[3]; Meyer, H.H.D.: Journal of Agricultural and Food Chemistry 59 (2011) 1423-1427

Das Anliegen dieser Studie war weitere Daten für endogen vorkommende Hormone in Lebensmitteln tierischer Herkunft zu erarbeiten. Da in Kolostrum höhere Estrogen-konzentrationen als in Milch zu erwarten sind, haben wir den Fokus auf Kolostrum gelegt. Zur Messung der endogenen Steroidhormone in der Fett- bzw. Nichtfettfraktion des Kolostrum sowie im Kolostrumpulver wurden die relevanten freien und konjugierten Estrogene (Estradiol-17β, Estradiol-17α, Estron and Estriol), Androgene (Androstendion, 19Nor-androstendion, 19Nor-testosteron-17β, 19Nor-testosteron-17α, Testosteron-17β, Testosteron-17α) und Progesteron mit Hilfe der LC-MS/MS bestimmt.

[3] Tiergesundheitsdienst Bayern, e.V., Poing, Germany

Die höchsten Konzentrationen wurden in der Fettfraktion mit 25,6 µg/L und 7,6 µg/L für Estron und Androstendion gefunden. Im Kolostrumpulver dominierten die konjugierten Estrogene, wobei Estron (5,5 µg/kg frei; 15,0 µg/kg konjugiert) höher war als Estradiol-17 α (2,7 µg/kg frei; 7,5 µg/kg konjugiert) und Estradiol-17β (2,3 µg/kg frei; 3,3 µg/kg konjugiert). Weder 19Nor-Steroide noch Estriol wurden in den Kolostrumfraktionen oder im Kolostrumpulver gefunden.

Einflüsse auf Klauengesundheit und Tierhygiene einer Milchkuhherde nach Ausstattung des Betonbodens mit Gummimatten: Eine Fallstudie

Changes in hoof health and animal hygiene in a dairy herd after covering concrete slatted floor with slatted rubber mats: A case study

Ahrens, F.[4]; Platz, S.[4]; Link, C.[4]; Mahling, M.[5]; Meyer, H.H.D.; Erhard, M.H.[4]: J Dairy Sci. 94 (2011) 2341-50

Anliegen der Studie war den Einbau von Gummimatten in einem Laufstall mit Betonboden auf Klauengesundheit und sonstige Tierhygiene bei 44 Braunviehkühen zu untersuchen. Die Bewertungen erfolgten vor der Umstellung sowie 4 und 10 Monate nach der Umstellung. Die durchschnittliche Luftfeuchtigkeit erhöhte sich von 1,5 auf 1,7 g/m3. Die Befunde für Huferkrankungen, Hautläsionen, Sauberkeit der Tiere und des Bodens sowie für Ammoniak in der Luft waren nicht verändert. Schlussfolgernd ergibt sich, dass der Einbau von Gummimatten die Bewegungsaktivität der Tiere günstig beeinflusst, aber keine adversen Effekte auf die Stallbedingungen und die Tiergesundheit hat.

Vergleich der Genexpression nach Inokulation von E. coli oder S. aureus in primäre Milchdrüsenepithelzellen aus Milchkühen mit unterschiedlicher genetischer Prädisposition für die somatische Zellzahl

Comparative expression profiling of E. coli and S. aureus inoculated primary mammary gland cells sampled from cows with different genetic predispositions for somatic cell score

Brand, B.[6]; Hartmann, A.[6]; Repsilber, D.[7]; Griesbeck-Zilch, B.; Wellnitz, O.[8]; Kuhn, C.[9]; Ponsuksili, S.[6]; Meyer, H.H.D.; Schwerin, M.[6,10]: Genetics Selection Evolution 2011, 43:24

Im Verlaufe des letzten Jahrzehntes wurden einige QTL (quantitative trait loci), welche Mastitis und somatische Zellzahl beeinflussen, identifiziert. Hier wurde eine genomweite Genexpressionsanalyse durchgeführt mit dem Ziel, Assoziationen zu einzelnen QTL zu erhalten.

---

[4] Department of Veterinary Science, Chair of Animal Welfare, Ethology, Animal Hygiene, and Animal Housing, Faculty of Veterinary Medicine, Munich, Germany

[5] Statistical Consulting Unit, Department of Statistics, Ludwigs-Maximilians-Universität München, München, Germany

[6] Research Group of Functional Genomics, Leibniz Institute of Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany

[7] Research Unit of Genetics and Biometry, Leibniz Institute of Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany

[8] Veterinary Physiology, Vetsuisse Faculty, University of Bern, 1725 Posieux, Switzerland

[9] Research Unit of Molecular Biology, Leibniz Institute of Farm Animal Biology, Dummerstorf, Germany

[10] Institute of Farm Animal Science and Technology, University of Rostock, Rostock, Germany

Methodik: Primäre bovine Milchrüsenepithelzellen (pbMEC) wurden aus dem Euterparenchym von Kühen, die für hohe und niedrige Mastitisempfänglichkeit selektiert waren, gesammelt und kultiviert. Die Kulturen wurden mit hitzeinaktivierten euterpathogenen E. coli und S. aureus Stämmen beimpft, nach 1, 6 und 24 Stunden beprobt und die mRNA Expression mittels Micro-Array-Technologie erfasst.

Resultate: Vergleichende Analysen zeigen eine deutlich schnellere Antwort auf die Pathogenbeimpfung bei den weniger mastitisempfänglichen Tieren. Die Resultate deuten auf RELB (reticuloendotheliosis viral oncogene homolog B; Transkriptionsfaktor, der die Immunantwort mitregelt) als Kandidatengen in der Nähe des lokalisierten QTL.

Schlussfolgerung: Die Ergebnisse zeigen, dass Genexpressionsprofiling Optionen bietet, auch in *in vitro* Studien, die Mechanismen der Immunabwehr der Milchdrüse bei Tieren unterschiedlicher Mastitisanfälligkeit zu differenzieren.

Diurnale Melatoninmuster in Blut und Milch von Milchkühen

Diurnal pattern of melatonin in blood and milk of dairy cows

Castro, N.[8,11]; Spengler, M.; Lollivier, V.[12]; Wellnitz, O.[8]; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M.[8]: Milchwissenschaft 66 (2011) 352-353

Ziel dieser Studie war, die diurnalen Veränderungen der Melatoninkonzentrationen im Blut von Milchkühen zu untersuchen. Blutproben und die gesamte Milch wurden stündlich für 24 Stunden im Juni (ca. 16 Stunden Tageslicht) von 12 Kühen gesammelt. In diesen Proben wurden die Melatoninkonzentrationen gemessen. Im Blut sowie auch in der Milch zeigten diese einen diurnalen Verlauf, mit hohen Konzentrationen während der Skotoperiode und niedrige Konzentrationen während der Photoperiode. Die durchschnittliche Konzentration von Melatonin im Blut lag bei 16,2 ± 2,3pg/ml während der Photoperiode (0800-2200h). Der Anstieg begann gegen 2100h und ein Plateau (16,0±4,4pg/ml) wurde um 2300h erreicht. Die höchsten Konzentrationen wurden um 0100h gemessen (25,4±5,6 pg/ml). Um 0700 waren die Melatoninkonzentrationen im Blut wieder auf die Ausgangswerte gesunken. Der Verlauf der Konzentrationen von Melatonin in der Milch ähnelte dem im Blut. Jedoch waren die Melatoninkonzentrationen in der Milch viel geringer als im Blut mit einem Konzentrationsmaximum von 2,9±0,6 pg/ml.

[11] Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Arucas, Spain
[12] Agrocampus Ouest, UMR 1080 Production du lait, Rennes, France

II. Reproduktionsbiologie

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

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

Sarkar, M.[13]; Schilffarth, S.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.[14]: Reprod Dom Anim 46 (2011) 757-762

Die Bedeutung von Thrombopoietin (TPO) für die Ovarfunktion ist unbekannt. Deshalb wurde die Expression von TPO und seines Rezeptors (c-MPL) im bovinen Gelbkörper (CL) während verschiedener Phasen im Zyklus, während der Gravidität und in Follikeln untersucht mit Hilfe der RT-PCR und ELISA. Anstiege für beide Faktoren in der frühen und späten Lutealphase im Zyklus wurden nachgewiesen. Dagegen blieben die Werte im graviden CL konstant und damit unreguliert. In kleinen Follikeln (<10mm Durchmesser) wurde die höchste Expression für TPO/c-MPL in theca interna und Granulosa Zellen aufgezeigt. Es wird geschlussfolgert, dass beide Proteine als „physiologischer Filter“ im Rinderovar beteiligt sind, um proliferative Zellen von funktionsschwachen Zellen zu separieren und zu stimulieren und damit eine wichtige modulierende Rolle für die Ovarfunktion haben.

Die Metallopeptidasen MMP14 und MMP2 und der metallopeptidase Inhibitor TIMP2 nehmen an maternalen Umbauvorgängen in Vorbereitung auf die Trächtigkeit beim Rind teil

Bovine endometrial metallopeptidases MMP14 and MMP2 and the metallopeptidase inhibitor TIMP2 participate in maternal preparation of pregnancy

Ulbrich, S.E.; Meyer, S.U.; Zitta, K.[15]; Hiendleder, S.[16]; Sinowatz, F.[17]; Bauersachs, S.[18, 19], Büttner, M.[20]; Fröhlich, T.[19]; Arnold, G.J.[19]; Reichenbach, H.-D.[21]; Wolf, E.[18,19]; Meyer, H.H.D.: Mol Cell Endocrinol. 332 (2011) 48-57

Eine erfolgreiche frühe Embryonalentwicklung in der Gebärmutter des Rindes hängt entscheidend sowohl von einer adäquaten maternalen Vorbereitung als auch von einer richtigen embryonalen Signalgebung ab. In dieser Studie untersuchten wir die Aktivität von

---

13 Physiology and Climatology, Indian Veterinary Research Institute, Izatnagar, Bareilly, Uttar Pradesh, India
14 Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Prishtina, Prishtinë, Kosovo
15 Department of Anaesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Germany
16 JS Davies Epigenetics and Genetics Group, School of Agriculture, Food & Wine and Research Centre for Reproductive Health, The University of Adelaide, Roseworthy Campus, SA 5371, Australia
17 Institute of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Ludwig-Maximilians-University Munich, Munich, Germany
18 Chair for Molecular Animal Breeding and Biotechnology, Gene Center, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany
19 Laboratory for Functional Genome Analysis (LAFUGA), Gene Center, Ludwig-Maximilians-Universität München, Munich, Germany
20 Bavarian Health and Food Safety Authority, Oberschleißheim, Germany
21 Bavarian State Research Center for Agriculture, Institute of Animal Breeding, Grub, Germany

Matrix Metallopeptidasen (MMP), die zu räumlichen und zeitlichen Umbauvorgängen in der Gebärmutterschleimhaut (Endometrium) beitragen. Die deutliche Änderung der Expression von MMP2, MMP14 und des Metallopeptidase Inhibitors TIMP2 zwischen verschiedenen Phasen des östrischen Zyklus deutete auf eine endokrine Regulation hin. Eine Erhöhung des TIMP2 Proteins in der den Embryo umgebenden Flüssigkeit konnte während der Wachstumsphase der Trophoblastzellen des Embryos nachgewiesen werden. Das Expressionsmuster und die zelluläre Lokalisation korrelierten gut mit den angenommenen Auswirkungen der MMPs auf Freisetzung und Aktivierung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, die eine Zellwanderung, Differenzierung und Vaskularisation während dieser wichtigen Phase des embryonalen Wachstums koordinieren. Insbesondere könnte durch die nachgewiesene Aktivität von MMP2 die Verfügbarkeit von Wachstumsfaktoren, die für die Entwicklung des Embryos notwendig sind, ermöglichen. Die Anwesenheit eines 18 Tage alten Embryos *in vivo* und einer 8 Tage alten Blastocyste *in vitro* induzierte die endometriale TIMP2 mRNA-Expression. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass TIMP2 an einer sehr frühen lokalen maternalen Erkennung der Trächtigkeit beteiligt ist. Matrix Metallopeptidasen sind für Umbauprozesse des Endometriums notwendig, welches die Entwicklung des Embryos unterstützt.

Mechanismen zur Etablierung einer immunologischen Toleranz während der frühen Trächtigkeit beim Rind

Immunological mechanisms to establish embryo tolerance in early bovine pregnancy

Groebner, A.E.; Schulke, K.; Schefold, J.C.[22]; Fusch, G.[23]; Sinowatz, F.[17]; Reichenbach, H.D.[21]; Wolf, E.[18,19]; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Reprod Fertil Dev. 23 (2011) 619-632

Die immunologische Erkennung und Akzeptanz des Embryos stellen eine Herausforderung für den mütterlichen Organismus dar. Das Ziel der vorliegenden Studie war es, Mechanismen der Immuntoleranz bei Rindern während der Trächtigkeit vor dem Zeitpunkt der Implantation zu analysieren. Eine Gruppe von Färsen wurde entweder mit tiefgefrorenem Sperma oder mit Seminalplasma besamt und 12, 15 oder 18 Tage nach der Brunst getötet. In diesem Zeitraum wächst die Oberfläche der den Embryo umgebenden Zellen von einigen mm auf bis zu 30cm an. Die Gebärmutter wurde zur Gewinnung von Embryonen gespült und die Gebärmutterschleimhaut für molekulare Analysen gewonnen. Die Genexpression der Indoleamine 2,3-Dioxygenase (IDO), welches das erste Enzym des Kynurenin-Signaltransduktionsweges darstellt, war 18-fach ($p < 0{,}001$) häufiger im Endometrium von trächtigen im Vergleich zu nicht-trächtigen Tieren an Tag 18 vorhanden. Mittels Tandem-Massenspektrometrie konnte neben dem Rückgang von L-Tryptophan ($P = 0{,}0008$) eine Steigerung der L-Kynurenin-Konzentration ($p = 0{,}005$) zwischen Tag 12 bis Tag 18 gemessen werden, was auf eine zunehmende IDO Aktivität hindeutet ($p < 0{,}03$). In einem Kultur-Modell von Zellen der Gebärmutterschleimhaut zeigte sich eine Induktion der IDO-Expression durch das embryonale Erkennungssignal Interferon-τ.

---

[22] Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum, Department of Nephrology and Medical Intensive Care, Berlin, Germany

[23] Department of Pediatrics, Ernst-Moritz Arndt University of Greifswald, Greifswald, Germany

Eine immunhistochemische Analyse ergab, dass weniger CD45-positive Leukozyten in der Zona basalis der Gebärmutterschleimhaut bei trächtigen Tieren vorhanden waren als bei den nicht-trächtigen Kontrollen. Die erhöhte Aktivität von IDO könnte daher die Verringerung des Vorkommens von Leukozyten in den trächtigen Tieren darstellen und könnte einen möglichen Mechanismus für den Schutz des semi-allogenen Embryos vor der maternalen Abstoßung bieten.

Die Entwicklungskompetenz von Eizellen *in vivo* ist nach intraovarieller Applikation von IGF-1 reduziert, jedoch nur in schlanken und nicht in adipösen superovulierten Milchkühen

In vivo oocyte developmental competence is reduced in lean but not in obese superovulated dairy cows after intraovarian administration of IGF1

Velazquez, M.A.[24,25]; Hadeler, K.-G.[24]; Herrmann, D.[24]; Kues, W.A.[24]; Ulbrich, S.E.; Meyer, H.H.D.; Rémy, B.[26]; Beckers, J.-F.[26]; Sauerwein, H.[27], Niemann, H.[24]: Reproduction 142 (2011) 41-52

Die vorliegende Studie untersuchte die Rolle von IGF-1 bei laktierenden schlanken und nicht laktierenden adipösen Milchkühen. Ein pg IGF-1 wurde in die Eierstöcke der Kühe appliziert, wobei diese Menge einerseits mit Aborten bei Frauen mit Polyzystischem Ovarialsyndrom (PCOS) in Verbindung gebracht worden ist, andererseits auch mit einer eingeschränkten Kompetenz boviner Oozyten *in vitro* assoziiert ist. Die mRNA- und Proteinexpression von ausgewählten Genen, die an der Apoptose, dem Glukosestoffwechsel und dem IGF-System beteiligt sind, wurden analysiert. Die Behandlung mit IGF-1 verminderte die Lebensfähigkeit von Embryonen nur in mageren Kühen, vergleichbar mit der Rate, die bei adipösen Kühen beobachtet wurde. Übergewichtige Kühe zeigten erhöhte Werte von IGF-1 und Leptin. Der bei mageren Kühen beobachtete nachteilige Effekt von IGF-1 in den Eierstöcken und die fehlende Wirkung bei übergewichtigen Kühen ähneln in gewisser Weise der Situation, die bei PCOS-Patientinnen beobachtet wird. Bei diesen ist die IGF-1 Bioverfügbarkeit bei Normalgewichtigen erhöht, hingegen bei adipösen Frauen verringert. Dies deutet darauf hin, dass das vorliegende Rindermodell nützlich sein könnte für die Untersuchung der Beteiligung von IGF-1 an PCOS.

[24] Department of Biotechnology, Institute of Farm Animal Genetics, Friedrich-Loeffler-Institut (FLI), Mariensee, Neustadt, Germany
[25] Escuela Superior de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Campeche, Campeche, Mexico
[26] Laboratory of Endocrinology and Animal Reproduction, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liege, Liege, Belgium
[27] Physiology and Hygiene Unit, Institute for Animal Science, University of Bonn, Bonn, Germany

Anstieg an essentiellen Aminosäuren in der Gebärmutterflüssigkeit während der Embryonalentwicklung beim Rind

Increase of essential amino acids in the bovine uterine lumen during preimplantation development

Groebner, A.E.; Rubio-Aliaga, I.[28]; Schulke, K.; Reichenbach, H.D.[21]; Daniel, H.[28]; Wolf, E.[18, 19]; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Reproduction 141 (2011) 685-695

Aminosäuren sind von entscheidender Bedeutung für die Entwicklung des Embryos vor der Implantation. Um Einblicke in die Anforderungen an Aminosäuren von Rinder-Embryos zu bekommen, haben wir die Zusammensetzung der Gebärmutterflüssigkeit untersucht. An den Tagen 12, 15, und 18 nach der Brunst wurde die Gebärmutter von trächtigen und nicht-trächtigen Färsen gespült, um darin 41 Aminosäuren und deren Derivate durch Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie nachzuweisen. Die Gebärmutterschleimhaut wurde für die quantitative PCR entnommen. Neben einem trächtigkeitsabhängigen Anstieg der essentiellen Aminosäuren fanden wir erhöhte Konzentrationen für die meisten nicht-essentiellen proteinogenen Aminosäuren. Histidin und der Peptid-Transporter SLC15A3 waren signifikant an Tag 18 der Trächtigkeit erhöht. Unsere Ergebnisse zeigen eine erhöhte Konzentration von Aminosäuren während der frühen Trächtigkeit an. Diese dienen höchstwahrscheinlich dazu, den Embryo während der Phase des rapiden Wachstums möglichst optimal mit Nährstoffen zu versorgen.

Die Aminosäurekonzentration in der Gebärmutterflüssigkeit ist vor der Implantation verringert bei Anwesenheit klonierter im Vergleich zu *in vitro* fertilisierten Embryonen beim Rind

Reduced amino acids in the bovine uterine lumen of cloned versus in vitro fertilized pregnancies prior to implantation.

Groebner, A.E.; Zakhartchenko, V.[18]; Bauersachs, S.[18, 19]; Rubio-Aliaga, I.[28]; Daniel, H.[28]; Büttner, M.[20]; Reichenbach, H.D.[21]; Meyer, H.H.D.; Wolf, E.[18, 19]; Ulbrich, S.E.: Cell Reprogram. 13 (2011) 403-410

Eine optimale intrauterine Versorgung mit Aminosäuren ist von spezieller Bedeutung für die Entwicklung von Präimplantations-Embryonen beim Rind. Eine fehlerhafte Regulierung der Aminosäureversorgung könnte Aborte verursachen. Bei Kerntransferträchtigkeiten (Somatic cell nuclear transfer – SCNT) treten häufig übermäßiges Wachstum der Föten und Anomalien der Plazenta auf. Deshalb analysierten wir 41 Aminosäuren und Aminosäure-Derivate mittels Flüssigchromatographie-Tandem-Massenspektrometrie in Gebärmutterflüssigkeiten von trächtigen Kalbinnen an Tag 18 der Trächtigkeit, die *in vitro* befruchtet wurden (IVF), oder denen SCNT Embryonen übertragen wurden. Beide, IVF und SCNT Embryonen, wurden unter identischen Bedingungen bis zum Embryotransfer kultiviert. Die Konzentrationen von mehreren Aminosäuren, insbesondere der verzweigtkettigen Aminosäuren, waren in der die Embryonen aus SCNT umgebenden Flüssigkeit verringert. Die mRNA Expression für den Aminosäuretransporter SLC7A8 war ebenfalls 2,4-fach niedriger in der Gebärmutterschleimhaut von SCNT Trächtigkeiten. O-Phosphoethanolamin (PETN) war 11-fach verringert in der Uterusflüssigkeit der Tiere, die Träger eines SCNT Konzeptus waren und deutet auf Veränderungen des Phospholipid-Stoffwechsels hin.

---

[28] Molecular Nutrition Unit, Z I E L Research Center of Nutrition and Food Sciences, Technische Universität München, Freising, Germany

Diese Befunde beweisen eine gestörte embryo-maternale Interaktion während der Präimplantation nach dem Transfer von SCNT Embryonen, die zu späteren Entwicklungsstörungen beitragen könnten. Die Regulation der Aminosäurekonzentration ist unabhängig vom wichtigsten embryonalen Trächtigkeitserkennungssignal Interferon-tau. Daher müssen weitere, bislang unbekannte wichtige Signalmoleküle daran beteiligt sein, ein adäquates Milieu für normale Wachstums- und Differenzierungsvorgänge zu ermöglichen.

Niedrige Plasma Progesteronkonzentrationen sind sowohl assoziiert mit einem verringerten Blutfluss zum Gelbkörper als auch mit einem größeren Durchmesser des dominanten Follikels bei Milchkühen

Low plasma progesterone concentrations are accompanied by reduced luteal blood flow and increased size of the dominant follicle in dairy cows

Lüttgenau, J.[1]; Beindorff, N.[1]; Ulbrich, S.E.; Kastelic, J.P.[29]; Bollwein, H.[1]: Theriogenology 76 (2011) 12-22

In dieser Studie wurde der Einfluss einer niedrigen Plasma-Progesteronkonzentrationen auf die Gelbkörper- und Follikelentwicklung sowie auf die Genexpression der Gebärmutterchleimhaut während zwei aufeinander folgender östrischer Zyklen untersucht.

Zusammenfassend wurde eine niedrige Progesteronkonzentration im Diöstrus mit kleinerer lutealer Größe, verringerter lutealen Durchblutung und größerem follikulären Durchmesser im Behandlungszyklus assoziiert, die aber nicht im nachfolgenden Zyklus erneut auftraten.

Die Progesteronkonzentration im Plasma während der Mitte der Gelbkörperphase ist abhängig von der Größe des Gelbkörpers, aber unabhängig vom lutealen Blutfluss sowie der lutealen Genexpression in laktierenden Milchkühen

Plasma progesterone concentrations in the mid-luteal phase are dependent on luteal size, but independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows

Lüttgenau, J.[1]; Ulbrich, S.E.; Beindorff, N.[1]; Hönnens, A.[1]; Herzog, K.[1]; Bollwein, H.[1]: Anim Reprod Sci. 125 (2011) 20-29

Das Ziel der vorliegenden Studie war zu untersuchen, ob die Progesteronkonzentration im Plasma von Kühen von der Größe des Gelbkörpers, von dessen Blutfluss bzw. von der Genexpression in Gelbkörpergewebe anhängt. Um Zyklen mit hohen und niedrigen Progesteron-Konzentrationen zu erreichen, erhielten 20 Milchkühe entweder eine einfache Behandlung mit 25 mg Prostaglandin F (2α) (PGF (2α)) am Tag 4 (PG1), oder zwei Behandlungen (25 mg PGF (2α) jeweils) am Tag 4 im Abstand von 12 Stunden (PG2) des östrischen Zyklus. Neben Progesteron wurde die Fläche (LTA) und das Volumen (LTV) des Gelbkörpers sowie der absolute (LBF) und der relativ (rLBF) luteale Blutfluss am 9. Tag nach der Brunst bestimmt. Weiterhin wurde das relative luteale Progesteron (RLP 4) und die luteale mRNA Expression von wichtigen Rezeptoren angiogener, vasoaktiver und steroidogener Faktoren an Tag 11 (± 1) während zweier aufeinanderfolgender Ovarialzyklen quantifiziert. Die Ergebnisse zeigen, dass die Plasma-Progesteronkonzentrationen in der Mitte der Gelbkörperphase von der Größe des Gelbkörpers abhängt, aber unabhängig ist von seiner Durchblutung und auch keine Genexpressionsunterschiede auftreten.

---

[29] Agriculture and Agri-Food Canada, Lethbridge Research Center, Lethbridge, Canada

III. Lebensmittel, Ernährung, Umwelt

Einfluss von den Prebiotika Inulin und Laktulose auf das intestinale Immunsystem und das Blutbild von Kälbern

Effects of the prebiotics inulin and lactulose on intestinal immunology and hematology of preruminant calves

Masanetz, S.; Preißinger, W.[21]; Meyer, H. H. D.; Pfaffl, M. W.: Animal 5 (2011) 1099–1106

Präbiotika werden als potente Alternative zu Antibiotika in der Tierhaltung vorgeschlagen. Die vergärbaren Substanzen wie z.B. Inulin oder Lactulose wurden in dieser Studie verglichen, um das Immunsystem und die Tiergesundheit durch eine Modulation der Darmflora zu stimulieren. In dieser Kälberstudie wurden die positiven Wirkungen von Inulin und Lactulose auf die Darmgesundheit und Hämatologie untersucht. Beide Präbiotika verminderten signifikant die Thrombozyten im peripheren Blut. Nur Inulin konnte die Hämoglobinkonzentration und den Hämatokrit erhöhen. Insgesamt ist die Leukozytenzahl in der mit Lactulose behandelten Gruppe zurückgegangen, während beide Präbiotika tendenziell den Monozytenanteil senkten. Die Genexpressionsstudien ergaben, dass die mRNA Expression von Markergenen die im Zusammenhang mit Entzündungen im Darm steht, durch beide Präbiotika Diäten reduziert wurde, was auf einen verminderten inflammatorischen Status hindeutet. Als einziger Marker wurde die Expression von Interleukin 8 durch Lactulose in den mesenterialen Lymphknoten erhöht. Im Ileum konnte gezeigt werden, dass Proliferationsmarker durch Inulin erhöht wurden, während Apoptosemarker von beiden Präbiotika beeinflusst und erhöht wurden. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen eine deutliche Wirkung von Präbiotika auf intestinale Gesundheits- sowie Leistungsmarker.

Der Einfluss von polyphenolreichem Schweinefutter auf Blutparameter, bakterielle Kolonisierung und Markergenexpression in weißen Blutzellen von Ferkeln.

The Influence of Apple- or Red-Grape Pomace Enriched Piglet Diet on Blood Parameters, Bacterial Colonisation, and Marker Gene expression in Piglet White Blood Cells

Sehm, J.; Treutter, D[30]; Lindermayer, H.[31]; Meyer, H.H.D.; Pfaffl, M.W.: Food and Nutrition Sciences 2 (2011) 366-376

Die Problematik der Antibiotikaresistenzen ist wieder ein sehr attraktives und aktives Thema in den Medien. Es entwickelte sich schleichend über die letzten Jahrzehnte und entstand durch den breiten Einsatz von Antibiotika in der Humanmedizin, Veterinärmedizin und als prophylaktischer Leistungsförderer in der Tierhaltung. Es erscheint sinnvoll, in der Tierernährung nach wirksamen und umweltfreundlichen Alternativen zu suchen, die das Immunsystem stabilisieren ohne gesundheitliche Risiken für Mensch und Tier. Ziel dieser Arbeit war es, alternative Futterzusätze in der Schweinefütterung zu testen. Ein besonderer Aspekt war die Verwendung natürlicher Reststoffe aus der Getränkeherstellung, Apfel- und Rotweintrester. Um Erkenntnisse über die Effekte von Apfeltrester und Rotweintrester auf das Immunsystem und das Wachstum in Ferkeln zu gewinnen, wurden im Rahmen dieses Forschungsvorhabens ein *in vivo* Versuch an Ferkeln durchgeführt.

---

[30] Fachgebiet Obstbau Weihenstephan, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München, Freising, Germany

[31] Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Poing-Grub, Germany

Der Schwerpunkt des Forschungsvorhabens bildete der *in vivo* Fütterungsversuch in Zusammenarbeit mit Dr. Lindermayer vom Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft (LfL) in Grub. Im Fütterungsversuch wurden 78 Ferkel mit 3,5% TS Apfel- oder roter Traubentrester gefüttert. Als Beobachtungszeitraum wurden die Tage um den Absetztermin gewählt, da dort die meisten immunrelevanten Veränderungen in der Umwelt sowie beim Futterwechsel stattfinden und auch bekanntermaßen die meisten Ferkelverluste zu verzeichnen sind. Proanthocyanidine und Flavonoide, die beiden Unterfamilien der Polyphenole, sind stark in verschiedenen Früchten und Beeren sowie im Obsttrester konzentriert. Sie haben in vielen Publikationen unterschiedliche Wirkungen gezeigt. Positive Wirkungen gegen Krebs, Bakterien oder Viren sind beschrieben. Im Weiteren schreibt man ihnen immunmodulierende Effekte zu. In unsere Studie wurden immunrelevante Markergenexpressionen mittels RT-qPCR in den weißen Blutkörperchen gemessen, seine bakterielle Darmflora von der Entwöhnung bis drei Wochen nach dem Absetzen untersucht.

In Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Obstbau, TUM Weihenstephan (Prof. Treutter), konnten die wichtigsten Polyphenolvertreter im Futter, in Mageninhalten und im Chymus nachgewiesen werden. In den tierischen Organen und Geweben waren mittels sensitiver HPLC Analytik nur Spuren der Polyphenole nachweisbar. Flavan-3-ole (Catechin und Epicatechin) und Proanthocyanidine (B1, B2 und C1) wurden im Magen- und Darminhalt identifiziert und quantifiziert, während nur Spuren von diesen in verschiedenen Ferkelorganen nachgewiesen werden konnte.

Die beiden polyphenolreichen Fütterungen zeigten einen positiven Einfluss auf die Bakterienpopulationen im Colon. Die Fütterung mit Apfeltrester und rotem Traubentrester, erhöhte die Anzahl der absoluten Anzahl der Darmbakterien. In den mit Trester behandelten Gruppen wurden krankmachende *E. coli* Bakterienstämme mehr verdrängt, während sich die Anzahl der gesundheitsfördernden Laktobazillen erhöhte. *C. perfringens* war nicht nachweisbar.

Auch im Blutbild konnten unterschiedliche Effekte durch die Fütterungen gemessen werden. Die Ergebnisse des Blutbildes zeigten, dass die Leukozytenzahl in der Kontrollgruppe anstieg, was auf eine Aktivierung des Immunsystems hinweist. In den Behandlungsgruppen zeigten sich jedoch keine Veränderungen. Die Blutwerte, Hämoglobin und Hämatokrit, waren herunter reguliert in allen Gruppen gegenüber der Kontrollgruppe. In beiden mit Trester behandelten Gruppen konnten höhere Thrombozytenkonzentrationen im Blut bestimmt werden.

Signifikante Expressionsänderungen der Markergene (TNFalpha, NFkB, und Caspase 3) wurden in den weißen Blutzellen zwischen den unterschiedlichen Fütterungen gefunden, aber die Variabilität dieser Expression war sehr hoch. Wir schließen daraus, dass beide polyphenolreichen Fütterungen das Potential zur positiven Beeinflussung der Darmflora, der Blutwerte, und immunmodulierende Wirkungen relevanter Markergene im Ferkel besitzen.

Expression immunrelevanter Gene im Schwein unter dem Einfluss geringer Dosen an Deoxynivalenol (DON)

Expression of immune relevant genes in pigs under the influence of low doses of deoxynivalenol (DON)

Becker, C.[32]; Reiter, M.; Pfaffl, M.W., Meyer H.H.D., Bauer, J.[32], Meyer, K.H.D.[32]: Mycotoxin Research 27 (2011) 287-293

Deoxynivalenol (DON) ist ein weit verbreitet vorkommendes Fusarientoxin und stellt eine potentielle Gefahr für die Tiergesundheit dar, vor allem für monogastrische Tiere wie Schweine. Abhängig von Dosis und Häufigkeit der Belastung hat DON eine modulierende Wirkung auf das Immunsystem. In der aktuellen Studie sollten die Auswirkungen einer chronischen Aussetzung gegenüber geringen Mengen an DON auf die Genexpression immunrelevanter Faktoren untersucht werden. Hierzu wurden 20 Schweine in eine Kontroll- und eine Behandlungsgruppe (n=10) eingeteilt. Die Behandlungsgruppe erhielt eine kontaminierte Ration mit einem DON Gehalt von 1.2 (Tag 1-41) bzw. 2.0 mg/kg (ab Tag 42). Während des Versuchsvorhabens wurden in definierten Abständen Blutproben gezogen, bei der Schlachtung nach Versuchsende wurden Darmproben (Ileum) entnommen. Die Genexpression verschiedener Immunfaktoren (u.a. Cytokine, Transkriptionsfaktoren) wurde mittels RT-qPCR bestimmt. Die meisten signifikanten Veränderungen in der Genexpression ergaben sich an Tag 45 nach Erhöhung der DON-Dosis im Futter. Hierbei konnte eine down-Regulation von proinflammatorischen Faktoren (IL-1β, IL-8, TNFα) beobachtet werden, was auf einen dosisabhängigen immunsuppressiven Effekt von DON hindeutet.

Abbauverhalten von Cry1Ab Protein in einem Güllefeldversuch nach MON810 Maisfütterung von Milchkühen: eine quantitative Studie

Fate of Cry1Ab protein in agricultural systems under slurry management of cows fed genetically modified maize (Zea mays L.) MON810: A quantitative Assessment

Gruber, H.[20]; Paul, V.[33]; Guertler, P.[20]; Spiekers, H.[31]; Tichopad, A.; Meyer, H.H.D.; Müller, M.[34]: Journal of Agricultural and Food Chemistry 59 (2011) 7135-7144

Die Studie dokumentiert das Abbauverhalten von rekombinantem Cry1Ab Protein in einem Güllefeldversuch nach MON810 Maisfütterung von Milchkühen. Zur Quantifizierung des Cry1Ab in der landwirtschaftlichen Prozesskette von der gentechnisch veränderten (GV) Maispflanze über Futtermittel, Gülle, Boden und Erntegut der güllebehandelten Flächen wurde ein validiertes ELISA System eingesetzt. Ausgehend von 23.7 µg Cry1Ab g-1 Trockensubstanz in GV Mais wurde ein starker Abfall der Cry1Ab Gehalte beobachtet. So wurden jeweils 2.6% und 0.9% der Cry1Ab Ausgangsgehalte aus GV Mais in Futtermitteln und Gülle nachgewiesen. Die Hälfte des in frischer Gülle nachgewiesenen Cry1Ab überdauerte die Güllelagerung über 25 Wochen. Nach Aufbringen der Gülle auf die Versuchsflächen wurde ein abschließender Abbau des Cry1Ab auf Gehalte unterhalb der Nachweisgrenze im Boden dokumentiert. Im Vergleich zum Gesamtprotein wies Cry1Ab eine höhere Abbaurate in den beobachteten landwirtschaftlichen Prozessen auf.

---

[32] Chair of Animal Hygiene, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, Germany

[33] National Research Centre on Yak, (ICAR), Dirang, West Kameng District, Arunachal Pradesh 790101, India

[34] Institute for crop Science and Plant Breeding, Bavarian State Research Center for Agriculture, Freising, Germany

Immunblotanalysen zeigten in allen untersuchten Probenmaterialien einen Abbau des 65 kD großen rekombinanten Cry1Ab Gesamtmoleküls in immunreaktive Fragmente geringerer Größe.

IV. Wachstumsphysiologie und Anabolika

Das Potenzial von bovinem Vaginalabstrich für die Entwicklung von Biomarkern zur Analyse der missbräuchlichen Anwendung anaboler Substanzen

The Potential of Bovine Vaginal Smear for Biomarker Development to Trace the Misuse of Anabolic Agents

Riedmaier, I.; Reiter, M.; Tichopad, A.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Exp Clin Endocrinol Diabetes 119 (2011) 86-94

In einem Versuch mit Nguni Färsen wurde erstmals getestet, ob es möglich ist, den Einfluss einer Kombination aus den anabolen Steroiden Trenbolon Acetat plus Estradiol auf die Genexpression im Vaginalabstrich zu messen. Hierfür wurden 9 Tiere über 39 Tage mit dieser Kombination behandelt. 9 weitere Tiere dienten als unbehandelte Kontrolltiere. Vaginalabstrich wurde an verschiedenen Tagen der Behandlung genommen (vor Behandlungsbeginn, Tag 2, 16 und 39 der Behandlung). Unterschiede in der Genexpression verschiedener Kandidatengene zwischen den beiden Behandlungsgruppen wurde mit Hilfe von RT-qPCR bestimmt. Dabei wurden Unterschiede in der Expression des Steroid Rezeptors ERα, des Keratinisierungsfaktors CK8, der proinflammatorischen Interleukine IL-1α und IL-1β, der Wachstumsfaktoren FGF7, EGF, EGFR, IGF-1R, TGFα und LTF, des Onkogens c-jun und der Faktoren Aktinβ und Ubiquitin 3 gefunden. Mit Hilfe der Principal Components Analyse (PCA) und der Hierarchischen Clusteranalyse (HCA) konnte unter Einbeziehung aller gemessenen Gene eine Trennung der beiden Behandlungsgruppen beobachtet werden.

Einfluss von anabol wirksamen Kombinationen aus einem Androgen und einem Estrogen auf biochemische Stoffwechselwege im uterinen Endometrium und Ovar des Rindes

Influence of anabolic combinations of an androgen plus an estrogen on biochemical pathways in bovine uterine endometrium and ovary

Becker, C.; Riedmaier, I.; Reiter, M.; Tichopad, A.; Groot, M.J.; Stolker, A.A.M.; Pfaffl, M.W.; Nielen, M.F.W.; Meyer, H.H.D.: Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology 125 (2011) 192-201

Die weiblichen Geschlechtsorgane (Uterus, Ovar) sind primäre Ziele steroidaler Geschlechtshormone. Es ist deshalb zu erwarten, dass die illegale Anwendung anaboler Steroide einen Einfluss auf physiologische Prozesse in diesen Organen hat. Ziel der Studie war es, unter dem Einfluss steroidaler Wachstumsförderer veränderte biochemische Stoffwechselwege zu finden, die möglicherweise als Biomarker genutzt werden können. Zwei Versuche wurden durchgeführt an post-pubertären Ngunifärsen (n=18) beziehungsweise an prä-pubertären Kälbern der Rasse Holstein Friesian (n=20). Die Tiere der jeweiligen Behandlungsgruppen erhielten eine Kombination aus einem Androgen plus einem Estrogen. Unterschiede in der Genexpression zwischen Kontroll- und Behandlungsgruppen wurden

mittels RT-qPCR gemessen. Hierbei konnten signifikante Unterschiede in verschiedenen Gengruppen (Rezeptoren, angiogene Faktoren, Proliferation, Apoptose und andere) detektiert werden. Viele Gene zeigten jedoch gegensätzliche Regulation bei post-pubertären im Vergleich zu prä-pubertären Tieren. Die biostatistische Auswertung der Daten mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA) konnte nur bei den Ngunifärsen eine Trennung zwischen Kontroll- und Behandlungsgruppe aufzeigen. Anabole Steroide beeinflussen die Hormonsensitivität sowie Steroidsynthese und induzieren proliferative Vorgänge im weiblichen Reproduktionstrakt. Das Ausmaß ist jedoch abhängig vom Entwicklungszustand der Tiere. Bei post-pubertären Tieren stellen die Geschlechtsorgane eine vielversprechende Matrix für die Suche nach Genexpressionsbiomarkern zum Nachweis der illegalen Anabolikaanwendung dar.

Die Analyse des Transkriptoms als neuer Ansatz zur Entwicklung von Biomarkern für die Aufdeckung des Missbrauchs anaboler Steroidhormone

The analysis of the transcriptome as a new approach for biomarker development to trace the abuse of anabolic steroid hormones

Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Drug Testing and Analysis 3 (2011) 676-681

Dieser Artikel gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der Physiologie Weihenstephan im Bereich der Entwicklung von Genexpressions Biomarkern für den Missbrauch anaboler Substanzen. Hierbei wurden verschiedene Gewebe in verschiedenen Spezies zur Analyse herangezogen. In Kombination mit biostatistischen Methoden stellen Genexpressions Biomarker potenzielle Werkzeuge für die Entwicklung neuer Nachweismethoden dar.

V. Bioanalytik

Veränderungen im miRNA Expressionsprofil in der bovinen Leber unter dem Einfluss anaboler Steroide

Changes in the miRNA profile under the influence of anabolic steroids in bovine liver

Becker, C.[32]; Riedmaier, I.; Reiter, M.; Tichopad, A.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: Analyst 136 (2011) 1204-1209

microRNAs (miRNAs) sind kleine nicht-kodierende RNA Moleküle, die durch Beeinflussung der Genexpression einen regulatorischen Einfluss auf viele zelluläre Prozesse (z.B. Proliferation, Immunantwort) haben. miRNAs zeigen ein spezifisches Expressionsmuster in einer Vielzahl humaner Erkrankungen (z.B. Krebs) und sind deswegen vielversprechende Biomarker in der klinischen Diagnostik. Die Idee, Biomarker zu nutzen, besteht auch in der veterinärmedizinischen Rückstandsanalytik, z.B. zum Nachweis der illegalen Anwendung wachstumsfördernder Anabolika. Um eine mögliche Eignung von miRNAs als Biomarker für eine Behandlung mit anabolen Steroiden zu testen, wurde ein Versuch mit 18 Ngunifärsen durchgeführt. 9 Tiere wurden mit einer anabolen Kombination aus Trenbolonacetat plus Estradiol behandelt. Die restlichen 9 Tiere dienten als Kontrollgruppe. Unter Verwendung eines qPCR Arraysystems wurde zunächst ein Screening auf die Expression aller bekannten miRNAs durchgeführt. Die Ergebnisse physiologisch relevanter Kandidaten wurden mittels RT-qPCR validiert, wodurch eine differentielle Expression von 11 miRNAs nachgewiesen werden konnte.

Durch Auswertung der Expressionsergebnisse von mRNA und miRNA in einer Clusteranalyse (principal components analysis, PCA) konnte eine deutliche Trennung von Kontroll- und Behandlungsgruppe erzielt werden. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine Kombination verschiedener transkribierter Ziel-RNAs (mRNA plus miRNA) eine vielversprechende Methode zur Etablierung eines Genexpressionsmusters als Biomarker zum Nachweis anaboler Steroide darstellen könnte.

Offenlegung der Primer- und Sondensequenzen - eine Klarstellung der MIQE Richtlinien

Primer Sequence Disclosure: A Clarification of the MIQE Guidelines

Bustin, S.A.[35]; Benes, V.[36]; Garson, J.A.[37]; Hellemans, J.[38, 39]; Huggett, J.[40, 41]; Kubista, M.[42, 43]; Mueller, R.[44]; Nolan, T.[45]; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.L.[46]; Vandesompele, J. [38, 39]; Wittwer, C.T.[47, 48]: Clin Chem. 57 (2011) 919-921

Die Veröffentlichung der MIQE Richtlinien (MIQE Guidelines) im Jahr 2009 durch Prof. S. Bustin und einem internationalen Expertenkreis hat sich als ein wichtiger Meilenstein in der Qualitätskontrolle der analytisch sehr wichtigen quantitative RT-PCR erwiesen. MIQE soll die Transparenz und damit die Reproduzierbarkeit der angewandten und veröffentlichten qPCR Tests durch detaillierte Mindestanforderungen verbessern. Die Resonanz aus der Wissenschaft, der forschenden Industrie, der PCR Reagenzienhersteller war insgesamt positiv. Neben viel Medienresonanz fand der Artikel Beachtung in Fachzeitschriften, Print- und Online-Medien sowie hohe Anerkennung bei wissenschaftlichen Tagungen. Bereits Ende 2011 konnten über 600 Zitate der MIQE Publikation gezählt werden, was einen überwältigenden Respons in der wissenschaftlichen Welt darstellt. Die MIQE Richtlinien wurden nie mit der Absicht eingeführt, einen unveränderlichen Standard zu konzipieren. Ziel war es, eine Leitlinie für den „gesunden Menschenverstand“ zu konzipieren, um die Aussagekraft der Ergebnisse zu stärken, die Reproduzierbarkeit zu verbessern und die Transparenz innerhalb der qPCR Community zu fördern. Die qPCR Methode an sich ist so breit gefächert und findet in jeglichen Forschungsbereichen Anwendung; es ist unmöglich, „einen“ generellen analytischen Standard zu generieren und in „einem“ Thesenpapier niederzulegen.

---

35 Barts and the London School of Medicine and Dentistry, Queen Mary University of London, London, UK
36 EMBL GeneCore Heidelberg, Germany
37 Centre for Virology Research Department of Infection University College Medical School London, UK
38 Ghent University, Ghent, Belgium
39 Biogazelle Zwijnaarde, Belgium
40 LGC Teddington, UK
41 University College London, London, UK
42 TATAA Biocenter Gothenburg, Sweden
43 Institute of Biotechnology Czech Academy of Sciences Prague, Czech Republic
44 Sequenom San Diego, CA
45 Sigma-Aldrich Haverhill, UK
46 University of Texas Health Science Center at Houston, Houston, TX
47 Department of Pathology University of Utah Salt Lake City, UT
48 ARUP Institute for Clinical and Experimental Pathology Salt Lake City, UT

Im Mittelpunkt der wissenschaftlichen Diskussion und der öffentlichen Kritik standen die Offenlegung der Primer- und Sondensequenzen bei diagnostischen Assays. In den meisten kommerziell genutzten diagnostischen qPCR Assays werden nicht die Primer- und/oder Sonden-Sequenzinformationen genannt, da die meisten Anbieter diese als wirtschaftlich sensible Informationen betrachten und deshalb diese Information schützen möchten. Daher schlagen wir für die Zukunft eine pragmatische Änderung der ursprünglichen Richtlinien vor: entweder die jeweiligen „Primersquenzen“ oder die „PCR Amplikon Kontext Sequenz“ zu veröffentlichen. Dies sollte die nötige Transparenz sowie auch Eindeutigkeit liefern, die die MIQE Richtlinien vorgeben. Die MIQE Richtlinien schlagen "minimale Anforderungen" vor, was nicht immer "idealen Anforderungen" entspricht. Die ursprüngliche Vorgabe der vollständigen Offenlegung der Primer- und Sondensequenzen als "wesentlicher Bestandteil" bleibt unser Ideal, und wird weiterhin als wesentlicher Bestandteil einer veröffentlichten Studie empfohlen. Mehr Transparenz in der wissenschaftlichen Forschung ist immer besser, und das schließt auch die qPCR Primer- und Sondensequenzen mit ein. Dennoch, angesichts der wirtschaftlichen Interessen, hielten wir es für sinnvoll, die minimalen Anforderungen leicht zu modifizieren. Wir hoffen, dass diese „überarbeiteten MIQE Richtlinien" ihre Attraktivität und Universalität behalten werden, ohne die Bedeutung der MIQE als den qPCR Standard zu verwässern.

RefGenes – ein Softwaretool zur Identifikation geeigneter Referenzgene für die Normalisierung in der RT-qPCR unter Berücksichtigung des physiologischen Status

RefGenes: identification of reliable and condition specific reference genes for RT-qPCR data normalization

Hruz, T.[49]; Wyss, M.[49]; Docquier, M.[50]; Pfaffl, M.W.; Masanetz, S.; Borghi, L.[51]; Verbrugghe, P.[52]; Kalaydijeva, L.[52]; Bleuler, S.[53]; Laule, O.[53]; Descombes, P.[50]; Gruissem, W.[51]; Zimmermann, P.[51]: BMC Genomics 2011, 12:156

Die RT-qPCR ist der „goldene Standard“ für die Quantifizierung der mRNA Genexpression. Um unterschiedliche biologische Proben anzugleichen und die RT-qPCR Messungen zwischen den Proben zu normalisieren, verwenden die meisten Wissenschaftler endogene Referenzgene als interne Kontrollen. Jedoch gibt es zunehmend Hinweise, dass die Expression der am häufigsten verwendeten Referenzgenen erheblich variieren kann, vor allem unter bestimmten physiologischen Konstellationen. Ziel war es, ein Softwaretool zu entwickeln, dass stabile und valide Referenzgene identifizieren kann und gleichzeitig die untersuchten physiologischen Zustände des Organismus berücksichtigt.

Die Genevestigator Datenbank beinhaltet eine Vielzahl von normierten und gut annotierten Microarrays unterschiedlicher Experimente und kann die Expressionsstabilität der Gene in mehreren Organismen und/oder Geweben beschreiben. Die Ergebnisse zeigen, dass es im Allgemeinen keine universell stabile Referenzgene gibt. Die in der Literatur am häufigsten verwendeten Referenzgene weisen eine sehr hohe Abundanz auf, verglichen mit dem

---

49 Institute of Theoretical Computer Science, ETH Zurich, Switzerland
50 Genomics Platform, NCC “Frontiers in Genetics”, University of Geneva, Geneva, Switzerland
51 Department of Biology, ETH Zurich, Switzerland
52 Western Australian Institute for Medical Research, UWA Centre for Medical Research, Perth, Australia
53 NEBION AG, Zurich, Switzerland

gesamten Transkriptom. In jedem biologischen Kontext existiert ein anderes stabil exprimiertes Genexpressionsmuster mit minimaler Varianz. Wir schlagen daher zur Normalisierung der RT-qPCR Daten studienspezifische Referenzgene vor. Die Validierung über mehrere Organismen zeigt, dass die Referenzgenkandidaten, die durch RefGenes vorgeschlagen werden, generell besser sind als häufig zitierte Referenzgene. RefGenes steht als Freeware Tool innerhalb Genevestigator bei www.genevestigator.com oder unter www.refgenes.org frei für akademische Wissenschaftler zur Verfügung.

Electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) basierte Echtzeitmessung von dosisabhängiger Zytotoxizität induziert durch adenovirale Vektoren in einem IPI-2I Zellkultur Modell

Electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) based real-time measurement of titer dependent cytotoxicity induced by adenoviral vectors in an IPI-2I cell culture model

Müller, J.; Thirion, C.[54]; Pfaffl, M.W.: Biosensors and Bioelectronics 26 (2011) 2000-2005

Rekombinante Virale Vektoren repräsentieren in verschiedenen biotechnologischen Anwendungen wie beispielsweise der RNA Interferenz weitverbreitete Werkzeuge zum Transfer von genetischem Material. Hinsichtlich einer exakten MOI Einstellung (multiplicity of infection) stellt die genaue und reproduzierbare Virentitration die Grundlage für alle folgenden Arbeitsschritte dar. Als notwendige Grundlage für die Studien in dieser Arbeit präsentieren wir eine neue auf quantitativer real-time PCR (qPCR) basierende Methode zur Bestimmung der Anzahl viraler Partikel. Hinsichtlich physiologischer Effekte stellt die Tatsache, dass die Anwendung viraler Vektoren oftmals toxische Effekte auf die jeweiligen Zielzellen hat, ein ständig begleitendes Problem dar. Zur Ermittlung der kritischen viralen Dosis, welche den Zelltod einleitet, haben wir einen Electric Cell-Substrate Impedance Sensing (ECIS) basierten Assay entwickelt. Mit Hilfe der ECIS-Technologie lässt sich mittels eines Arrays die Impedanzänderung eines Stromflusses durch das Zellkulturmedium auf nicht invasive Weise ermitteln, wodurch Effekte wie Zell-Anhaftung, Zell-Zell-Kontakte oder Zellteilung visualisiert werden können. Das Potential dieser Echtzeit Messmethode zeigen wir anhand eines *in vitro* Modells, bestehend aus der porcinen ilealen Epithelzelllinie IPI-2I und einem Derivat des adenoviralen Transfectionsvektors Ad5. Unsere Studien zeigen einen klar Dosis abhängigen Zusammenhang ($p<0.001$) zwischen der applizierten Virenmenge und dem Grad an verursachtem Zelltod. Damit stellt unser Assay eine allgemein anwendbare Anwendung zur Bestimmung der nicht letalen Dosis, bezogen auf die jeweilige Transfektionsmethode dar. Selbstverständlich bietet dieser Assay darüber hinaus auch das Potential auf andere cytotoxikologische Fragestellungen übertragen zu werden.

[54] Friedrich-Baur-Institute, Klinikum der LMU, Department of Neurology, Munich, Germany

Quantifizierungsrauschen in Einzel-Zell-Experimenten
Quantification noise in single cell experiments
Reiter, M.[55]; Kirchner, B.; Müller, H.[56]; Holzhauer, C.[56]; Mann, W.[56]; Pfaffl, M.W.: Nucleic Acids Research 39 (2011) e124

In quantitativen Studien an Einzel-Zellen besteht der entscheidende Faktor aus der geringen Menge an vorhandenen Nukleinsäuren und den daraus resultierenden experimentellen Abweichungen. Zusätzlich reflektieren, aus heterogenen Geweben gewonnene, biologische Daten nicht das Expressionsverhalten jeder Einzel-Zelle. Diese Abweichungen können einerseits aus der biologischen Varianz entstehen aber andererseits auch von außen durch den Versuchsaufbau eingeführt werden. Beides hat negative Effekte auf die resultierende Quantifizierung. Das Ziel dieser Studie ist die Erhöhung der Transparenz und Verlässlichkeit von quantitativen Einzel-Zell-Studien um den MIQE-Richtlinien auch auf Einzel-Zell-Ebene gerecht zu werden. Die technische Variabilität, hervorgerufen durch RT, Verdunstung, biologisches Material und qPCR, wurde mittels DNA und RNA Standards untersucht. Zweitens wurden die biologischen Expressionsvarianzen von GAPDH, TNFα, Il-1β und TLR4 in einzelnen Lymphozyten gemessen. Der hier verwendete Quantifizierungsaufbau war sensitiv genug um einzelne Standard-Kopien und Transkripte in einer individuellen Zelle zu detektieren. Die größten Abweichungen entstanden durch RT, gefolgt von Verdunstung und pre-amplification. Die biologische Matrix und Analyse der qPCR hingegen verursachten nur geringe Variationen. Beide durchgeführten Studien demonstrieren eindrucksvoll die Heterogenität der Expressionsmuster in Einzel-Zellen und zeigen klar die Grenzen heutiger quantitativen Expressionsanalysen in Einzel-Zellen auf.

Habilitationen, Dissertationen, Masterarbeiten und Bachelorarbeiten

Habilitationen

Susanne Ernestine Ulbrich, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 04.05.2011: „Hosting the preimplantation embryo: Maternal challenges during bovine pregnancy“

Dissertationen

Gregor Sigl, Dr. agr., Technische Universität München, 03.03.2011, „Effects of continuous milking during the dry period or once daily milking in the first four weeks of lactation on metabolism and productivity of dairy cows“

---

55 BioEPS GmbH, Freising, Germany
56 Beckman Coulter Biomedical GmbH, Munich, Germany

Sabine Masanetz, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 03.03.2011, „Impact of prebiotic substances on gut health of livestock animals Inulin, lactulose and Pinus massoniana pollen“

Anna Gröbner, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 29.09.2011, “Differential effects of bovine conceptus-derived signaling molecules on the uterine environment supporting embryo development while allowing maternal immune tolerance”

Helga Gruber, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 09.12.2011, „Surveillance of Cry1Ab protein and cry1Ab DNA in liquid manure, soil and agricultural crops under Bt-maize cropping and slurry management of cows fed Bt-maize (MON810)

Masterarbeiten

Jan Blohberger, Molekulare Biotechnologie: „Bestimmung der chemotaktischen Wirkung von stimulierten Euterepithelzellen auf bovine Leukozyten“

Julia Herrmann, Agrarmanagement: “Einfluss von Fütterungssupplementen auf den bovinen Cholesterinmetabolismus und die Milchzusammensetzung in der Frühlaktation”

Zahra Kazemi, Agrarwissenschaften: „P53-independent MDM2 function in pancreatic cancer cells“

Stefan Kempf, Molekulare Biotechnologie: “Quantification of signaling molecules in bovine uterine luminal fluid during preimplantation”

Melanie Spornraft, Biologie: “Implementation of measurement of phytosterols in milk“

Bachelorarbeiten

Paulina Bedkowski, Molekulare Biotechnologie: „Untersuchung zur Freisetzungskinetik von Estradiol-β nach endogener Aktivierung estrogener Prodrugs mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay“

Martin Birkert, Biochemie: „Einfluss inflammatorischer und anaboler stimuli auf die mRNA Expression während der Skelettmuskeldifferenzierung *in vitro*”

Anja Burgmaier, Molekulare Biotechnologie: „Einfluss verschiedener Fütterungsansätze auf die Genexpression bei frühlaktierenden Kühen“

Annika Flemming, Biochemie: „Analytik und erste funktionelle Bewertung von Neurosteroiden mittels LC-MS/MS aus der Kuhmilch in Abhängigkeit vom Zyklus und post partum“

Anna-Katharina Hankele, Molekulare Biotechnologie: „Aktivierung synthetischer Estrogen-Derivate: In vitro Test zur Erfassung der Pharmakokinetik von Gesamt-Estrogenen“

Max Jelkmann, Bioprozesstechnik: „Analyse der Regulation der vaskulären Kontraktion durch cGMP-abhängige Proteinkinase Iα“

Nadine Klausner, Biochemie: „Gestagene und Androgene während der Frühträchtigkeit beim Rind“

Vanessa Kraft, Molekulare Biotechnologie: „Gene expression and DNA methylation analysis of ESR1 in prepubertal male piglets”

Jana Lambrecht, Molekulare Biotechnologie: „Einfluss einer restriktiven Fütterung auf die Expression von Genen des innaten Immunsystems in primären bovinen Euterepithelzellen”

Max-Emanuel Ruprecht, Bioprozesstechnik: „Role of cGMP – dependent protein kinase I in regulating cardiofibroblast activity“

Andrea Sagerer, Ernährungswissenschaft: „RNA expression and DNA methylation analysis in the uterus of prenatally estradiol treated piglets”

Lisa Schlereth, Bioprozesstechnik: „Optimization of RT-qPCR primers for the innate immune response in primary bovine mammary gland epithelial cells“

Trixi von Schlippenbach, Molekulare Biotechnologie: „Optimization of qPCR-measurements of the cholesterol metabolism in gallus gallus”

Ramona Spitzer, Molekulare Biotechnologie: „Etablierung einer neuen Gewebe-Homogenisierungsmethode zur Extraktion von RNA aus verschiedenen bovinen Geweben“

Marina Willibald, Biochemie: „Optimierung und Validierung eines enzymatischen Tests auf Mikrotiterplatten für β-Hydroxybutyrat in Magermilch und Analyse von Milchproben restriktiv gefütterter Kühe“

Franziska Wolfertstetter, Molekulare Biotechnologie: „Milchfettkügelchendurchmesser und Cholesteringehalt in der Milch“

Elisabeth Wurzer, Biochemie: „Analytischer Nachweis von Neurosteroiden in der Milch von trächtigen Kühen mittels LC-MS/MS und erste funktionelle Bewertung“

Vorträge

Kliem, H.:
“Milchdrüsenepithelzellen in Milch: Gewinnung, Kultivierung und molekulare Analytik sowie Applikationen und Perspektiven”
Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Weihenstephan, 07.10.2011

Meyer, H.H.D.:
“Muskelphysiologische Veränderungen durch Doping”
Anti-Doping-Workshop/Fortbildungsveranstaltung der Akademie für Fort- und Weiterbildung des Bayerischen Sportärzteverbandes, München, 22.01.2011

"Co-Evolution der „Gestagen & Gestagenrezeptor Systeme" in Elefanten, Pferden und weiteren Huftier-Spezies"
Marienseer Gespräche 2011 des Friedrich-Loeffler-Institutes, Neustadt, 24.11.2011

Meyer, S.U.:
"Impact of different normalization strategies on miRNA profiling experiments"
qPCR 2011 Symposium on Molecular Diagnostics: from Single Cells to Next Generation Sequencing, Freising-Weihenstephan, 28.03.2011- 01.04.2011

Müller, J.:
"RNA interference via viral vectors in loss of function studies"
Vortrag im Rahmen der Vorlesung "Molekulare Genetik und Regulationsphysiologie der Tiere", 19.01.2011

Pfaffl, M.W.:
"Stay in touch while on the bench: MIQE qPCR"
(Abdel Nour, Afif and W. Pfaffl, Michael)
qPCR 2011 Event, Freising-Weihenstephan, Germany, 28.03.2011- 01.04.2011

"The use of qRT-PCR and high-throughput transcriptomics for biomarker development"
(Pfaffl, Michael W.; Riedmaier, Irmgard; Meyer, Heinrich H.D.)
qPCR 2011 Event; Freising-Weihenstephan, Germany, 28.03.2011- 01.04.2011

"MIQE Guidelines: Klinische real-time PCR - Theorie, neuste Applikationen und Qualitätsmanagement"
Biomed Austria, FH Campus Wien, Österreich, 05. – 06.05.2011

"The use of qRT-PCR and high-throughput transcriptomics for biomarker development"
TATAA Biocenter qPCR Symposium "Developments in Real-time PCR – From Preanalytics to Molecular Diagnostics", Prague, Czech Republic, 13. – 17.06.2011

"mRNA & microRNA integrity - the key to success"
TATAA Biocenter qPCR Symposium, "Developments in Real-time PCR – From Preanalytics to Molecular Diagnostics", Prague, Czech Republic, 13. – 17.06.2011

"mRNA and microRNA expression analysis with real-time RT-PCR"
TUM Analytik Club, Seminarraum am Lehrstuhl für Biologische Chemie, Emil-Erlenmeyer-Forum 5, Freising-Weihenstephan, Germany, 29.06.2011

"The use of high-throughput transcriptomics for biomarker development in agriculture"
AgriGenomic Congress in Hamburg, Hamburg, Germany, 30.06. – 01.07.2011

"Quantification strategies and qPCR efficiency determination. Advanced qPCR Techniques for Publication Success: Following MIQE Recommendation"
EMBL, Heidelberg, Germany, 11.-15.07.2011

"Data analysis using REST. Advanced qPCR Techniques for Publication Success: Following MIQE Recommendation."
EMBL, Heidelberg, Germany, 11.-15.07.2011

"The use of qRT-PCR and high-throughput transcriptomics for biomarker development" 2nd annual qPCR Europe Conference and Exhibition, Munich, Germany, 08. – 09.09.2011

"Quantification strategies in real-time RT-qPCR - recent advances and new perspectives in agricultural research"
BASF Agrarzentrum Limburgerhof, Ludwigshafen, Germany, 26.10.2011

"Recent advances and new perspectives in comparative quantification using qRT-PCR", Forsyth Institute, Cambridge, MA, USA, 25.11.2011

"MIQE challenges and solutions – reliable microRNA expression profiling and biomarker development"
Massachusetts General Hospital, Cutaneous Biology Research Center, Boston, MA, USA, 26.10.2011

"MIQE challenges and solutions – reliable microRNA expression profiling and biomarker development"
New England RNA Data (NERD) Club, Harvard Medical School, Boston, MA, USA, 26.10.2011

"MIQE challenges and solutions – reliable microRNA expression profiling and biomarker development"
Medical Faculty, Duke University, Durham, NC, USA, 28.10.2011

"MIQE challenges – DNA and RNA quantification on the single cell-level"
2011 qPCR Symposium USA, San Francisco Bay Area, Santa Clara Convention Center, 5001 Great America Parkway, CA 95054, USA, 01.-02.11.2011

"Quantitative aspects of real time RT-PCR - current and future"
3rd Annual Scientific Meetings of Molecular Diagnostics Belgium,
Antwerp, Belgium, 13.12.2011

Riedmaier, I.:
"mRNA transcriptomics and the needed biostatistics; recent experiences with NGS (Next Generation Sequencing) and microRNA quantification"
Saskatoon International Workshop Validation and Regulatory Analysis, 19.-22.06.2011, Saskatoon, Canada

Tichopad, A.:
"Stratified error in the qPCR assays from the statistical point of view"
qPCR 2011 Event; Freising-Weihenstephan, Germany, 28.03.–01.04.2011

Ulbrich, S. E.:
"DNA Methylation analysis of estrogen receptor alpha in bovine Endometrium"
44th Annual Meeting of Physiology and Pathology of Reproduction of the German Veterinary medical society, Hannover, Germany, 18 February 2011

"Maternal Challenges during bovine Pregnancy"
Meeting of the Pfizer Reproduction-Consortium, Munich, Germany, 14 April 2011

"Do placental abnormalities and fetal overgrowth manifest prior to implantation through imbalances in intrauterine nutrient supply with amino acids?"
COST Action FA0702 GEMINI Working Group III Workshop, Maternal Nutrition, 31st May - 3rd June 2011, Israel, 02 June 2011

"Expression of VEGFA and VEGF receptors at the bovine embryo-maternal interface during the preimplantation development"
7th International Conference on Farm Animal Endocrinology from 24 to 26 August 2011 in Bern, Switzerland, 26 August 2011

"Enhancing our current understanding of reproduction biology by applying an epigenetic perspective"

"XX Annual Conference of Society of Animal Physiologist of India (SAPI) and International Symposium on Advances in Physiologic Research for Sustainable Development of Livestock and Poultry with Satellite Symposium" from 2-4th November, 2011 in Kolkata, India, 02 November 2011

Viturro, E.:
"Einfluss von Fütterung und Management auf den bovinen Fett- und Cholesterinmetabolismus: Auswirkungen auf die Milchzusammensetzung"
40. Wissenschaftlicher Beirat Milchindustrieverband. Regensburg, Deutschland, 11.11.2011

Tagungen des Lehrstuhls

qPCR 2011 Symposium

Das qPCR 2011 Symposium hat sich über die letzten Jahre zum weltweit wichtigsten Event bezüglich der Erfassung der Genexpression und in der PCR basierten molekularen Diagnostik entwickelt. Der Event wurde nunmehr das fünfte Mal vom Lehrstuhl für Physiologie der TUM in Freising-Weihenstephan durchgeführt und von der BioEPS GmbH organisiert. Die Tagungsschwerpunkte konzentrierten sich auf die „Molekulare Diagnostik", einerseits als hoch sensitive Methode in der Einzelzellanalytik (quantitative single-cell PCR) bis hin zur hoch parallelen Hochleistungssequenzierung von DNA und RNA.

Während der fünf Konferenztage vom 28. März bis zum 1. April 2011 im zentralen Hörsaalgebäude konnten wieder mehr als 500 weltweit agierende Wissenschaftler aus 42 Ländern auf dem Feld der quantitativen real-time PCR in Weihenstephan zusammengebracht werden, um Ihre Ideen auszutauschen und Erfahrungen zu teilen. Die insgesamt 71 Vorträge, 90 Posterbeiträge und drei Workshops wurden in die folgenden Interessengebiete gruppiert: Einzell-qPCR, Next Generation Sequencing, qPCR Hochdurchsatzapplikationen, RNAi- / microRNA- / siRNA-Applikationen, digitale PCR, Nano- und Micro-Fluidics, qPCR Datenanalyse, Biostatistik & Bioinformatik sowie neue Strategien der Normalisierung. Im Weiteren gab es einen Schwerpunkt über die MIQE Richtlinien, Qualitätskontrolle und Standardisierung (RDML) der quantitativen PCR Methode anhand der „MIQE Guidelines“. Mehr Infos auf der Webpage www.qPCR2011.net

Exkursionen

Exkursion zum Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
09.05.2011, Oberschleißheim

Exkursion im Rahmen der Vorlesung „Laktationsphysiologie“ am 05.07.2011
Milchprüfring Bayern, Wolnzach

Exkursion im Rahmen der Vorlesung „Laktationsphysiologie“ am 19.07.2011
System Happel GmbH, Friesenried

Veröffentlichungen

25 Experimentelle Originalarbeiten

1. Sarkar, M.; Schilffarth, S.; Schams, D.; Meyer, H.H.D.; Berisha, B.: The Expression of Thrombopoietin and its Receptor During Different Physiological Stages in the Bovine Ovary. Reprod Dom Anim 46 (2011) 757-762
2. Becker, C.; Riedmaier, I.; Reiter, M.; Tichopad, A.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D. 2011: Changes in the miRNA profile under the influence of anabolic steroids in bovine liver. Analyst 136 (2011) 1204-1209
3. Sander A, K.; Piechotta, M.;Schlamberger, G.; Bollwein, H.; Kaske, M.; Sipka, A.; Schuberth H. J.: Ex vivo phagocytic overall performance of neutrophilic granulocytes and the relation to plasma insulin-like growth factor-I concentrations in dairy cows during the transition period. J Dairy Sci. 94 (2011) 1762-1771
4. Riedmaier, I.; Reiter, M.; Tichopad, A.; Pfaffl, M. W.; Meyer H. H. D.: The Potential of Bovine Vaginal Smear for Biomarker Development to Trace the Misuse of Anabolic Agents. Exp Clin Endocrinol Diabetes 119 (2011) 86-94
5. Ulbrich, S.E.; Meyer, S.U.; Zitta, K.; Hiendleder, S.; Sinowatz, F.; Bauersachs, S.; Büttner, M.; Fröhlich, T.; Arnold, G.J.; Reichenbach, H.-D.; Wolf, E.; Meyer, H.H.D.: Bovine endometrial metallopeptidases MMP14 and MMP2 and the metallopeptidase inhibitor TIMP2 participate in maternal preparation of pregnancy. Mol Cell Endocrinol. 332 (2011) 48-57

6. Becker, C.; Riedmaier, I.; Reiter, M.; Tichopad, A.; Groot, M.J.; Stolker, A.A.M.; Pfaffl, M.W.; Nielen, M.F.W.; Meyer, H.H.D.: Influence of anabolic combinations of an androgen plus an estrogen on biochemical pathways in bovine uterine Endometrium and ovary. J Steroid Biochem Mol Biol 125 (2011) 192-201

7. Bustin, S.A.; Benes, V.; Garson, J.A.; Hellemans, J.; Huggett, J.; Kubista, M.; Mueller, R.; Nolan, T.; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.L.: Primer Sequence Disclosure: A Clarification of the MIQE Guidelines. Clinical Chemistry 57 (2011) 919-921

8. Hruz, T.; Wyss, M.; Docquier, M.; Pfaffl, M.W.; Masanetz, S.; Borghi, L.; Verbrugghe, P.; Kalaydijeva, L.; Bleuler, S.; Laule, O.; Descombes, P.; Gruissem, W.; Zimmermann, P.: RefGenes: identification of reliable and condition specific reference genes for RT-qPCR data normalization. BMC Genomics 2011, 12:156

9. Farke, C.; Rattenberger, E.; Roiger, S.U.; Meyer, H.H.D.: Bovine colostrum: determination of naturally occurring steroid hormones by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS). Journal of Agricultural and Food Chemistry 59 (2011) 1423-1427

10. Ahrens F, Platz S, Link C, Mahling M, Meyer HH, Erhard MH.: Changes in hoof health and animal hygiene in a dairy herd after covering concrete slatted floor with slatted rubber mats: A case study. J Dairy Sci. 94 (2011) 2341-50

11. Brand, B.; Hartmann, A.; Repsilber, D.; Griesbeck-Zilch, B.; Wellnitz, O.; Kuhn, C.; Ponsuksili, S.; Meyer, H.H.D.; Schwerin, M.: Comparative expression profiling of E. coli and S. aureus inoculated primary mammary gland cells sampled from cows with different genetic predispositions for somatic cell score. Genetics Selection Evolution Genetics Selection Evolution 2011, 43:24

12. Groebner, A.E.; Schulke, K.; Schefold, J.C.; Fusch, G.; Sinowatz, F.; Reichenbach, H.D.; Wolf, E.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Immunological mechanisms to establish embryo tolerance in early bovine pregnancy. Reprod Fertil Dev. 23 (2011) 619-632

13. Masanetz, S.; Preißinger, W.; Meyer, H.H.D.; Pfaffl, M.W.: Effects of the prebiotics inulin and lactulose on intestinal immunology and hematology of preruminant calves. Animal 5 (2011) 1099-1106

14. Sehm, J.; Treutter, D.; Lindermayer, H.; Meyer, H.H.D.; Pfaffl, M.W.: The influence of apple- or red-grape pomace enriched piglet diet on blood parameters, bacterial colonization, and marker gene expression in piglet white blood cells. Food and Nutrition Sciences 2 (2011) 366-376

15. Velazquez, M.A.; Hadeler, K.-G.; Herrmann, D.; Kues, W.A.; Ulbrich, S.; Meyer, H.H.D.; Rémy, B.; Beckers, J.-F.; Sauerwein, H.; Niemann, H.: In vivo oocyte developmental competence is reduced in lean but not in obese superovulated dairy cows after intraovarian administration of IGF1. Reproduction 142 (2011) 41-52

16. Becker, C.; Reiter, M.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.; Bauer, J.; Meyer, K.H.D.: Expression of immune relevant genes in pigs under the influence of low doses of deoxynivalenol (DON). Mycotoxin Research 27 (2011) 287-293

17. Gruber, H.; Paul, V.; Guertler, P; Spiekers, H.; Tichopad, A.; Meyer, H.H.D.; Müller, M.: Fate of Cry1Ab protein in agricultural systems under slurry management of cows fed genetically modified maize (Zea mays L.) MON810: A quantitative Assessment. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59 (2011) 7135-7144

18. Castro, N.; Spengler, M.; Lollivier, V.; Wellnitz, O.; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M.: Diurnal pattern of melatonin in blood and milk of dairy cows. Milchwissenschaft 66 (2011) 352-353

19. Groebner, A.E.; Rubio-Aliaga, I.; Schulke, K.; Reichenbach, H.D.; Daniel, H.; Wolf, E.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Increase of essential amino acids in the bovine uterine lumen during preimplantation development. Reproduction 141 (2011) 685-695

20. Groebner, A.E.; Zakhartchenko, V.; Bauersachs, S.; Rubio-Aliaga, I.; Daniel, H.; Büttner, M.; Reichenbach, H.D.; Meyer, H.H.D.; Wolf, E.; Ulbrich, S.E.: Reduced Amino Acids in the bovine uterine lumen of cloned versus in vitro fertilized pregnancies prior to implantation. Cell Reprogram. 13 (2011) 403-410

21. Müller, J.; Thirion, C.; Pfaffl, M.W.: Electric cell-substrate impedance sensing (ECIS) based real-time measurement of titer dependent cytotoxicity induced by adenoviral vectors in an IPI-2I cell culture model. Biosensors and Bioelectronics 26 (2011) 2000-2005

22. Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.: The analysis of the transcriptome as a new approach for biomarker development to trace the abuse of anabolic steroid hormones. Drug Testing and Analysis 3 (2011) 676-681

23. Reiter, M.; Kirchner, b.; Müller, H.; Holzhauer, C.; Mann, W.; Pfaffl, M.W.: Quantification noise in single cell experiments. Nucleic Acids Research 39 (2011) e124

24. Lüttgenau, J.; Beindorff, N.; Ulbrich, S.E.; Kastelic, J.P.; Bollwein, H.: Low plasma progesterone concentrations are accompanied by reduced luteal blood flow and increased size of the dominant follicle in dairy cows. Theriogenology 76 (2011) 12-22

25. Lüttgenau, J.; Ulbrich, S.E.; Beindorff, N.; Honnens, A.; Herzog, K.; Bollwein, H.: Plasma progesterone concentrations in the mid-luteal phase are dependent on luteal size, but independent of luteal blood flow and gene expression in lactating dairy cows. Anim Reprod Sci. 125 (2011) 20-29

Mitteilungen für die Praxis

Pfaffl, M.W.: Die Real-Time-RT-PCR-Datenanalyse im Fokus der MIQE-Richtlinie. BIOspektrum 03.11, 17. Jahrgang

Reviews, Buchkapitel

Reiter, M.; Pfaffl, M.W.: RT-PCR Optimization Strategies.- In: PCR Troubleshooting and Optimization – The Essential Guide (Kennedy S, Oswald N.), Caister Academic Press, Norfolk, UK, (2011) 97-118, ISBN: 978-1-904455-72-1

Versuchsstation Veitshof

Adresse

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

Personal

Leitung:	o. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Heinrich H. D. Meyer	71-3508
Verwaltung:	Dipl.-Ing.agr. (FH) Martin Schmölz	
Sekretariat:	Dagmar Neumeier	
Arbeiter:	2	

Allgemeines

a) Bodennutzung

Landw. Nutzfläche:	96,3 ha	davon Ackerland:	50,3 ha
davon Pachtfläche	50,8 ha	Grünland:	46,0 ha

b) Viehbestand

Bestand am 31.12.2011

55 Kühe
10 Kalbinnen
36 Jungrinder
22 Kälber
---
123 Rinder
und 6 Ziegen

Die durchschnittliche Jahresmilchleistung betrug im Kontrolljahr lt. LKV:
9623 kg Milch, 344,3 kg Eiweiß, 3,58 % Eiweiß, 415,5 kg Fett, 4,32 % Fett

Lehr- und Forschungstätigkeit an der Versuchsstation Veitshof

Lehre

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

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

Folgende Seminare wurden durchgeführt:

Biostatistik und Chemometrie in der klinischen Forschung und Diagnostik

Fragestellungen und Forschungsansätze der Molekularen Physiologie

Forschung

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

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

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

Gewinnung von Muskelproben zur Untersuchung der Glucoseaufnahme im peripheren Gewebe

Etablierung einer Extraktionsmethode für miRNA aus Blut und Milch

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

Extraktion von Leukozyten aus der Milch während der Frühträchtigkeit

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

Gewinnung von Antikörpern gegen Laktoferrin, Interleukine-8, Interferon-tau sowie gegen Immunglobulin-G in Ziegen zur Entwicklung von Enzymimmunoassays

Lehrstuhl für BWL – Marketing und Konsumforschung

Adresse

Alte Akademie 16
D- 85354 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:	Dipl.-Ökotroph. Dittrich Juliane	-5087
	Dr. oec.troph Drescher Larissa	-3974
	PD Dr. Gedrich Kurt	-3985
	Ivanova Inna M.Sc.	-3316
	Truthmann Julia M.Sc.	-3316
	Dr. oec.troph Zängler Thomas	-5086
	Zell Christine M.Sc .	-4215
Doktoranden:	Aue Katja M.Sc.	-3297
	Bieberstein Andrea M.Sc.	-3577
	Köttl Barbara M.Sc.	-3949
	Mecking Rebecca M.Sc.	-3577
	Olearius Götz M.A.	-3972

Forschung

Einfluss der Einführung von ESL Milch auf das Einkaufsverhalten in Deutschland

Larissa Drescher und Jutta Roosen

Einleitung

Unter den schnelldrehenden Lebensmitteln ist traditionelle Frischmilch ein Ankerprodukt und hat daher für den deutschen Lebensmitteleinzelhandel eine besondere Bedeutung (LZ, 2005: LZ, 2007a). Alternativ zur frischen Milch wird seit Jahrzehnten H-Milch angeboten, die durch Ultrahocherhitzung wesentlich länger hält als frische Milch. Für viele Verbraucher ist die Haltbarkeit von Milch ein wichtiges Qualitätsmerkmal und hat dabei entscheidenden Einfluss auf die Einkaufshäufigkeit im Lebensmitteleinzelhandel.

Nachteilig auf die H-Milch Nachfrage wirkt sich der typische Kochgeschmack aus, der bei traditioneller Frischmilch fehlt. Als Antwort auf das Bedürfnis nach einer Milch mit auf der einen Seite längerer Haltbarkeit aber ohne den unerwünschten Kochgeschmack hat die Lebensmittelindustrie die ESL Milch (extended shelf life) entwickelt, die genau diese Anforderungen erfüllt. Die ESL Milch wird auch unter dem Begriff „längerfrische Milch“ vermarktet, d.h. im Gegensatz zur H-Milch behält die ESL Milch ihren Frischecharakter. Durch die längere Haltbarkeit wird Milch mehr zu einem Convenience Gut als zu einem frischen Produkt, das weniger häufig nachgekauft werden muss. Die Markteinführung der ESL Milch erfolgte überwiegend in der Zeit von 2005 bis 2007 und hat die traditionelle Frischmilch zunehmend aus dem Markt verdrängt (LZ, 2006). Viele deutsche Lebensmittelketten haben die traditionelle Frischmilch zugunsten der Bequemlichkeit der Verbraucher komplett mit einem Angebot aus ESL Milch substituiert (LZ, 2008). Neben dem Convenience Aspekt für die Konsumenten spielen dabei auch Vorteile in Distribution und Lagerung des länger haltbaren Produkts eine Rolle.

Die Vorteile der ESL Milch für Verbraucher, Handel und Hersteller sind deutlich. Die Verbraucher können die ESL Milch länger lagern und müssen die Milch weniger häufig einkaufen und realisieren dadurch eine Kosten- und Zeitersparnis ohne Geschmackseinbußen. Die Industrie kann den Anteil verdorbener Ware reduzieren. Außerdem wird die Planung der Warenströme durch die ESL Milch erleichtert (LZ, 2007b).

Die vorliegende Untersuchung geht der Frage nach, ob die Einführung der ESL Milch in Deutschland tatsächlich eine Veränderung des Einkaufsverhaltens bewirkt hat, d.h. gehen die Verbraucher nun seltener Milch einkaufen, da sie nun länger haltbar ist und bei gutem Geschmack verfügbar ist?

ESL Milch

Wie einleitend erwähnt, existieren unterschiedliche Milchsorten auf dem Markt. Im Folgenden wird genauer auf die Definition und Herstellung von traditioneller, H- sowie im Wesentlichen auf die ESL Frischmilch eingegangen. Es sei erwähnt, dass es weit mehr Herstellungsverfahren gibt als hier aus Platzgründen dargestellt werden.

Es gibt verschiedene Faktoren, die die Haltbarkeit von Milch beeinflussen wie z.B. Anzahl und Art der Mikroorganismen in der Milch als auch der Verpackung, die Temperatur zum Erhitzen der Milch als auch zum Lagern, sowie der Grad der Lichtaussetzung. Um die Haltbarkeit der Milch zu erhöhen können verschiedene Möglichkeiten angewendet werden, wie die Filtration mit der Mikro- oder Tiefenfiltration. Daneben gibt es die direkte oder indirekte Erhitzung.

Traditionelle Frischmilch wird 15-30 Sekunden bei 72°C-75°C erhitzt (pasteurisiert). Die Haltbarkeit im Kühlschrank beträgt bis zu 10 Tage (AID, 2008).

H-Milch wird entweder durch einen direkten oder indirekten Erhitzungsprozess erzeugt. Bei der indirekten Erhitzung fließt die Milch durch heiße metallische Rohre oder Platten bei einer Temperatur von 135°C-150°C für einen Zeitraum von einer bis drei Minuten (Ultrapasteurisation). Bei dem direkten Erhitzungsprozess werden Dampfinfusionen verwendet, ebenfalls bei 135°C-150°C und einer bis drei Minuten. Nach der Erhitzung wird die Milch gekühlt und abgefüllt. Die H-Milch ist frei von Erregern und hat eine Mindesthaltbarkeit von bis zu drei Monaten. Ein weiterer Vorteil ist, dass die Lagerung bei Raumtemperaturen möglich ist (AID, 2008).

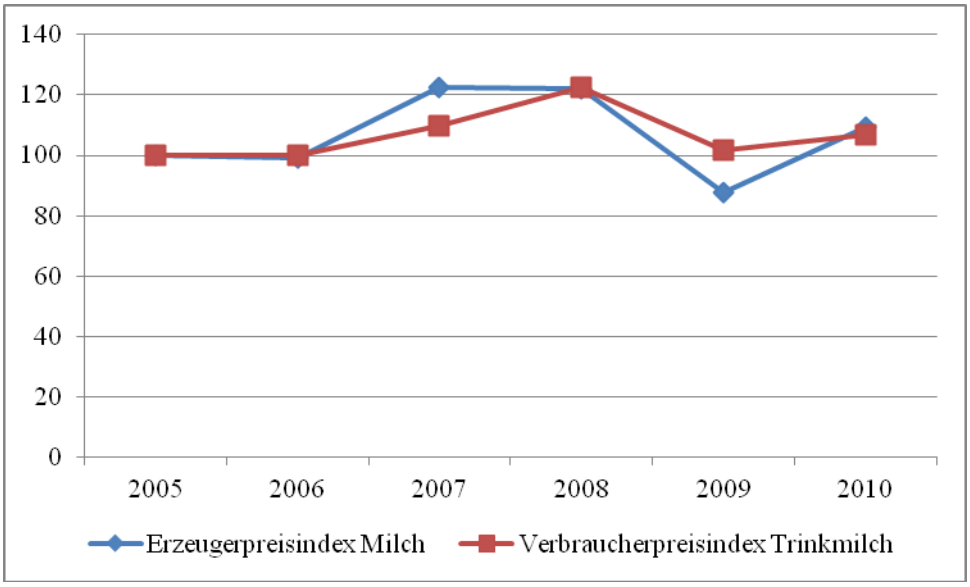
Für die **ESL Frischmilch** existiert bisher keine konsistente Definition. Sie wird verstanden als frische Milch mit längerer Haltbarkeit (Schwermann und Schwenzow, 2008). ESL Frischmilch wird innerhalb von einer bis fünf Sekunden bis zu einer Temperatur von 123°C-127°C erhitzt. Kurze Erhitzungs- und Abkühlungszeiten sind wichtig für die Qualität des Produktes. Die Milch wird in spezielle hochhygienische Milchtanks abgefüllt bei einer Maximaltemperatur von 5°C. Die Haltbarkeit beträgt bis zu 21 Tage und die Milch sollte bei 8°C gelagert werden (Schwermann und Schwenzow, 2008).

Die Technologie zur Herstellung von ESL Frischmilch stammt aus Nordamerika und sie ist nicht neu. Seit den 60er Jahren wurde sie dort zur Erzeugung von Schlag- und Kaffeesahne eingesetzt. In Deutschland wurde sie im Jahr 1996 erstmals eingeführt. ESL Milch wird als Frischmilch bezeichnet und daher ist es nur schwer möglich, die Verkaufs- oder Verbrauchsdaten von traditioneller Frischmilch und ESL Frischmilch zu trennen. Es wird allerdings geschätzt, dass der Anteil der ESL Milch heute bereits einen Markenanteil von 20% - 25% aufweist (Lorenzen et al., 2011).

Seit 2009 haben sich die Hersteller von Konsummilch freiwillig dazu verpflichtet, traditionelle Frischmilch mit dem Zusatz „traditionell hergestellt“ und ESL Frischmilch mit dem Zusatz „länger haltbar“ auf der Verpackung zu kennzeichnen (BMELV, 2012).

Der Markt für Milch

Insgesamt ist die Weltproduktion an Milch in den vergangenen Jahren als Reaktion auf eine steigende Nachfrage stark gestiegen. Die gestiegene Nachfrage wird hervorgerufen durch das Bevölkerungswachstum insbesondere in Entwicklungsländern sowie geänderte Verbrauchsmuster. Die EU-25 haben einen Anteil an der Milchproduktion von 21%. Neben Frankreich zählt Deutschland hierbei zu den größten europäischen Milchanbietern (FAO, 2008).



Quelle: AMI-Marktbilanz Milch (2011)

Abb. 1: Erzeuger- und Verbraucherpreisindex für Milch

Abbildung 1 verdeutlicht, dass der durchschnittliche Milchpreis für Erzeuger in Deutschland in den Jahren von 2005 bis 2010 sehr stark schwankte. Der Verbraucherpreis für Milch schwankte ebenfalls aber im Vergleich nicht so stark. Milch gilt als preisunelastisch, da Milch ein notwendiges Gut ist und die Nachfrage nach Milch wenig vom Preis beeinflussbar ist. Berechnungen von Preiselastizitäten für Milchprodukte in Deutschland ergeben kompensierte (unkompensierten) Preiselastizitäten in der Höhe von -0,78% (-1,00%) (Thiele, 2008).

Ein Blick auf die Entwicklung der weltweiten Milchnachfrage zeigt, dass auch zukünftig mit einer Nachfragesteigerung zu rechnen ist, im Wesentlichen ausgelöst durch steigende Nachfrage im außereuropäischen Bereich. Tabelle 1 zeigt den Konsummilchabsatz an private Haushalte in Deutschland auf Basis von Berechnungen der AMI differenziert nach Haltbarkeitsgrad.

Tabelle 1: Konsummilchabsatz an private Haushalte in Deutschland

	2008		2009		2010	
	Mio. l	Ø-Preis	Mio. l	Ø-Preis	Mio. l	Ø-Preis
Frischmilch	1.031,0	0,71	1.040,3	0,59	1.052,6	0,63
H-Milch	1.680,0	0,61	1.604,5	0,48	1.562,3	0,52

Quelle: AMI-Marktbilanz Milch (2011), S. 49

Analyse

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob die Einführung der ESL Frischmilch in Deutschland einen Einfluss auf die Einkaufshäufigkeit der Verbraucher (für Milch) hat.

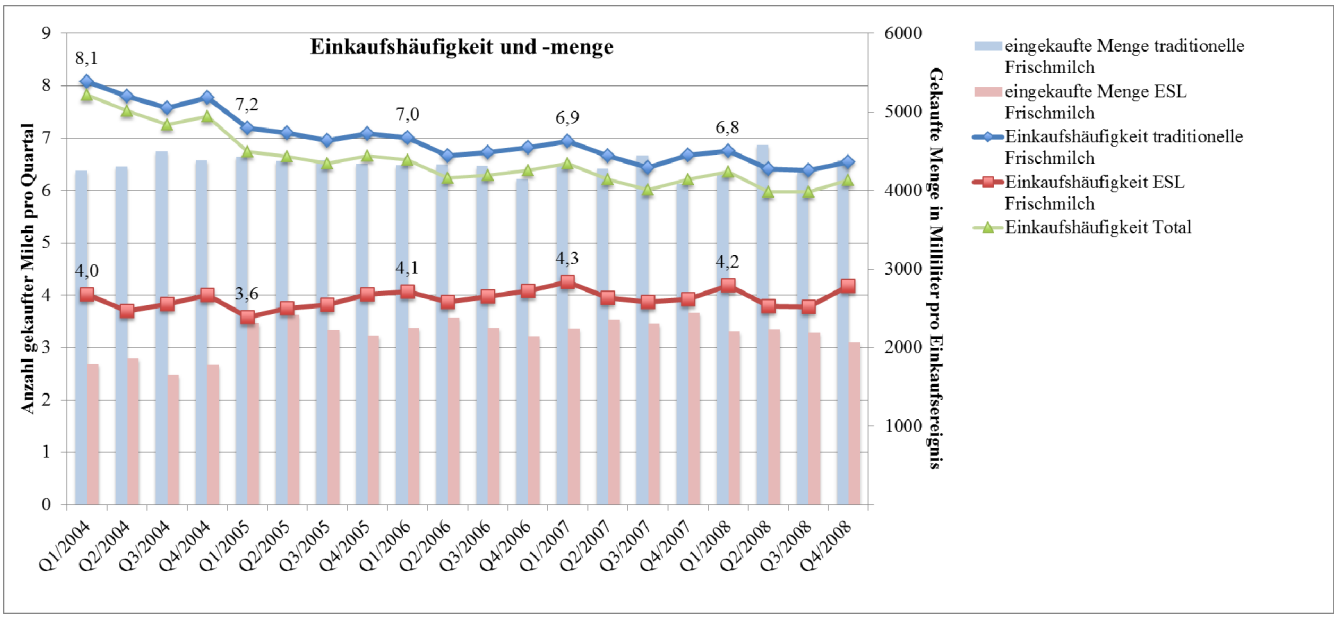
Bei den zur Analyse verwendeten Daten handelt es sich um das GfK Verbraucherpanel der Jahre 2004 bis 2008. In diesem Datensatz sind Informationen über die Einkäufe von Haushalten enthalten, die ihre Einkäufe mithilfe eines Barcodescanners zu Hause selbst einscannen.

Daneben sind verschiedene soziodemographische Charakteristika sowie Verhaltensinformationen der Haushalte vorhanden. Für die Einkäufe werden die folgenden Informatio-

nen erfasst: Artikelcode, Anzahl der gekauften Artikel, gezahlter Preis, Informationen über Verkaufsförderungsmaßnahmen, das Einkaufsdatum, sowie Informationen über die Einkaufsstätte. In dem für die Analyse vorliegenden Datensatz sind Einkaufsinformationen von im Durchschnitt 12.878 Haushalte vorhanden, wobei die Anzahl der erfassten Verbraucher von Jahr zu Jahr schwankt, d.h., es wird mit einem sogenannten unbalancierten Panel gerechnet (2004: 10.121 Haushalte; 2005: 11.463 Haushalte; 2006: 13.448 Haushalte; 2007: 14.685 Haushalte; 2008: 14.671 Haushalte). Die Analyse verwendet aggregierte Daten auf Haushaltsebene. Um für Panelschiefe zu kontrollieren und Repräsentativität zu erreichen, werden die Analysen mit einem speziell für den Datensatz erzeugten Gewicht angepasst. Für die Analysen werden nur die Daten der Frischmilcheinkäufe (traditionelle und ESL Frischmilch) herangezogen.

Bei dem vorliegenden Datensatz liegt das Problem vor, dass die Herstellungsform als ESL Frischmilch in diesem nicht konsequent erfasst wurde und daher unter Umständen als traditionelle Frischmilch im Datensatz klassifiziert ist. Punktrecherchen deuten darauf hin, dass einige Hersteller ihre Milch als ESL Frischmilch anbieten aber dies nicht kennzeichnen. Es muss also davon ausgegangen werden, dass der Anteil der in dieser Arbeit angegebenen ESL Frischmilch tatsächlich höher liegt. Die Daten wurden zur besseren Übersichtlichkeit in insgesamt 20 Quartale eingeteilt.

Abbildung 2 zeigt die Einkaufsmenge und -häufigkeit der untersuchten Milcharten (traditionelle Frischmilch und ESL Frischmilch) im Zeitraum von 2004 bis 2008.



Quelle: eigene Darstellung

Abb. 2: Einkaufsmenge und -häufigkeit verschiedener Milcharten

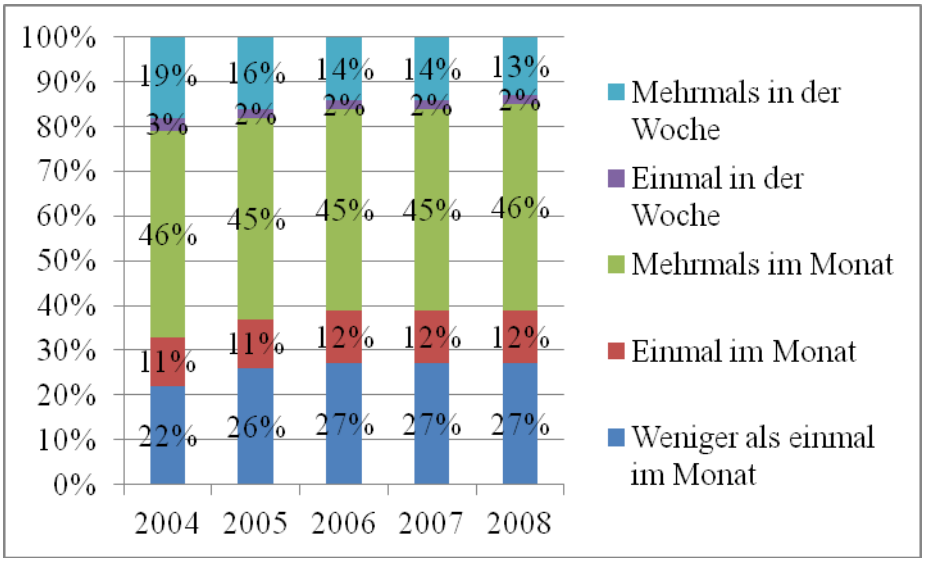
Die blaue Linie zeigt die Werte für traditionelle Frischmilch. Die Abbildung zeigt, dass Haushalte im ersten Quartal des Jahres 2004 im Durchschnitt 8,1-mal traditionelle Frischmilch eingekauft haben. Über den Zeitablauf ist die Einkaufshäufigkeit von traditioneller Frischmilch stetig zurückgegangen. Im letzten beobachteten Quartal liegt die Einkaufshäufigkeit bei 6,5. Im Zeitablauf zeigen sich Schwankungen in der Einkaufs-häufigkeit, mit der niedrigsten Einkaufshäufigkeit von 6,4 in den Quartalen Q3/2007, Q2/2008 und Q3/2008.

Über die fünf Jahre gerechnet ist es zu einem Rückgang der Einkaufshäufigkeit von 24,6% gekommen.

Die rote Linie steht für die Einkaufsmenge und –häufigkeitswerte für ESL Frischmilch. Es zeigen sich insgesamt stabilere Werte für die Einkaufshäufigkeiten dieses Milchtyps. Die Werte schwanken zwischen einem Maximum von 4,3 in Q1/2007 und einem Minimum von 3,6 in Q1/2005. Im letzten Quartal haben die Haushalte im Durchschnitt 4,2-mal ESL Frischmilch eingekauft.

Die Einkaufshäufigkeit des gesamten Frischmilchsegments ist mit der grünen Linie gekennzeichnet und sie folgt den Schwankungen der blauen Linie für traditionelle Frischmilch. Ein Blick auf die durchschnittlich gekaufte Menge an Milch pro Quartal zeigt gemäß Abbildung 2 für traditionelle Frischmilch stabile Werte mit ca. 4 Litern (4000 Milliliter) pro Quartal. Die Entwicklung der gekauften ESL Frischmilch pro Quartal verdeutlicht einen Anstieg von 1,79 Liter zu Beginn der Zeitreihe Q1/2004 auf über 2 Liter im letzten Quartal (Q4/2008).

Für einen besseren Eindruck über die Verteilung der Einkaufshäufigkeit von traditioneller Frischmilch ist die Einkaufshäufigkeit in Abbildung 3 nach unterschiedlichen Zeitintervallen aufgeteilt.



Quelle: eigene Darstellung

Abb. 3: Verteilung der Einkaufshäufigkeit für traditionelle Frischmilch nach Zeitintervallen

Über den Zeitverlauf zeigt sich, dass die traditionelle Frischmilch seltener eingekauft wird. Haben in 2004 noch 19% der Haushalte die traditionelle Frischmilch mehrmals in der Woche gekauft, liegt der Wert in 2008 nur noch bei 13%. Zugenommen hat dagegen der Anteil der Haushalte, die traditionelle Frischmilch weniger als einmal im Monat kaufen (von 22% in 2004 auf 27% in 2008).

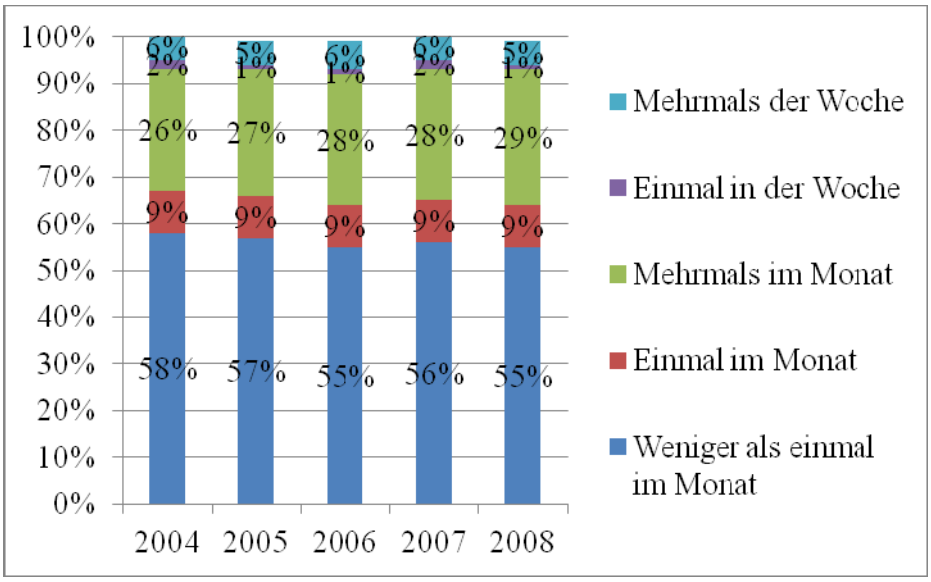


Abb. 4: Verteilung der Einkaufshäufigkeit für ESL Frischmilch nach Zeitintervallen

Die Mehrheit der Haushalte kauft ESL Frischmilch weniger als einmal im Monat ein (58%-55%) und knapp 30% mehrmals im Monat. Die längere Haltbarkeit der ESL Frischmilch kann hier der Grund dafür sein.

Abbildung 5 zeigt die durchschnittliche Preisentwicklung in der Frischmilchkategorie.

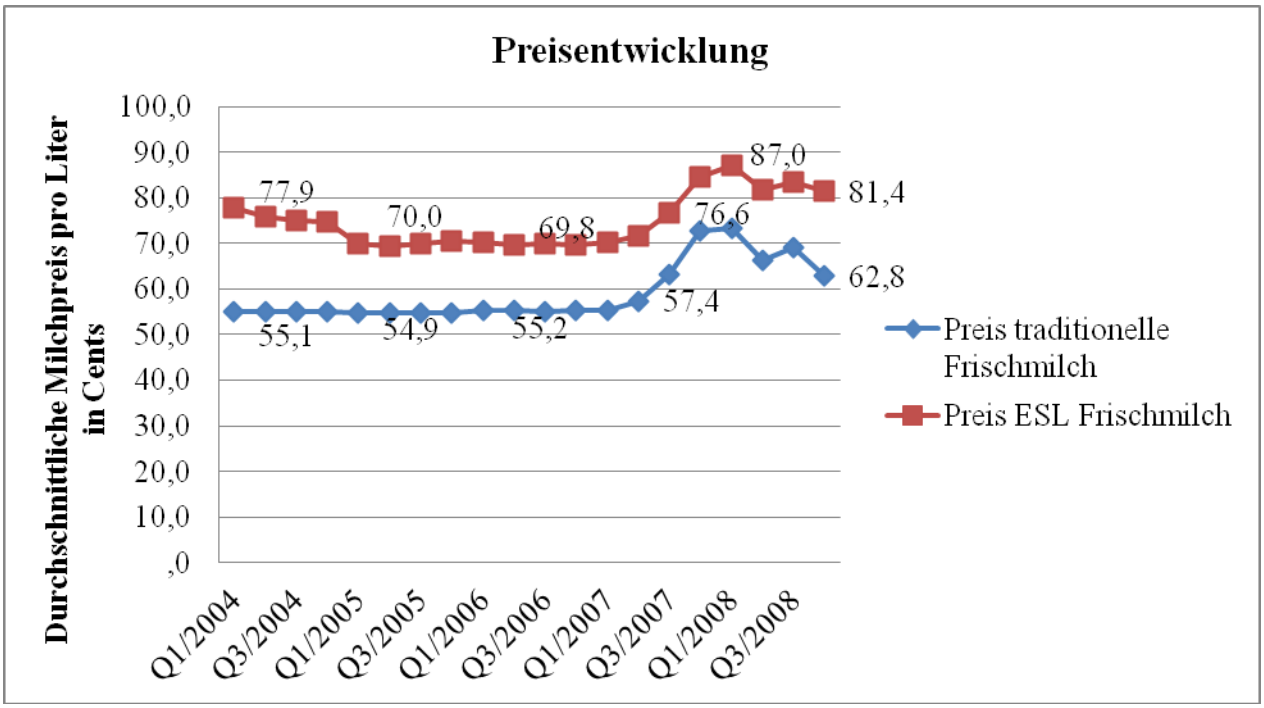


Abb. 5: Preisentwicklung für traditionelle und ESL Frischmilch

Abbildung 5 verdeutlicht, dass die ESL Milch einen deutlichen Preisvorteil gegenüber der traditionellen Frischmilch aufweist. Dabei ist dieses Ergebnis mit Vorsicht zu interpretieren, da wie oben ausgeführt, nicht alle Marken die ESL Frischmilch als solche im Datensatz ausgewiesen haben. Im Zeitablauf gab es für die ESL Frischmilch dennoch zunächst einen Preisrückgang von 78 Cents zu Beginn der Zeitreihe auf unter 69,6 Cents im vierten Quartal 2006.

Es lässt sich ein Preisanstieg ab dem dritten Quartal in 2007 festhalten. Der höchste Preis pro Liter ESL Frischmilch zeigte sich mit 87 Cents im ersten Quartal 2008. Durchschnittlich kostet ein Liter ESL Frischmilch über den gesamten Zeitraum betrachtet 75,2 Cents.

Die Linie für die traditionelle Frischmilch zeigt zu Beginn eine stabilere Preisentwicklung und liegt für einen langen Zeitraum um die 55 Cents. Parallel zum Preisanstieg der ESL Milch zeigt sich auch ab dem dritten Quartal 2007 für die traditionelle Milch ein Preisanstieg. Der höchste traditionelle Frischmilchpreis liegt bei 73,2 Cents in Q2/2008. Der Durchschnittspreis für traditionelle Frischmilch über alle 20 Quartale beträgt 59,4 Cents.

Für ein tiefergehendendes Verständnis sind multivariate Analysen durchgeführt worden mit dem Ziel, die Determinanten der Einkaufshäufigkeit zu identifizieren. Eine große Anzahl an erklärenden Variablen wurde in das Modell aufgenommen, allerdings wird nur eine Auswahl der Ergebnisse aus Platzgründen präsentiert. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der multivariaten Regression dargestellt.

Tabelle 2: Ausgewählte Ergebnisse multivariater Regression zur Erklärung der Einkaufshäufigkeit

	Einkaufshäufigkeit pro Quartal β – Koeffizient (t- Wert)
Preis pro Liter	0,091** (141,74)
ESL Dummy	-1,475*** (-70,92)
Durchschnittlich eingekaufte Menge pro Einkaufsereignis	-0,801*** (-474,90)
Haushaltsgröße	-0,242*** (-22,34)
R^2	57,6%
F-value	13929,306***

Bemerkungen: Modell weiterhin kontrolliert für Lebenswelten der Haushalte und Quartale. *** Signifikanzniveau kleiner 1%, ** Signifikanzniveau kleiner 5%.

Die Regression zeigt, dass ein hoher Milchpreis die Einkaufshäufigkeit erhöht. Es erscheint einleuchtend, dass die Verbraucher bei hohen Preisen nicht auf Vorrat kaufen sondern auf niedrigere Preise warten. Kaufen die Verbraucher ESL Frischmilch so wird die Einkaufshäufigkeit reduziert. Dies zeigt, dass die Einführung der ESL Milch in Deutschland tatsächlich zu einer signifikanten Reduzierung der Einkaufshäufigkeit führt. Ob es sicher hierbei um einen Trend handelt, der kausal durch die Einführung der ESL Milch erzeugt wurde, oder ob es sich um eine weitflächigere Veränderung des Einkaufsverhaltens handelt, lässt sich hier nicht feststellen. Je mehr Milch ein Haushalt pro Einkauf erwirbt, um sie weniger oft gehen diese Haushalte einkaufen. Eine höhere eingekaufte Menge bedeutet Vorratshaltung und reduziert die Notwendigkeit eines weiteren Einkaufs.

Größere Haushalte kaufen weniger häufig ein als kleinere Haushalte. Dies lässt sich vermutlich darauf zurückführen, dass größere Haushalte größere Mengen und auch eher auf Vorrat kaufen als kleinere Haushalte.

Zusammenfassung

Diese Arbeit beleuchtet die Auswirkung der Einführung der sogenannten „extended shelf life" ESL Frischmilch in den deutschen Lebensmitteleinzelhandel auf die Einkaufshäufigkeit. Im Vergleich zur traditionellen Frischmilch hat die ESL Frischmilch den Vorteil der längeren Haltbarkeit und sie weist einen besseren Geschmack auf als die über Monate lang haltbare H-Milch. Die Nachfrage nach insbesondere Frischmilch in Deutschland ist in den letzten Jahren zwar zurückgegangen, dennoch ist Deutschland derzeit größter europäischer Milchanbieter.

Auf Basis von Daten des GfK Verbraucherpanels der Jahre 2004 bis 2008 wurde die Einkaufshäufigkeit von Frischmilch (traditionelle Frischmilch und ESL Frischmilch) mithilfe der Einkaufsereignisse von durchschnittlich 12.878 Haushalten untersucht. Es bestätigt sich ein Rückgang der Einkaufshäufigkeit für traditionelle Frischmilch innerhalb von 20 untersuchten Quartalen (8,1-mal im ersten betrachteten Quartal im Vergleich zu 6,5-mal im letzten betrachteten Quartal). Während in 2004 noch 19% der Haushalte traditionelle Frischmilch mehrmals in der Woche gekauft haben, sind es in 2008 nur noch 13%. Für die ESL Frischmilch ist die Einkaufshäufigkeit allerdings stabil bei ca. 4-mal je betrachtetes Quartal. Die Mehrheit der Haushalte kauft ESL Frischmilch weniger als einmal im Monat ein (58%-55%) und knapp 30% mehrmals im Monat.

Ein Blick auf die Preisentwicklung in der Frischmilchkategorie verdeutlicht, dass die Verbraucher für den Conveniencecharakter der ESL Frischmilch mehr zahlen müssen als für die traditionelle Frischmilch. Durchschnittlich kostet ein Liter ESL Milch 75,2 Cents im Vergleich zu 59,4 Cents für traditionelle Frischmilch.

Eine multivariate Regression bestätigt einen signifikant negativen Effekt der ESL Frischmilch auf die Einkaufshäufigkeit der Haushalte im Vergleich zur traditionellen Frischmilch. Ein hoher Milchpreis dagegen erhöht die Einkaufshäufigkeit. Weiterhin zeigen die Ergebnisse, dass eine höhere eingekaufte Menge zu einer Reduzierung der Einkaufshäufigkeit führt. Auch kaufen größerer Haushalte weniger häufig ein als kleinere Haushalte.

Danksagung

Wir danken Felix Neher, Rabea Mester und Christine Vogt für wissenschaftliche Mitarbeit an dem vorliegenden Artikel.
Wir danken der GfK für die Zusammenarbeit im Rahmen des Projekts „Preisbildung im Lebensmitteleinzelhandel" und die in den Analysen genutzten Daten der GfK PS.

Literatur

AID (2008): Reinigung, Wärmebehandlung und Homogenisierung in der Molkerei. Stand 12.12.2008.
http://www.waswiressen.de/abisz/milch_verarbeitung_milchbehandlung_molkerei.php, Zugang am 01.02.2012.

AMI-Marktbilanz Milch (2011): Agrarmarkt Informations-Gesellschaft mbH, Markt Bilanz. Milch 2011. Bonn.

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (2012): ESL-Milch: Klare Kennzeichnung für Verbraucher.

http://www.bmelv.de/SharedDocs/Standardartikel/Ernaehrung/ESLMilch.html, Zugang: 08.02.2012.

FAO (Food and Agriculture Organization) (2008): Global Dairy Sector: Status and Trends, Chapter 2 http://www.fao.org/docrep/012/i1522e/i1522e02.pdf, Zugang: 01.02.2012.

LZ (Lebensmittelzeitung) (2005): Umwälzung im Trinkmilchangebot. 05.05.2005.

LZ (Lebensmittelzeitung) (2006): ESL-Milch: Gigantische Wachstumsraten. 17. Februar 2006.

LZ (Lebensmittelzeitung) (2007a): Trinkmilch: In Zukunft immer länger frisch. 28. September 2007.

LZ (Lebensmittelzeitung) (2007b): Aldi: Stellt um auf ESL-Milch. 28. Juni 2007.

LZ (Lebensmittelzeitung) (2008): Lagerstreit Längerfrische. 6. November 2008.

Lorenzen, P. C.; Clawin-Rädecker, I.; Einhoff, K.; Hammer, P.; Hartmann, R.; Hoffmann,

W. (2011): A survey of the quality of extended shelf life (ESL) milk in relation to

HTST and UHT milk. In: International Journal of Dairy Technology, Vol. 64, No. 2, 166–187.

Schwermann, S. und Schwenzow, U. (2008): Verfahrenskonzepte zur Herstellung von ESL-Milch, Teil 1 – Teil 3. In: Deutsche Milchwirtschaft, Vol. 59, No.11, 12, 13, S. 384-391, 428-432, 462-467.

Thiele, S. (2008): Elastizitäten der Nachfrage privater Haushalte nach Nahrungsmitteln – Schätzung eines AIDS auf Basis der Einkommens- und Verbrauchsstichprobe 2003. In: Agrarwirtschaft, 57, 5, 258-268.

Masterarbeiten

Bathily Diadié: Amélioration de la commercialisation des produits locaux d'origine animale et gestion des ressources zoogénétiques en Afrique de l'Quest

Bohne Thomsen, Soren Rikke: Influencing consumers' perceptions of and attitudes towards CO2 neutral and Biodegradable carrier bags

Cate Elina: Patterns in Lead User Innovation: the Case of Winter Windsurfing

Cirak Pinar: Die Rolle der Frau bei Kaufentscheidungen in einer Familie

Gunzer Anne: Conscious Consumers as Target Group in Sustainable Tourism Marketing

Hofmann Ann-Sophie: The impact of age and gender on cognitions with regard to pesticides An analysis on the basis of the laddering-technique

Kuklinski Juliane: Patient Compliance in der medikamentösen Behandlung der Hypertonie

Kügle Katharina: Preissensibilität gegenüber Servicehotlines

Knappe Cornelius: Marketingmanagement in the German National League - The kids club as a platform for members in infancy and adolescence, shown by the TSV München von 1860 GmbH & Co. KGaA

Li Li: A theoretical Approach to Understand Globalised Consumption

Morales Arevalo Veronika: Impact of organic milk prices on the prices of conventional milk

Schneider Norbert: Kosten-Nutzen-Analysen der internetbasierten Informationsplattform des Fleischprüfrings Bayern e.V. am Beispiel der Schweinemast

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

Bachelor-Thesis

Dähn Selina: Nanotechnologie in Lebensmitteln – eine Betrachtung aus Sicht der Lebensmitteltechnologie/ -industrie, der Verbraucher und der Gesetzgebung
Prosser Christine: Motives behind Food Choice: A Comparison between Canada and Germany
based on the Food Choice Questionnaire

Schrempf Sonja: Internetinformationsangebote in der Ernährungsindustrie
Woortmann Veronika: Die Erstellung von Fragebögen zur Nutzerevaluierung der "Informations-plattform Qualifood" des Fleischprüfring Bayern e.V.

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

Akzeptanz von Innovationen im Lebensmittelsektor – ein Vergleich zwischen Frankreich und Deutschland am Beispiel der Nanotechnologie
Bieberstein, A., Roosen, J., Marette, S., Blanchemanche, S. and Vandermoere, F.: Ernährungsumschau 6 (2011) 290-296.

Characteristics of loyal customers for food retail chains in Germany
Götz Olearius, Nova Publishers. Editor: G. George Baourakis, Buchbeitrag pp. 305-318

Cross-national adoption of private food quality standards
Herzfeld, T., Drescher, L.S., Grebitus, C.: Food Policy 36 (3) (2011) 401-411. doi:10.1016/j.foodpol.2011.03.006

Health consciousness, costs of behaviour and the purchase of organic food.
Kriwy, Peter; Mecking, Rebecca: International Journal of Consumer Studies, 36,1 (2012): S. 30-37.

The Combination of Lab and Field Experiments for Benefit-Cost Analysis
Marette, S., Roosen, J., Blanchemanche, S.: Journal of Benefit-Cost Analysis 2(3) (2011) Article 2
Making the „right choice based on experiments: regulatory decisions for food and health
Roosen, J., Marette, S.: European Review of Agricultural Economics 38, 3 (2011) 361-381.

The Effect of Information Choice and Discussion on Consumers' Willingness-to-Pay for Nanotechnologies in Food
Roosen, J., Bieberstein, A., Marette, S., Blanchemanche, S., Vandermoere, F.: Journal of Agricultural and Resource Economics, 36, 2 (2011) 364-376.

Weitere Veröffentlichungen

Buchbeiträge

Bieberstein, A., Vandermore, F., Roosen, J., Blanchemanche, S. and Marette, S. (2011). Revisiting social trust with regard to gendered perception of new food technologies: The case of nanofood. In: Curtis, B. (ed.): Psychology of Trust, Nova Press, USA: chapter 8.

Zängler, Thomas W.: Freizeitmobilität und Freizeitverkehr. In: Oliver Schwedes (Hrsg.): Verkehrspolitik: Eine interdisziplinäre Einführung. Wiesbaden: VS, 2011, S. 297-316

Vorträge

Olearius, G., J. Roosen, L.S. Drescher, 2011. **A Hazard Analysis of Consumers' Switching Behaviour in German Food Retailing for Dairy Products.** Presentation at the Gewisola Tagung: „Unternehmerische Landwirtschaft zwischen Marktanforderungen und gesellschaftlichen Erwartungen", Halle, 28. bis 30. September 2011.

Postervorstellung und Tagungsbandbeitrag anlässlich der 51. Jahrestagung der GEWISOLA „Unternehmerische Landwirtschaft zwischen Marktanforderungen und gesellschaftlichen Erwartungen", Halle, 28. bis 30. September 2011: **Regionaler Wettbewerb im Lebensmitteleinzelhandel: Auswirkungen regionaler Einkaufsgewohnheiten und Soziodemographika auf die Struktur im Lebensmitteleinzelhandel.** Götz Olearius, Jutta Roosen.

Aue, K., Drescher L.S., Roosen J., (2011): **Poverty and health behavior - a dynamic analysis.** Presented for oral presentation at the international Health Economics Association (iHEA) Congress July 11-13, Toronto, Canada

Aue, K. (2011): **Dynamische Aspekte der Armut und ihre Auswirkungen auf das Gesundheitsverhalten.** Vorgestellt beim Workshop der Deutschen Gesellschaft für Hauswirtschaft (DGH) Referenzbudgets aus verschiedenen Perspektiven, 19. - 20. Mai 2011, Freising.

Bieberstein, A., Vandermore, F., Roosen, J., Blanchemanche, S., Marette, S. (2011). **Perception of Nanotechnology, Trust and Knowledge: The role of social trust and gendered perception of new food technologies.** Presentation at the Annual Meeting of the Agricultural and Applied Economics Association, Pittsburgh, July 2011.
Drescher, L.S., Goddard, E.W. (2011): **Trust in people and institutions and willingness to pay for local and traceable beef in restaurants.** Organised Session Paper presented at the 13th EAAE Congress "Change and Uncertainty", September 2, 2011 Zurich, Switzerland.

Drescher, L.S., Marette, S., Roosen J. (2011): **Consumer acceptance of traffic-light labelling on food vs. financial products.** Selected Paper presented at the 13th EAAE Congress "Change and Uncertainty", August 31, 2011 Zurich, Switzerland.
Drescher, L.S., Goddard, E.W., Fernando, J. (2011): **The Canadian Listeriosis outbreak and food away from home consumption.** Track Session Paper presented at the 2011 AAEA & NAREA Joint Annual Meeting, July 26, 2011, Pittsburgh, USA.

Drescher, L.S., Marette, S., Roosen, J. (2011): **The role of information search and involvement for traffic-light label usage and food choices.** EAAE Track Session Paper presented at the 2011 AAEA & NAREA Joint Annual Meeting, July 25, 2011, Pittsburgh, USA.

Drescher, L.S., Goddard, E.W., Fernando, J (2011): **Children's Nutrition and Food Away from Home in Canada.** Short Oral Presentation and Poster at the 8th World Congress on Health Economics, July 11, 2011, Toronto, Canada.

Drescher, L.S., Goddard, E.W., Fernando, J (2011): **Children's Nutrition and Food Away from Home in Canada.** Selected Paper at the 5th Annual Conference of the American Association of Wine Economists, June 24, 2011, Bolzano, Italy.

Roosen, J., L.S. Drescher, 2011. **Consumer motives and expectations regarding organic food consumption.** Focus Balkans, 2nd Open Seminar. Brussels, 23 September.

Roosen, J. S. Marette, 2011. **Making the 'right' choice based on experiments: regulatory decisions for food and health.** Plenary Presentation at the Congress of the European Association of Agricultural Economists, 30 Aug-2 Sept, Zurich.

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:	Dr. Nicole Büchl *(bis 31.05.2011)*	-5570
	PD Dr. Thilo Fuchs	-3859
	Dr. Genia Lücking *(ab 07.10.2011 Mutteschutz/Elternzeit)*	-5091
	Dr. Stefanie Müller	-3945
	Dr. Klaus Neuhaus	-3945
	Dr. Kristina Schauer *(bis 31.08.2011)*	-3859
	Dr. Herbert Seiler *(Teilzeit)*	-2257
	Dr. Mareike Wenning	-2257
Doktoranden:	Dipl.Biol. Tobias Bauer	-5091
	Dipl.Biol. Lea Fellner	-3945
	Dipl.Biol. Elrike Frenzel *(bis 31.03.2011)*	-3518
	Dipl.Biol. Daniela Kaspar	-3851
	M.Sc. Tanja Kern *(ab 15.09.2011)*	-3859
	Dipl.Biol. Anna Krementowski	-3851
	Dipl.Biol. Richard Landstorfer	-3945
	Dipl.oec.troph. Evi Lang Halter	-2257
	Dipl.Bio. Mario von Neubeck *(ab 15.09.2011)*	-5570
	Mag.rer.nat. Gernot Rieser *(bis 31.05.2011)*	-5570
	Dipl.Biol. Johannes Rothhardt *(ab 01.03.2011)*	-3859
	Dipl.oec.troph. Verena Schmidt *(bis 30.04.2011)*	-5570
Technische Mitarbeiter	Daniela Eder	-3520
	Angela Felsl *(Teilzeit)*	-5357
	Rita Festl *(bis 30.06.2011)*	-5566
	Petra Hartberger *(Teilzeit)*	-5563
	Gertrud Huith *(Teilzeit)*	-3946
	Sonja Kattner	-5098
	Angela Kempe *(Teilzeit)*	-5566
	Hildegard Maier *(Teilzeit)*	-5564

Polte Christine	-3504
Lisa Rieder	-5098
Patrick Schiwek	-3517
Laura Tschernek (Azubi) *(bis 31.08.2011)*	-3520
Romy Wecko	-3520

Einführung

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

Die Arbeiten an Krankheitserregern reichen von der ökogenetischen Grundlagenforschung am Lehrstuhl bis hin zu stark angewandten, lebensmitteltechnologisch relevanten Fragestellungen in der Abteilung Mikrobiologie am ZIEL. In der Mehrzahl der Projekte werden gentechnische und molekularbiologische Techniken eingesetzt. Unsere praxis-bezogenen Forschungsarbeiten werden vielfach in enger Kooperation mit der Industrie durchgeführt.

Die mikrobiologische Unbedenklichkeit ist eines der maßgebenden Qualitätskriterien bei der Beurteilung von Lebensmitteln. Ein Aufgabenbereich der Abteilung erstreckt sich auf Dienstleistungen, insbesondere mikrobielle Diagnostik aller Art für die Lebensmittelindustrie, verbunden mit einer intensiven Beratung bei mikrobiologisch verursachten Produktionsstörungen. Unsere Diagnostikabteilung wird von Dr. Mareike Wenning geleitet (Tel. 71-2257).

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

Forschung

Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Habitaten

Gruppenleiterin: Mareike Wenning

Der Fokus der Forschungsgruppe liegt auf den Mikrobiota unterschiedlicher Habitate wie Rohmilch und daraus entstehender Produkte, Wein oder dem pharmazeutischen Produktionsumfeld, wobei sowohl die Erfassung und Beschreibung der Biodiversität als auch die Analyse von Populationsveränderungen oder Stabilitäten innerhalb der Floren von Interesse sind. Hier konzentrieren wir uns nicht nur auf die Bestimmung der Speziesebene, sondern Typisieren auch unterhalb der Artgrenze.

Für die Analyse der Artzusammensetzungen wird hauptsächlich FTIR-Spektroskopie genutzt, die als phänotypische Fingerprinting-Methode auch zur Typisierung und aufgrund hoher Automatisierung gut zur Bewältigung hoher Probenaufkommen geeignet ist. Ergänzend kommen molekularbiologische Techniken wie die Sequenzierung unterschiedlicher house-keeping-Gene oder RAPD-Analysen hinzu.

Diversität, Stabilität und Variabilität von Rohmilch-Mikrobiota eines einzelnen Hofes
Diversity, stability and variability of raw milk microbiota of a single farm
Verena Schmidt

Über die Zusammensetzung von Rohmilch-Mikrobiota ist trotz jahrzehntelanger Forschung bis dato nur relativ wenig bekannt. Auch Angaben darüber, ob Hof-spezifische Floren existieren und in wie weit diese konstant sind, liegen kaum vor. Um allerdings wirksame Strategien zur Verbesserung der Rohmilchqualität zu entwickeln, ist mehr Wissen über die Zusammensetzung und Variabilität bzw. Stabilität der Mikrobiota vonnöten, da die mikrobiologische Qualität von Rohmilch erheblichen Einfluss auf die Qualität der daraus hergestellten Produkte hat. Um hier einen Eindruck zu gewinnen, wurden die Mikrobiota von frischer Rohmilch eines einzelnen Hofes sechsmal innerhalb eines Zeitraumes von 15 Monaten untersucht. Jede Stichprobe umfasste 100 Isolate, die zufallsbedingt ausgewählt und mit FTIR-Spektroskopie und 16S rDNA-Sequenzierung identifiziert wurden.

Alle Proben wurden von Gram-positiven Nicht-Sporenbildnern dominiert und die häufigsten Gattungen waren *Corynebacterium*, *Kocuria*, *Brevibacterium*, *Staphylococcus* und *Lactococcus*. Gram-negative Bakterien und Hefen wurden auch nachgewiesen, waren allerdings in der Minorität. Insgesamt wurden 106 Arten detektiert, wobei die Biodiversität der Proben zwischen 27 und 44 detektierten Spezies pro Probe schwankte. 59% aller Arten kamen jeweils nur in einer einzigen Probe vor und hier meist nur in geringen Anteilen von 1-3%. Wird die Zunahme an detektierten Arten mit steigender Probenzahl aufgetragen (Abb. 1), so ist zu erkennen, dass sie auch nach sechs Probenahmen immer noch linear ansteigt, was bedeutet, dass die Biodiversität des Habitats nicht annähernd vollständig erfasst wurde, da die Kurve andernfalls einen abflachenden Verlauf nehmen würde. Ein Grund hierfür könnte in der Stichprobengröße liegen, die mit 100 Isolaten pro Probe zwar nicht klein, für die vorhandene Biodiversität aber wohl auch nicht ausreichend war. Zudem war ein nicht unerheblicher Teil der Arten höchstwahrscheinlich transient und ist nur in einer Probe aufgetaucht und dann wieder verschwunden. Im vorliegenden Fall wird es sich vermutlich um eine Kombination aus beiden Aspekten gehandelt haben und um hier genauere Aussagen treffen zu können, müsste mit weit größeren Stichproben gearbeitet werden.

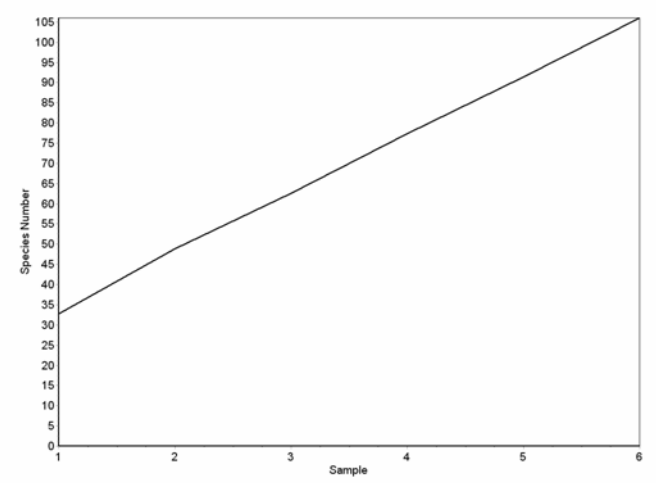


Abb.1: Species accumulation curve. Die Kurve zeigt die Zunahme an detektierten Spezies mit steigender Zahl der Probenahmen.

Dennoch konnten zwischen den Mikrobiota auch Überlappungen festgestellt werden, da einige Arten in mehreren Proben detektiert wurden. Generell lag der Overlap zwischen zwei Proben bei 8-16 Arten, was ca. einem Drittel der detektierten Spezies entspricht; das Ausmaß der Übereinstimmung war jedoch unabhängig von der zeitlichen Nähe der Probenahmen. Der kürzeste Abstand zwischen zwei Proben betrug zwei, der größte 251 Tage und die jeweiligen Überlappungen 12 bzw. 16 Arten. Für einige Spezies ergab ein Vergleich der FTIR-Spektren von Isolaten aus unterschiedlichen Proben zudem große Ähnlichkeiten und einige dieser Organismen wurden mit RAPD und rep-PCR weitergehend typisiert. Hier stellte sich heraus, dass z.B. für *Staphylococcus warneri* sowohl phänotypisch als auch genotypisch deckungsgleiche Profile erzeugt wurden (Abb. 2), was den Schluss nahe legt, dass es sich um identische Isolate handelt. Dies ist besonders bemerkenswert, da die Isolation über einen Zeitraum von zwölf Monaten erfolgte und es deshalb sehr wahrscheinlich ist, dass es sich um einen in der Herde bzw. dem Stall persistierenden Stamm gehandelt hat.

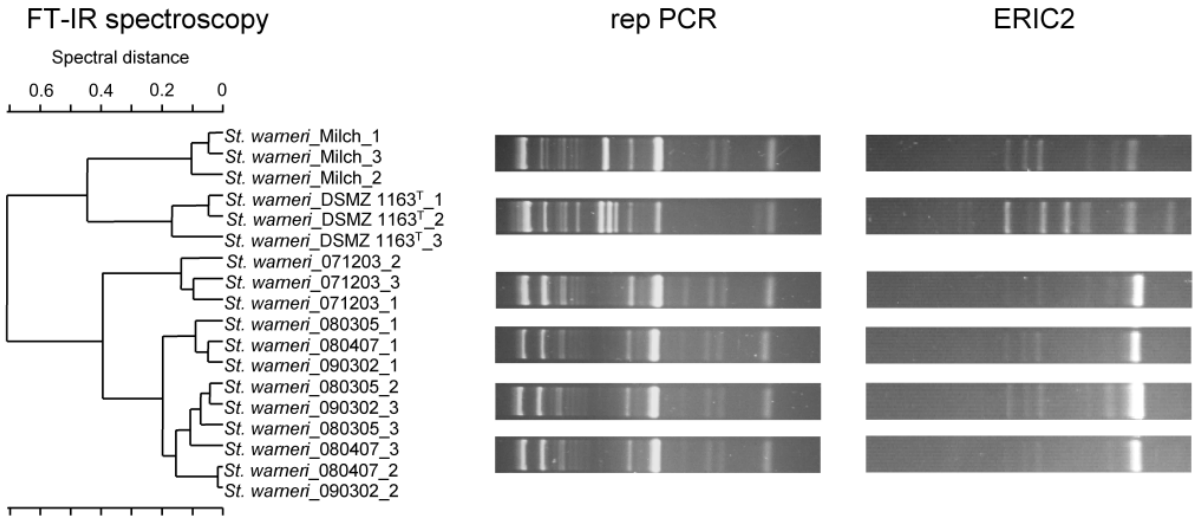


Abb.2: Typisierung von vier *Staphylococcus warneri*-Isolaten dieser Studie und zwei Vergleichsstämmen mit FTIR-Spektroskopie und rep- und ERIC2-PCR.

Lipolytische- und proteolytische Aktivität von Rohmilch-Mikrobiota

Lipolytic and proteolytic activity of raw milk microbiota

Mario von Neubeck

Rohmilch ist im Euter keimfrei und somit besteht die gesamte Rohmilch- Mikroflora aus Rekontaminationskeimen. Dadurch unterscheidet sich zum einen die mikrobielle Biodiversität der Rohmilch unterschiedlicher Höfe und zum anderen unterliegt sie sowohl saisonalen als auch hygienebedingten Schwankungen. Während der Lagerung und dem Transport der Rohmilch zu den Molkereien vermehren sich aufgrund der Kühlkette i.d.R. nur noch psychrotolerante Mikroorganismen. Deren enzymatische Aktivität gepaart mit einer zum Teil sehr hohen Hitzestabilität der Enzyme gilt als Ursache für einige Qualitätseinbußen gegen Ende der Produkt-Mindesthaltbarkeit, die in der Milchindustrie seit Jahrzehnten ein Problem darstellen. Insbesondere Produktgruppen wie UHT-Milch oder Käse, die eine verhältnismäßig lange Haltbarkeit aufweisen, sind von dieser Problematik betroffen.

Über das enzymatische Potential der Rohmilch-Mikrobiota sowie deren Diversität liegen bislang nur wenige Daten vor. Im Rahmen dieser Arbeit, als Teil des AiF-Forschungsvorhabens 16588 N, wurde die Mikroflora der Rohmilch von drei einzelnen Erzeugerhöfen mit zwei- oder dreitägiger Hoflagerung untersucht. Es wurde die mikrobielle Biodiversität sowie die lipolytische- und proteolytische Aktivität der einzelnen Isolate ermittelt. Von jeder Rohmilchprobe wurden nach 7-tägiger Inkubation bei 15 °C 150 Einzelkolonien isoliert und durch Fourier-transform Infrarot (FT-IR)-Spektroskopie und DNA-Sequenzierung identifiziert. Die Zusammensetzung der drei Rohmilch-Mikrobiota (Abbildung 1) ist in folgenden taxonomischen Großgruppen angegeben: „Gram-negativ, obligat aerob; Gram-negativ, fakultativ anaerob; Gram-positiv High GC; Gram-positiv Sporenbildner; Milchsäurebakterien (MSB); Gram-positiv andere und Hefen“.

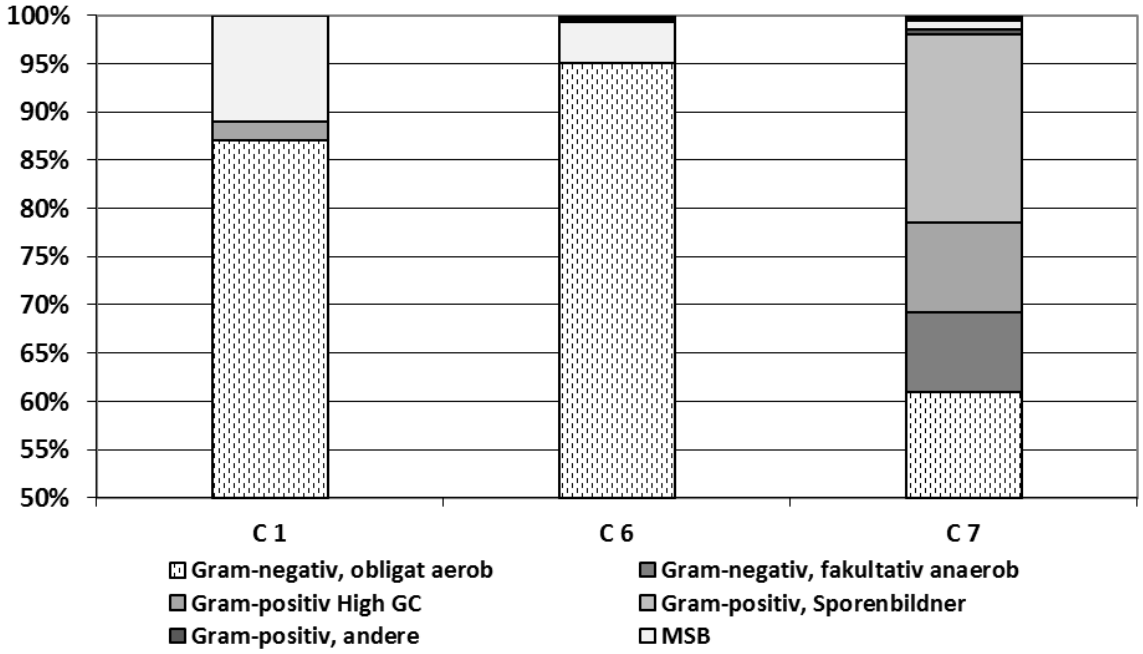


Abb.1: Zusammensetzung drei einzelner Rohmilchfloren aufgeschlüsselt nach taxonomischen Großgruppen. Dargestellt ist nur der Bereich von 50-100%, da die ersten 50% komplett auf die obligat aeroben Gram-negativen entfallen.

In allen drei untersuchten Proben dominierten Gram-negative Mikroorganismen mit einem Anteil von 60-95%, daher beschränkt sich Abbildung 1 auf den Bereich zwischen 50 und 100%, um die übrigen Gruppen besser aufzuschlüsseln. Bei den Gram-negativen Organismen handelte es sich vorwiegend um verschiedene Arten der Gattungen *Pseudomonas*, *Acinetobacter* und *Stenotrophomonas*. Die in der Milchprobe des Hofes C7 auftretenden Gram-positiven Sporenbildner sind alle Vertreter der Art *Bacillus cereus*. Den Gattungen *Microbacterium*, *Frigoribacterium* und *Rhodococcus* sind die meisten High GC Gram-positiven aller Proben zuzuordnen. Bei den Milchsäurebakterien dominierten die Gattungen *Lactococcus*, *Streptococcus* und *Enterococcus*. Obwohl der Anteil der Gram-negativen Organismen zumindest in zwei Proben sehr hoch liegt, sind die ermittelten Zusammensetzungen der Mikrobiota durchaus nicht ungewöhnlich für 2-3 Tage auf dem Hof gelagerte Rohmilch. Einzig der sehr hohe Anteil an Sporenbildnern bei Hof C7 liegt deutlich über den normalerweise festzustellenden Werten.

Die lipolytische- und proteolytische Aktivität der Bakterien und Hefen wurde nach erfolgter Identifizierung über Agar-Diffusions-Assays sowohl bei 30°C als auch bei 6°C ermittelt (Abbildung 2+3).

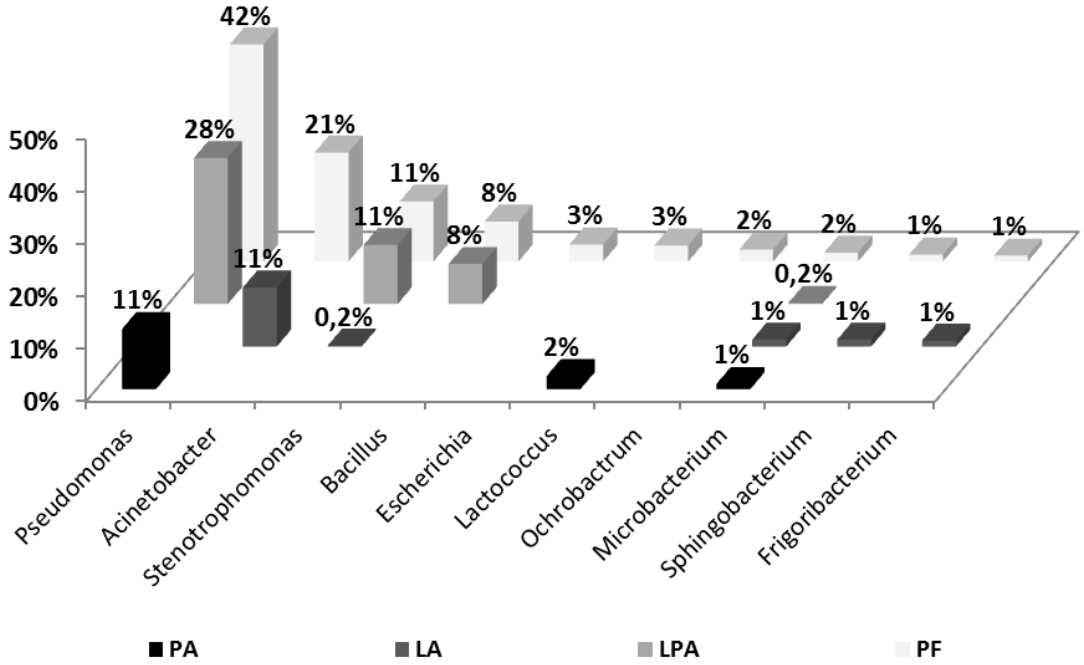


Abb. 2: Enzymatische Aktivität unterschiedlicher Gattungen bei 30°C. Dargestellt sind nur Gattungen, die mindestens 1% der Isolate aller 3 Höfe entsprechen. Die angegebenen Werte beziehen sich immer auf die Gesamtheit der Isolate aller 3 Höfe.

PA: Anteil der Isolate pro Gattung mit proteolytischer Aktivität
LA: Anteil der Isolate pro Gattung mit lipolytischer Aktivität
LPA: Anteil der Isolate pro Gattung mit lipolytischer und proteolytischer Aktivität
PF: Anteil der Gattung zur Gesamtheit der Isolate

Die Gattung *Pseudomonas* hatte mit 42% den höchsten Anteil an der Gesamtheit der Isolate, die zweithäufigste Gattung war *Acinetobacter* mit 21% gefolgt von *Stenotrophomonas* mit 11%. Somit sind 74% aller Isolate einer dieser drei Gattungen zuzuordnen. Fast alle Isolate von *Pseudomonas* zeigten bei 30°C enzymatische Aktivität, die entweder lipolytisch und proteolytisch, oder ausschließlich lipolytisch war (Abb. 2). Die Vertreter von S*tenotrophomonas* und *Bacillus* zeigten bei 30°C sogar alle lipolytische und proteolytische Aktivität. Bei *Acinetobacter* hingegen war nur die Hälfte der Isolate enzymatisch aktiv und bei *Escherichia* und *Ochrobactrum* zeigte sich bei 30°C weder lipolytische noch proteolytische Aktivität. Ein etwas anderes Bild ergab sich, wenn die enzymatische Aktivität der Isolate bei 6°C bestimmt wurde.

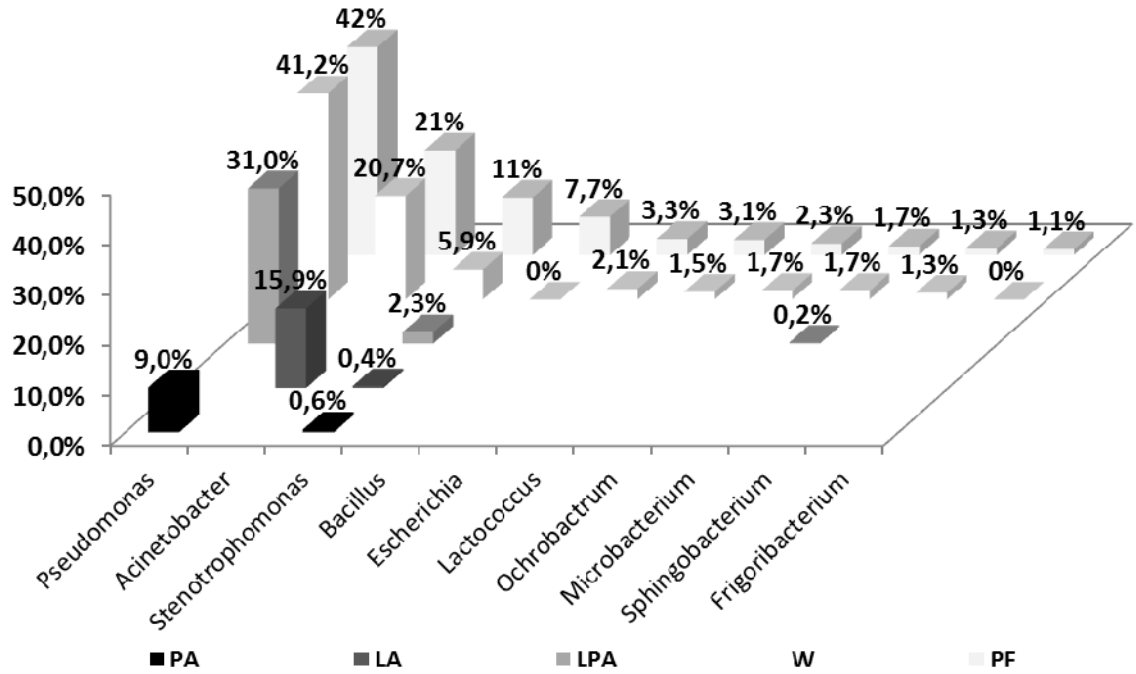


Abb. 3: Enzymatische Aktivität unterschiedlicher Gattungen bei 6°C. Dargestellt sind nur Gattungen, die mindestens 1% der Isolate aller 3 Höfe entsprechen. Die angegebenen Werte beziehen sich immer auf die Gesamtheit der Isolate aller 3 Höfe.

PA: Anteil der Isolate pro Gattung mit proteolytischer Aktivität
LA: Anteil der Isolate pro Gattung mit lipolytischer Aktivität
LPA: Anteil der Isolate pro Gattung mit lipolytischer und proteolytischer Aktivität
PF: Anteil der Gattung an der Gesamtheit der Isolate
W: Anteil der Isolate pro Gattung, die bei 6°C Wachstum zeigen

Insgesamt 80% aller getesteten Isolate wiesen einen psychrotoleranten Charakter auf, 20% hingegen zeigten bei 6°C kein Wachstum. Besonders auffällig war der Rückgang des Wachstums für *Bacillus* und *Frigoribacterium*, für die bei 6°C kein Wachstum festgestellt werden konnte; bei *Stenotrophomonas* wurde nur für die Hälfte der Isolate Wachstum verzeichnet. Auffällig war auch, dass sich die enzymatische Aktivität der Isolate aller Gattungen im Zuge der Temperaturänderung teilweise drastisch veränderte. Der Anteil der aktiven Isolate stieg für die Gattungen *Pseudomonas* und *Acinetobacter* deutlich an, zudem ergab sich eine Verschiebung der Aktivität. Bei *Pseudomonas* nahm der Anteil der proteolytischen Isolate ab und im Gegenzug der Anteil derer mit lipolytischer- und proteolytischer Aktivität zu.

Bei *Stenotrophomonas* hingegen nahm der Anteil der Isolate mit lipolytischer- und proteolytischer Aktivität ab, gleichzeitig traten aber Isolate auf, die ausschließlich lipolytische oder proteolytische Aktivität aufwiesen.

Zusammenfassend lässt sich aus den bisherigen Ergebnissen ableiten, dass sowohl Gram-negative als auch Gram-positive Spezies z.T. deutliche enzymatische Aktivität aufweisen, dass jedoch bezogen auf den Anteil der einzelnen Gattungen an der Gesamtzahl der Isolate die Gram-negativen für den Hauptanteil der vorhandenen Aktivität verantwortlich sind. Allerdings liegen den hier vorgestellten Ergebnissen nur Daten von drei Milchproben zugrunde, die alle einen hohen Gehalt an Gram-negativen Organismen aufwiesen. Ob sich dieser Trend auch für die weiteren zu untersuchenden Proben fortsetzt, bleib abzuwarten. Im weiteren Verlauf des AiF-Forschungsvorhabens 16588 N werden Proben weiterer Erzeugerhöfe sowie Tankmilchproben und Halbfabrikate von Molkereien hinsichtlich ihrer Mikrobiota untersucht. Des Weiteren wird die enzymatische Aktivität aller repräsentativen Isolate in Milch oder milchnaher Flüssigkultur untersucht, sowie die Hitzestabilität der gebildeten Lipasen und Proteasen ermittelt. Aus diesen Ergebnissen können dann Rückschlüsse auf die technologische Relevanz der einzelnen Enzymbildner gezogen werden.

Arbeitsgruppe: Molekulare Ökologie pathogener Bakterien

Gruppenleiterin: Stefanie Müller

Unter den in Deutschland meldepflichtigen bakteriellen Infektionskrankheiten spielen vor allem solche, die durch Lebensmittelinfektionserreger hervorgerufen werden, eine zentrale Rolle. In 2010 wurden dem Robert Koch Institut 65.527 Fälle an Campylobacter-Enteritis, 25.228 Salmonellosen, 6.730 Darmerkrankungen hervorgerufen durch darmpathogene *Escherichia coli* (davon 921 EHEC-Erkrankungen außer HUS), 3.350 Yersiniosen sowie 384 Listeriosen gemeldet. Diese Zahlen sind vergleichbar mit denen, die bereits für die Kalenderwochen 1-50 des Jahres 2011 ermittelt wurden. Auch in diesem Jahr handelt es sich bei den meisten Erkrankungen um eine Campylobacter-Enteritis (69.503 Fälle), gefolgt von 23.682 gemeldeten Salmonellose-Fällen. Die Anzahl der Darmerkrankungen hervorgerufen durch darmpathogene *E. coli* hat sich mit 12.854 Fällen im Vergleich zum Vorjahr annähernd verdoppelt, wobei der massive Anstieg vor allem auf das EHEC-Ausbruchsgeschehen mit dem Typ O104:H4 in Deutschland von Mai bis Juli zurückzuführen ist. Es wurden 2011 4861 EHEC-Erkrankungen (außer HUS) gemeldet. Weiterhin wurden bisher 3.289 Yersiniosen und 328 Listeriosen gemeldet (Abb. 1). Es ist anzunehmen, dass die Dunkelziffer der meldepflichtigen Infektionskrankheiten noch weitaus höher liegt.

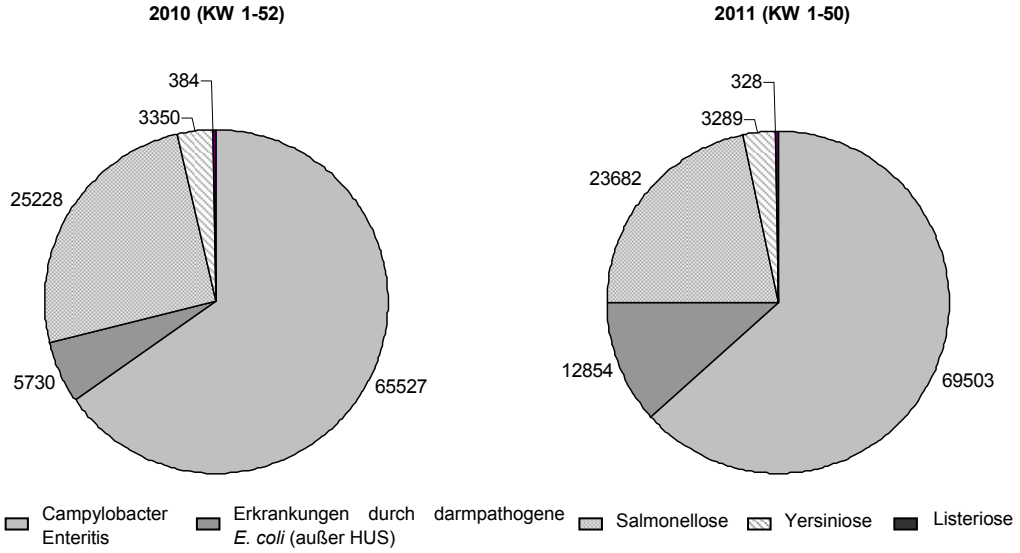


Abb. 1: Ausgewählte meldepflichtige Infektionskrankheiten hervorgerufen durch pathogene Lebensmittelkeime in Deutschland. Die Zahlen beruhen auf Angaben des Robert-Koch-Instituts im Epidemiologischen Bulletin 2011/Nr.3 und 2012/Nr.1.

Kontaminationen von Lebensmitteln mit pathogenen Bakterien und daraus resultierende Ausbruchsgeschehen bergen neben dem Gesundheitsrisiko für den Verbraucher auch wirtschaftliche Risiken für bestimmte Bereiche der Lebensmittelindustrie. 2011 mussten Gemüsebauern finanzielle Einbußen bedingt durch den EHEC-Ausbruch hinnehmen, aber auch andere Sparten der Lebensmittelindustrie sind regelmäßig durch Rückrufaktionen aufgrund belasteter Lebensmittel im Fokus der Medien.

Der Forschungsschwerpunkt unserer Arbeitsgruppe liegt auf der molekularen Charakterisierung der Anpassung pathogener Bakterien wie *Salmonella* enterica Serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium), enterohämorrhagischer *E. coli* (EHEC) sowie *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) an verschiedenste Stressbedingungen, denen der Keim im Lebensmittel oder in der Umwelt ausgesetzt sein kann. Ein tief greifendes Verständnis der Anpassung pathogener Bakterien an solche Stressbedingungen ist eine wichtige Vorraussetzung für eine sichere Produktion von Lebensmitteln. Ein Hauptaugenmerk unserer Arbeiten liegt auf der Identifizierung von Regulationsmechanismen, die den Anpassungen an verschiedene Umweltbedingungen zugrunde liegen.

Wirkung von Nitrat und Nitrit auf *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium und enterohämorrhagische *Escherichia coli*

Effects of nitrate and nitrite on Listeria monocytogenes, Salmonella* Typhimurium *and enterohemorrhagic Escherichia coli

Daniela Kaspar, Anna Krementowski, Daniela Eder

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

Im Rahmen von FEI/AiF geförderten Projekten soll analysiert werden, auf welche Weise Nitrit in dem Gram positiven Modellorganismus *L. monocytogenes* (AiF_15835 N) und in den Gram negativen Organismen *S.* Typhimurium und EHEC (AiF_16908 N) auf molekularer Ebene wirkt. Diese Daten sollen als Grundlage dienen, um in enger Zusammenarbeit mit dem Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie des Max-Rubner-Instituts in Kulmbach die mikrobiologische Sicherheit von Rohwurstprodukten zu maximieren.
In *in vitro* Analysen wurde im Hochdurchsatzverfahren im Bioscreen C (Abb. 2) der Einfluss verschiedener im Lebensmittel relevanter Parameter wie Sauerstoffverfügbarkeit, Temperatur, Osmolarität, pH-Wert und Ab- bzw. Anwesenheit von Natriumnitrit sowie die Kombination der verschiedenen Parameter auf das Wachstum von *L. monocytogenes* EGDe, *S. enterica* Serovar Typhimurium 14028 und *E. coli* O157:H7 EDL933 analysiert.

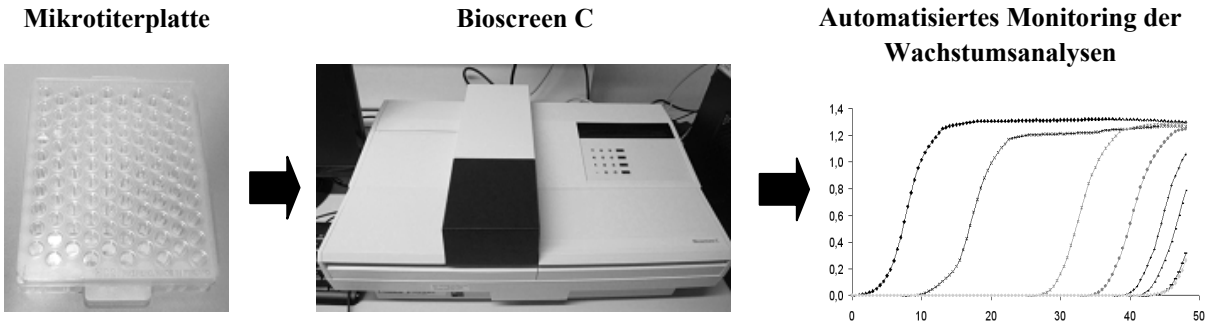


Abb. 2: Wachstumsanalysen im Hochdurchsatzverfahren im Bioscreen C. In den Mikrotiterplatten wird das Medium für verschiedenste Wachstumsbedingungen vorgelegt. Die einzelnen Wells werden dann mit den Pathogenen beimpft. Im Bioscreen C werden die Platten bei der gewünschten Temperatur inkubiert. Das Wachstum wird über die Zunahme der Absorption bei einer Wellenlänge von 600 nm indirekt gemessen. Die Messung erfolgt automatisiert, ebenso die graphische Darstellung der Wachstumskurven.

Es konnte gezeigt werden, dass die inhibitorische Wirkung von Nitrit besonders dann maximiert wird, wenn gleichzeitig der pH-Wert erniedrigt wird (Abb.3). So hat Natriumnitrit in einer Konzentration von 200 mg/l keinen inhibitorischen Einfluss auf das Wachstum von *S.* Typhimurium, wohingegen bei einem pH-Wert von 6 die Anwesenheit von Nitrit zu einer deutlichen Wachstumsverzögerung führt. *L. monocytogenes* weist unter den gewählten Versuchsbedingungen eine höhere Sensitivität gegenüber Nitrit auf als *S.* Typhimurium. Schon bei einem neutralen pH-Wert bewirkt Nitrit eine leichte Wachstumsverzögerung. Ist *L. monocytogenes* einer Kombination von pH6 und gleichzeitiger Anwesenheit von Nitrit ausgesetzt, so ist der Keim nicht mehr in der Lage zu wachsen, wohingegen ein alleiniges Absenken des pH-Wertes auf 6 nur zu einer geringfügigen Wachstumsinhibierung der Kultur führt.

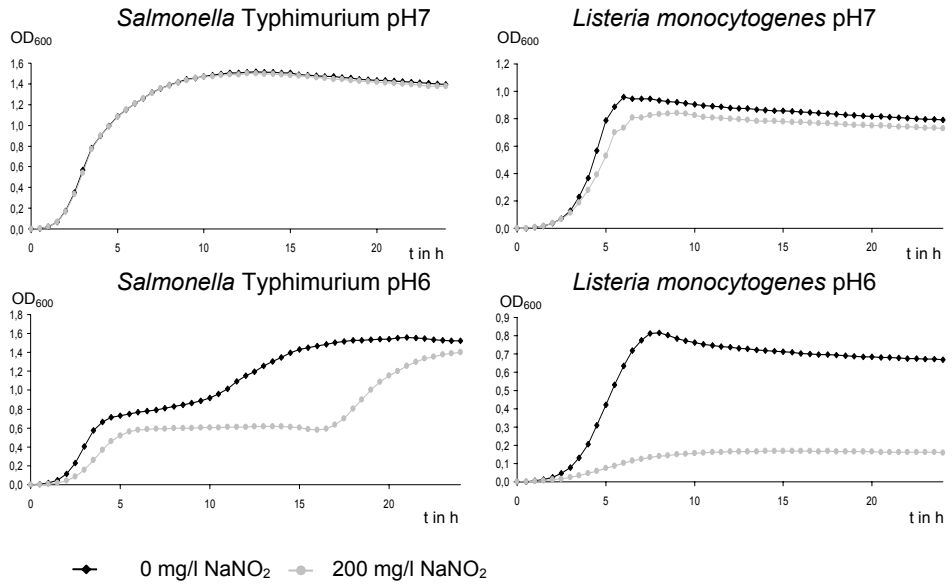


Abb. 3: Einfluss von Nitrit auf das Wachstum von Salmonella Typhimurium und Listeria monocytogenes. Die Wachstumsanalysen wurden in BHI Medium bei 37 °C bei pH7 und pH6 in An- (200 mg/l, graue Linie) bzw. Abwesenheit (0 mg/l, schwarze Linie) von Natriumnitrit durchgeführt.

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

Daten aus der Literatur postulieren, dass im Rohwurstprodukt nicht Nitrit selbst das antimikrobiell wirksame Agens ist, sondern dass im Laufe des Reifungsprozesses ausgehend von Nitrit reaktive Stickstoffverbindungen wie z.B. HNO_2, N_2O_3, $OONO^-$ und NO entstehen, die das Wachstum von pathogenen Bakterien inhibieren. Reaktive Stickstoffverbindungen können auch unter sauren pH-Bedingungen aus Nitrit entstehen. Diese könnten somit auch in den *in vitro* Versuchen gebildet werden und das Wachstum der pathogenen Bakterien inhibieren. Interessanterweise sind in *L. monocytogenes* keine Gene vorhanden, die Homologien zu bekannten NO-detoxifzierenden Systemen anderer MO aufweisen. In *S.* Typhimurium und EHEC hingegen sind mehrere solcher Systeme beschrieben. Die Bedeutung dieser Systeme für das Überleben von Nitritstress im Lebensmittel ist Gegenstand derzeitiger Forschung.

Die Forschungsvorhaben AiF_15835 N und AiF_16908 N wurden im „Programm zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.

Anaerober Stoffwechsel in *Listeria monocytogenes* und *Salmonella* Typhimurium

Anaerobic metabolism in Listeria monocytogenes and Salmonella Typhimurium

Anna Krementowski, Daniela Eder, 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 *L. monocytogenes*-Kulturen, die unter aeroben bzw. anaeroben Bedingungen inkubiert wurden, wurde mittels Microarray-Studien verglichen. Diese Studien ergaben, dass die Transkription von ca. 170 Genen (entspricht ca. 6 % des kompletten Genoms) in Abhängigkeit von der Sauerstoffverfügbarkeit differentiell reguliert wird. Weiterhin wurde ein Hochdurchsatzscreening einer *L. monocytogenes* Insertionsmutanten-Bank durchgeführt. 1600 Mutanten wurden aerob bzw. anaerob inkubiert und das Wachstumsverhalten der Mutanten unter aeroben und anaeroben Bedingungen analysiert. Es konnten auf diese Weise Mutanten identifiziert werden, die unter aeroben Bedingungen ein normales Wachstumsverhalten zeigen, unter anaeroben Bedingungen aber nicht in der Lage sind zu wachsen. Diese Mutanten tragen eine Insertion in Genen, die essentiell sind für das anaerobe Wachstum von *L. monocytogenes*. In weiterführenden Studien sollen die Gene, die über die Insertion unterbrochen wurden, identifiziert werden und die Beteiligung der jeweiligen Proteine am anaeroben Metabolismus von *L. monocytogenes* EGDe aufgeklärt werden.

Auch bei *S.* Typhimurium handelt es sich um einen fakultativ anaeroben Mikroorganismus, d.h. der Keim ist ebenso wie *L. monocytogenes* in der Lage, sowohl in Gegenwart von Sauerstoff als auch unter Sauerstoffausschluss zu wachsen. Zur Identifizierung von Genen, die essentiell für das anaerobe Wachstum von *S.* Typhimurium sind, wurden ca. 4000 Klone einer *S.* Typhimurium Insertionsmutanten-Bank hinsichtlich eines anaerob-sensitiven Phänotyps analysiert. Im Gegensatz zu den Versuchen mit *L. monocytogenes* konnten keine Mutanten identifiziert werden, die anaerob nicht wachsen können. Jedoch konnten Mutanten isoliert werden, die anaerob ein vermindertes Wachstum zeigen. Auch hier sollen weiterführende Arbeiten die Beteiligung der entsprechenden Gene am anaeroben Stoffwechsel weiter aufklären.

Arbeitsgruppe: Regulation überlappender Gene von pathogenen *Escherichia coli* durch Umweltsignale

Gruppenleiter: Klaus Neuhaus

DNA könnte, aufgrund des Triplett-Codes, an einem gegebenen Ort theoretisch sechs verschiedene Proteine kodieren. In der Natur sind vor allem zweifach überlappende Gene bekannt, selten aus einigen Viren dreifache Überlappungen. Obwohl viele Bakteriophagen eine größere Anzahl überlappender Gene aufweisen und deren Genome mit den bakteriellen in einem Gleichgewicht stehen, sind beschriebene überlappende Gene aus Bakterien vergleichsweise rar. Das Projekt widmet sich überlappenden und neuen Genen, die für das Wachstum von pathogenen *Escherichia coli* in der Umwelt wichtig sind.

Wir konzentrieren uns hierbei besonders einen enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC) Stamm, der blutigen Durchfall und unter Umständen Nierenversagen mit tödlichem Ausgang verursachen kann. Bei diesem Bakterium weiß man zudem wenig über die Ökologie und der in natürlichen Habitaten notwendigen Gene. Unsere Untersuchungen sind Teil des Projektes "FOG-Theory" im DFG Schwerpunkt InKoMBio SPP 1395. Hierzu kooperieren wir mit dem Lehrstuhl „Datenanalyse und Visualisierung“ von Prof. D. Keim an der Universität Konstanz und dem Lehrstuhl “Telekommunikation und Angewandte Informationstheorie“ von Prof. M. Bossert an der Universität Ulm.

Ein weiterer Teil der Arbeitsgruppe widmete sich der Ökologie von pathogenen Bakterien in Lebensmitteln, hier insbesondere *Listeria monocytogenes*. Dieses Bakterium kommt vermutlich mehr oder weniger überall vor und ist mit Pflanzen assoziiert. Der Infektionszyklus ist besser bekannt: Beispielsweise wird *L. monocytogenes* mit Pflanzenmaterial in Silage eingetragen, wo sich der Erreger bei fehlerhafter Silierung vermehrt. Mit der Silage werden Kühe gefüttert und diese dadurch infiziert. Schließlich kann, über Milch- und Fleischprodukte, der Mensch angesteckt werden und an einer Listeriose erkranken. Zwar ist die Inzidenz für *L. monocytogenes* nicht sehr hoch, dafür hat dieses Bakterium die höchste Mortalitätsrate aller durch Lebensmittel übertragenen Keime.

Expressionsstudien überlappender Gene in EHEC und verwandten Bakterien

Expression studies of overlapping genes in EHEC and related bacteria

Lea Fellner

Viele Details der Virulenzgene die in Wirt-Bakterium-Interaktionen von EHEC nötig sind, wurden bisher aufgedeckt. Relativ wenig ist über die Gene bekannt, die es EHEC ermöglichen, außerhalb von Tieren als Wirte in der Umwelt zu persistieren. Publizierte Studien an Pseudomonaden zeigten, dass eine Reihe von neuartigen überlappenden Genen nur unter nicht-Laborbedingungen aktiv ist.

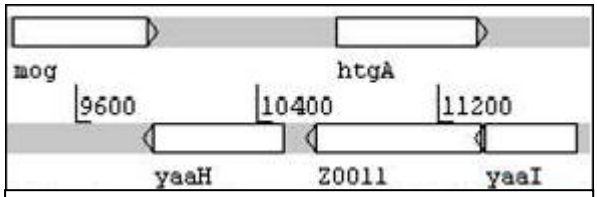


Abb. 1 Ausschnitt aus dem Genom des Bakteriums *Escherichia coli* O157:H7 mit eingezeichneten Genen (weiße Pfeile). Hier befindet sich eines der wenigen bekannten, vollständig überlappenden Genepaare aus diesem Bakterium (*htgA* / Z0011).

In Zusammenarbeit mit unseren Kooperationspartnern der Universität Ulm und Universität Konstanz wurde nun in EHEC nach neuen und bisher hypothetischen offenen Leserahmen gesucht. Einige dieser theoretisch vorausgesagten Gene wurden Strang-spezifisch ausgeschaltet und anschließend die Mutanten auf ihren Phänotyp hin untersucht, wie, neben anderen, auch das überlappende Genpaar *htgA / yaaW* (Abb. 1). Zur phänotypischen Charakterisierung wurde eine Bank mit verschiedenen Medien mit über fünfzig verschiedenen Hemmstoffen oder über fünfzig verschiedenen Kohlenstoffquellen hergestellt und das Wachstum der Mutant darin untersucht.

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

Das Transkriptome von EHEC EDL933 wurde mittels moderner *Next-Generation Sequencing* bei verschiedensten Wachstumsbedingungen untersucht. Für diese Sequenzierungen wurde die SOLiD bzw. Illumina Technologie angewandt. Die Analysen verschiedener Bedingungen, wie Wachstum in Labor-Standardmedien, auf Pflanzen, und unter Streß (pH 9, Nitrit) zeigen eine differentielle Regulation der annotierten Gene und insbesondere auch die Aktivität vieler bislang hypothetischer Gene. Die weitere Auswertung der Umwelt-spezifischen Transkriptregulation wird helfen das pathogene Potential und die Umweltpersistenz von EHEC besser verstehen zu können. Zusätzlich wurden Bereiche entdeckt, in denen überlappend kodierende Gene möglich sind. Weitere Untersuchungen, wie Proteome-Analyse mittels Massenspektrometrie dienen dem Nachweis der Genprodukte. Ein partielles Proteome und ein tiefergehendes wurden unter Laborstandard-Bedingungen erstellt. Hierbei konnten bereits einige bislang nur als „hypothetisch“ annotierte Proteine festgestellt werden.

Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an pathogenen Lebensmittelkeimen

Gruppenleiter: Thilo M. Fuchs

Insektizide Aktivität von *Yersinia enterocolitica*
***Insecticidal activity of* Yersinia enterocolitica**
Mandy Starke

Die Gruppe der Yersinien umfasst 13 verschiedene Arten, darunter die drei humanpathogenen Arten *Yersinia pestis*, den Erreger der Pest, sowie *Yersinia pseudotuberculosis* und *Yersinia enterocolitica*, zwei Keime, die gastrointestinale Erkrankungen in Säugetieren hervorrufen können. Bis auf *Y. pestis*, ein Bakterium, das auf einen komplexen Lebenszyklus mit Nagetieren als Reservoir und Flöhen als Überträger angewiesen ist, sind die Vertreter der Gattung *Yersinia* in der Natur weit verbreitet (Abb. 1). Die Übertragung dieser Bakterien, insbesondere der humanpathogenen, kann somit auch von der Umwelt auf den Menschen erfolgen.

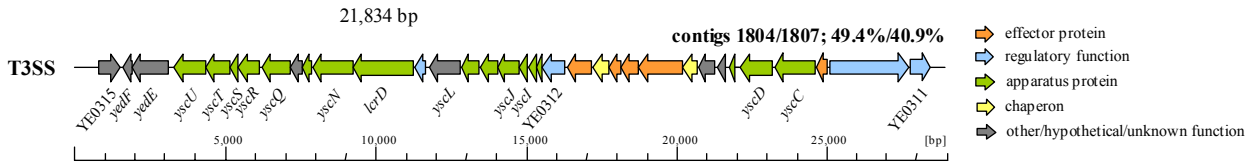


Abb. 1: Neues Typ 3-Sekretionssystem aus Y. enterocolitica W22703, dessen Funktion bislang unbekannt ist (Fuchs et al., 2011)

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.

Jüngst wurde von uns das komplette Genom des Stammes *Y. enterocolitica* W22703 sequenziert, annotiert und analysiert (Fuchs *et al*., 2011). Bemerkenswerte Ergebnisse waren die Identifikation einer neuen Typ 3-Sekretionssystems (Abb. 1) sowie die Charakterisierung einer artspezifischen Zone hoher genomischer Flexibilität (Abb. 2).

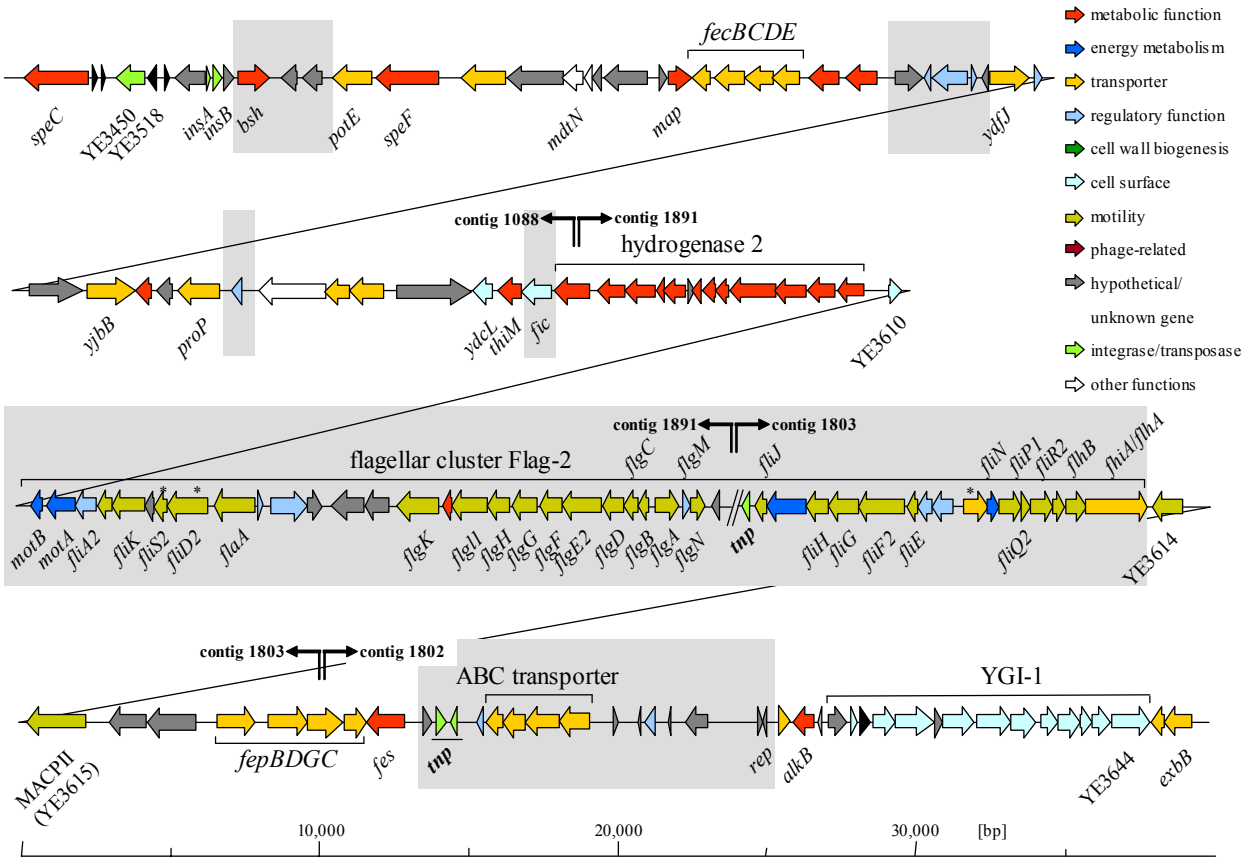


Abb. 2: Die Zone hoher Flexibilität aus Y. enterocolitica W22703. Sie zeichnet sich hohe Varianz zwischen den Stämmen aus und kodiert u. a. für ein neuartiges Flagellen-Cluster, eine Hydrogenase, und verschiedene Transportsysteme (Fuchs et al., 2011).

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. 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 *Yersinia* spp.-Kulturen infiziert wurden. Überraschenderweise weisen die *Yersinia*-Arten und –Stämme eine hohe Diversität in Bezug auf ihr insektizides Potential auf.

Außerdem untersuchen wir derzeit die molekularen Mechanismen, die der kälteinduzierten Expression der *tc*-Gene sowie der Freisetzung bzw. dem Transport der Tc-Proteine aus der Zelle zugrunde liegen. Um einen tieferen Einblick in die Interaktion von *Yersinia* spp. mit Invertebraten zu gewinnen, wurde zusätzlich der Nematode *C. elegans* als Modellorganismus etabliert. In Zusammenarbeit mit Britta Spanier vom ZIEL, Abteilung Biochemie, konnten die

Kolonisierung und die Proliferation von *Y. enterocolitica* in *C. elegans* sowie die Expression des insektiziden Toxins im Nematoden nachgewiesen werden (Fig. 2).

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

Metabolismus und Virulenz: ein neues Pathogenitätskonzept am Beispiel von *Listeria monocytogenes* (Schwerpunktprogramm 1316 der DFG)

***Metabolism meets virulence: a novel concept of pathogenicity as exemplified by* Listeria monocytogenes**

Tanja Kern

Die meisten bekannten *Listeria*-Arten sind harmlos, *Listeria monocytogenes* und *Listeria ivanovii* jedoch können bei Mensch und Tier 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 Milch- und Fleischprodukten auch bei niedrigen Temperaturen vermehren. Mit der verunreinigten Nahrung gelangen die Keime in den Darm und von dort aus in zahlreiche Organe des Körpers. *L. monocytogenes* ist ein fakultativ intrazelluläres Bakterium und kann sich sowohl extrazellulär als auch intrazellulär in Wirtszellen vermehren. Als Wirtszellen können entweder professionell phagocytische Zellen wie Makrophagen, aber auch nicht professionell phagocytische Zellen wie z.B. Epithelzellen, Hepatocyten, Fibroplasten oder Endothelzellen fungieren. Die Fähigkeit, die Vakuolen zu verlassen und frei im Cytoplasma der Wirtszelle zu replizieren, unterscheidet *L. monocytogenes* von dem Großteil der intrazellulären Pathogene. Eine erfolgreiche intracytoplasmatische Lebensweise ist die Folge von einer Reihe metabolischer Anpassungen des Pathogens, über die nur wenig bekannt ist.

Um Gene zu identifizieren, die für die intrazelluläre Lebensphase für *L. monocytogenes* von entscheidender Bedeutung sind, wurde eine *L. monocytogenes* EGD Insertion-Mutantenbank vollständig im Zellkultursystem auf Mutanten selektioniert, die zwar im Vollmedium wildtypisches Verhalten zeigen, intrazellulär in Caco2-Epithelzellen in ihrer Replikationsfähigkeit jedoch deutlich vermindert sind. Die anschließende Identifizierung der in den entsprechenden Insertionsmutanten inaktivierten Gene ergab interessante Aufschlüsse über die Genfunktion und ihre Bedeutung für das intrazelluläre Überleben. So konnten wir zeigen, dass die inaktivierten Gene zum größten Teil für Transport- und Bindeproteine und für am allgemeinen Metabolismus oder an spezifischen Stoffwechselwegen beteiligte Enzyme kodieren.

Zu solchen alternativen Stoffwechselwegen gehört z.B. die Verwertung des im Cytosol durch den Abbau von Phospholipiden oder Triglyceriden freigesetzten Glycerins als alternative C-Quelle während des intrazellulären Wachstums. Die Enzyme Glycerinkinase und Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase wandeln das freie Glycerin zum Dihydroxyacetonphosphat um, das dann in die Glykolyse eingeschleust wird. Außerdem bevorzugen die intrazellulär lebenden Listerien den Pentose-Phosphat-Weg zur Energiegewinnung und sind von der *de novo* Biosynthese 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.

Die bisherigen Ergebnisse aus dem Screening der intrazellulären Replikation sowie den biochemischen Analysen bestätigen die Hypothese, dass ein erfolgreiches Replizieren von *L. monocytogenes* im Cytosol auf die Fähigkeit des Pathogens zurückgeht, seinen Metabolismus an die Gegebenheit der Wirtszelle anzupassen. Dabei spielen insbesondere alternative Stoffwechselwege und Aufnahmesysteme für verschiedene Substrate eine entscheidende Rolle. In Zusammenarbeit mit Wolfgang Eisenreich (TUM, Biochemie Garching) werden derzeit umfangreiche Untersuchungen zum Kohlenhydrat-Metabolismus intrazellulärer Listerien durchgeführt. Hierbei werden die metabolischen Flüsse innerhalb der Wirtszellen und des Pathogens mittels der ^{13}C-Isotopologen-Analyse gemessen und analysiert (Abb. 3).

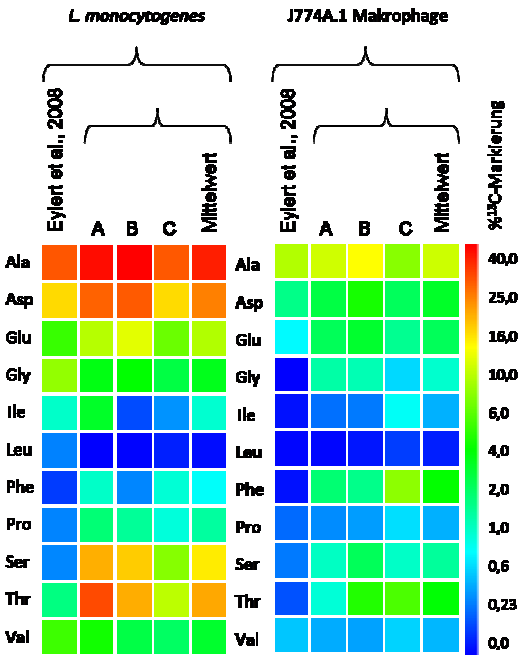


Abb. 3: Isotopolog-Profilanalyse. Makrophagen-Zellkulturen wurden mit L. monocytogenes in Gegenwart von 13C-markierter Glukose infiziert. Das Muster zeigt den Einbau des Isotopologs in Aminosäuren des intrazellulären Pathogens (links) und der Wirtszelle (rechts). Die Markierungshöhen erlauben einen Rückschluss auf die de novo Biosynthese einzelner Aminosäuren von L. monocytoge-nes während der intrazellulären Replikation (Schauer et al., unpubliziert).

Abbau von *myo*-inositol durch *Salmonella enterica* serovar Typhimurium

Myo-inositol degradation by* Salmonella enterica *serovar Typhimurium

Johannes Rothhardt/Angela Felsl

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 2010 etwa 45000 Fälle gemeldet, wobei die Anzahl der nicht registrierten Erkrankungen auf ungefähr ein halbe Million geschätzt wird. Die durch eine Vielzahl verschiedener Salmonellen induzierten Infektionen werden häufig durch die Aufnahme kontaminierter Nahrungsmittel ausgelöst. Obgleich die meisten Salmonellen ihren originären Standort vorwiegend bei verschiedenen landwirtschaftlich genutzten Tierarten besitzen, überdauern sie dort oft subklinisch bzw. symptomfrei und lösen erst beim Menschen typischerweise eine Gastroenteritis oder in sehr wenigen Fällen eine systemische Infektion aus.

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

In einem genomweiten „Screening"-Ansatz wurden eine große Anzahl von Genen identifiziert, die bei der intrazellulären Replikation von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium) beteiligt und in genomischen Inseln lokalisiert sind. Ein Beispiel ist die „metabolische Insel" GEI4417/4436, die die für den Abbau von *myo*-Inositol benötigten *iol* Gene trägt. Die komplexe Regulation der *iol*-Gene wurde entschlüsselt, indem die Transkriptionsaktivität einzelner Promotoren mittels des Luziferase-Reporters charakterisiert wurde. Über Protein-DNA-Bindungsexperimente konnte der zentrale Repressor dieses Abbauweges, IolR, charakterisiert werden. Außerdem gelang die Identifizierung des hauptsächlichen Transporters von *myo*-Inositol, dessen Regulation, Expression und Aktivität detailliert bestimmt wurden (Kröger *et al*., Microbiology 2010, 156: 128). Zusätzlich wurde ein sog. „bistabiler" Phänotyp von Salmonellen beim Wachstum mit *myo*-Inositol als alleiniger Kohlenstoff- und Energiequelle beobachtet, der nach Deletion des Repressors jedoch wieder aufgehoben wird (Abb. 4). Zur Zeit wird der molekulare Hintergrund dieser Bistabilität beleuchtet.

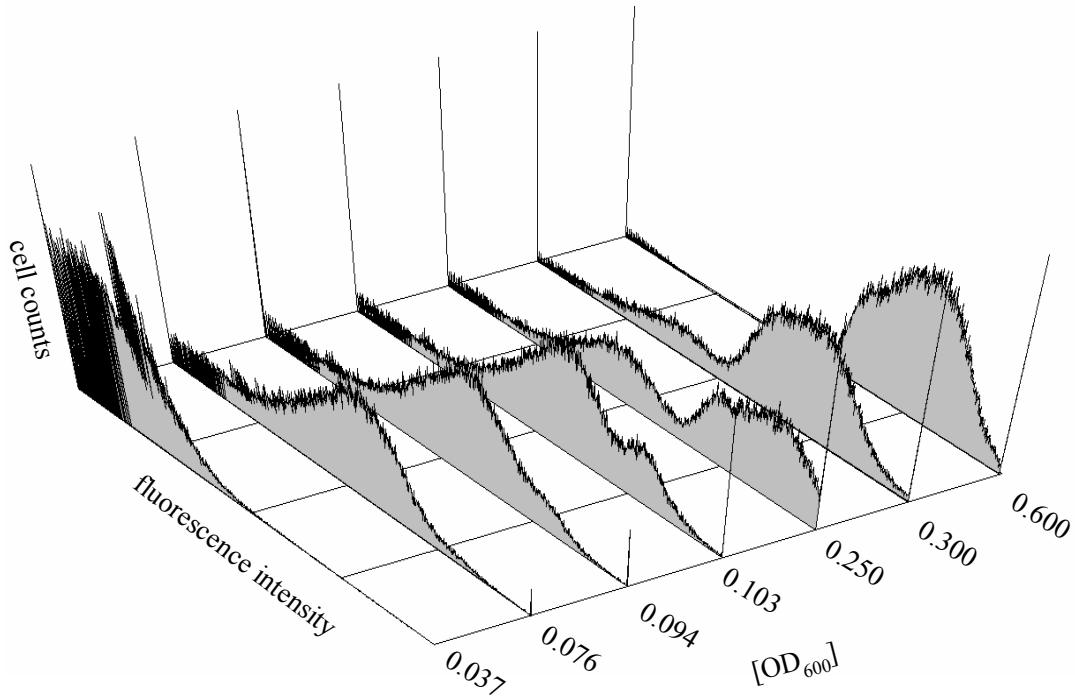


Abb. 4: Bistabilität von S. Typhimurium während des Abbaus von myo-Inositol. Auf der Einzelzellebene wurde mit Hilfe von gfp-Fusionen eine bimodale Verteilung des Fluoreszenz-Aktivitätsmusters eines iol-Promoters beobachtet. (Kröger et al., 2011).

Neue bakterielle Stoffwechselwege relevant für die Besetzung von Darmnischen
Novel metabolic pathways relevant for gut niche occupation
Shabarinath Srikumar

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

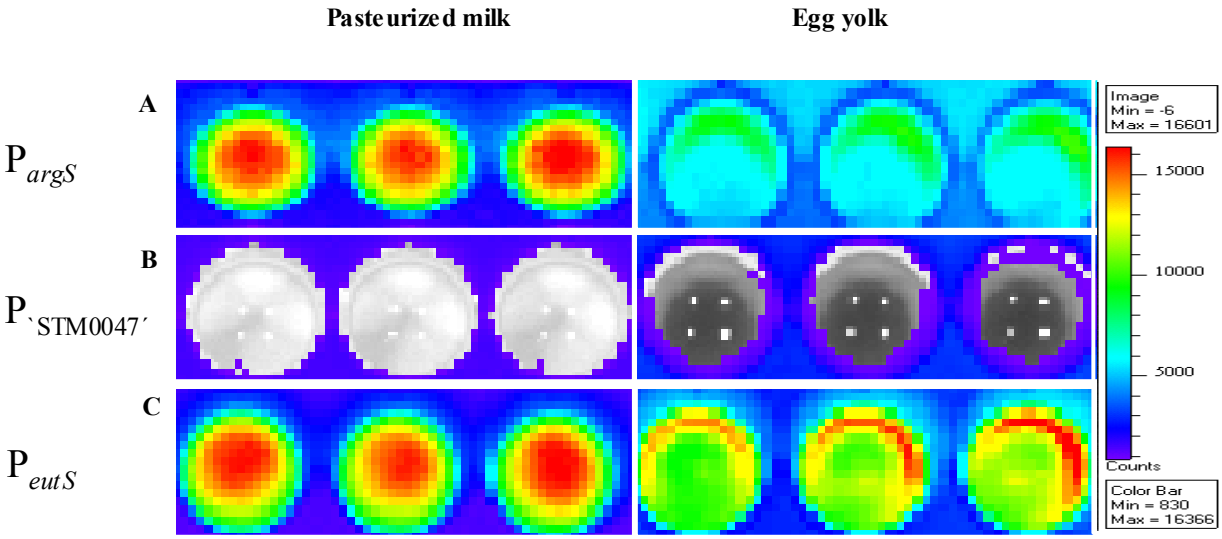


Abb. 5: Expressionsstudie mit Luciferase-markierten Salmonellen in Milch und Eigelb. Der Promoter des Genes EutS, das am Abbau von Ethanolamin beteiligt ist, wird in Eigelb spezifisch induziert. Eigelb ist reich an Phospholipiden, die durch bakterielle Phospholipasen zu Glycerol und Ethanolamin abgebaut werden können. Phospholipide stellen daher eine ideale Kohlenstoff-, Stickstoff- und Energiequelle für Salmonellen in Lebensmitteln, aber auch im Darm dar (Srikumar & Fuchs, 2011).

Arbeitsgruppe: Toxinbildung von *Bacillus cereus* in Lebensmitteln

Gruppenleiterin: Genial Lücking

Isolierung und Charakterisierung hitzeresistenter Sporenbildner aus Lebensmittel
Isolation and characterization of heat resistant spore formers in food
Genia Lücking, Zeynep Atamer*, Marina Witthuhn*, Jörg Hinrichs* und Monika Ehling-Schulz
*Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, Universität Hohenheim

Hitzeresistente Sporenbildner wie z.B. *Bacillus*, *Geobacillus* und *Clostridium* 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 Schadens-

fälle untersucht, bei denen Sporenbildner in hoch hitzebehandelten Produkten eine Rolle spielen. Vor allem Milchprodukten wie zum Beispiel H-Milch, UHT-Sahne, Kaffeesahne, Kakaomilch, Milchpulver oder auch Schmelzkäse sind dabei betroffen.

Im Rahmen eines Forschungsprojektes (AiF 16012N) mit dem Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie (LTH) der Universität Hohenheim sollten die Identität und sporenspezifische Eigenschaften dieser Lebensmittelkontaminanten näher charakterisiert werden. Dafür wurden zunächst 360 sporenbildende Isolate aus der Lebensmittelindustrie auf Artebene identifiziert (mittels FTIR Spektroskopie und falls erforderlich 16S-rDNA-Sequenzierung) und anschließend mit den Sporen dieser Stämme ein Hitze-Vorscreening bei 100°C für 20 min durchgeführt, welches ca. 17 % der Isolate überlebten. Zusätzlich wurden 108 Lebensmittelproben auf die Anwesenheit von Sporenbildnern hin überprüft. Aus 57 dieser Lebensmittelproben wurden nach Erhitzung (100°C, 20 min) und Anreicherung mit BHI-Medium insgesamt 104 Sporenbildner gewonnen. Unter den hitzeresistenten Arten waren am stärksten *Bacillus subtilis, Geobacillus stearothermophilus* und *Bacillus licheniformis* vertreten. Dabei war die Lebensmittelherkunft dieser resistenten Stämme sehr vielfältig (z. B. Milchproben, unerhitzten Produktvorstufen, Pudding, Gewürze, etc.). Zur Erfassung der stammspezifischen Hitzeinaktiveriungsparameter wurden von 33 ausgewählten Isolaten definierte Sporensuspensionen hergestellt und diese in Edelstahlröhrchen eines Batch-System für 30 Minuten bei unterschiedlichen Temperaturen erhitzt. Dabei wurden selbst nach der Behandlung bei 125°C Stämme detektiert, die diese Bedingungen überlebten. Drei mesophile und vier thermophile Stämme zeigten eine besonders hohe Hitzestabilität. Diese dienten als Grundlage für weitere Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses des Erhitzungssystems (Batch System versus kontinuierliches System) sowie des Erhitzungsmediums (Puffer, Milch) auf die Inaktivierung von Sporen. Desweiteren wurden das verderbniserregende und toxische Potential von ausgewählten hitzeresistenten Isolaten näher bestimmt, indem die enzymatische Aktivitäten von z.B. Proteasen und Lipasen sowie die potentielle Zytotoxiztität der Isolate nachgewiesen wurden.

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

Emetische Toxinproduktion von *Bacillus cereus*

Emetic toxin production of Bacillus cereus

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

[1] Abteilung Funktionelle Lebensmittelmikrobiologie, Veterinärmedizinische Universität Wien
[2] Lehrstuhl für Lebensmittelchemie und molekulare Sensorik, WZW, TU München

Bacillus cereus spielt als Lebensmittelverderber und potentielles Pathogen in der Lebensmittelindustrie eine große Rolle. In den letzten Jahren häufen sich Berichte über Intoxikationen, welche durch das von *B. cereus* produzierte emetische Toxin (Cereulid) verursacht wurden. Die Aufnahme von Cereulid über ein kontaminiertes Lebensmittel führt typischerweise zum Erbrechen, kann jedoch vereinzelt auch schwerwiegendere Erkrankungen (z.B. Hepatitis) hervorrufen.

Schwerpunkt eines interdisziplinären Forschungsprojektes mit Prof. M. Ehling-Schulz (Abteilung Funktionelle Lebensmittelmikrobiologie, Vetmed Wien) und Prof. T. Hofmann (Lehrstuhl für Lebensmittelchemie, TUM) ist die Untersuchung der Cereulidproduktion von emetischen *B. cereus* Stämmen mit unterschiedlichem Toxinbildungspotential. Hierfür wurde ein LC/MS-MS Nachweissystem zur Quantifizierung von Cereulid und dessen Strukturvarianten entwickelt. Dieses ermöglicht eine sensitive Detektion von Cereulid in komplexen Matrices wie Lebensmittel und erleichtert die Suche nach hochtoxinogenen Stämmen. Darüber hinaus soll im Rahmen des Projektes analysiert werden, welche Lebensmittelzusätze bzw. Inhaltsstoffe die Toxinbildung beeinflussen und ggf. hemmen können. Auch die Aufklärung des Transports und der Verbreitung von Cereulid sowie der molekularen Regulationsmechanismen der Toxinsynthese sollen weitere Erkenntnisse bringen zur Ursache der unterschiedlichen Toxizität von emetischen Stämmen.

Das Vorhaben wird aus Mitteln des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie in Rahmen der industriellen Gemeinschaftsforschung der AiF (Forschungsvorhaben 2051/10 N) gefördert.

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Velagić Samir: Dr. rer. nat., Technische Universität München, 27.06.2011: „Partielle Charakterisierung der antilisteriellen Wirkung von *Pichia norvegensis* und *Staphylococcus equorum*“

Lang Halter Evi: Dr. rer. nat., Technische Universität München, 10.10.2011: „Prävalenz und Biodiversität von *Listeria* Spezies in limnischen Habitaten“

Frenzel Elrike: Dr. rer. nat., Technische Universität München, 27.10.2011: „Regulation of the biosynthesis of the food-borne *Bacillus cereus* toxin cereulide“

Masterarbeiten

Bechtel, Niklas: „Nachweis überlappender Genpaare bei *Escherichia coli* O157:H7“

Broadley, Steven: „Positive Regulation des *myo*-Inositol-Abbaus durch *Salmonella enterica*“

Esselborn, Julian: „Die Rolle von SsrB und SrfJ bei der Verwertung von *myo*-Inositol durch *Salmonella enterica*“

Marzoll, Daniela: „ Copper-dependent Transcription in *L. monocytogenesi*“

Bachelorarbeiten

Elmar, Michael: „Proliferation von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in *Caenorhabditis elegans*“

Hannemann, Laura: „GlnR-abhängige Regulation des Stickstoffmetabolismus in *Listeria monocytogenes*“

Ludt, Anna: „Nachweis und Diversität von *Listeria* in stehenden Gewässern“

Schardt, Jakob: „Identifizierung essentieller Gene für das anaerobe Wachstum von *Salmonella* Typhimurium und Konstruktion einer Evoglow-exprimierenden *Salmonella*-Mutante“

Schuster, Lisa: „Konstruktion und Analyse von *rfp*- und *gfp*-Fusionen mit *Yersinia*-Promotoren der insektiziden TC-Pai^{Ye}“

Schwab, Elisabeth: „Vorkommen und Diversität von *Listeria* in Oberflächengewässern“

Seiboth, Judith: „Identifikation überlappender Gene in *Escherichia coli* O157:H7 EDL933“

Wiesner, Julia: „Weiterführende Charakterisierung des anaeroben Wachstums von *Listeria monocytogenes*“

Zölch, Benjamin: „Untersuchung der Eigenschaften von *Bacillus cereus* Sporen“

Zwingenberger, Gwen: „Aufreinigung und Bindeaktivität des TcaR2-Regulators von *Yersinia enterocolitica*“

Veröffentlichungen

Bhowmick Patit P, Devegowda Devananda, Ruwandeepika Darshanee HA, Fuchs Thilo M, Srikumar Shabarinath, Karunasagar Iddya, Karunasagar Indrani (2011). *gcpA (stm1987)* is critical for cellulose production and biofilm formation on polystyrene surface by *Salmonella enterica* serovar Weltevreden in both high and low nutrient medium. Microbial Pathogenesis 50:114-122

Büchl NR and Seiler H (2011). Yeast and Molds / Yeasts in Milk and Dairy Products: In: Fuquay JW, Fox PF and McSweeney PLH (eds.) Encyclopedia of Dairy Sciences, 2. Editon, Vol. 4, 744-753

Büchl NR, Wenning M, Scherer S, Mietke-Hofmann H (2011). Differenzierung von probiotischen und ubiquitären Hefen aus Futtermitteln – Anwendung der Fourier-Transform-Infrarot (FT-IR)-Spektroskopie in der Futtermittelmikrobiologie: In: Hefendifferenzierung aus Futtermitteln, Schriftreihe des Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie, Dresden, Heft 31:1-34

Dommel MK, Lücking G, Scherer S, Ehling-Schulz M (2011). Transcriptional kinetic analyses of cereulide synthetase genes with respect to growth, sporulation and emetic toxin production in *Bacillus cereus.* Food Microbiology 28:284-290

Ehling-Schulz M, Knutson R, Scherer S (2011). Bacillus cereus. In: Fratomico P, Liu Y and Kathariou S eds.: Genomes of Foodborne and Waterborne Pathogens. ASM Press, Washington, Chapter 11, 147-164

Frenzel E, Letzel T, Scherer S, Ehling-Schulz M (2011).
Inhibition of cereulide toxin synthesis by emetic *Bacillus cereus* via long-chain polyphosphates. Applied and Environmental Microbiology, Vol. 77, 4:1475-1482

Fuchs TM, Brandt K, Starke M, Rattei T (2011). Shotgun sequencing of *Yersinia enterocolitica* strain W22703 (biotype 2, serotype O:9): genomic evidence for oscillation between invertebrates and mammals. BMC Genomics 12:168 (1-14)
Fuchs, T. M., Eisenreich, W., Heesemann, J., and W. Goebel (2011). Metabolic adaptation of human pathogenic and related non-pathogenic bacteria to extra- and intracellular habitats. FEMS Reviews Microbiology, accepted. Epub ahead of print.

Gulitz A, Stadie J, Wenning M, Ehrmann MA, Vogel RF (2011). The microbial diversity of water kefir. International Journal of Food Microbiology , Epub

Kabisch J, Pichner R., Kaspar D, Wüstner S, Müller S, Scherer S, Gareis M (2011). Wirkung von Nitrit auf Gram positive Infektionserreger in Rohwursterzeugnissen. *Mitteilungsblatt Fleischforschung Kulmbach* 194:215-228

Kröger C, Srikumar S, Ellwart J, Fuchs TM (2011). Bistability in *myo*-inositol utilization by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Journal of Bacteriology Vol. 193/6, 1427-1435

Larpin-Laborde S, Imran M, Bonaiti C, Bora N, Gelsomino R, Georges S, Irlinger F, Goodfellow M, Ward AC, Vancannevt M, Swings J, Scherer S, Guéguen M, Desmasures N (2011). Surface microbial consortia from Livarot, a French smear-ripened cheese. Can.J. Microbiol 57:651-660

Madeo, M, O'Riordan, N, Fuchs, T. M, Utratna, M, Karatzas, K.-A, and O'Byrne, C (2011). Thiamine plays a critical role in the acid tolerance of *Listeria monocytogenes. FEMS Microbiology Letters,* accepted. Epub ahead of print.

Samelis J, Bleicher A, Delbés-Paus C, Kakouri, A, Neuhaus K, Montel MC (2011). FTIR-based polyphasic identification of lactic acid bacteria isolated from traditional Greek Graviera cheese. Food Microbiology, 28: 76-83

Simon S, Oelke D, Landstorfer R, Neuhaus K (2011). Visual analysis of next-generation sequencing data to detect overlapping genes in bacterial genomes IEEE Symposium on Biological Data Visualization, Providence, Rhode Island USA, 47 – 54.

Srikumar S, Fuchs TM (2011). Ethanolamine utilization contributes to proliferation of s*almonella enterica* serovar Typhimurium in food and in nematodes. Appl. Environ. Microbiol. 77: 281-290

Wenning M, Scherer S, Mietke-Hofmann H (2011). Differenzierung von probiotischen und ubiquitären Milchsäurebakterien und aeroben Sporenbildnern aus Futtermitteln mittels FTIR-Spektroskopie. In: Differenzierung probiotischer Bakterien, Schriftreihe des Sächsischen Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie, Dreden, Heft 26:1-35

Witthuhn M, Lücking G, Atamer Z, Ehling-Schulz M, Hinrichs J (2011). Thermal resistance of aerobic spore formers isolated from food products. International Journal of Dairy Technology, 64(4), 486-493

Lehrstuhl für VWL – Umweltökonomie und Agrarpolitik

Adresse

Alte Akademie 14
85350 Freising
Telefon: +49.8161.71.3406
Telefax: +49.8161.71.3408
Internet: http://ap.wzw.tum.de/index.php?id=2

Personal

Leitung:	Prof. Dr. Klaus Salhofer	71-3407
Wiss. Mitarbeiter:	Paul Feichtinger	-3510
	Dr. Rainer Franz	-5074
	Dr. Thilo Glebe	-5965
	Magnus Kellermann	-3576
	Andreas Widenhorn	-3574
Sekretariat:	Roswitha Weinbrunn	-3406
	Monika Zoulek	-3590

Forschung

Untersuchung der Marktmacht im österreichischen Lebensmitteleinzelhandel am Beispiel Milchprodukte

Market power in Austrian food retailing: the case of milk products

Klaus Salhofer[1]; Christoph Tribl[2]; Franz Sinabell[3]: Empirica: Volume 39, Issue 1 (2012), Page 109-122

Der Lebensmitteleinzelhandel in Österreich ist durch einen relativ hohen Konzentrationsgrad gekennzeichnet. Das häufig verwendete Maß für Marktkonzentration CR-3 (die Summe der Marktanteile der größten 3 Marktteilnehmer in Prozent) liegt über 75 % (vgl. Tabelle 1). Eine hohe Marktkonzentration ist zwar ein Indiz dafür, dass Marktmacht ausgeübt werden kann, dies muss aber nicht tatsächlich auch der Fall sein.

[1] Lehrstuhl für VWL – Umweltökonomie und Agrarpolitik, Technische Universität München
[2] Bundesanstalt für Agrarwirtschaft, Wien, Österreich
[3] Österreichisches Wirtschaftsforschungsinstitut, Wien, Österreich

Tabelle 1: Kennzahlen des österreichischen Lebensmitteleinzelhandels (LEH)

	2000	2004	2005	2006	2007	2008
	Umsatz in Mrd. €					
LEH gesamt	12,6	14,6	14,9	15,4	16,0	16,6
	Anteile in %					
REWE Austria LH		29,9	29,6	29,7	30,0	30,3
Spar		27,8	27,5	27,6	27,7	28,3
Hofer (geschätzt)		17,1	18,8	19,4	19,7	19,9
ADEG		7,0	6,6	6,1	5,5	4,5
ZEV Markant		5,7	5,4	5,3	5,3	5,1
Zielpunkt		5,3	5,0	4,7	4,5	4,3
Lidl (geschätzt)		2,5	2,7	3,0	3,2	3,4
Sonstige		4,7	4,4	4,3	4,2	4,1
CR2[1])		*57,7*	*57,1*	*57,3*	*57,7*	*58,6*
CR3[1])		*74,8*	*75,8*	*76,7*	*77,3*	*78,5*
CR4[1])		*81,8*	*82,4*	*82,7*	*82,8*	*83,6*

Q: Nielsen Österreich GesmbH, April 2009, Handel in Österreich, Basisdaten 2008; –[1]) CR ist die Summe der Marktanteile der größten 2 bzw. 3 oder 4 Marktteilnehmer in Prozent.

Um der Frage der Marktmacht im LEH in dieser Studie nachzugehen, wurden Methoden der New Empirical Industrial Organisation verwendet. Zur Bestimmung ob Markmacht vorliegt oder nicht, wurde dabei folgendermaßen verfahren. Die vertikalen Beziehungen in einem Markt wurden mittels eines Systems von Angebots-, Nachfragefunktionern und Profit-Maximierungsbedingungen beschrieben. Im Zentrum steht das Maximierungsproblem jener Stufe der Verarbeitungskette, für die man auf Marktmacht testen möchte. In der Maximierungsbedingung dieser Stufe wird mittels conjectural elasticities berücksichtigt, dass diese Unternehmen potenziell Marktmacht ausüben könnten und daher der Preis für Vorleistungen nicht gleich dem Wertgrenzprodukt (oligopsonistische Marktmacht) und/oder der Preis für die Outputs nicht gleich den Grenzkosten entsprechen müssen (oligopolistische Marktmacht). Anders ausgedrückt, können diese conjectural eslaticities auch als Parameter interpretiert werden, die ein mögliches Abweichen vom vollkommenen Wettbewerb darstellen.

In der vorliegenden Studie wurde ein Ssytem von Angebots- und Nachfragekurven und Profit-Maximierungsbedingungen im Bereich des LEH für Trinkmilch (einschließlich ESL-Milch und Haltbarmilch), Käse und andere Milchprodukte geschätzt. Dafür wurden Monatsdaten des RollAMA-Haushaltspanels für den Zeitraum Jänner 1997 und Dezember 2008 verwendet. Die Ergebnisse der Schätzung des Nachfragesystems sind in Tabelle 2 dargestellt und folgendermaßen zu interpretieren: Wenn der Preis von Trinkmilch (einschließlich ESL-Milch und Haltbarmilch) um 1 % steigt, dann sinkt die Nachfrage nach Trinkmilch um 0,16 %. Auch die nachgefragte Menge von Käse und Butter (einschließlich anderer Milchprodukte und Margarine) sinkt, und zwar um 0,5 % und 0,28 %. Da die Vorzeichen der Kreuzpreiselastizitäten bezüglich Käse und Butter ebenfalls negativ sind, handelt es sich um Komplementärgüter von Trinkmilch. Steigen die Ausgaben für Milchprodukte insgesamt um 1%, so steigen die Ausgaben für Trinkmilch unterproportional, nämlich um 0,94%.

Tabelle 2: Unkompensierte Preis- und Ausgabenelastizitäten auf dem österreichischen Milchmarkt

	Menge			Ausgaben
	Trinkmilch	Käse	Butter u.a.	
Preis Trinkmilch	-0,16	-0,50	-0,28	0,94
Preis Käse	-0,25	-1,40	0,74	0,91
Preis Butter (und andere Milchprodukte und Margarine)	-0,22	0,81	-1,73	1,15

Q: RollAMA / AMA-Marketing GmbH, Statistik Austria, BMLFUW, eigene Berechnungen

Gleichzeitig wurden Angebotsfunktionen für die entsprechenden Produkte auf der Großhandelsebene und die Profitmaximierungsbedingungen des LEH geschätzt. Aus den Angebots- und Nachfragefunktionen gemeinsam mit den unterstellten Profitmaximierungs-bedingungen können jene Parameter abgeleitet werden, die das Vorliegen bzw. das Ausmaß von Marktmacht quantifizieren.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Preissetzung des LEH bei Milchprodukten sowohl gegenüber dem Konsumenten als auch gegenüber den Molkereien nicht jener in einem vollkommenen Wettbewerb entspricht. Die Abweichungen erscheinen allerdings sehr moderat und sind für die einzelnen Produkte unterschiedlich. Statistisch signifikant sind vor allem die Abweichungen bei Trinkmilch Richtung Konsumenten und bei Butter und anderen Milchprodukten Richtung Molkereien. Im Durchschnitt aller Produkte würden ohne Marktmacht des LEH die Konsumenten um rund 3% weniger bezahlen bzw. Molkereien einen um rund 12,4% höheren Preis bekommen. In diesem Zusammenhang ist aber anzumerken, dass solche empirischen Untersuchungen, und speziell die konkreten Prozentsätze, aufgrund von Datenmängeln, insbesondere im Hinblick auf die Kosten im LEH, mit einer gewissen Vorsicht zu interpretieren sind.

Kooperativer versus nicht-kooperativer räumlicher Wettbewerb um Milch bei Vorhandensein von Erzeugergemeinschaften

Cooperative vs. non-cooperative spatial competition for milk in the presence of farm marketing cooperatives

Marten Graubner[4]; Ines Koller[5]; Klaus Salhofer[2]; Alfons Balmann[1]: European Review of Agricultural Economics (2011), Vol. 38 (1), pp. 99–118.

Große Preisschwankungen und ein allgemeiner Abwärtstrend der Milchpreise in den letzten Jahren haben bei den heimischen Landwirten zu großer Verunsicherung und teilweise auch Unmut geführt. Dies gipfelte in den Demonstrationen und Lieferboykotts im Frühjahr 2008. Neben den Entwicklungen am Weltmarkt und des bevorstehenden Auslaufens des Milchquotensystems in der EU, wurden und werden in der öffentlichen Diskussion vor allem auch der Lebensmitteleinzelhandel (LEH) und der verarbeitende Sektor für diese Situation verantwortlich gemacht.

[4] Lehrstuhl für VWL – Umweltökonomie und Agrarpolitik, Technische Universität München
[5] Bundesanstalt für Agrarwirtschaft, Wien, Österreich

Tatsächlich kann man aus wissenschaftlicher Sicht einige Fakten finden, die diese Sichtweise unterstützen. Da wäre zuerst einmal der starke Konzentrationsprozess im LEH, der zu einer oligopsonistischen Marktstruktur führt. Darüber hinaus gibt es aber auch Besonderheiten der landwirtschaftlichen Produktion, die zur Entstehung von Marktmacht zwischen dem Landwirt und den Molkereien führen können. Rohmilch ist ein verderbliches, und gemessen am Wert, relativ schweres Gut. Dies hat zur Folge, dass die Transportkosten je Werteinheit relativ hoch sind. Daraus ergibt sich, dass das Produkt nur über eine sehr begrenzte Distanz transportiert wird. Somit stehen viele Landwirte nur einem oder wenigen Abnehmern ihres Produktes gegenüber. In der Ökonomie spricht man in diesem Zusammenhang von räumlicher Marktmacht. Wie sich diese allerdings auf den Auszahlungspreis für Rohmilch auswirkt, hängt vor allem davon ab, in welche Art von Wettbewerb die konkurrierenden Molkereien eintreten. Rein theoretisch kann es bereits bei einem Wettbewerb von zwei Firmen zu einer Preisbildung gemäß den Grenzkosten kommen.

Hier setzt die vorliegende Arbeit an. Um den Einfluss des Raumes auf den Preiswettbewerb zwischen zwei Molkereien darzustellen, wird zuerst ein einfaches ökonomisches Modell gebildet. Es wird angenommen, dass zwei Molkereien um die Rohmilch in einem gewissen Gebiet konkurrieren. Jede Molkerei muss nun entscheiden welchen Preis sie den Landwirten für Rohmilch bezahlt, und dabei berücksichtigen, dass zu den Kosten für die Rohmilch auch noch die Transportkosten kommen. Milch von Betrieben, die weiter entfernt liegen, ist also teurer für die Molkerei. Dazu kommt noch, dass die beiden Molkereien um die Rohmilch konkurrieren. Sie können sich dabei untereinander kooperativ („Price Matching“ Wettbewerb) oder nicht-kooperativ („Hotelling-Smithies” Wettbewerb) verhalten. Kooperativer Wettbewerb führt zu einer Kollusion, nicht-kooperativer Wettbewerb zu starker Konkurrenz. Folgende Ergebnisse können aus dem theoretischen Modell abgeleitet werden:

1.) Nichtkooperativer Wettbewerb um Rohmilch impliziert höhere Auszahlungspreise für Landwirte und geringere Profite für die Molkereien. Diese Situation wäre aus der Sicht der Landwirte von Vorteil.
2.) Der Auszahlungspreis ist umso geringer, je weiter die Molkereien auseinander liegen. Anders ausgedrückt, eine größere Zahl von Molkereien in einer Region erhöht den Wettbewerbsdruck und damit den Preis für Rohmilch.
3.) Die Preistransmission zwischen Molkereien und den Landwirten ist vollkommen unter nichtkooperativem Wettbewerb und unvollkommen unter kooperativem Wettbewerb. Wenn also die Molkereien aufgrund von beispielsweise höherer Nachfrage nach ihren Produkten einen Cent mehr pro Milchäquivalent bekommen, würde dies im Fall von nichtkooperativem Wettbewerb auch den Auszahlungsreis um einen Cent erhöhen. Im Falle von kooperativem Wettbewerb wäre dies nicht der Fall. Erhöhen sich die Preise für die Molkereien, führt dies nur bedingt zu einer Veränderung der Preis für die Landwirte. Natürlich gilt dies auch in die umgekehrte Richtung.
4.) Eine Abschaffung des Quotensystems würde die Preistransmission im Falle von kooperativem Wettbewerb erhöhen.

Nachdem nun die Situation theoretisch analysiert wurde, stellt sich die Frage, welche Art des Wettbewerbs tatsächlich im deutschen Milchmarkt vorherrscht. Dies kann mit Hilfe des theoretischen Ergebnisses bezüglich der Preistransmission beantwortet werden. Dabei wird untersucht, ob die Preistransmission zwischen Molkereiabgabepreis einerseits und Auszahlungspreis für Rohmilch andererseits in der Vergangenheit vollkommen oder unvollkommen war. Dabei wird folgendermaßen vorgegangen. Abbildung 1 zeigt den Verlauf der durchschnittlichen monatlichen Molkereiabgabepreise und der Erzeugerpreise zwischen Jänner 1997 und Dezember 2006.

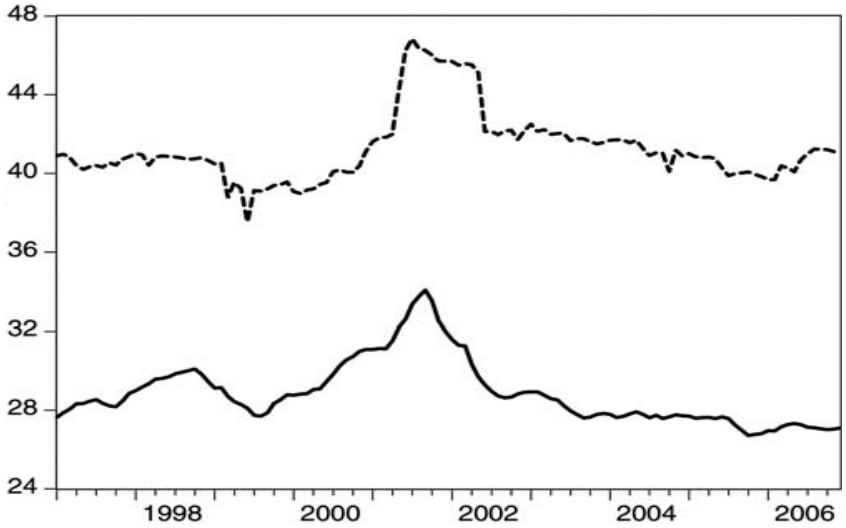


Abb. 1: Entwicklung der durchschnittlichen monatlichen Molkereiabgabepreise und der Auszahlungspreise für Rohmilch zwischen Jänner 1996 und Dezember 2006 in € Cent/ kg

Vollkommene Preistransmission würde bedingen, dass sich unvorhergesehene Änderungen in einem Preis sehr unmittelbar auf den anderen Preis auswirken. Unvollkommene Preistransmission führt dazu, dass die Preisentwicklungen zumindest kurzfristig voneinander abweichen können. Betrachtet man Abbildung 1 rein visuell, so kann man gewisse Synchronitäten feststellen, aber auch Abweichungen. Eine endgültige Beantwortung der Frage ist nur mit relativ komplizierten statistischen Verfahren, so genannter Vektorfehler-korrekturmodelle, möglich. Nach eingehenden Untersuchungen weisen unsere Ergebnisse eindeutig auf eine sehr geringe Preistransmission hin. Dies kann als ein Hinweis gesehen werden, dass Molkereien einem kooperativen Wettbewerb folgen. Inhaltlich wird dieses Ergebnis auch vom Bundeskartellamt (2010) bestätigt, das anmerkt, dass die „Orientierung an einem wie auch immer definierten Durchschnittswert umliegender Molkereien“ wettbewerbsdämpfend wirkt. Dass Molkereien einem kooperativen Wettbewerb folgen ist aus spieltheoretischer Sicht bemerkenswert, da man sich in einem so genannten Gefangenen-dilemma befindet. Für die einzelne Firma erscheint es erstrebenswert vom kooperativen Verhalten abzuweichen. Tun dies jedoch alle, so ist das Ergebnis insgesamt für alle Beteiligten schlechter. Den Molkereien gelingt es also, dieses Gefangenendilemma aufzulösen.

Preisreaktionen in verschiedenen Formaten des Lebensmitteleinzelhandels
Price sensitivity within and across retail formats
Andreas Widenhorn, Klaus Salhofer

Die innerhalb der letzten Jahrzehnte steigenden Marktanteile des Discount-Formats im Lebensmitteleinzelhandel zahlreicher Industrienationen können als Indiz für durchschnittlich höhere Wertschätzung niedriger Preise interpretiert werden. Ein bisher weitgehend vernachlässigter Aspekt, auch durch oftmals unzureichende Datenbasis bedingt, ist die Frage, inwieweit sich Konsumenten systematisch verteilt haben, auf klassische Einzelhandelsformate wie den Supermarkt oder preisfokussierte Discount – Einkaufsstätten wie beispielsweise Aldi oder Lidl. Unterschiedliche Szenarien sind denkbar, eng verbunden jedoch mit der Analyse potentiell verschiedener Konsumentengruppen ist auch die Bewertung der Wirksamkeit sogenannter „loss leader“ – Strategien, welche über für den Anbieter unrentable Lockangebote Käufer in die Einkaufsstätte bewegen sollen.

Zentraler Ansatzpunkt der hiesigen Analyse ist der Vergleich von Preiselastizitäten zwischen der Gruppe von Discount-Konsumenten einerseits und Konsumenten „klassischer“ Einkaufsstätten andererseits. Bisherige Untersuchungen, die sich mit dem steigenden Einfluss von Discount-Formaten auseinandersetzten, hatten zumeist ein außereuropäisches Gebiet als Basis. Demgegenüber soll nun der österreichische Lebensmitteleinzelhandel als Ausgangspunkt unserer Untersuchung dienen.

Ein umfangreicher Datensatz für Milchprodukte zu verschiedenen Einkaufsstätten über den Zeitraum von etwa zehn Jahren liefert hierfür die Grundlage. Bei einer ersten Betrachtung der drei Kategorien Trinkmilch, Käse und übrige Milchprodukte fällt auf, dass die Discount-Preise erwartungsgemäß tiefer ausfallen als jene in Supermärkten und ähnlichen Formaten.

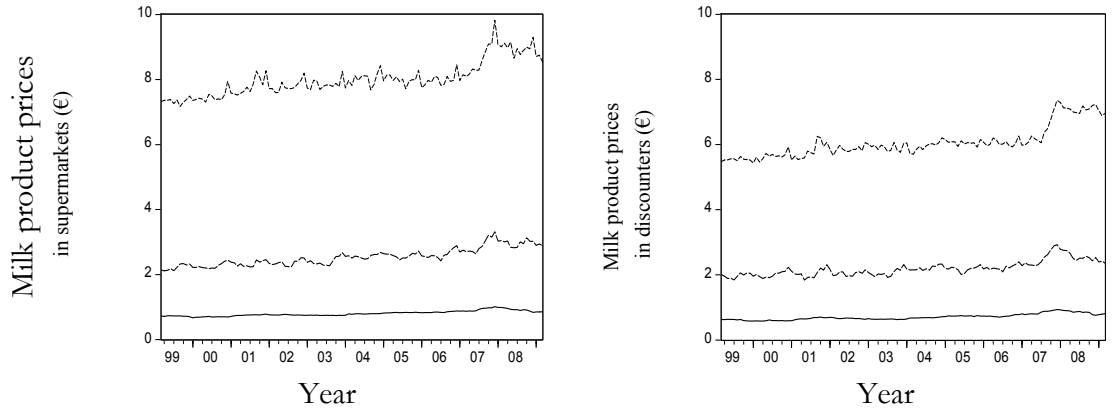


Abb. 1: Preise für Milchprodukte in österreichischen Supermärkten und Discountern. (Preislinien beziehen sich auf Käse, übrige Milchprodukte und Trinkmilch, in absteigender Reihenfolge.)

Die Schätzung der Nachfrageparameter der drei Kategorien erfolgt anhand eines synthetischen Nachfragemodelles, welches auf Barten (1993) zurückgeht. Dieses verbindet die klassischen Modelle AIDS und Rotterdam, als auch deren Mischformen CBS und NBR in folgender Form:

$$dw_i = (b_i + \varphi_1 w_i) d\ln Q + \sum_j \left[c_{ij} - \varphi_2 w_i \left(\delta_{ij} - w_j \right) \right] d\ln p_j \quad (1)$$

b_i, φ_1, c_{ij} und φ_2 sind die Schätzparameter. Mengen und Preise sind durch q_i und p_i gegeben, während $d\ln Q$ den Divisia volume index bezeichnet und w_i den Anteil des konsumierten Gutes am gesamten Budget für Milchprodukte beschreibt. δ_{ij} bezeichnet das Kronecker Delta. Ein Vorteil des Nachfragemodells besteht darin, dass empirisch überprüft werden kann, welches der Teilmodelle die beste Option zur Schätzung darstellt.

Zur Erkennung möglicher Endogenitätsprobleme wird ein in McGuirk et al. (1995) beschriebener Test durchgeführt. Letztlich wird Gleichung (1) mit der Seemingly Unrelated Regression (SUR) – Methode für zwei der drei Kategorien geschätzt, die Parameter der dritten Kategorie lassen sich aus den theoretischen Restriktionen der Engel Aggregation und Slutsky Symmetrie ableiten.

Die Errechnung der Preis- und Ausgabenparameter und Elastizitäten erfolgt in zwei Varianten: Zunächst werden diese für beide Formate getrennt berechnet. Hierbei gibt es keine Preiseffekte zwischen den verschiedenen Formaten. Welch Tests und Kolmogorov-Smirnov Tests werden anschließend herangezogen, um die Gleichheit der Elastizitäten zu prüfen. In der zweiten Variante gilt die Annahme, dass beide Formate aufgesucht werden und Preise des einen Formates Einfluss auf die Nachfrage im anderen Format haben können. Wiederum erfolgt ein Test auf Gleichheit der Elastizitäten, hier ist dies der Wald Test. Zusätzlich werden Morishima Elasticities of Substitution (MES) betrachtet, welche die Substitution innerhalb eines und zwischen verschiedenen Formaten offenlegen.

ERGEBNISSE

Konsumenten des Discount- Formates zeigen tendenziell elastischere, stärkere Reaktionen auf Preisänderungen als Konsumenten in Supermärkten und ähnlichen Einkaufsformaten. Dies gilt sowohl für die getrennte als auch für die gemeinsame Variante der Schätzung. Im Falle der separaten Betrachtung signalisieren auch die Tests auf Gleichheit der Elastizitäten, dass signifikante Unterschiede zwischen den Formaten bestehen, dies wird etwas abgeschwächt durch teils insignifikante Resultate in den entsprechenden Wald Tests der gemeinsamen Schätzung.

Insgesamt deuten die Ergebnisse darauf hin, dass sich der preisempfindlichere Teil der Konsumenten im Discount-Format eingefunden hat. Dies wird bekräftigt durch das Resultat, dass die meisten Kreuzpreis-Reaktionen insignifikant ausfallen. Eine besondere Rolle dürfte auch hinsichtlich möglicher loss leader- Ambitionen der Kategorie Trinkmilch zukommen, bei der sich nicht nur innerhalb, sondern auch zwischen den Formaten starke Preisreaktionen zeigen.

LITERATUR

Barten, A.P. (1993). Consumer Allocation Models: Choice of Functional Form. Empirical Economics 18: 129-158

McGuirk, A., P. Driscoll, J. Alwang, and H. Huang (1995). System Misspecification Testing and Structural Change in the Demand for Meats. Journal of Agricultural and Resource Economics 20:1-21.

Der Zusammenhang zwischen technischer Effizienz und wirtschaftlichem Erfolg: eine Analyse für bayerische Milchviehbetriebe

The relationship between technical efficiency and economic success: The case of Bavarian dairy farms

Magnus Kellermann[6]; Klaus Salhofer[1]; Wolfgang Wintzer[7]; Christian Stockinger[2] (2012) in: German Journal of Agricultural Economics (60) Nr.4, 230-242

Landwirtschaftliche Betriebe erzeugen unter Einsatz von Inputs wie Boden, Arbeitskraft, Kapital und variablen Produktionsfaktoren in einem innerbetrieblichen Produktionsprozess einen Output an landwirtschaftlichen Gütern und Dienstleistungen. Der größte Teil der Betriebe erzeugt relativ homogene Güter und steht dadurch großer Konkurrenz auf zunehmend liberalisierten Agrarmärkten gegenüber. Dies gilt insbesondere für Milchviehbetriebe die im Hinblick auf das Auslaufen der Milchquote zum Milchwirtschaftsjahr 2014/15 und der wachsenden Flächenkonkurrenz durch die Erzeugung von Biogas vor besonderen Herausforderungen stehen. Betriebsleiter, die konkurrenzfähig und wirtschaftlich erfolgreich bleiben möchten, müssen daher darauf bedacht sein, die Produktion in ihrem Betrieb so effizient wie möglich zu gestalten. In diesem Aufsatz gehen wir der Frage nach, inwiefern diese beiden Begriffe – wirtschaftlicher Erfolg und technische Effizienz – verknüpft sind. Um die technische Effizienz einer Stichprobe von landwirtschaftlichen Milchviehbetrieben zu ermitteln, wird eine stochastische Frontieranalyse durchgeführt. Hierbei wird aus einem vorliegenden Datensatz eine Produktionsfrontier geschätzt, die den Best-Practice Fall des landwirtschaftlichen Produktionsprozesses unter Berücksichtigung einer stochastischen Fehlerkomponente darstellt. Negative Abweichungen von dieser Frontier werden unter Annahme einer abgeschnittenen Normalverteilung als Ineffizienz interpretiert. Als funktionelle Form verwenden wir eine flexible Translog-Produktionsfunktion. Um den wirtschaftlichen Erfolg der Betriebe zu messen, wird die Kennzahl „Nettorentabilität“ verwendet. Der verwendete Paneldatensatz erstreckt sich über einen Zeitraum von insgesamt neun Jahren (von 2000 bis 2008) und enthält 12 914 Beobachtungen von 2 187 bayerischen Milchviehbetrieben.

Die ermittelte durchschnittliche Effizienz der untersuchten Milchviehbetriebe liegt bei 0,88, das Maximum bei 0,98, das Minimum bei 0,42 bei einer Standardabweichung von 0,065. Diese Werte können so interpretiert werden, dass die beobachteten Betriebe im Mittel ihren Output bei gleichem Inputeinsatz theoretisch um etwa 12% steigern könnten, wenn sie technisch vollkommen effizient wären. Die Einteilung der Betriebe in Effizienzklassen (Abbildung 1) zeigt eine linksschiefe Verteilung, in der fast die Hälfte der Betriebe hohe Effizienzwerte über 0,9 erreichen. Dennoch können auch Betriebe mit erheblichem Potential zur Verbesserung von Ineffizienzen identifiziert werden.

Die Nettorentabilität unserer Stichprobe schwankt zwischen 0 und 377,4 bei einer Standardabweichung von 41,8. Der Mittelwert aller Betriebe liegt bei 57,3. Dieser Wert sagt aus, dass in den beobachteten Betrieben im Mittel nur etwa 57 Prozent der betriebseigenen Produktionsfaktoren durch das ordentliche Unternehmensergebnis entlohnt werden können.

[6] Lehrstuhl für VWL – Umweltökonomie und Agrarpolitik, Technische Universität München
[7] Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, München

In etwa 12% der Beobachtungen erreichen die Betriebe eine Nettorentabilität über 100 und können damit eine zusätzliche Entlohnung ihres unternehmerischen Risikos erzielen. In etwa 8% der Beobachtungen beträgt die erreichte Nettorentabilität Null. Der Zusammenhang zwischen der technischen Effizienz des landwirtschaftlichen Produktionsprozesses und dem wirtschaftlichen Erfolg eines Betriebes erscheint logisch begründet. Ein Betrieb, dessen Produktionsprozess einen hohen Effizienzwert erreicht, produziert bei gleichem Inputeinsatz einen höheren Output als ein Betrieb mit geringer Effizienz.

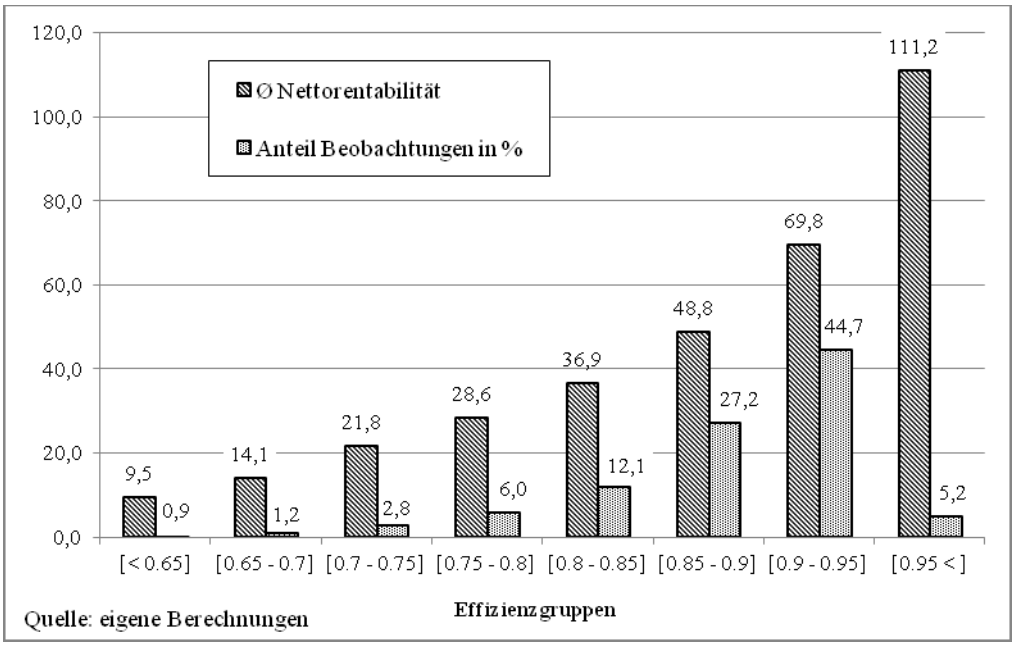


Abb. 1: Nettorentabilität der Betriebe nach Effizienzklassen

Unter sonst gleichen Bedingungen wäre damit zu erwarten, dass effiziente Betriebe einen höheren wirtschaftlichen Erfolg aufweisen. Eine Rangkorrelationsanalyse zeigt, dass dieser theoretische Zusammenhang durch die vorliegenden Daten gestützt wird. Die ermittelte Korrelation beträgt 0,541 und ist auf dem 0,1%-Niveau signifikant. Die Einteilung der Betriebe nach Effizienzklassen in Abbildung 1 bestätigt die Korrelationsanalyse und legt offen, dass die effizienten Betriebe weit bessere Erfolgswerte aufweisen als ineffiziente Betriebe. Hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang, dass die Gruppe der effizientesten Betriebe im Durchschnitt eine Nettorentabilität von über 100 erreicht und damit einen Unternehmergewinn erzielt.

Zusätzlich wurde mittels des „technical inefficiency effects“-Modell nach Battese und Coelli (1995) der Einfluss exogener Faktoren auf die Effizienz und durch eine Tobit-Regression auf den wirtschaftlichen Erfolg der Betriebe untersucht.

Die berechneten marginalen Effekte der Variable „landwirtschaftliche Ausbildung“ zeigen einen positiven Effekt. Im Vergleich zu einem Betrieb, dessen Leiter keine abgeschlossene landwirtschaftliche Ausbildung hat, verringert sich die Ineffizienz des Betriebes durch alle drei Ausbildungsstufen; z.B. haben Betriebe mit einem Landwirtschaftsmeister als Leiter im Durchschnitt eine um 2,4% niedrigere Ineffizienz und eine um 6,1 Prozentpunkte höhere Nettorentabilität. Betriebe, die im Haupterwerb bewirtschaftet werden, erreichen im Mittel eine um 3,9% niedrigere Ineffizienz und eine um 13,2 Prozentpunkte höhere Nettorentabilität als Nebenerwerbsbetriebe. Eine ökologische Bewirtschaftungsform scheint keinen Einfluss auf die Ineffizienz der Betriebe zu haben. Allerdings erreichen ökologisch wirtschaftende Betriebe c.p. eine um 6,1 Prozentpunkte höhere Entlohnung ihrer betriebseigenen Produktionsfaktoren als konventionelle Betriebe. Ein Grund für dieses Ergebnis kann sein, dass bei der Berechnung der Nettorentabilität staatliche Zuschüsse und Subventionen berücksichtigt wurden, welche nicht im Output der Produktionfrontier enthalten sind.

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

Einsatzmöglichkeit einer antimikrobiell ausgerüsteten Deckelplatine bei der Verpackung von Milchprodukten

Carolin Hauser, Catharina Stelter
Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik TUM und Fraunhofer IVV

1 Problemstellung

Aufgrund der allgemein niedrigen Keimzahlen auf Deckelplatinen im Vergleich zu den dazugehörigen Bechern für pastöse Milchprodukte wie Frischkäse, Quark oder Joghurt unterbleibt bei vielen Abfüllanlagen die Entkeimung dieser Deckelplatinen vollständig, oder sie werden nur einer weniger wirksamen Dekontamination als die Becher unterzogen. Eine Kontamination der Füllgüter mit Mikroorganismen oder Sporen über die Platinen kann somit nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Zwei Hauptwege führen zu solchen Kotaminationen:

1) Keime oder Schimmelsporen gelangen über die Luft auf die Platinen bei deren Konfektionierung
2) beim händischen Einlegen in die Verpackungsmaschinen gelangen Mikroorganismen durch direkten Hautkontakt auf die Platinen

In diesem Projekt sollte untersucht werden, inwieweit eine Kontamination des Füllgutes über die Deckelplatine durch deren antimikrobielle Ausrüstung vermieden werden kann.

Verschiedenste Arten von antimikrobiellen Verpackungen wurden bereits entwickelt und erforscht. Eine Übersicht darüber findet sich bei Appendini & Hotchkiss [1] und Joerger [2]. Einige dieser Verpackungsausrüstungen sind für den deutschen bzw. europäischen Markt lebensmittelrechtlich bedenklich bzw. nicht zugelassen. Eine aktive Folie mit dem zugelassenen Konservierungsstoff Sorbinsäure wurde am Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung, IVV entwickelt, welche für diese Anwendung optimal erscheint [3, 4].

Sorbinsäure ist als konventioneller Konservierungsstoff in der Zusatzstoff-Zulassungsverordnung (ZZulV) [5] geregelt. Nach § 5 Abs. 1 i.V.m. Anl. 5 Teil A Liste 2 ZZulV ist dieser Konservierungsstoff für abgepackten und geschnittenen Käse und nicht reifenden Käse bis zu einer Höchstmenge von 1000 mg/kg, für Schmelzkäse sogar bis 2000 mg/kg zugelassen. Somit darf dieser antimikrobiell wirkende Stoff für aktive Verpackungsmaterialien nach der EG-Verordnung VO (EG) 450/2009 über aktive und intelligente Verpackungen [6] für Frischkäse bzw. Quark und Schmelzkäse auch in antimikrobiellen Verpackungen bis zu diesen Höchstmengen verwendet werden.

2 Projektziel

Typische Deckelplatinenfolien sollten mit einem antimikrobiell wirksamen Lack beschichtet und anschließend im Labormaßstab mit unterschiedlichen Mikroorganismen künstlich kontaminiert werden. Ihre Wirksamkeit sollte an einem typischen pastösen Milchprodukt getestet werden. Der antimikrobiell wirksame Lack sollte auf diesen Platinen in einer Schicht so aufgebracht sein, dass diese geringfügig den für Käse zugelassenen Konservierungsstoff Sorbinsäure abgibt und damit das Mikroorganismenwachstum dort unterbindet, wo die Lackschicht direkt am Produkt anliegt. Die migrierende Menge an Sorbinsäure sollte dabei möglichst gering gehalten werden, und insgesamt den Käse mit weniger Sorbinsäure versorgen, als es für die Käseproduktion zugelassen oder vorgesehen ist.

3 Lösungsweg

Aus Erhebungen des Fraunhofer IVV und Werten von Industriepartnern wurden Richt- und Warnwerte für die Verkeimung von Deckelplatinen veröffentlicht [7]. An Stichproben von Deckelplatinen vier verschiedener Abfüller sollte die aktuelle Einhaltung dieser Werte überprüft werden.

Frischkäse sollte für die Anwendung der antimikrobiell ausgerüsteten Platinen eingesetzt werden. Bei diesem Milchprodukt besteht häufig Kontakt zwischen dem Füllgut und der Deckelplatine. Stichfester Joghurt beispielsweise besitzt einen größeren Kopfraum und steht deshalb nicht mit der Platine in direktem Kontakt.

Auf eine geeignete Deckelplatinenfolie sollte zunächst produktseitig eine antimikrobiell aktive Lackschicht aufgebracht werden. Dafür eignet sich Polyvinylacetat als Lackgrundstoff, ein für die Verwendung im Lebensmittelbereich zugelassener Kunststoff, der nach Vorversuchen auch siegelbar ist. Als Konservierungsstoff wird Sorbinsäure in geeigneter Konzentration in den flüssigen Lack eingebracht. Der Lack wird im Labormaßstab hergestellt, mittels Handrakelversuchen in dünnen Schichten auf die Basisfolie aufgetragen und anschließend getrocknet. In der Anwendung diffundiert die Sorbinsäure nach einem Releasemechanismus auf anliegende Lebensmittelschichten. Die auf die Käseschicht maximal übergehende Konzentration sollte unter der für Frischkäse zulässigen Konzentration liegen.

Auswahl der Mikroorganismen

Um den beiden Hauptkontaminationswegen der Platinen Rechnung zu tragen, wurden folgende Keime für die Untersuchungen herangezogen:

1) Schimmelsporen von *Aspergillus* (*A.*) *niger* bzw. vegetative Zellen von *Kocuria* (*K.*) *rhizophila* für den Kontaminationsweg über die Luft.

2) Als klassischer Vertreter für eine Kontamination durch Hautkontakt wurde der Indikatorkeim für fäkale Verunreinigungen *Escherichia* (*E.*) *coli* herangezogen. Aber auch *Kocuria rhizophila* kann über Hautkontakt übertragen werden [8].

Um die prinzipielle Wirksamkeit der Folie gegen die vorgesehenen Testkeime nachzuweisen, wurde als standardisierte Testmethode der Japanische Industriestandard Test JIS Z 2801:2000 [9] angewendet.

Durchführung der Untersuchungen

Die Platinen wurden durch wässrige Suspensionen der jeweiligen Sporen bzw. Zellen durch ein Sprühverfahren inokuliert. Anschließend wurden die Platinen in Petrischalen eingelegt und mit Frischkäse bedeckt.

Für Lagertests wurden diese dann in klimatisierten Lagerräumen gelagert. Aktive und nicht aktive Platinen wurden stets in Parallelversuchen geprüft. Die quantitative Beurteilung des Mikroorganismenwachstums erfolgte über eine den Mikroorganismen angepasste selektive Keimzahlbestimmung.

3 Ergebnisse

Mikrobiologischer Status der Deckelplatinen

Um einen Überblick zum mikrobiologischen Status von Deckelplatinen zu erhalten, wurden diese in Stichproben von vier verschiedenen Molkereibetrieben auf ihre Oberflächenkeimzahl untersucht. Die Entnahme der Stichproben erfolgte vor einer gegebenenfalls stattfindenden Dekontamination der Deckelplatinen. Bei den untersuchten Deckelplatinen handelte es sich um Aluminiumverbundplatinen.

In Tabelle 1 sind die Bewertungsgrenzen für Packstoffe bezüglich der mesophilen Gesamtkeimzahl und der Keimzahl von Hefen und Schimmelpilzen dargestellt. Dabei ist die Keimzahl in KbE/100 cm^2 des untersuchten Packstoffes (hier: Deckelplatinen) und zudem die Kategorisierung für dessen mikrobiologische Bewertung angegeben. Die untere Nachweisgrenze liegt bei < 0,1 KbE/100 cm^2 Packstoff.

Tabelle 1: Fraunhofer IVV-interne Bewertungsgrenzen [10] für Packstoffe (hier: Deckelplatinen) bezüglich der mesophilen Gesamtkeimzahl und der Keimzahl von Hefen und Schimmelpilzen sowie deren Kategorisierung für die mikrobiologische Bewertung der Decke

Kategorisierung	**mesophile Gesamtkeimzahl [KbE/100 cm^2]**	**Hefen/Schimmelpilze [KbE/100 cm^2]**
extrem keimarm	< 0,1	< 0,1
sehr keimarm	≥ 0,1 bis ≤ 0,5	≥ 0,1 bis ≤ 0,5
keimarm	> 0,5 bis ≤ 2	> 0,5 bis ≤ 1
nicht keimarm	> 2	> 1

Es wurden insgesamt 24.000 cm² der Deckelplatinen auf ihre mesophile Gesamtkeimzahl und die Keimzahl der Hefen und Schimmelpilze untersucht. Dabei wurde sowohl die mit dem Produkt in Kontakt kommende unbedruckte, als auch die bedruckte Seite untersucht. Die Ergebnisse wurden nach Tabelle 1 bewertet. In Abbildung 1 ist das Gesamtergebnis aller untersuchten Platinen dargestellt. 90 % der untersuchten Fläche ist vor einer möglichen Entkeimung extrem bis sehr keimarm. Ein gewisses Restrisiko besteht jedoch speziell für die nicht keimarmen Platinen. Falls hier die nachfolgende Entkeimung ungenügend ist oder unterlassen wird, kann es zu einer Übertragung der Mikroorganismen ins Lebensmittel kommen. Dies soll durch die antimikrobielle Ausstattung der Deckelplatinen verhindert werden.

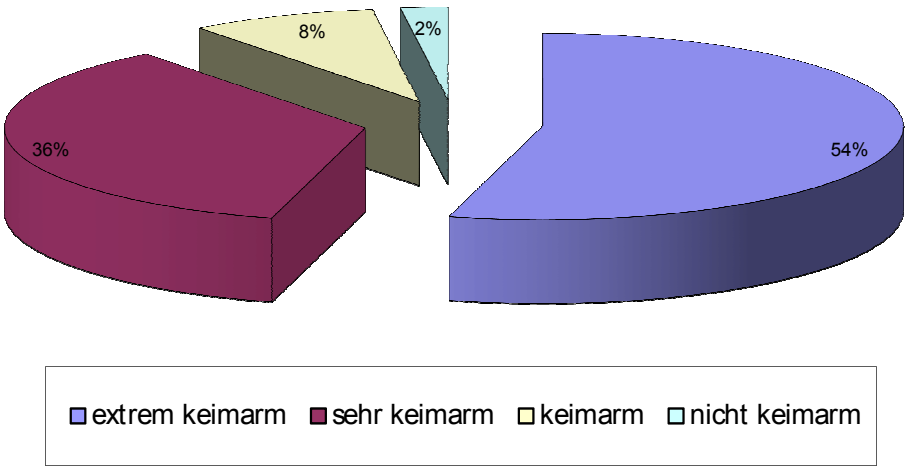


Abb. 1: Durchschnittlicher mikrobiologischer Status der untersuchten Deckelplatinen. Es wurden die bedruckte und unbedruckte Seite auf ihre mesophile Gesamtkeimzahl sowie die Anzahl an Hefen und Schimmelpilzen untersucht [11]

Wirksamkeit der aktiven Platinen gegen die ausgewählten Testkeime

Um die prinzipielle Wirksamkeit der antimikrobiell ausgerüsteten Deckelplatinenfolien, welche für den Lagerversuch inokuliert werden sollten, zu überprüfen, wurden diese gemäß den Vorschriften des JIS Z 2801:2000 [9] behandelt. Folienausschnitte wurden mit mindestens $1 * 10^5$ koloniebildenden Einheiten (KbE) pro Folienstück (Objekt) des jeweiligen Testkeims beiimpft und 24 h bei der jeweils keimspezifischen Wachstumstemperatur bebrütet. Parallel dazu wurde eine unwirksame Referenz auf die gleiche Weise behandelt. Eine Keimzahlbestimmung nach der Inkubationszeit gibt die Anzahl der überlebenden Keime an.

Die aktive Deckelplatine erzielte bei allen Testkeimen eine Keimreduktion. Konidiosporen von *Aspergillus niger* wurden um 5,0 log-Einheiten inaktiviert. Bei *Escherichia coli* und bei *Kocuria rhizophila* lag die Reduktion bei 7,2 log-Einheiten im Vergleich zur Referenz (siehe Abbildung 2).

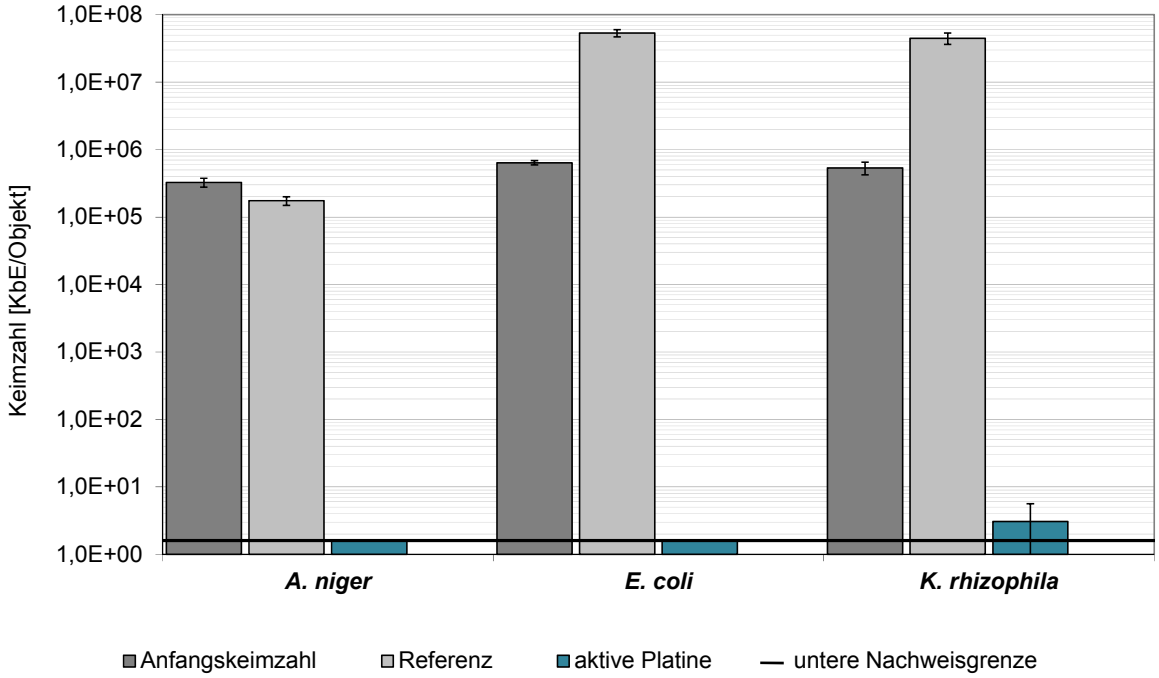


Abb. 2: Antimikrobielle Wirksamkeit der aktiven Verpackungsfolie und einer Referenzfolie gegen verschiedene Testkeime nach JIS Z 2801:2000 [11]

Durchführung der Untersuchungen auf der Deckelplatine im Kontakt zum Frischkäse

Um die Wirksamkeit der aktiven Deckelplatinen direkt am Frischkäse zu überprüfen, wurden diese mit einer Keimsuspension des jeweiligen Testkeimes durch Besprühen von ca. $5 * 10^3$ KbE/Objekt inokuliert, anschließend mit einer dünnen Schicht Frischkäse bestrichen und mit einer LDPE-Folie bedeckt, um ein Austrocknen der Frischkäseschicht zu verhindern. Parallel dazu wurden inaktive Referenzfolien inokuliert, mit Frischkäse bestrichen und bedeckt. Alle Proben wurden bei 8 °C im Kühlraum und bei 25 °C gelagert. Pro Untersuchungstag und Folienart wurden jeweils drei Einzelproben angesetzt. Als Testkeime dienten *A. niger* und *K. rhizophila*. Die Lagerdauer der Proben betrug 17 bzw. 27 Tage. An jedem Untersuchungstag wurde eine Keimzahlbestimmung des jeweiligen Testkeims durchgeführt.

Wie aus Abbildung 3 erkennbar wird, kommt es bei *A. niger* bei einer Lagertemperatur von 25 °C schon nach drei Tagen Lagerung zu einer Inaktivierung der Konidiosporen bis unter die Nachweisgrenze. Die komplette Inaktivierung wird auch bei 8 °C Lagertemperatur erreicht, hier allerdings erst nach zehn Tagen. Die Keimzahl im Frischkäse, der mit der unwirksamen Referenz bedeckt wurde, steigt bei 25 °C um fast vier Zehnerpotenzen an und es kommt zu einer deutlich sichtbaren Mycelbildung. Dies könnte einerseits durch die hohe Wasseraktivität von Frischkäse ($a_w = 0{,}99$) [12] bzw. die hohe Luftfeuchtigkeit von 80 % relativer Feuchte bei der Lagerung und andererseits durch die optimale Wachstumstemperatur bei 25 °C erklärt werden [13, 14]. Bei 8 °C Lagertemperatur bleibt die Keimzahl auf der Referenzprobe auf der Höhe der Anfangskeimzahl.

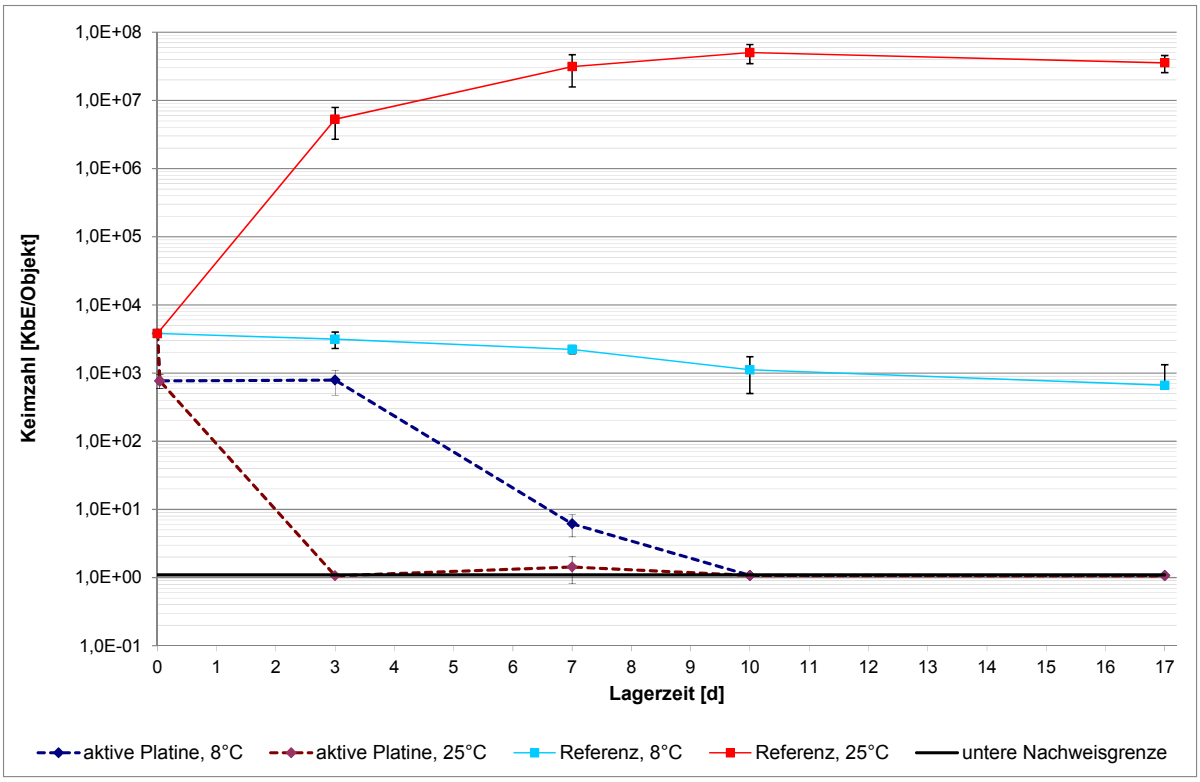


Abb. 3: Entwicklung der Keimzahl von A. niger im Frischkäse bei 8 °C und 25 °C Lagertemperatur unter Einwirkung der antimikrobiell ausgerüsteten Deckelplatine im Vergleich zu einer unbeschichteten Re-ferenzplatine [11]

Auch die Keimzahl von *K. rhizophila* blieb bei der Referenzprobe und Lagerung von 8 °C während der gesamten Lagerzeit von 27 Tagen konstant (Abbildung 4). Im Gegensatz zu *A. niger* sank jedoch die Keimzahl der Referenzprobe bei der Lagertemperatur von 25 °C. Bis zum 14. Lagertag konnte eine Reduktion um eine log-Stufe festgestellt werden. Diese Reduktion, auch ohne Hemmstoff, ist auf die Säureempfindlichkeit [15] und die erhöhte Stoffwechselaktivität der Bakterien bei 25 °C zurückzuführen. Diese Eigenschaften wirken sich ebenfalls positiv auf die Wirkung der sorbinsäurehaltigen Deckelplatinen aus. Schon am siebten Lagertag bei 25 °C liegt die Keimzahl von *K. rhizophila* unter der Nachweisgrenze.

Aber auch bei einer Temperatur von 8 °C reduzierte sich die Keimzahl im Frischkäse, der auf die aktive Deckelplatine aufgebracht wurde, von 5,0 x 10^3 KbE/Objekt auf unter die Nachweisgrenze nach drei Wochen Lagerung. Im Vergleich zu den Referenzplatinen ist die Keimzahl auf den aktiven Platinen bei beiden Lagertemperaturen über die komplette Lagerzeit meist 3 log-Stufen geringer.

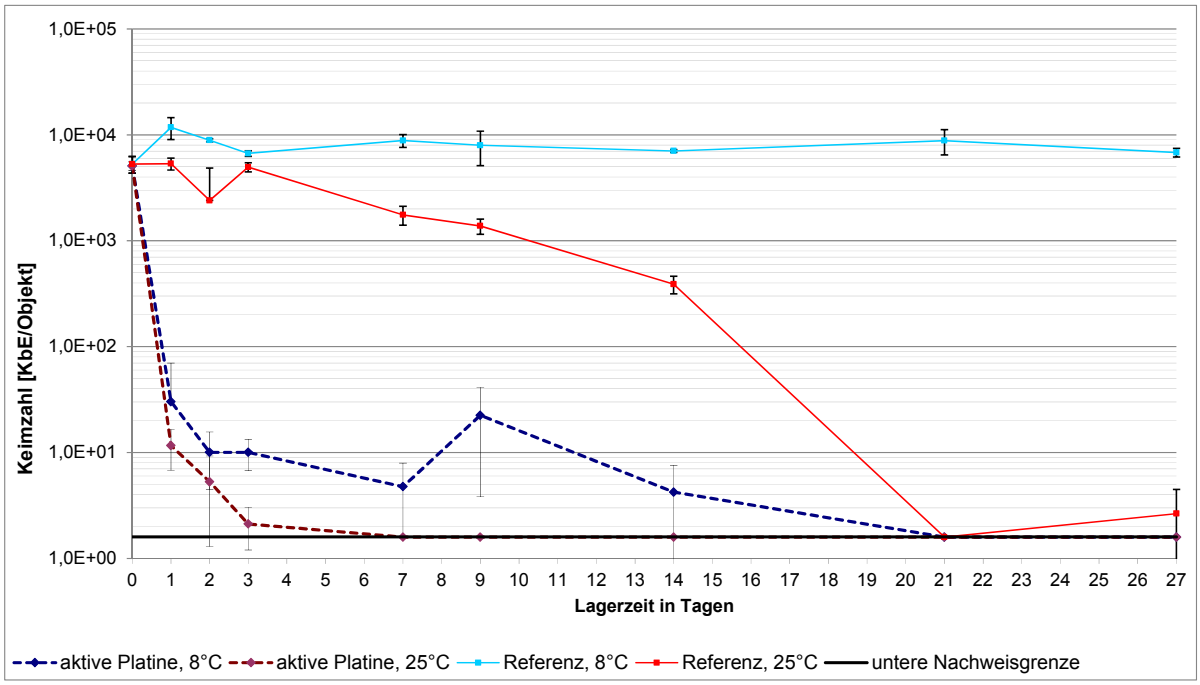


Abb. 4: Entwicklung der Keimzahl von *K. rhizophila* im Frischkäse bei 8 °C und 25 °C Lagertemperatur unter Einwirkung der antimikrobiell ausgerüsteten Deckelplatine im Vergleich zu einer unbeschichteten Referenzplatine [11]

4 Schlussfolgerungen

In einer stichprobenartigen Erhebung an nicht entkeimten Deckelplatinen konnte festgestellt werden, dass 90 % dieser extrem bis sehr keimarm sind. Kommt es jedoch zu einer ungenügenden Entkeimung einer nicht keimarmen Platine, kann eine Kontamination des Füllgutes über die Deckelplatine nicht ausgeschlossen werden. Antimikrobiell ausgerüstete Deckelplatinen wirken effektiv gegen verschiedene Bakterien und Schimmelpilze. In Frischkäse können sie Konidiosporen von *A. niger* inaktivieren und das Anwachsen von vegetativen Keimen wie *K. rhizophila* und *E. coli* verhindern bzw. reduzieren. Sie können somit einen erheblichen Beitrag zur Sicherheit von Milchprodukten leisten.

5 Literatur

1. Appendini, P., Hotchkiss, J.H. (2002): *Review of antimicrobial food packaging.* Innovative Food Science & Emerging Technologies, 3(2): 113-126.
2. Joerger, R.D. (2007): *Antimicrobial films for food applications: a quantitative analysis of their effectiveness.* Packaging Technology and Science, 2007. 20(4): 231-273.
3. Kensbock, E., Sandmeier, D. (2005): *Entwicklung antimikrobiell aktiver Folien zur Lebensmittelverpackung*, *Biologisch-Pharmazeutische Fakultät,* Friedrich-Schiller-Universität Jena.
4. Sandmeier, D.(2006): *Entwicklung antimikrobiell aktiver Verpackungsfolien für den Lebensmittelbereich*, *Jahresbericht der Milchwissenschaftl. Forschung Weihenstephan*, TU München.
5. Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln zu technologischen Zwecken (Zusatzstoff-Zulassungsverordnung – ZZulV) vom 29. Januar 1998 (BGBl. I S.230) zuletzt geänd. durch Art. 1 Zweite VO zur Änd. der Zusatzstoff-ZulassungsVO und and. Lebensmittelrechtl. VO v. 30.1.2008 (BGBl. I S.132).
6. 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.
7. Hennlich, W. (2004): Richtwerte für Lebensmittelverpackungen, *Verpackungsrundschau.* 12: 47-49.
8. Bouillard, L., Michel, O., Dramaix, M., Devleeschouwer, M. (2005): *Bacterial contamination of indoor air, surfaces, and settled dust, and related dust endotoxin concentrations in healthy office buildings*. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 12: 187-192.
9. Japanese Standardization Association (2000), *Antimicrobial Products - Test for antimicrobial activity and efficacy JIS Z 2801:2000.*
10. Hennlich, W. (2001): *Mikrobiologischer Status von Verpackungsmaterialien für keimarmes und aseptisches Verpacken*. Interner Abschlussbericht. Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung -IVV-, Freising.
11. Franhofer IVV, eigene Ergebnisse, 2011.
12. Marcos, A. (1999): *Water activity in cheese in relation to composition, stability and safety.* In: Fox, P. F. (Hrsg.), Cheese: chemistry, physics and microbiology, Volume 1: General aspects Bd. 2, Aspen Publishers, Gaithersburg, S. 442.
13. Ayerst, G. (1969): *The effects of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi*. J. Stored Prod. Res. 5: 127 141.
14. Belli, N., Marin, S., Sanchis, V., Ramos, A. J. (2004): *Influence of water activity and temperature on growth of isolates of Aspergillus section Nigri obtained from grapes*. Int. Journal of Food Microbiology 96: 19-27.
15. Vivier, D., Ratomahenina, R., Galzy, P. (1994): *Characteristics of micrococci from the surface of Roquefort cheese*. Journal of Applied Microbiology 76: 546-552.

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

ZIEL - Abteilung Technologie
Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie

Adresse

Weihenstephaner Berg 1
85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3535 und -4205
Telefax: 08161-71-4384
Internet: http://www.lebensmittelverfahrenstechnik.de
E-Mail: Vorname.Name@tum.de

Personal

Leitung:	Univ.-Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik	-3535
Sekretariat:	Sabine Becker	-4205
	Friederike Schöpflin	-4205
Mitarbeiter:	Dipl.-Ing. Mathias Aschenbrenner	-5056
	M.Sc. Sabine Ambros (ab 15.09.2011)	-3856
	M.Sc. Simon Bauer	-5031
	Dipl.-Ing. Michael Betz (bis 31.10.2011)	-3855
	M.Sc. Janina Brand	-3856
	Annette Brümmer-Rolf	-3937
	Dipl.-Ing. (FH) Evelyn Dachmann	-5317
	Dipl.-Ing. Jannika Dombrowski	-3534
	Rosemarie Eberhard	-3942
	Christian Ederer	-3537
	Dr.-Ing. Petra Först	-3536
	Franz Fraunhofer	-3537
	Dr. rer. nat. Ronald Gebhardt	-3536
	Carina Gerhard	-3937
	Cornelia Glashauser	-3856
	Dipl.-Ing. (FH) Sabine Grabbe	-3534
	Dipl.-Ing. Christopher Guyot	-5317
	Brigitte Härter	-3941
	Dipl.-Ing. Martin Heinrich (bis 30.09.2011)	-3856
	Marianne Holzmann	-3937
	Dipl.-Ing. Wolfgang Holzmüller	-3534
	Anne Keller	-3940
	Dipl.-Ing. (FH) Jeanette Kupfer	-2474
	Dipl.-Ing. Magdalena Merkl	-5032
	Dipl.-Ing. Patricia Meyer	-2507
	Dipl.-Ing. Katherina Pruß	-3939
	Dipl.-Ing. Patricia Meyer (ab 01.12.2010)	-2507
	Maria Muranyi (bis 31.08.2010)	-3937
	Dipl.-Ing. Katherina Pruß	-3939

Dipl.-Ing. (FH) Michael Reitmaier	-3942
Dr. rer. nat. Chalat Santivarangkna (bis 31.03.2011)	-3856
Dipl.-Ing. (FH) Rita Schaupp	-3481
Dipl.-Ing. Iris Schmitz	-3481
Erich Schneider	-3537
Dipl.oec.troph. Nadja Siegert (bis 30.06.2011)	-3534
Dipl.-Ing. (FH) Sonja Stirtzel (bis 30.06.2011)	-3939
Dipl.-Ing. Tim Steinhauer	-2507
Dipl.-Ing. Thomas Strixner	-2507
M.Sc. José Pablo Toro-Sierra	-3481
Günther Unterbuchberger	-3942
Dipl.-Ing. Linda Voswinkel	-5032
Dipl.-Ing. (FH) Julia Wilke (ab 15.07.2011)	-3855
Dipl.-Ing. Rebecca Würth	-5317

Nachwuchsforschergruppe:

PhD Seronei Cheison	-5056
M.Sc. Elena Leeb	-3855
Ilona Hager	-2474

Gäste: Katarina Lisak, PhD Scientist, University of Zagreb, Kroatien 21.3.2010 – 28.2.2011

Tanja Gospodova, DBU-Stipendiatin, Bulgarien 01.12.2010 – 20.12.2011

Ieva Petkevičiūtė, Universität Kaunas, Litauen 01.10.11 – 31.03.12

Vorwort

Das Jahr 2011 war geprägt von einer besonderen Intensität bei Vortrags- und Publikationstätigkeit, Einwerbung von Forschungsmitteln und in der Lehre. In der Zahl von bisher nie dagewesenen ca. 1600 abgenommenen bzw. korrigierten Einzelprüfungen kommt zum Ausdruck, wie stark der Lehrstuhl neben der Forschung in die Lehre eingebunden ist. Hinzu kommen enorme Aufwendungen in der Durchführung von Praktikumsversuchen, die in Kleingruppen durchgeführt werden und nur so einen engen Zugang zur praktischen Handhabung bzw. zum Verständnis theoretischer Zusammenhänge erlauben. Der Bestand an moderner Technik und Analytik wurde mit maßgeblicher Hilfe aus Studienbeiträgen ergänzt durch ein Durchflusscytometer, mit dem der physiologische Zustand bzw. die Intaktheit von Mikroorganismen genau vermessen werden kann, sowie mit einer automatisierten Pilotanlage für die Membran-Adsorptionschromatographie zur Trennung von Milch- oder Ei-Proteinen sowie von Peptiden nach enzymatischer Hydrolyse. Kurz vor der Installation steht eine neue Mikrowellen-Vakuumtrocknungsanlage, die ihren Einsatz ebenfalls in Lehre und Forschung finden wird. Erstmals hat auch das Medium Bier(würze) in Form eines Projektes zur Membranfiltration zusammen mit dem Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie Einzug in unsere Arbeiten gefunden.

Mit zwei abgeschlossenen Dissertationen sowie zwei wissenschaftlichen Auszeichnungen war das Jahr 2011 ebenso wieder erfolgreich. 11 laufende Forschungsvorhaben (davon 3 Verbundvorhaben mit anderen Universitäten), wiederum ca. 1,5 Mio. Euro eingeworbene Forschungsmittel, 79 Vorträge und Poster bei wissenschaftlichen Tagungen sowie 52 Publikationen in wissenschaftlichen und Fachjournalen komplettieren die Ergebnisbilanz.

In 27 Bachelor und 14 Diplom- und Masterarbeiten wurden Studenten mehrerer Studiengänge an das wissenschaftliche Arbeiten herangeführt.

Auszeichnungen 2011

Dr.-Ing. Wolfgang Kühnl - Herausragende Doktorarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen, ausgezeichnet am 06.10.2011 in Freising-Weihenstephan

Dipl.-Ing. Wolfgang Holzmüller - Herausragende Diplomarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen, ausgezeichnet am 06.10.2011 in Freising-Weihenstephan

Forschung

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

Modellierung der Inaktivierung eines probiotischen Teststamms während der Vakuumtrocknung

Modeling of the inactivation of a probiotic test strain during vacuum drying

Petra Först, Marianne Holzmann

Starter- und probiotische Kulturen werden häufig getrocknet, um sie über lange Zeit stabil zu halten. Bedingt durch den Wasserentzug und weitere Schädigungsmechanismen werden die Zellen während des Trocknungsprozesses teilweise inaktiviert. Es ist von großer wirtschaftlicher Bedeutung, die Inaktivierung der Zellen während der Trocknung zu minimieren. Die Gefriertrocknung ist die konventionell eingesetzte Methode zur Trocknung von aktiven Mikroorganismen, ist jedoch auch die teuerste Trocknungsmethode. In vorhergehenden Forschungsarbeiten wurde aufgezeigt, dass die Niedertemperatur-Vakuumtrocknung je nach Stamm sogar zu höheren Überlebensraten und Lagerstabilitäten führt als die Gefriertrocknung und daher als kostengünstigere Alternative zur Gefriertrocknung gilt [1]. Ein Nachteil der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung sind die langen Trocknungszeiten aufgrund der niedrigen Prozesstemperaturen. Deshalb soll eine Beschleunigung des Trocknungsprozesses erreicht werden, indem die Trocknungstemperatur in nicht-kritischen Trocknungsabschnitten erhöht wird. Dazu ist es nötig, die Inaktivierung der Kultur in Abhängigkeit der Feuchte sowie der Temperatur in einem für die Vakuumtrocknung relevanten Parameterbereich zu kennen.

Daher wurde die Inaktivierungskonstante *k* des probiotischen Teststamms *L. paracasei* (F19) unter konstanten Temperatur- und Wasseraktivitätsbedingungen bestimmt, wie im letzten Jahresbericht dargestellt [2]. Für die Bestimmung der Inaktivierungskinetik wurden Vakuumtrocknungen bei niedrigen Prozesstemperaturen durchgeführt, die jeweils abgebrochen wurden, wenn die gewünschte Wasseraktivität erreicht war. Danach wurden die Zellen in hermetisch abgedichteten Glasgefäßen über gesättigten Salzlösungen bei jeweils konstanten Temperaturen gelagert und die Überlebensraten nach verschiedenen Zeiten ermittelt. Aus der zeitlichen Abnahme der Überlebensraten wurde die Inaktivierungskonstante gemäß einer Reaktion 1. Ordnung bestimmt. Als Ergebnis der Untersuchungen ergab sich für die Abhängigkeit der Inaktivierungskonstante von der Wasseraktivität und der Temperatur die folgende Gleichung:

$$k(a_W, T) = k_1\, e^{(m \cdot T)} + k_2\, e^{\left(\frac{E_a}{R(T+273)} - 0.5\left(\frac{a_W - a_{W0}}{b}\right)^2\right)} \qquad (1)$$

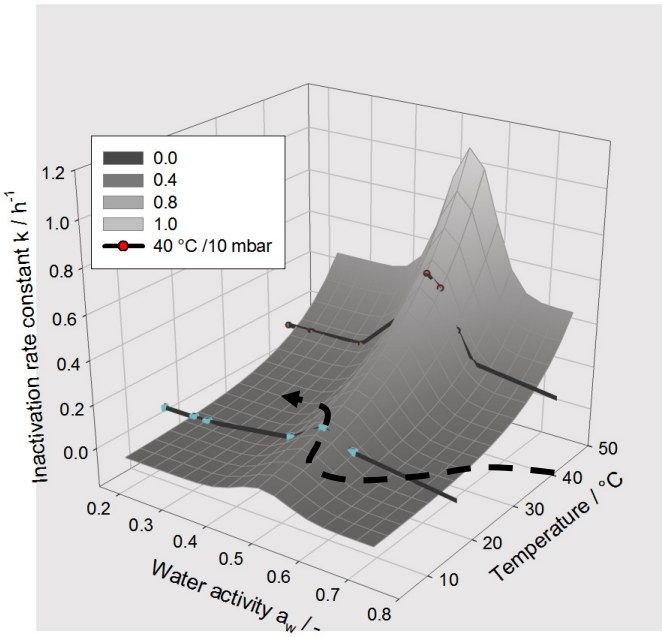
Tabelle 1: Modellkoeffizienten von Gl. (1) für die Inaktivierung von *L. paracasei* F 19 in Abhängigkeit von der Temperatur und Wasseraktivität

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

Wie in Abb. 1 dargestellt, besitzt die Inaktivierungskonstante bei einer mittleren Wasseraktivität von 0,52 ein Maximum. Dieser mittlere Wasseraktivitätsbereich ist also als kritischer Bereich für die Trocknung zu betrachten, da hier die Inaktivierung am schnellsten von statten geht.

Um die Inaktivierung während der Trocknung zu berechnen, wird die Inaktivierungskonstante über die Trocknungszeit integriert:

$$N(t) = N_0\, e^{-\int_0^t k \cdot d\tilde{t}} \qquad (2)$$



Dabei ist *N(t)* die trocknungszeitabhängige Keimzahl und N_0 die Ausgangkeimzahl vor der Trocknung. Wird der Ausdruck von *k* aus Gl. (1) in (2) eingefügt, so erhält man folgenden Ausdruck:

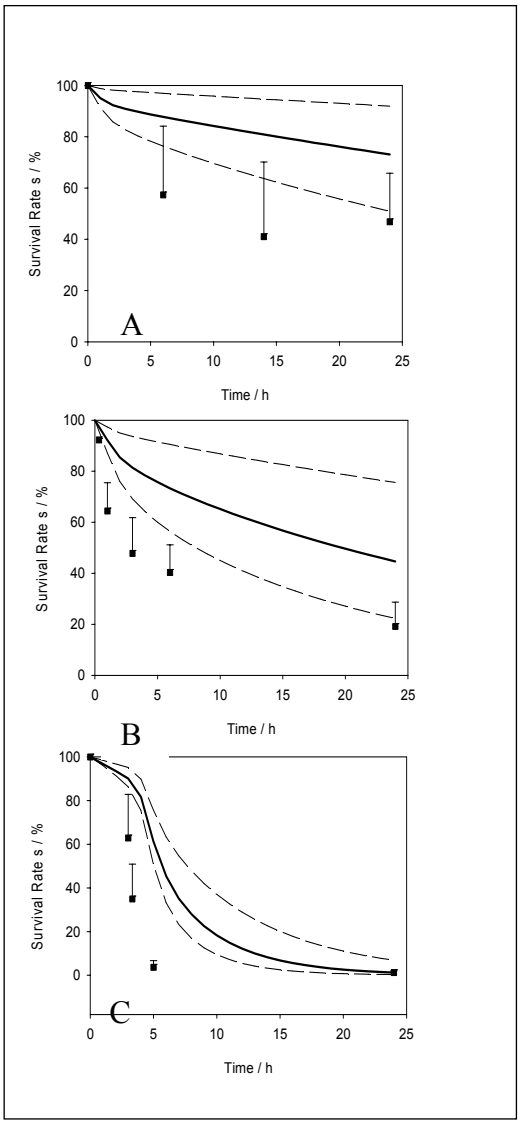
$$N(t) = N_0\, e^{-\int_0^t \left(k_1 e^{(m \cdot T(t))} + k_2 e^{\left(\frac{E_a}{R(T(t)+273)} - 0.5\left(\frac{a_w(t) - a_{w0}}{b}\right)^2\right)}\right) \cdot d\tilde{t}} \qquad (3)$$

Aus Gl. 3 ist zu erkennen, dass für die Integration der Inaktivierungskonstante über die Zeit die Produkttemperatur *T(t)* sowie Trocknungskinetik $a_w(t)$ bekannt sein muss. Für diese Funktionen wurden die Produkttemperaturen und Trocknungskinetiken für verschiedene Trocknungsparameter gemessen und numerisch approximiert.

Nach Einfügen dieser Gleichungen wird die zeitabhängige Keimzahl in Abhängigkeit von den Prozessparametern errechnet. Um die Berechnung zu validieren, wurden für die verschiedenen Trocknungsläufe die Keimzahlen nach verschiedenen Trocknungszeiten experimentell bestimmt.

Die berechneten Überlebensraten während der Trocknungsverläufe, die aus dem Quotienten $N(t)/N_0$ errechnet wurden, sind in Abb. 2 dargestellt (durchgezogene Linien) und mit den experimentell ermittelten Überlebensraten (Symbole) verglichen. Die gestrichelten Linien bezeichnen den Unsicherheitsbereich bedingt durch den Fehler in der Bestimmung der Inaktivierungskonstante *k*.

Aus Abb. 2 ist zu erkennen, dass die Berechnung im Vergleich zur experimentellen Bestimmung zu hohe Überlebensraten vorhersagt, insbesondere zu Beginn der Trocknung. Am Ende der Trocknung liegen die experimentellen Werte innerhalb der Vorhersagegrenzen. Die Abweichung ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass sich insbesondere zu Beginn der Trocknung die Temperaturen sowie Wassergehalte sehr schnell ändern und dadurch ein hoch dynamischer Prozess vorliegt. Die Bestimmung der Inaktivierungskonstante *k* erfolgte wiederum unter stationären Bedingungen. Der Einfluss der Trocknungsrate sowie Erhitzungs- und Abkühlungsrate muss somit berücksichtigt werden und das Modell noch weiter verbessert werden.



Die Charakteristik des zeitabhängigen Inaktivierungsverlaufs wird aber dennoch korrekt wiedergegeben. Daraus und aufgrund der Tatsache, dass die Inaktivierungsgeschwindigkeit in einem mittleren Wasseraktivitätsbereich um $a_w = 0.52$ am höchsten ist, lassen sich Vorschläge für einen verbesserten Trocknungsprozess ableiten. Ein verbesserter Ablauf mit angepassten Bedingungen ist in Abb. 1 schematisch dargestellt (gestrichelte Linie) im Vergleich zu den Trocknungsverläufen bei konstanten Prozessbedingungen (durchgezogene Linie, Stellflächentemperatur 25 °C und 40 °C)

Abb. 2: Berechnete (Linien) sowie gemessene (Symbole) Verläufe der Keimzahl in Abhängigkeit der Zeit für verschiedene Prozessbedingungen(Heizblechtemperatur/Kammerdruck) A)15 °C / 15 mbar; B) 30 °C / 25 mbar; C) (40 °C / 10 mbar).

Literatur:

[1] Bauer, S.A.W.; Schneider, S.; Behr, J.; Kulozik, U.; Först, P.: Combined influence of fermentation and drying conditions on survival and metabolic activity of starter and probiotic cultures after low-temperature vacuum drying. J. Biotechnology, doi: 10.1016/j.jbiotec.2011.06.010

[2] Först, P.: Inaktivierungskinetik des probiotischen Teststamms *L. paracasei* (F19) unter trocknungsrelevanten Bedingungen. Jahresbericht der Milchwissenschaftlichen Forschung Weihenstephan (53) 2010

Untersuchung der Anwendbarkeit der Mikrowellen-Vakuumtechnologie für die Trocknung von Starter- und probiotischen Kulturen

Feasibility study on microwave-assisted vacuum dehydration of starter and probiotic cultures

Sabine Ambros, Simon Bauer, Petra Först

Der derzeitige Standard in der Trocknung von mikrobiellen Kulturen ist die Gefriertrocknung aufgrund des Erhalts der Viabilität und Vitalität der Zellpräparate. Da die Gefriertrocknung jedoch sehr energie- und zeitintensiv ist, wird seit Längerem nach effizienteren und kostengünstigeren Alternativen wie der Vakuumtrocknung gesucht. Der Energieaufwand ist im Vergleich zur Gefriertrocknung wesentlich niedriger und die Produktqualität wird kaum beeinträchtigt. Für bestimmte Mikroorganismen-Stämme konnte das Überleben nach der Trocknung und im Verlauf der Lagerung sogar gesteigert werden. Dies ist vermutlich durch die niedrigere innere Oberfläche der getrockneten Proben begründet. Jedoch sind auch bei diesem Verfahren lange Trocknungszeiten unumgänglich. Um diese weiter zu verkürzen, soll durch Hinzunahme der Mikrowellentechnologie die Vakuumtrocknung beschleunigt werden. Bisherige Untersuchungen zur Mikrowellenanwendung im Zusammenhang mit Mikroorganismen beziehen sich vor allem auf Pasteurisierungs- und Sterilisationsprozesse. Die Mikrowellentechnologie bietet erhebliche Vorteile in Bezug auf die Dehydrierung von sehr sensitiven Produkten. Mikrowellen zeichnen sich durch einen gleichmäßigen volumetrischen Energieeintrag in das Produkt aus. Dies resultiert in einer Umkehrung des Temperaturgradienten, wodurch das Austrocknen der äußeren Schichten und der dadurch oft entstehenden Diffusionslimitierung, wie sie bei konventionellen Trocknungsverfahren auftreten kann, vermieden wird. Der nötige Energieeintrag und die Trocknungszeit können so reduziert werden. Ein weiterer erheblicher Vorteil bei der Mikrowellentrocknung ist die selektive Erwärmung der feuchten Bereiche, was das Verfahren noch effizienter und schonender macht. Die geringen Drücke nahe des Tripelpunktes von Wasser gewährleisten zudem niedrige Produkttemperaturen.

Erste Ergebnisse wurden in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT) erzielt. Es wurde zunächst ein geeigneter Rahmen der Prozessparameter Mikrowellenleistung (100/200/300 W), Heizblechtemperatur (10/40 °C) und Kammerdruck (1/10 mbar) festgelegt. Daraus wurde ein experimentelles Design entwickelt, um den Einfluss der genannten Prozessparameter auf die Produktfeuchte, das Überleben und die Aktivität zu untersuchen. Als Modellstamm diente das probiotische Bakterium *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*.

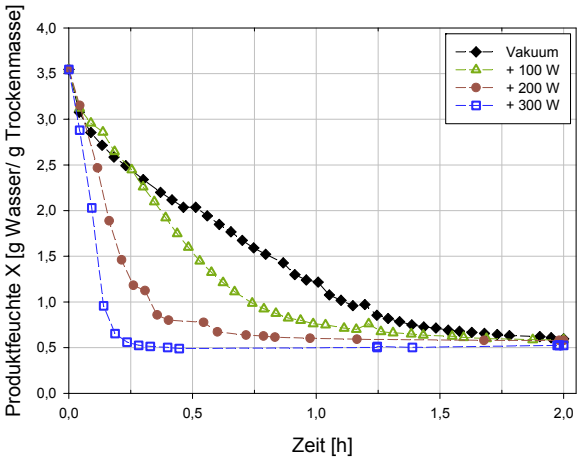


Abb. 1: Einfluss der Mikrowellenenergie bei 10 °C Stellflächentemperatur und 10 mbar Kammerdruck auf den Verlauf der Produktfeuchte imVergleich zur reinen Vakuumtrocknung bei identischer Temperatur und Druck

Dabei fällt besonders die Abhängigkeit der Trocknungsrate vom Mikrowelleneintrag auf, vor allem zu Beginn der Trocknung. Der Einfluss der Mikrowelle auf die Abnahme der Produktfeuchte ist in Abb. 1 dargestellt.

Auch die genannten Produkteigenschaften waren hauptsächlich vom Mikrowelleneintrag abhängig, gefolgt von der Stellflächentemperatur. Der Kammerdruck zeigte den geringsten Einfluss (Daten nicht gezeigt). Es wurden Restwassergehalte im Bereich zwischen 5 und 12 % erreicht, das Überleben lag zwischen 4 und 80 %. Es wurde ein linearer Zusammenhang zwischen diesen Größen gefunden, welcher in Abb. 2 dargestellt ist. Zu bemerken ist, dass sich eine hohe Produktqualität durch eine niedrige Produktfeuchte bei gleichzeitig hohem Überleben auszeichnet.

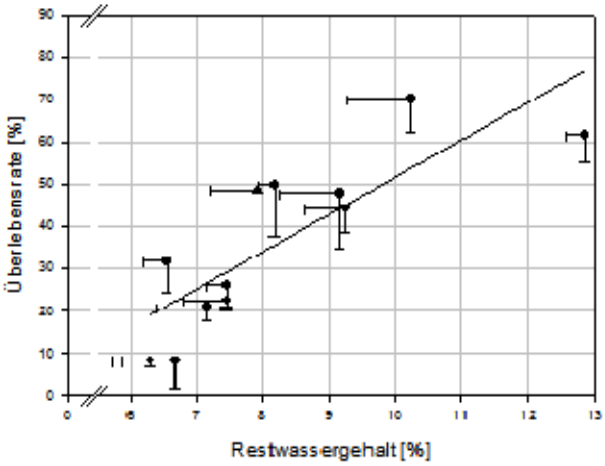


Abb. 2: Zusammenhang zwischen Überlebensrate und Restwassergehalt von mikrowellen-vakuumgetrockneten *Lb. paracasei*-Kulturen bei verschiedenen Prozessbedingungen und 2 h Trocknungszeit (ohne Schutzstoffzusatz)

Ziel weiterführender Arbeiten ist, ein schonendes und effizientes Mikrowellen-Vakuumtrocknungsverfahren zu entwickeln.

Ein Ansatz dafür ist, das Überleben der Kulturen vom Restwassergehalt zu entkoppeln. Untersuchungen zur Inaktivierungskinetik von *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* deuten darauf hin, dass mittlere a_w-Wert-Bereiche zwischen 0,7 und 0,4 besonders schädigend auf Mikroorganismen wirken (Foerst und Kulozik, 2011).

Daher wird die Entwicklung eines mehrstufigen, mikrowellenunterstützten Vakuumtrocknungsprozesses angestrebt, der es ermöglicht, diesen kritischen Bereich schonend zu durchschreiten. Die Umschaltzeitpunkte sollen a_w-Wert-abhängig festgelegt werden. Es sollen die Zusammenhänge zwischen Trocknungskinetik in Abhängigkeit der Prozessbedingungen, trockenen Produktstrukturen und resultierender Produktqualität ermittelt werden.

Bei der gemeinsamen Weiterführung dieses Projektes soll das Hauptaugenmerk beim KIT auf der Untersuchung der Rehydratisierungseigenschaften, die einen weiteren wichtigen Faktor in Bezug auf die Produktqualität darstellen, und der Strukturbildung liegen. Durch die Verkürzung der Trocknungszeit erhofft man sich besonders bei Stämmen, die ein sehr sensitives Verhalten bei der Trocknung aufweisen, eine erhebliche Qualitätsverbesserung. Zudem soll der Einfluss unterschiedlicher Schutzstoffe und Schutzstoffkonzentrationen auf den Trocknungsverlauf und die Produktqualität untersucht werden. Interessierte Unternehmen sind herzlich eingeladen, sich für eine Mitwirkung an einem projektbegleitenden Ausschuss anzumelden. Das Forschungsvorhaben startet voraussichtlich im April 2012.

Literatur:

Foerst, P. und Kulozik, U. (2011): Modelling the dynamic inactivation of the probiotic bacterium *L. paracasei* during a low temperature drying process based on stationary data in concentrated systems, *Food and Bioprocess Technol.*, DOI: 10.1007/s11947-011-0560-4

Die Bedeutung der Mikroorganismen für die prozessrelevanten physikalischen Eigenschaften von Zell-Zucker-Lyophilisaten

The influence of microorganisms on the physical properties of cell-sugar lyophilisates

Mathias Aschenbrenner, Petra Först

Bei der Gefriertrocknung und anschließenden Lagerung von Mikroorganismen kommt es zu einem unvermeidlichen Vitalitätsverlust. Um den destabilisierenden Einflüssen entgegen zu wirken, werden Schutzstoffe wie z.B. Disaccharide zugegeben. Im Verlauf der Gefriertrocknung entsteht aus einer flüssigen Zell-Zucker Suspension ein festes und trockenes Lyophilisat. Dieses Lyophilisat besteht aus amorph erstarrtem Zucker und darin eingebetteten Mikroorganismen. Dieser amorphe Zustand der Zuckermatrix 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. Um die Rolle des Glaszustandes gezielt untersuchen zu können, muss der physikalische Zustand der Proben für jeden Zeitpunkt während Herstellung (Trocknung) und anschließender Lagerung bekannt sein.

Diese Information können Phasenzustandsdiagramme liefern, welche den jeweiligen Zustand des Systems in Abhängigkeit von Feststoffkonzentration und Temperatur aufzeigen. Ziel war somit die Entwicklung der Zustandsdiagramme für Zell-Zucker-Systeme auf Basis der drei Schutzstoffe Laktose, Trehalose und Dextran.

Die Zustandsdiagramme, mit darin enthaltenen Gefrier- und Glasübergangskurven, sowie die Glasübergangstemperatur der maximal gefrierkonzentrierten Lösung T_g‘ und Feststoffkonzentration der maximal gefrierkonzentrierten Lösung C_g‘ wurden für die drei verwendeten Zell-Zucker-Präparate ermittelt. Unterhalb der Glasübergangskurven liegen die Systeme im Glaszustand vor, oberhalb gehen sie in den reaktiveren viskosen Rubber-Zustand über, wo Schädigungsreaktionen aufgrund erhöhter Beweglichkeit einsetzen können. Die einzelnen Messpunkte der Glasübergangskurven setzen sich zusammen aus T_g, ermittelt über Differential Scanning Calorimetry (DSC), und den jeweils korrespondierenden Feststoffkonzentrationen, ermittelt über Karl-Fischer-Titration. Um Proben mit unterschiedlichen Wassergehalten zu erzeugen, wurden diese im Anschluss an die Trocknung unter unterschiedlichen relativen Luftfeuchten bei einer Temperatur von 25 °C gelagert. Die Glasübergangskurven wurden durch nicht-lineare Regression auf Basis der Gordon-Taylor-Gleichung (Gl.1) aus den Gewichtsanteilen w, der Wärmekapazitätsdifferenz ΔC_p zwischen dem Glaszustand und dem Rubberzustand des gelösten Stoffes (Index s) bzw. des Wassers (Index H_2O) berechnet:

$$T_g(w_S) = \frac{w_S T_{gS} + \frac{\Delta Cp_{H2O}}{\Delta Cp_S} w_{H2O} T_{gH2O}}{w_S + \frac{\Delta Cp_{H2O}}{\Delta Cp_S} w_{H2O}} \qquad (1)$$

Für die Erstellung der Gefrierkurven wurden die getrockneten Zellpräparate auf verschiedene Feststoffkonzentrationen rehydratisiert und der entsprechende Gefrierpunkt per DSC ermittelt. Die Ermittlung von T_g‘ und C_g‘ erfolgte nach der Methode von Simatos et al. (1975). Aus Abb. 1 wird ersichtlich, dass die Dextranproben im Vergleich zu den Disaccharidproben ein deutlich unterschiedliches Zustandsdiagramm aufweisen. Die Glasübergangskurve für die Dextranproben verläuft zum einen bei deutlich höheren Temperaturen als bei Laktose- oder Trehaloseproben. Zum anderen zeigen die Dextranproben eine Gefrierkurve mit verändertem Verlauf. Zeigt sich im Fall niedriger Feststoffkonzentrationen noch kein Einfluss des Schutz-

stofftyps auf das Gefrierverhalten, so verläuft die Gefrierkurve für die Dextranproben oberhalb von 40 % (w/w) Feststoffkonzentration bei deutlich höheren Temperaturen und endet bei einer maximal gefrierkonzentrierten Zell-Zucker-Suspension mit einer deutlich höheren T_g‘ (siehe Tab. 1). Dieses Verhalten von Polysacchariden wie Dextran ist bekannt (Slade & Levine 1986). Die T_g‘-Werte der beiden Disaccharid-Proben liegen dagegen deutlich darunter. Die durch Gefrierkonzentrieren maximal erreichbaren Feststoffkonzentrationen der Zell-Zucker-Suspensionen liegen hingegen unabhängig vom Schutzstoff bei etwa 70 %.

Tabelle 1: Ermittelte Stoffdaten für die verwendeten Schutzstoffe: T_g der wasserfreien Probe ($T_{g,wf}$), Wärmekapazitätsänderung am Glasübergang, (T_g) der maximal gefrierkonzentrierten Probe (T_g') und Feststoffkonzentration der maximal gefrierkonzentrierten Probe (C_g‘).

Schutzstoff	$T_{g,wf}$ (°C)	ΔCpH_2O /ΔCp_S (-)	T_g‘ (°C)	C_g‘ (%(w/w))	$T_{g,wf}$ (°C) Literatur	ΔCpH_2O /ΔCp_S (-) Literatur	T_g‘ (°C) Literatur
Laktose	131,8	5,67	-41,3	69,4	101	6,3	-41
Trehalose	108,4	5,73	-44,7	70,7	100	6,5	-40
Dextran	223,3	5,35	-26,4	72,2	---	---	---

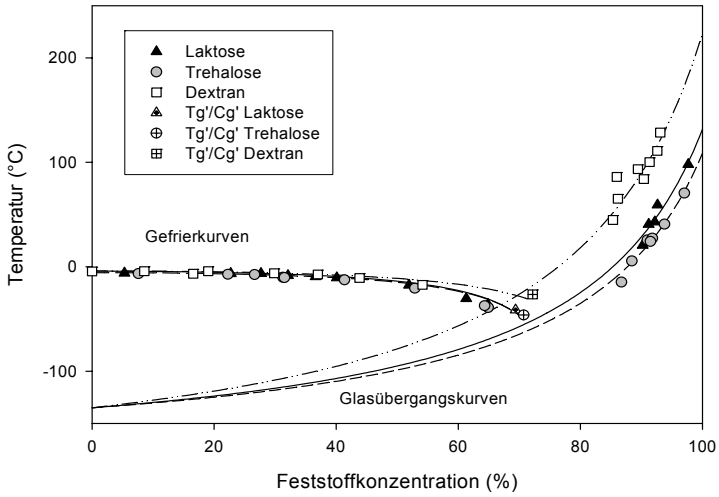


Abb. 1: Zustandsdiagramme für die drei Zell-Zucker-Präparate. Die ermittelten Punkte Tg'/Cg' geben die Feststoffkonzentration und die Glasübergangstemperatur für die jeweils maximal gefrierkonzentrierte Probe an.

Gefrier- und Sublimationstemperaturen unterhalb von $T_{g‘}$ gewährleisten eine amorphe Glasstruktur von Anfang bis zum Ende der Trocknung. Im Fall der Dextranproben erlaubt ein $T_{g‘}$-Wert von -26,4 °C deutlich höhere Produkttemperaturen. Die gemessenen $C_{g‘}$ und $T_{g‘}$-Werte der Disaccharidproben stimmen mit den Literaturwerten für reine Zuckerlösungen gut überein. Die bekannten T_g-Werte für wasserfreie Disaccharide liegen jedoch bei niedrigeren Temperaturen, die hier ermittelten T_g-Werte im Fall der Trehalose ca. 8 °C, im Fall der Laktose ca. 30 °C über dem Literaturwert der Reinstoffe. Vergleichswerte für Dextran mit diesen Spezifikationen liegen nicht vor. Bei den $T_{g,wf}$-Werten handelt es sich allerdings nicht um gemessene, sondern mittels Gordon-Taylor-Gleichung angepasste Werte. Eine denkbare Ursache für die höheren $T_{g,wf}$-Werte können die enthaltenen Mikroorganismen sein. Das in den Zellen enthaltene Restwasser wird titrimetrisch erfasst, beeinflusst jedoch nicht den T_g der extrazellulären Zuckermatrix, so dass Messpunkte bei zu hohem H_2O-Gehalt erscheinen.

Die enthaltenen Mikroorganismen führen somit im Vergleich zu einfachen Zuckerlösungen nicht zu einem veränderten Gefrierverhalten (s. Gefrierkurven). Im Falle der T_g-Kurven muss jedoch immer berücksichtigt werden, dass der tatsächliche Wassergehalt der Zuckermatrix nicht verfügbar ist und die T_g-Kurven für reine Zucker-Lyophilisate tatsächlich leicht rechts versetzt von den abgebildeten T_g-Kurven verlaufen.

Hieraus ergeben sich zwei wichtige Konsequenzen. Es zeigt sich, dass mit Hilfe des Schutzstoffes Dextran höhere Prozesstemperaturen realisiert werden können ohne dabei einen unerwünschten Kollaps der Proben herbeizuführen. In diesem Zusammenhang ist zu ermitteln, ob die höheren Prozesstemperaturen im Falle der Dextranproben auch zu einer Effizienzsteigerung des Trocknungsprozesses führen. Grundsätzlich muss bei der Verwendung der Zustandsdiagramme für Zell-Zucker-Lyophilisate beachtet werden, dass die T_g-Kurven von den enthaltenen Mikroorganismen beeinflusst werden. Insofern ist ein Zustandsdiagramm immer nur für ein definiertes Mischungsverhältnis von Zucker/Zellen gültig.

Literatur:

Simatos, D.; Faure, M.; Bonjour, E.; Couach, M. Physical State of Water at Low-Temperatures in Plasma with Different Water Contents As Studied by Differential Thermal-Analysis and Differential Scanning Calorimetry. Cryobiology 1975, 12 (3), 202-208.

Levine, H.; Slade, L. A Polymer Physicochemical Approach to the Study of Commercial Starch Hydrolysis Products. Carbohydrate Polymers 1986, 6 (3), 213-246.

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

Vergleich der Lagerstabilität von gefriergetrockneten mit niedertemperatur-vakuumgetrockneten mikrobiellen Kulturen

Comparison of freeze dried and low-temperature vacuum dried preparations of microbial cultures with respect to their storage stability

Simon A. W. Bauer, Marianne Holzmann, Petra Först

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. Das Gefrieren bzw. die Gefriertrocknung 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 bei gleichzeitigem Ausschluss von thermisch und gefrierbedingten Schäden und somit höherer Vitalität und Aktivität kann durch Niedertemperatur-Vakuumtrocknung knapp oberhalb des Tripelpunktes erreicht werden. Untersuchungen zur Lagerstabilität zeigten für *Lb. paracasei* F19 erfolgversprechende Ergebnisse. Dennoch ist der direkte Vergleich der Lagerstabilität von gefriergetrockneten und niedertemperatur-vakuumgetrockneten Kulturen noch nicht untersucht. Darüber hinaus ist nicht klar, in welchem Umfang das für *Lb. paracasei* F19 beschriebene Lagerverhalten mit dem anderer Stämme vergleichbar ist. In dieser Arbeit soll gezeigt werden, wie lagerstabil gefriergetrocknete Kulturen der Stämme *Lb. paracasei* F19, *Lb. bulgaricus* und *B. lactis* Bb12 im Vergleich zu entsprechenden Niedertemperatur-vakuumgetrockneten sind. Da im industriellen Prozess nahezu immer mit protektiven Additiven gearbeitet wird, wurden die Versuche mit 2 Schutzstoffen (Maltose und Sorbit) und im Vergleich dazu ohne Additive durchgeführt. Die durch die beiden Trocknungsverfahren gewonnenen Präparate wurden bei verschiedenen Temperaturen (4 °C, 37 °C) und jeweils zwei Luftfeuchten (10 %, 33 %) für 4 Monate

gelagert. Während dieser Lagerzeit wurden Proben gezogen und hinsichtlich der Keimzahl und Aktivität untersucht.

Die Ergebnisse zeigen, dass der Einfluss von Temperatur und Lagerfeuchte auf die Stabilität der GT-Präparationen ähnlich wie für die Niedertemperatur-vakuumgetrockneten ist. Es zeigt sich, dass die Lagerfeuchte bei niedriger Temperatur keinen Einfluss hat und bei höheren Temperaturen eine niedrige Lagerfeuchte vorteilhaft ist. Insgesamt zeigt sich für die niedertemperatur-vakuumgetrockneten Zellen für alle Bedingungen eine durchgängig höhere Lagerstabilität als für die gefriergetrockneten. Dies ist exemplarisch am Beispiel von *Lb. bulgaricus* (bei einer Lagertemperatur von 37 °C und einer Lagerfeuchte von 33 %) in Abb. 1 gezeigt.

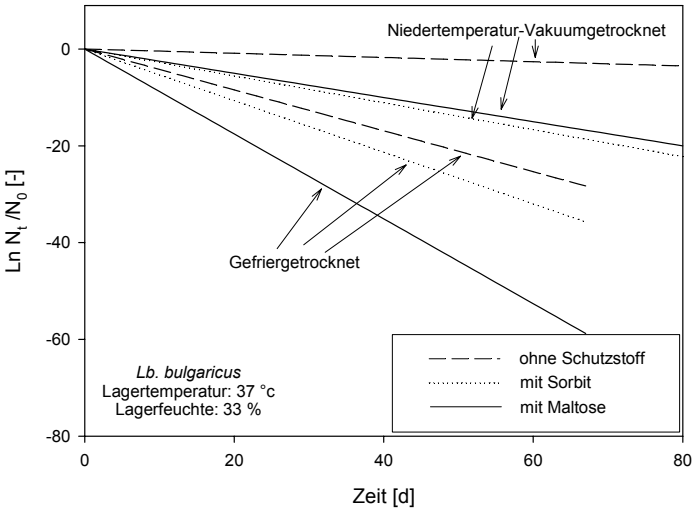


Abb. 1: Abnahme der relativen Keimzahl (ohne Schutzstoff (---), mit Sorbit (···), mit Maltose (—)) in Präparaten von *Lb. bulgaricus* mit Kennzeichnung des verwendeten Trocknungsverfahrens bei einer Lagertemperatur von 37 °C und einer Lagerfeuchte von 33 %

Die Unterschiede im Lagerverhalten zwischen den Präparationen der verschiedenen Trocknungsverfahren sind vermutlich durch die unterschiedlichen Strukturen der Trockenprodukte zu erklären. Bei der Gefriertrocknung entstehen beim Sublimieren der Eiskristalle während der Trocknung kleine Poren. Die makroskopische Form bleibt jedoch erhalten. Dies bedeutet, dass das gewonnene Produkt eine hochporöse Struktur besitzt. Bei der NTVT dagegen wird einem flüssigen, also beweglichen, System Wasser entzogen. Daher konzentrieren sich die enthaltenen Teilchen immer mehr unter Volumenverlust auf. Die Folge ist ein sehr kompaktes Produkt mit wenigen Poren. Die poröse Struktur der gefriergetrockneten Produkte ist durchlässiger für reaktive Substanzen, wie z. B. Sauerstoff, die während der Lagerung die Zellen schädigen können. Die kompaktere Struktur der NTVT-Präparationen verringert vermutlich diese Schädigung und führt daher zu geringeren Absterberaten. Diese Hypothese müsste allerdings mit Präparationen unterschiedlicher Gefügestruktur überprüft und deren Mikrostruktur analytisch erfasst werden.

Es wurde gezeigt, dass durch die NTVT lagerfähigere Produkte entstehen als durch die GT. Dies ist ein enormer Vorteil für die Distribution und geht einher mit einer größeren Flexibilität für die Vertriebskanäle und einer Reduktion an Energieaufwand infolge höherer möglicher Lagertemperaturen. Darüber hinaus werden durch diese Verbesserung der Lagerfähigkeit neuartige Produkte wie beispielsweise probiotische Müsliriegel oder andere probiotische Trockenprodukte möglich.

Dank: Das Forschungsvorhaben (AiF-FV 15616 N) wurde im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI) gefördert.

Packstoffentkeimung - Einfluss der Oberflächentemperatur des Packstoffs und der Oberflächeneigenschaften der Mikroorganismen auf die Inaktivierung mit H_2O_2-Dampf

Packaging decontamination – Influence of the surface temperature of the packaging and the surface properties of microorganisms on the inactivation by means of H_2O_2-vapor

Katherina Pruß

Seit einiger Zeit wird H_2O_2-Dampf, die Mischung aus gasförmigem Wasserstoffperoxid, Wasserdampf und Luft, für die industrielle Entkeimung von Packstoffen verwendet. Dabei stellt sich die Frage, in welchem Maß sich die Kondensation des H_2O_2-Dampfes auf die Inaktivierung unterschiedlich gut benetzbarer Mikroorganismen auswirkt.

Ziel dieses Teilabschnitts eines Projekts über die Charakterisierung eines Packstoffentkeimungsprozesses mit H_2O_2-Dampf war es, den Einfluss der Oberflächentemperatur des Packstoffs und der Oberflächeneigenschaften der Mikroorganismen auf die Inaktivierung mit H_2O_2-Dampf mit einer H_2O_2-Konzentration von 5200 ppm und einer Gastemperatur von 70 °C, zu bestimmen. Die Oberflächentemperatur des Packstoffs lag zu Beginn der Behandlung mit dem Entkeimungsgas entweder oberhalb (63 °C) der Taupunkttemperatur des H_2O_2-Dampfes von 45 °C, so dass die Kondensatbildung verhindert wurde, oder unterhalb (22 °C), was die Bildung des Kondensats begünstigte. Als Testorganismen wurden Sporen der Gattung *Bacillus* ausgewählt und die Wasserkontaktwinkel auf einem Sporenrasen bestimmt. Der Wasserkontaktwinkel gibt Aufschluss über den Grad der Hydrophilizität bzw. Benetzbarkeit der Oberfläche, in diesem Fall des Sporenrasens. Die Sporen von *B. subtilis* (DSM 347) zeigten mit 20,9±1,6 ° den höchsten Wasserkontaktwinkel, während die Sporen von *B. subtilis* SA22 (DSM 4181) mit einem Wasserkontaktwinkel von 10,4±0,7 ° am hydrophilsten waren.

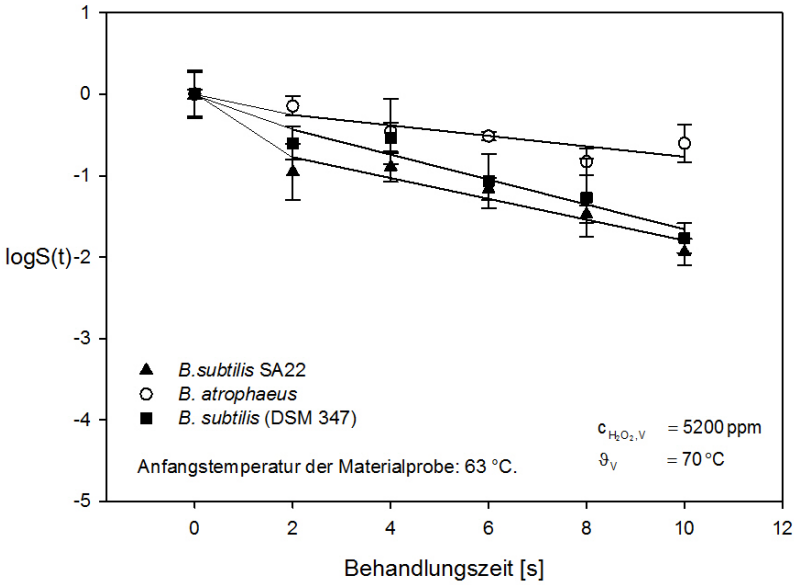


Abb. 1: Inaktivierung von Sporen verschiedener Bacillus-Spezies auf Packstoffproben mit einer Anfangstemperatur von 63 °C

Der Wasserkontaktwinkel von Sporen von *B. atrophaeus* (DSM 675) lag mit 15,4±0,9 ° dazwischen.

Die Sporen wurden mit Hilfe eines Spatels gleichmäßig auf Packstoffproben aus einem Verbundmaterial mit einer Außenschicht aus Polyethylen aufgebracht. Durch die Vorerwärmung der verkeimten Packstoffproben vor der Behandlung auf 63 °C zeigte sich wie in Abb.1 dargestellt, dass die Sporen von *B. atrophaeus* etwas resistenter waren als die anderen Sporenarten, deren Resistenz sich ähnelte. Wurden die verkeimten Packstoffproben hingegen vor der Behandlung mit dem H_2O_2-Dampf auf 22 °C temperiert, zeigten sich wie in Abb. 2. dargestellt deutliche Unterschiede in den Inaktivierungskurven der Sporen. Die Sporen von *B. subtilis* SA22 wurden deutlich schneller inaktiviert als bei einer anfänglichen Oberflächentemperatur von 63 °C, während bei den Sporen

von *B. subtilis* (DSM 347) lediglich eine geringe Verbesserung der Inaktivierungswirkung des H_2O_2-Dampfes eintrat.

Die Sporen von *B. atrophaeus* wurden bei einer anfänglichen Oberflächentemperatur von 22 °C zunächst genauso schnell inaktiviert wie bei 63 °C. Nach einer Behandlungszeit von 6 s nahm die Anzahl der überlebenden Sporen deutlich ab. Das H_2O_2-haltige Kondensat, das bei den Versuchen mit einer anfänglichen Packstofftemperatur von 22 °C auftrat, war hochkonzentriert, da H_2O_2 eine höhere Siedetemperatur als Wasser besitzt und somit bevorzugt kondensiert.

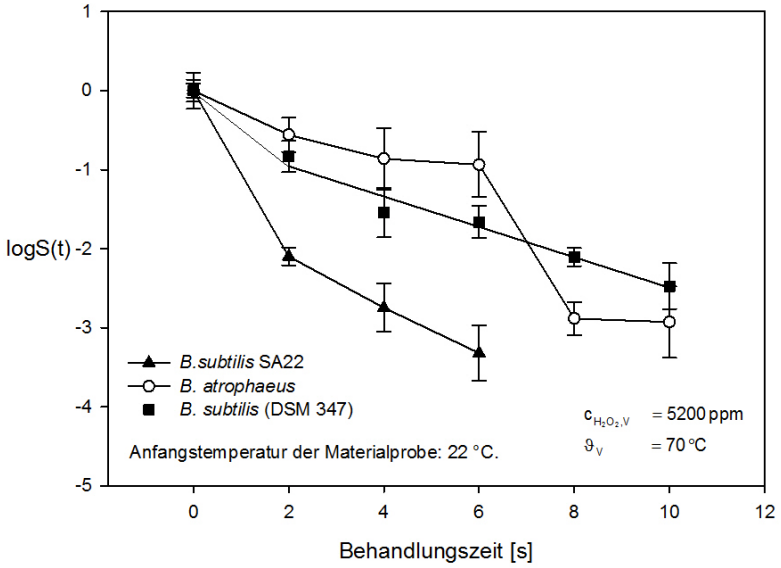


Abb. 2: Inaktivierung von Sporen verschiedener Bacillus-Spezies auf Packstoffproben mit einer Anfangstemperatur von 22 °C

Durch die hohe H_2O_2-Konzentration werden Sporen, die sich in einem Kondensattropfen befinden, schnell inaktiviert, wobei Kondensationskeime, die für die Bildung eines Tropfens nötig sind, bevorzugt auf hydrophilen Mikroorgansimen gebildet werden. Die hydrophilste hier untersuchte Sporenart, *B. subtilis* SA22, wurde demzufolge am schnellsten inaktiviert, da die Kondensatbildung auf diesen Sporen am schnellsten stattfand. Auf die Sporen von *B. subtilis* (DSM 347) hatte das Kondensat aufgrund der schlechteren Benetzbarkeit einen geringeren Einfluss. Die Verzögerung der Inaktivierung und der plötzliche Abfall der Überlebensrate bei den Sporen von *B. atrophaeus* könnte stammspezifisch sein, da diese Sporen für Inaktivierungsschultern bei der Behandlung mit flüssigem H_2O_2, in diesem Fall das Kondensat, bekannt sind.

Die Inaktivierungswirkung von H_2O_2-Dampf wird durch kondensierendes H_2O_2 grundsätzlich erhöht, allerdings hängt das Ausmaß der Verbesserung von der Benetzbarkeit der Mikroorganismen ab. Soll eine natürliche gemischte Mikroflora inaktiviert werden, die hydrophobe Mikroorgansimen enthält, wird ihre Inaktivierung durch kondensierendes H_2O_2 nicht signifikant verbessert, was in der Praxis auftretende Variabilitäten im Entkeimungserfolg möglicherweise erklärt. Dieser Hypothese soll in einem Folgeprojekt nachgegangen werden.

Einfluss der Produktzusammensetzung auf den Lysinverlust in Säuglingsmilchpulver

Impact of the product composition on lysine losses in powdered infant formula

Iris Schmitz, Carina Gerhard, Alessandro Gianfrancesco*, Petra Först
* Nestec Ltd.

Oft stellen Babynahrungsprodukte die einzige Nahrungsquelle für Säuglinge dar, so dass sie alle Nährstoffe, die für eine gute und gesunde Entwicklung der Säuglinge erforderlich sind, in ausreichender Menge enthalten müssen. Ein wichtiger Nährstoff in Säuglingsnahrungsprodukten ist die essentielle Aminosäure Lysin. Lysin ist für den menschlichen Stoffwechsel nur verfügbar, wenn ihre ε-Aminogruppe frei ist und wird dann als „verfügbares Lysin“ bezeich-

net. Ein Verlust an verfügbarem Lysin wird durch die Entstehung von Isopeptiden, die Bildung von Lysinoalanin, Reaktionen mit oxidierten Phenolen und in erster Linie durch die Maillardreaktion hervorgerufen. Auf Kuhmilch basierende Babynahrungsprodukte enthalten zum einen Laktose als reduzierenden Zucker und zum anderen sind Milchproteine reich an Lysin, also an freien Aminogruppen, was sie besonders anfällig für die Maillardreaktion und damit auch für die Lysinblockierung macht.

Es hat sich gezeigt, dass die Sprühtrocknung der kritische Verfahrensschritt hinsichtlich des Lysinverlustes in Babymilchpulver ist. Folglich treten die Lysinverluste vor allem im Bereich hoher Konzentrationen bei gleichzeitiger thermischer Belastung auf. Neben den Prozessbedingungen hat auch die Produktzusammensetzung einen Einfluss auf den Lysinverlust.

In diesem Teil des Projekts wurde der Einfluss der Produktzusammensetzung auf den thermisch induzierten Lysinverlust untersucht. Hierzu wurde mit einem Modellsystem gearbeitet, das der Zusammensetzung von Säuglingsnahrung entspricht und die Produktzusammensetzung in den durch die Richtlinie 2006/141/EC der europäischen Kommission[1] gesetzten Grenzen variiert. Die Standardzusammensetzung war durch ein Laktose:Protein-Verhältnis von 5:1 und ein Molkenprotein:Kasein-Verhältnis von 60:40 sowie eine Wasseraktivität von 0,33 gekennzeichnet.

Um den Einfluss des Molkenprotein:Kasein-Verhältnisses zu untersuchen, wurde das Laktose:Protein-Verhältnis konstant bei 5:1 gehalten und das Molkenprotein:Kasein-Verhältnis (MP:K) auf 40:60 und 20:80 eingestellt und der Lysinverlust in Abhängigkeit der Zeit bestimmt (Abb.1). Molkenprotein enthält 9,6 g Lysin/100 g Protein und Kasein 8,2 g Lysin/100g Protein. Während der gesamten Erhitzungszeit waren die Lysinverluste in der Standardzusammensetzung am höchsten. Eine Erhöhung des Kaseinanteils im Vergleich zur Standardzusammensetzung führte zu niedrigeren Lysinverlusten, wobei kein Unterschied zwischen einem Molkenprotein:Kasein-Verhältnis von 40:60 und 20:80 festgestellt werden konnte. Dies deutet darauf hin, dass ein größerer Molkenproteinanteil ab einer bestimmten Konzentration den Lysinverlust begünstigt.

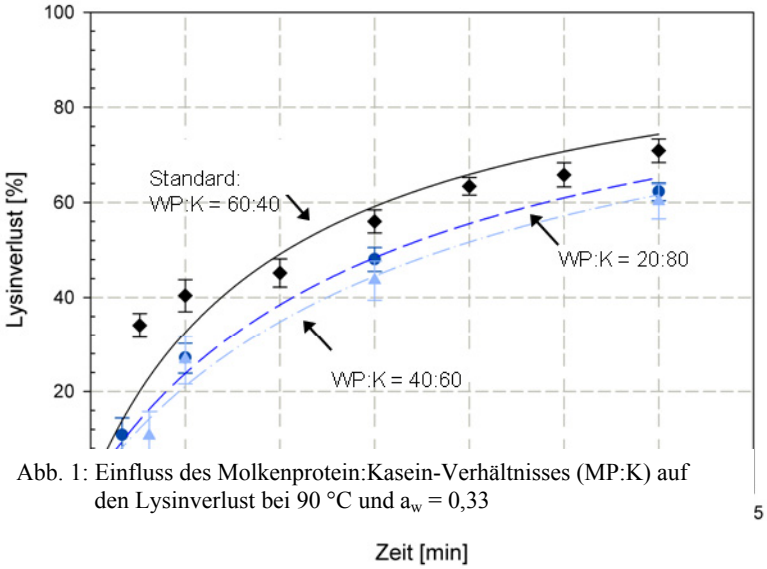


Abb. 1: Einfluss des Molkenprotein:Kasein-Verhältnisses (MP:K) auf den Lysinverlust bei 90 °C und a_w = 0,33

Da auch das Laktose:Protein-Verhältnis (L:P) das Ausmaß der Lysinblockierung beeinflussen kann, wurden auch hier, neben der Standardzusammensetzung mit einem Laktose:Protein-Verhältnis von 5:1, zwei weitere Zusammensetzungen mit einem Laktose:Protein-Verhältnis von 3:1 und 7:1 untersucht, wobei das Molkenprotein:Kasein-Verhältnis konstant bei 60:40 gehalten wurde (Abb. 2). Hier zeigt sich, dass die Lysinverluste mit steigendem Laktoseanteil, anders als erwartet, nicht zunehmen, sondern sogar gerin-ger werden. Ein Grund hierfür könnte sein, dass die Laktose in allen drei Modellsystemen im Überschuss vorliegt und folglich keinen limitierenden Faktor darstellt.

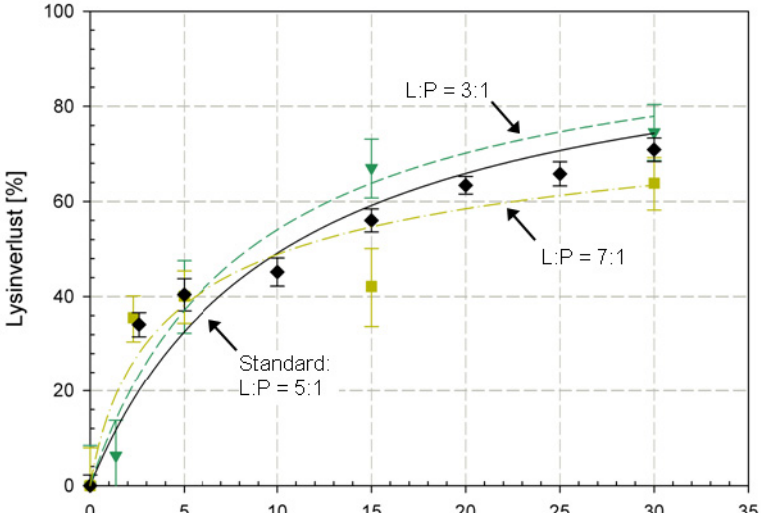


Abb. 2: Einfluss des Laktose:Protein-Verhältnisses (L:P) auf den Lysinverlust ei 90 °C und a_w = 0,33

Eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Lysinverluste könnte der physikalische Zustand der Zusammensetzungen liefern. Bis zu einer Erhitzungszeit von 5 min lässt sich kein signifikanter Unterschied im Lysinverlust zwischen den drei Testprodukten feststellen. Das entspricht in etwa dem Zeitintervall, in dem alle drei Systeme im amorphen Zustand vorliegen. Nach 2 – 3 min bei 90 °C geht die Laktose in den Testprodukten mit einem Laktose:Protein-Verhältnis von 5:1 und 7:1 allerdings in den kristallinen Zustand über, wohingegen sie bei einem Laktose:Protein-Verhältnis von 3:1 im amorphen Zustand bleibt. Ab diesem Zeitpunkt unterscheidet sich der Verlauf der Lysinblockierung. Hieraus lässt sich einerseits schlussfolgern, dass die Laktose bzgl. des Lysinverlustes im kristallinen Zustand weniger reaktiv ist als im amorphen Zustand. Bei der Zusammen-setzung im amorphen Zustand wurden die höchsten Verluste gemessen. Andererseits lassen sich damit aber die Unterschiede im Lysinverlust zwischen dem Laktose:Protein-Verhältnis von 5:1 und 7:1 noch nicht erklären. Die höheren Lysinverluste bei einem niedrigeren Laktoseanteil könnten darauf hindeuten, dass der Lysinverlust im kristallinen Zustand auf einem anderen Reaktionsweg beruht, für den vor allem die Proteinkonzentration wichtig ist.

Dies würde erklären, warum die Verluste bei steigendem Laktoseanteil zurückgehen. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass zum einen die Produktzusammensetzung und zum anderen der physikalische Zustand, der u.a. durch die Produktzusammensetzung beeinflusst wird, die Lysinblockierung beeinflussen. Folglich lässt sich der Verlust an verfügbarem Lysin in Säuglingsnahrungsprodukten durch eine entsprechende Gestaltung der Produktzusammensetzung verringern.

Literatur:
[1] Europäische Kommission (2008): Richtlinie 2006/141/EC der Kommission vom 22. Dezember 2006 über Säuglingsanfangsnahrung und Folgenahrung und zur Änderung der Richtlinie 1999/21/EG

Wir danken der Nestec Ltd. für die finanzielle und wissenschaftliche Unterstützung.

Mikroverkapselung von Probiotika in Milchproteinmatrices mittels Sprühtrocknung

Microencapsulation of probiotics in milk protein matrices by spray drying

Rebecca Würth, Simone Stier, Petra Först

Die postulierte gesundheitsfördernde Wirkung von Probiotika ist nur gewährleistet, wenn die Aktivität und Vitalität der Probiotika bis zum Erreichen am Wirkort erhalten bleibt. Einschränkend wirken verschiedene äußere Milieubedingungen während der Produktion, Lagerung und dem späteren Verzehr. Die Mikroverkapselung stellt eine mögliche Strategie zur

Verbesserung der Lebendkeimzahl dar. Bisher werden häufig Polysaccharide als Kapselmaterial eingesetzt, welche aufgrund ihrer Unverdaulichkeit für den Zweck der gezielten Wirkstofffreisetzung ungeeignet sind. Milchproteine hingegen stellen eine erfolgversprechende Alternative dar. Verschiedene Kapseltypen auf Basis von Milchproteinmatrices konnten durch den Einsatz von Emulsionstechnologie in Verbindung mit enzymatischer Gelbildung bereits erfolgreich entwickelt werden. Darauf aufbauend wurde ein neuartiges Verfahren zur Herstellung von Milchproteinkapseln mittels Sprühtrocknung entwickelt, das sich durch hohen Durchsatz auszeichnet. Dieser Prozessverlauf zur Herstellung des neuen Kapseltyps ist in Abb. 1 dargestellt. Dabei wurde ein Gemisch aus probiotischen Keimen und Magermilchkonzentrat kalt eingelabt (4 °C) und nach 60 min Inkubationszeit sprühgetrocknet. Durch das Kalteinlaben kann die Aggregation- von der Hydrolysereaktion entkoppelt werden, so dass die Gelbildung erst während der Sprühtrocknung bzw. beim Rehydratisieren im warmen Zustand beginnt.

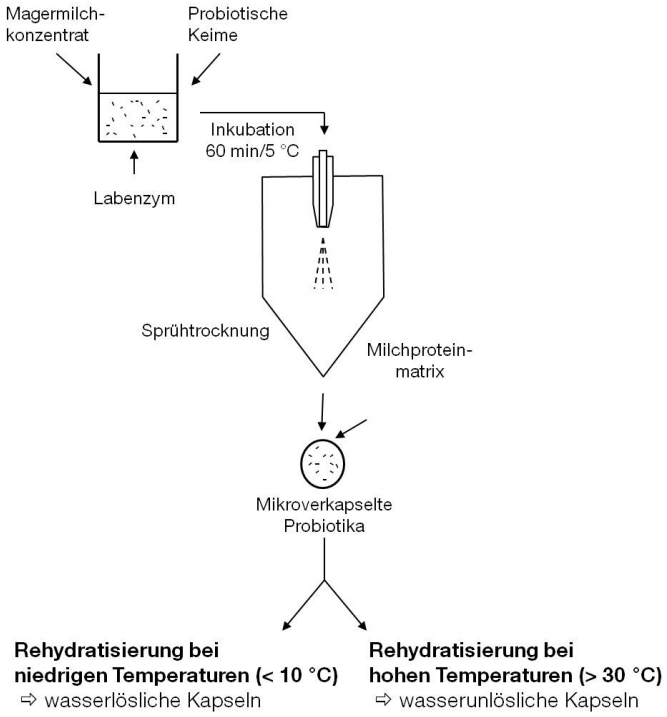


Abb. 1: Prozessschritte zur Herstellung von Mikrokapseln mittels Sprühtrocknung

Da die Gelbildung während der Trocknung noch nicht vollständig abgeschlossen ist, hängt die Löslichkeit des Pulvers auch von der Rehydratisierungstemperatur ab. Bei niedrigen Temperaturen (<10°C) ist das Pulver fast vollständig löslich, bei hohen Rehydratisierungstemperaturen dagegen entstehen wasserunlösliche Mikrokapseln. Mikroskopische Aufnahmen dieser Kapseln sind in Abb. 2 (a) und (b) exemplarisch für die Trockenmassen 12,5 und 35 % gezeigt. Die Kapseln wurden aus Pulvern, die bei einer Luft-eintrittstemperatur von 155 °C getrocknet wurden, durch Rehydratisierung in 40 °C warmen Wasser ausgebildet. In beiden Fällen entstanden sphärische Kapseln mit Durchmessern im Bereich von 50-150 µm.

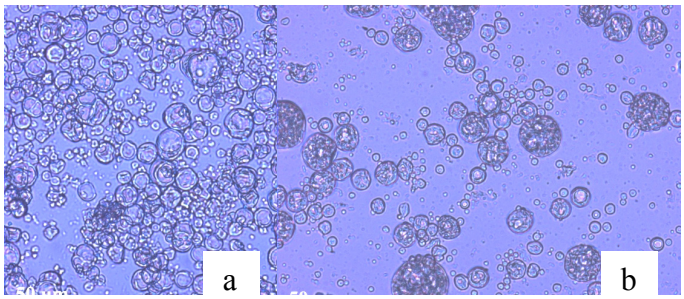


Abb. 2: Mikroskopische Aufnahmen (20x) von Mikrokapseln (ϑ_E = 155 °C, ϑ_R = 40 °C) (a) 12,5 % TM (b) 35% TM

Eine genauere Aussage über Unterschiede in der Partikel-größenverteilung lässt sich über die mikro-skopischen Aufnahmen nicht treffen, weshalb zur weiteren Cha-rakterisierung der Kapsel-morphologie zusätzlich Par-tikelgrößenmessungen der Pulver und den dazugehörigen Kapseln durchgeführt wurden. Die $d_{10,3}$-, $d_{50,3}$- und $d_{90,3}$-Werte sind in Abb. 3 jeweils für Pulver (a) und Kapseln (b) aufgetragen. Es wurde eine Zunahme der Partikelgröße mit steigender Trockenmasse der Feedlösung bestimmt. Dies ergibt sich aufgrund der steigenden Viskosität der Feedlösung und der damit verbundenen veränderten Tropfenablösung beim Zerstäuben. Für die Kapseln ist ein gegenläufiges Verhalten in der Größe zu beobachten. Mit steigender Trockenmasse nimmt die Kapselgröße ab. Dieses Verhalten kann dadurch erklärt werden, dass sich während der Trocknung bei den höheren Trockenmassen an der Oberfläche ein stärkeres Gelnetzwerk ausbildet. Diese erhöhte Netzwerkdichte führt bei der Kapselbildung, dem Rehydratisieren, zu kleineren Kapseln, da das Quellungsverhalten dadurch eingeschränkt ist.

Neben der Charakterisierung der Kapseln anhand von mikroskopischen Aufnahmen und Partikelgrößenmessungen wurden auch die relativen Überlebensraten der Keime in den Pulvern nach der Trocknung bestimmt. Zu diesem Zweck wurde eine Keimzahlbestimmung der Ausgangslösung (AL) und des Pulvers (P) durchgeführt. Die Berechnung wurde nach folgender Formel unter Berücksichtigung der Trockenmassegehalte von Ausgangslösung und Pulver durchgeführt:

$$\text{Überlebensrate [\%]} = \frac{KbE_P}{KbE_{AL}} \cdot \frac{TM_{AL}}{TM_P}$$

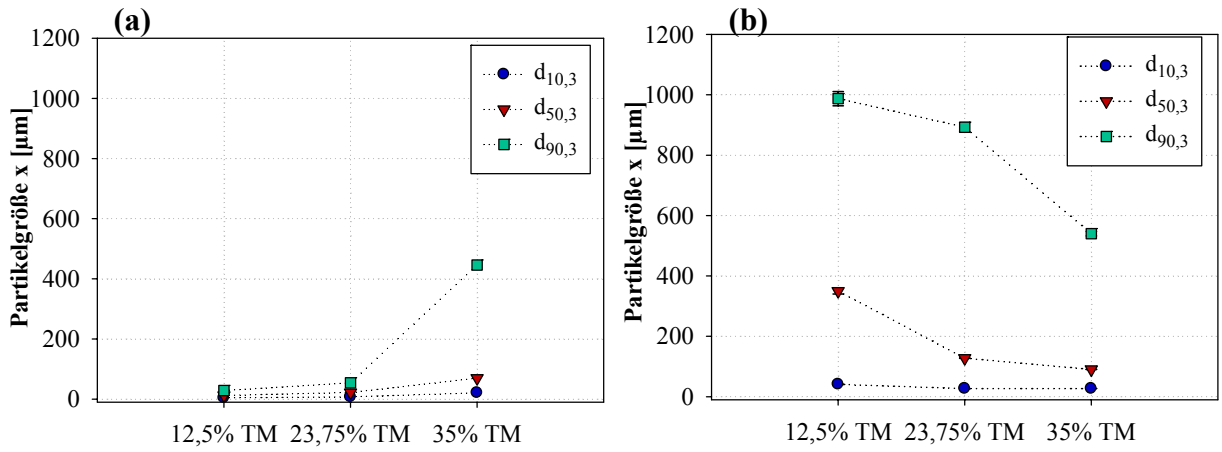


Abb. 3: Partikelgrößen von Pulver (a) und Kapseln (b) in Abhängigkeit der Trockenmassekonzentration der Feedlösung

Die Ergebnisse zu den Überlebensraten sind in Abb. 4 für die Trockenmassen 12,5, 23,75 und 35 % über die Luftaustrittstemperatur aufgetragen. Die Variation der Ausgangstemperatur ergibt sich aus den Eingangstemperaturen 75, 115 und 155 °C bei konstantem Volumenstrom. Mit steigender Luftaustrittstemperatur kommt es zur Reduktion der Überlebensrate. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass aufgrund der höheren Temperatur das Wasser schneller verdunstet und so die Partikeltemperatur über einen kritischen letalen Wert ansteigt. Die Partikeltemperatur liegt etwa 15 °C unterhalb der Luftaustrittstemperatur.

Aus Abb. 4 geht ebenfalls hervor, dass die Überlebensrate mit steigender Trockenmassekonzentration abnimmt. Auch dies lässt sich mit Hilfe der Partikeltemperatur erklären, da aufgrund des niedrigeren Wasseranteils die Kühlgrenztemperatur schneller überschritten wird und sich die Partikel länger im letalen Temperaturbereich befinden.

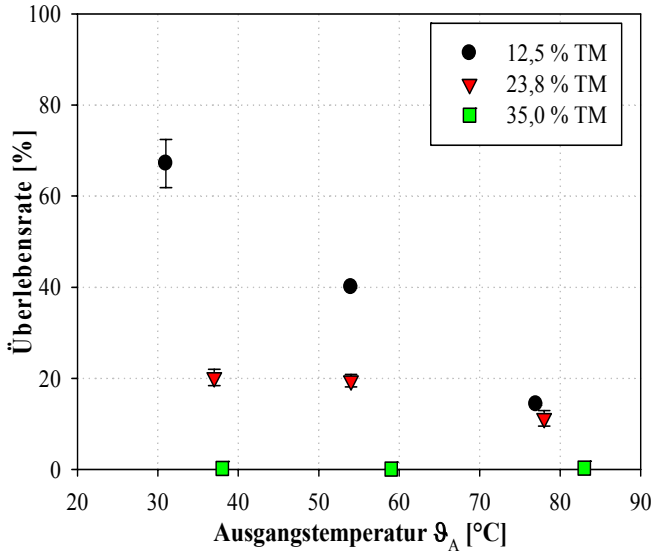


Abb. 4: Überlebensrate der Probiotika nach der Sprühtrocknung für unterschiedliche Trockenmassen

Bei derzeitigem Stand der Forschung ist anzunehmen, dass dieser neuartige Kapseltyp für einen Einsatz im Produkt geeignet ist. Die resultierenden durchschnittlichen Partikelgrößen liegen in einem Bereich, in dem bei Milchprodukten eine sensorische Nicht-Erfassbarkeit bereits nachgewiesen wurde. In laufenden Untersuchungen erfolgt eine Bewertung der Schutzfunktion dieses Kapseltyps. Durch eine gezielte Kombination der verschiedenen Parameter kann ein optimiertes Produkt für den Einsatz in Lebensmitteln erzeugt werden.

Literatur:

Heidebach, T.; Först, P.; Kulozik, U. (2009): Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. Food Hydrocolloids 23 (7), 1670-1677.

Dank: Dieses Projekt wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AiF-FV 16537 N).

Forschungsgebiet Membrantechnologie
Workgroup Membrane Technology

Einfluss der Ionenstärke auf den spezifischen Widerstand von Kaseindeckschichten

Influence of ionic strength on the specific resistance of casein deposits

Patricia Meyer

Bei der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration (MF) spielt die Kontrolle der Deckschichtbildung eine entscheidende Rolle. So kommt es trotz des Einsatzes des Querstromprinzips und der daraus resultierenden Kräfte auf Partikel zu einer Ablagerung von Partikeln auf der Membran. Diese Ablagerungsschicht, die überwiegend aus Kaseinen besteht, wirkt wie eine zweite Membran, wodurch der Permeatvolumenstrom sinkt und die Stofftransmission beeinflusst wird. Der Aufbau bzw. die Struktur einer solchen Ablagerungsschicht ist jedoch weitgehend unerforscht. Dies ist zurückzuführen auf die Tatsache, dass strukturelle Untersuchungen von Kaseindeckschichten durch die geringe Dicke der Ablagerungsschicht sowie die Polydispersiät und Trübung der Feedlösung erschwert werden.

Erste Untersuchungen zur Struktur von Kaseindeckschichten beschäftigen sich vor allem mit der Kompressibilität von im dead-end-Modus abgelegten Deckschichten. Arbeiten unterschiedlicher Forschergruppen zeigen aber einen kontroversen Kenntnisstand. Kromkamp et al. (2007) nehmen an, dass Kaseindeckschichten als inkompressibel zu betrachten sind. Die Beobachtungen von Pignon et al. (2004) lassen jedoch auf einen inhomogenen Deckschichtaufbau und damit auf Kompressibilität schließen. Unterstützt wird diese These durch Untersuchungen von Kühnl (2010), der eine Druckabhängigkeit des spezifischen Widerstandes nachwies. Zum Einfluss der Ionenstärke auf die MF von Milch existieren bislang nur wenige Untersuchungen. Bisherige Studien beschreiben vor allem die Auswirkungen einer Erhöhung der Ionenstärke auf den limitierenden Flux, den Foulingwiderstand oder die Proteinpermeation und ermöglichen damit nur eine indirekte Charakterisierung der Deckschichtstruktur. Des Weiteren wurde teilweise die durch die Salzzugabe induzierte Veränderung des pH-Wertes nicht korrigiert, wodurch es zu einer Verschiebung der Partikelgrößenverteilung der Kaseinmizellen kam. Aus diesem Grund sind die auftretenden Effekte nur schwer voneinander zu trennen und zu interpretieren.

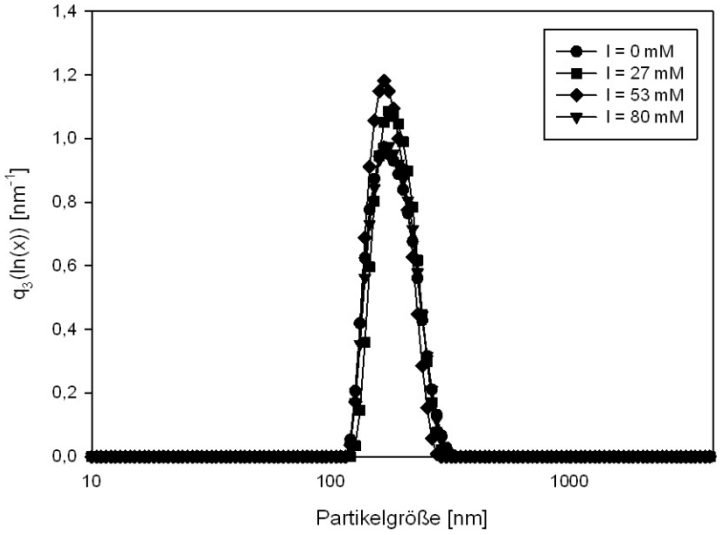


Abb. 1: Partikelgrößenverteilung der Kaseinsuspensionen

Um den Einfluss der Ionenstärke auf die strukturellen Eigenschaften von Kaseindeckschichten zu untersuchen, wurden in der aktuellen Studie Kaseinsuspensionen mit unterschiedlichen Ionenstärken (I = 0, 27, 53, 80 mM) hergestellt.

Der pH-Wert der Suspensionen wurde auf den konstanten Wert von 6,8 eingestellt, um eine Verschiebung im Partikelgrößenspektrum zu vermeiden (Abb. 1). Mit diesen Suspensionen wurden dead-end-Filtrationen durchgeführt und dabei eine definierte Menge an Permeat gewonnen. Zur Charakterisierung der so erzeugten Deckschichten soll nicht ihr Strömungswiderstand herangezogen werden, da dieser proportional zur physikalischen Deckschichthöhe ist und deshalb im Laufe der Filtration zunimmt. Eine von der Deckschichthöhe unabhängige Beurteilung erlaubt der auf die Feststoffhöhe bezogene, spezifische Widerstand α_w. Die Feststoffhöhe ist als Feststoffvolumen der Deckschicht bezogen auf die Membranfläche definiert.

Unter Voraussetzung eines über die Filtrationszeit konstanten mittleren spezifischen Widerstandes, kann $\alpha_{w,av}$ aus einer linearisierten Form des Gesetzes von Darcy bestimmt werden. Aus Abb. 2 sind die mittleren spezifischen Widerstände in Abhängigkeit der Ionenstärke zu entnehmen. Es wird deutlich, dass $\alpha_{w,av}$ mit steigender Ionenstärke zunimmt. Laut Kühnl (2010) sind elektrostatische Wechselwirkungen bei nativer Ionenstärke von Milch (I = 80 mM) aufgrund der geringen Debye-Länge als Ursache für Abstoßungskräfte zu vernachlässigen und die kolloidale Stabilität der Kaseinmizellen vielmehr auf hydrophile Abstoßung zurückzuführen.

Mit abnehmender Ionenstärke kommen elektrostatische Wechselwirkungen jedoch aufgrund geringerer Ladungsabschirmung mehr zum Tragen, der Deckschichtwiderstand sinkt.

Da der Gleichgewichtsabstand der Mizellen in der Deckschicht durch die kolloidalen Interaktionen beeinflusst wird, kann die elektrostatische Repulsion bei niedrigen Ionenstärken zu einer Vergrößerung des Gleichgewichtsabstandes führen. Durch eine Vergrößerung des Abstandes zwischen den Partikeln steigt die Porosität und der mittlere, spezifische Widerstand der Deckschicht nimmt ab. Der in Abb. 2 dargestellte Verlauf des spezifischen Widerstandes der Deckschicht ist also vermutlich auf die bei niedrigen Ionenstärken auftretende elektrostatische Repulsion der Kaseinmizellen zurückzuführen.

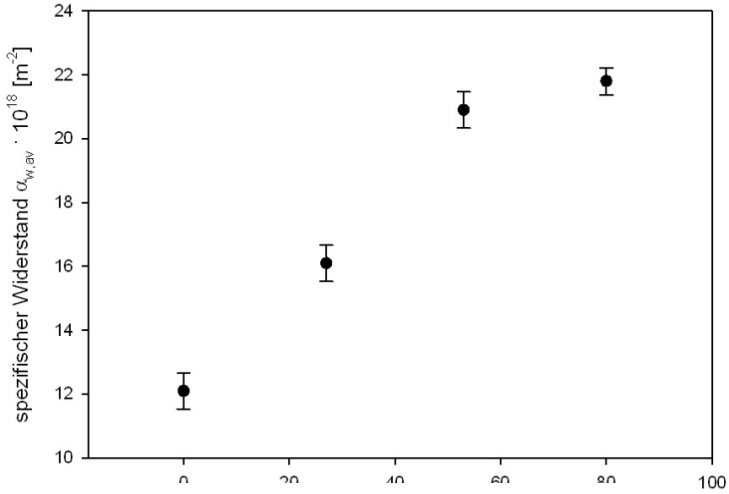


Abb. 2: Mittlerer spezifischer Widerstand der Kaseindeckschichten in Abhängigkeit der Ionenstärke

Damit können erste Schlüsse zum Einfluss der Ionenstärke auf die Struktur von Kaseindeckschichten gezogen werden. Eine weitergehende Charakterisierung soll zukünftig durch Untersuchung des Einflusses einer Erhöhung der Ionenstärke über den nativen Wert sowie Anwendung eines Modells zur Berechnung der Deckschichtporositäten erfolgen. Diese Studie soll dazu beitragen, dass der Mikrofiltrationsprozess zur Fraktionierung von Milchproteinen besser verstanden und gezielt beeinflusst werden kann.

Literatur:

Kromkamp J, Rijnsent S, Huttenhuis R, Schroen K, Boom R (2007): J. Food Engineering 80, 257-266.

Kühnl W. (2010): Kolloidale Wechselwirkungen zwischen Proteinen im Zusammenspiel mit fluid-dynamischen Kräften an der Grenzfläche von Filtrationsmembranen – gezeigt am Beispiel der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration. Dissertation, TU München

Pignon F, Belina G, Narayanan T, Paubel X, Magnin A, Gesan-Guiziou G (2004): J. Chemical Physics 121, 8138-8146.

Proteinfraktionierung in Vorderwürze mittels Membranfiltration –Deckschichtbildung bei verschiedenen Porengrößen

Wort protein fractionation by means of membrane filtration – deposit formation for various pore sizes

Patricia Meyer, Linda Voswinkel, Tim Steinhauer

Die Bierqualität wird maßgeblich von den enthaltenen Proteinfraktionen beeinflusst. Einige dieser Fraktionen spielen als strukturgebende und sensorisch relevante Komponenten vor allem in Bezug auf Vollmundigkeit und Schaumstabilität eine wichtige Rolle. Andere müssen durch gezielte Führung des Brauprozesses abgeschieden werden, um eine ausreichende Trübungsstabilität zu gewährleisten. Trotz zahlreicher Forschungsarbeiten ist der Wissensstand über die Beteiligung einzelner, z.T. noch unbekannter Proteinfraktionen an den Qualitätsmerkmalen des Bieres unvollständig. Bei genauerer Kenntnis der relevanten Proteinfraktionen könnte durch gezielte Rohstoffauswahl sowie eine ent-sprechende Prozessführung die Bierqualität beeinflusst werden. Aus diesem Grund soll durch die präparative Gewinnung einzelner Proteinkomponenten aus Vorderwürze und anschließende konzentrationsabhängige Re-

kombinationsversuche im Bier versucht werden, die für die jeweiligen Qualitätsmerkmale relevanten Proteinfraktionen zu ermitteln und charakterisieren. In einem kooperativen Projekt wird die Fraktionierung von Proteinen in Bierwürze untersucht. Dabei kommt die membrantechnische Kompetenz des Lehrstuhles für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie mit der Kompetenz im Brauwesen des Lehrstuhls für Brau- und Getränketechnologie zusammen. Die so gewonnenen Ergebnisse sollen Rückschlüsse auf die Beeinflussbarkeit der Bierqualität durch den Mälzungs- und Brauprozess zulassen. Im Rahmen der präparativen Aufbereitung sollen in einem ersten Schritt die Proteine der Vorderwürze mittels Ultra- (UF) und Mikrofiltration (MF) in verschiedene Größenfraktionen aufgetrennt werden, die dann in einem zweiten Schritt durch chromatographische Methoden weiter fraktioniert werden. Hiermit wurden Filtrationen mit unterschiedlichen Porengrößen im UF- und MF-Bereich durchgeführt. Die jeweiligen Fluxverläufe sind in Abb. 1 dargestellt. Es wird deutlich, dass der stationäre Flux der 0,2 µm-Membran einen ca. 23 % höheren Wert aufweist als der Flux der Membran mit einer Porengröße von 1,4 µm. Aufgrund des mit der Porengröße abnehmenden Membranwiderstandes wäre bei größeren Porengrößen ein höherer Flux zu erwarten.

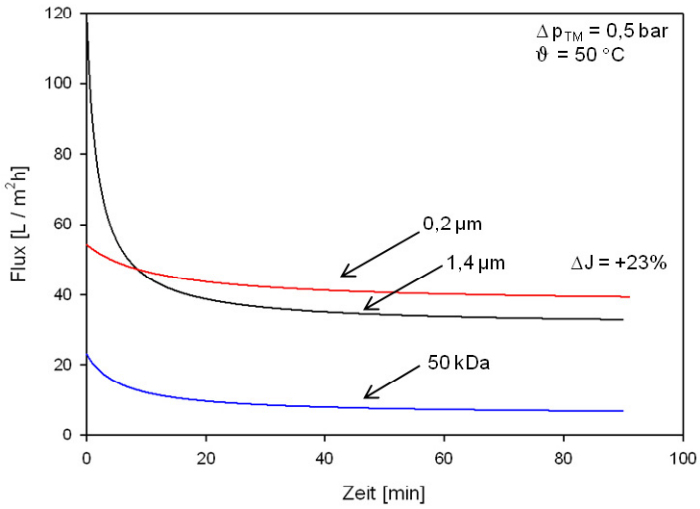


Abb. 1: Flux als Funktion der Zeit

Dies spiegelt sich auch in dem niedrigen stationären Flux der UF-Membran (50 kDa) wieder. Das Verhalten der beiden MF-Membranen (0,2 und 1,4 µm) lässt sich durch unterschiedliche Foulingmechanismen erklären. Es ist denkbar, dass bestimmte Würzebestandteile zur Porenblockierung der 1,4 µm Membran führen. Diese Partikel können jedoch aufgrund ihrer Größe die Poren der 0,2 µm-Membran nicht penetrieren und deshalb nur auf der Membranoberfläche abgelagert werden. Daraus resultieren unterschiedliche Foulingstrukturen und –widerstände, wodurch der höhere Flux der 0,2 µm-Membran zu erklären wäre. Als Maß für den Stofftransport durch die Membran kann die Permeation herangezogen werden. Die zugehörigen Permeationswerte der Gesamtstickstoff- (Gesamt-N) und hochmolekularen Stickstofffraktion (HM-N) sowie die Foulingwiderstände am Ende der Filtration (R_F) sind Tab. 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: Permeationswerte ($c_{Permeat}/c_{Retentat}$) und Foulingwiderstände

Membran	0,2 µm	1,4 µm
$P_{Gesamt\text{-}N}$ [%]	83,6	83,8
$P_{HM\text{-}N}$ [%]	35,9	60,1

Es zeigt sich , dass die 1,4 µm-Membran trotz des höheren Foulingwiderstandes eine bessere Permeabilität gegenüber hochmolekularem Stickstoff aufweist. Dies stützt die These, dass verschiedene Foulingmechanismen zum Tragen kommen, die in einer veränderten Deck-

schichtstruktur münden. Es können bereits erste Rückschlüsse auf die Deckschichtstruktur gezogen werden. Um eine ausreichende Fluxleistung für eine präparative Gewinnung erreichen zu können, muss jedoch der Einfluss weiterer prozessrelevanter Parameter wie Transmembrandruck oder Wandschubspannung auf den Deckschichtbildungsprozess untersucht werden. Des Weiteren muss deren Einfluss auf den Fraktionierungserfolg festgestellt werden.

Das Forschungsvorhaben (AiF 17037 N) wird im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI) gefördert.

Optimierung der Ultrafiltrationsleistung bei der Herstellung von Molkenkonzentraten durch vorgeschaltete Mikrofiltration

Optimization of the ultrafiltration performance during production of whey protein concentrates by upstream microfiltration

Tim Steinhauer

In der Praxis wird häufig beobachtet, dass Süßmolken aus der Herstellung verschiedener Labkäsearten sehr unterschiedliche Filtrationseigenschaften aufweisen. Membranfouling führt zu einem Fluxabfall von bis zu 80 %, so dass zur Ultrafiltration (UF) große Membranflächen eingesetzt werden müssen. Der membrantrenntechnisch erreichbare Konzentrierungsgrad hängt stark von dem noch vertretbaren Fluxwert ab, der nur durch Limitierung des Foulings gesteigert werden kann.

Welcher molekulare Mechanismus zum Membranfouling führt, ist bisher weitgehend unbekannt. Bisherige Arbeiten zur Molkenfiltration geben lediglich Hinweise auf die Rolle einzelner Molkenbestandteile. Für Süßmolke werden die Kalziumphosphatausfällung auf der Membran und die Ausbildung einer Proteindeckschicht für den Fluxabfall verantwortlich gemacht. Insbesondere für die Ausbildung der Proteindeckschicht wird angenommen, dass thermisch induzierte Molkenproteinaggregate das Membranfouling maßgeblich verstärken. In dem Vorhaben wird untersucht, ob durch eine der UF vorgeschaltete Mikrofiltration (MF) deckschichtbildende Substanzen wie Molkenproteinaggregate entfernt werden können und ob dadurch das Fouling während der UF gezielt reduziert werden kann, ohne in der MF Protein zu verlieren.

Der zusätzliche MF-Schritt muss bis auf die Aggregate eine vollständige Molkenproteinpermeation gewährleisten und gleichzeitig zu einer signifikanten UF-Fluxsteigerung führen.

Es wurde der Flux sowie die Molkenproteintransmossion am Beispiel von Edamermolke mit keramischen MF-Membranen untersucht. Zu berücksichtigen ist dabei, dass aufgrund von Rohrreibung die transmembrane Druckdifferenz entlang einer Membran abnimmt. Daraus resultiert ein längenabhängig inhomogener konvektiver Transport von deckschichtbildendem Material zur Membran. Entlang der Membran ist daher mit einem inhomogenen Deckschichtaufbau zu rechnen. Um sowohl den Flux als auch den Stofftransport durch die Membran längenabhängig beschreiben zu können, wurden die verwendeten Membranen in 4 Sektionen unterteilt, die zur Verhinderung von permeatseitigem Stoffaustausch gegeneinander abgedichtet wurden.

Es wurde festgestellt, dass sich der stationäre Flux bei der MF-Vorfiltration zu größeren Trenngrenzen (Abb. 1a) hin erhöht. Bei längenabhängiger Betrachtung fällt auf, dass der Flux vom Membraneingang (Sektion 1) zum Membranausgang (Sektion 4) bei allen Trenngrenzen

abnimmt. Der Flux ist damit eine Funktion des Transmembrandruckes - die Filtration befindet sich im membrankontrollierten Bereich. Nur in den ersten beiden Sektionen der Membran mit einer nominalen Trenngrenze von 0,8 µm nimmt der Flux trotz höheren Transmembrandruckes nicht zu. In Sektion 1 resultiert demnach eine Erhöhung des Transmembrandruckes bereits ausschließlich in Deckschichtbildung - die Filtration verläuft deckschichtkontrolliert.

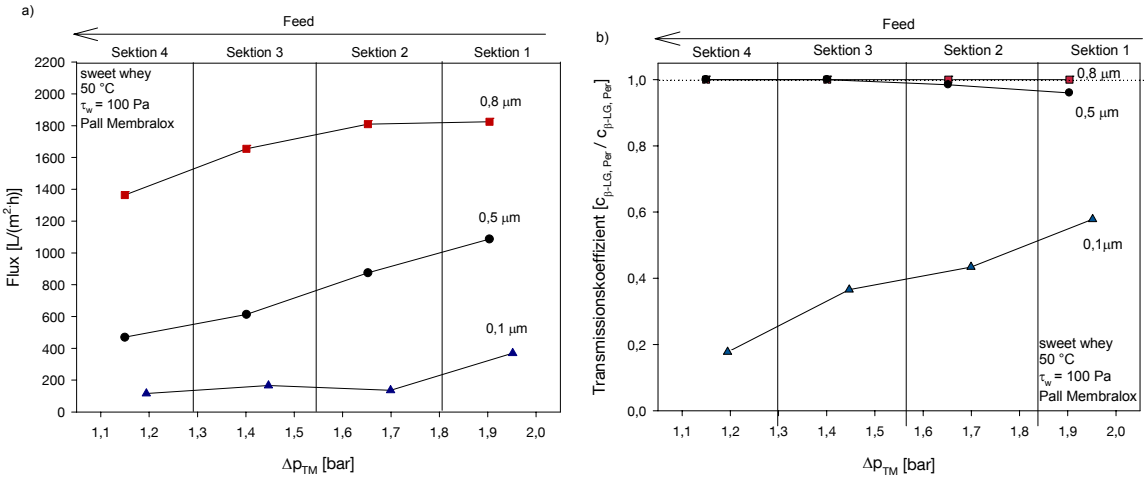


Abb. 1: Längenabhängige Verteilung a) des MF-Molkenfluxes und b) der Permeation des majoren Molkenproteins β-Lactoglobulin, bei verschiedenen nominalen MF-Trenngrenzen

Inwiefern sich die Deckschichtbildung entlang einer Membran auf den Stofftransport auswirkt, kann mithilfe der Transmission von Molkenproteinen beurteilt werden (Abb. 1b). Während bei einer nominalen Porengröße von 0,1 µm die Permeation von ca. 60 % am Membraneingang auf unter 20 % Membranausgang abnimmt, kann ab einer Porengröße von 0,5 µm von einer vollständigen Molkenproteinpermeation ausgegangen werden.

Im Hinblick auf die Anwendung einer MF als Vorstufe zur UF kommt die Verwendung einer Membran mit einer nominalen Trenngrenze von 0,1 µm aufgrund der geringen Molkenproteinpermeation nicht in Betracht. Ausgehend vom Fluxniveau erscheint die Wahl der Membran mit den größten Poren und der damit verbundenen höchsten Molkenproteintransmission als sinnvoll.

Neben der vollständigen Molkenproteinpermeation ist auch die maximale Retention deckschichtbildender Substanzen während der MF für die Optimierung der UF-Leistung entscheidend. Daher wurde der UF-Flux unbehandelter Molke mit dem UF-Flux mikrofiltrierter Molke verglichen (Abb. 2).

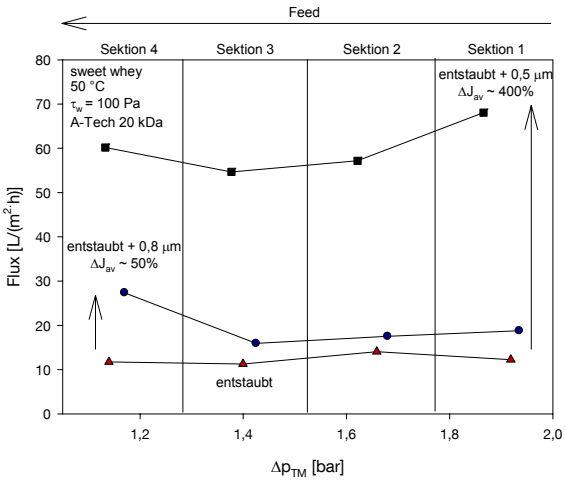


Abb. 2: Längenabhängige Verteilung des Molkenfluxes während der UF nach MF-Vorfiltration mit verschiedenen nominalen MF-Trenngrenzen

Der stationäre UF-Flux konnte bei Einsatz einer MF-Membran mit einer Porengröße von 0,8 µm im Mittel um 50 % gesteigert werden. Im Vergleich dazu konnte durch Vorfiltration mit MF-0,5 µm eine mittlere Fluxsteigerung bei vollständiger Molkenproteintransmission um ca. 400 % erzielt werden.
Die geeignete Membran für eine Vorfiltration ist demnach die Membran mit einer nominalen Trenngrenze von 0,5 µm. Diese arbeitet bei der Vorfiltration zwar auf einem geringeren Fluxniveau, gewährleistet jedoch eine vollständige Molkenproteinpermeation und führt zur maximalen Steigerung des UF-Flux in der nachfolgenden Proteinkonzentrierung.

Das Forschungsvorhaben (AiF 16300 N) wurde im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI) gefördert.

Abreicherung von β-Lactoglobulin aus Molkenproteinisolat und -konzentrat mit Membranwickelmodulen zur Ionenaustauschchromatographie

Depletion of β-Lactoglobulin in whey protein isolate and concentrate and using membrane adsorption chromatography

Linda Voswinkel

Das majore Molkenprotein β-Lactoglobulin (β-Lg) weist die größte Antigenität der Milchproteine auf. Es wurden bis zu 11 lineare Epitope nachgewiesen, die in dem globulären Protein z.T. versteckt vorliegen. Eine Denaturierung durch Hitze oder Hochdruckbehandlung kann daher zu einer Erhöhung der allergenen Eigenschaft führen, da durch eine Auffaltung Epitope freigelegt werden. Zur Herstellung von hypoallergenen Milchprodukten werden Molkenproteine hydrolysiert, so dass die Antigene zerstört werden. Allerdings ist hierbei ein hoher Denaturierungsgrad erforderlich, damit die Epitope, die 11-23 Aminosäuren enthalten, hydrolysiert vorliegen. Es wurde nachgewiesen, dass bis zu 65 % der Milchallergiker auf derart behandelte Produkte reagieren (Jäger und Vieths, 2008). Eine vollständige Abtrennung des β-Lg könnte daher eine Alternative zur Hydrolysebehandlung darstellen. Ein zusätzlicher Vorteil liegt darin, dass α-Lactalbumin angereichert wird, wodurch die Molkenproteinzusammensetzung für den Einsatz in Säuglingsanfangsnahrung attraktiv ist (Jost et al., 1999).

Die Abreicherung von β-Lg mittels Ionenaustauschchromatographie wurde bereits mehrfach untersucht (Splitt et al., 1996; Ghosh, 2002; Goodall et al., 2008). Ein neuer Ansatz ergibt sich aus der Verwendeung von tangential überströmten Membranadsorptionsmodulen Sartobind® nano (Sartorius, Göttingen). Dabei handelt es sich um eine Chromatographiesäule, bei der die mögliche Flussrate von fünf Säulenvolumina pro Minute außergewöhnlich hoch ist. Es ergibt sich ein technischer Vorteil gegenüber konventioneller Chromatographie und den gestapelten Membranadsorptionsmodulen früherer Generationen (Ghosh, 2002).

Zur Isolierung von β-Lg aus der Proteinlösung wurden zunächst geeignete Bedingungen gesucht, unter denen β-Lg selektiv bindet und α-La nicht. Die isolelektrischen Punkte beider Proteine liegen mit 4,5 und 5,3 nah beieinander, die negative Oberflächenladung bei pH > pI ist jedoch bei β-Lg wesentlich höher als bei α-La (Lucas et al., 1998). Eine Neutralisierung der Nettoladung von α-La durch Erhöhung der Ionenstärke soll dazu dienen, dass nur β-Lg an der stationären Phase des Anionenaustauschers adsorbiert und alle anderen Molkenproteine in der Molke verbleiben. Dabei hat sich gezeigt, dass durch eine Erhöhung der Leitfähigkeit auf 3 $mS \cdot cm^{-1}$ α-La noch teilweise bindet, bei 10 $mS \cdot cm^{-1}$ hingegen nicht. β-Lg ist hier noch ausreichend geladen, um mit den quaternären Ammonium-Liganden zu interagieren (Abb. 1).

Die Ergebnisse beziehen sich auf die Prozessentwicklung und Optimierung mit WPI Germanprot (Sachsenmilch Leppersdorf GmbH). Vor der Fraktionierung wurde denaturiertes Protein bei pH 4,6 gefällt und der Überstand filtriert (Ø 0,45 µm). Aufgrund des niedrigen Ionengehalts von WPI wurde die Leitfähigkeit der Lösung mit NaCl eingestellt, so dass die gewünschte selektive Bindung erreicht werden konnte. Verwendete Puffer zur Equilibrierung der Säule und zur Elution gebundener Proteine sind lebensmitteltauglich (0,03 M Dinatriumhydrogenphosphat und 1 M NaCl).

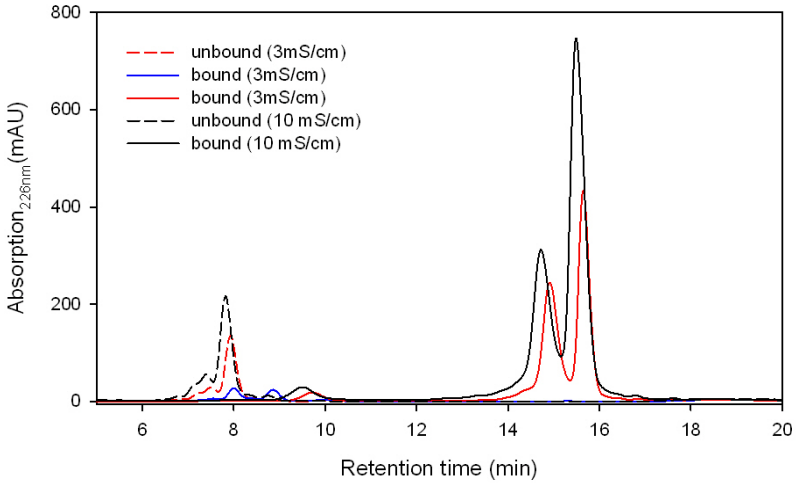


Abb. 1: Adsorption von α-La in Abhängigkeit von der Leitfähigkeit der Proteinlösung.

Die Ergebnisse zur selektiven Trennung von β-Lg aus einer WPI-Lösung (0,5 %) sind in Abb. 2 dargestellt. Das Chromatogramm zeigt den Ionenaustausch-Prozess, bei dem das gebundene β-Lg mit 1 M NaCl eluiert wird. Im Effluent befindet sich α-La und in geringer Konzentration Immunglobulin G. Die Reinheit der gewonnenen Fraktionen wurde mittels SDS-PAGE (Abb. 2, rechts) und RP-HPLC untersucht.

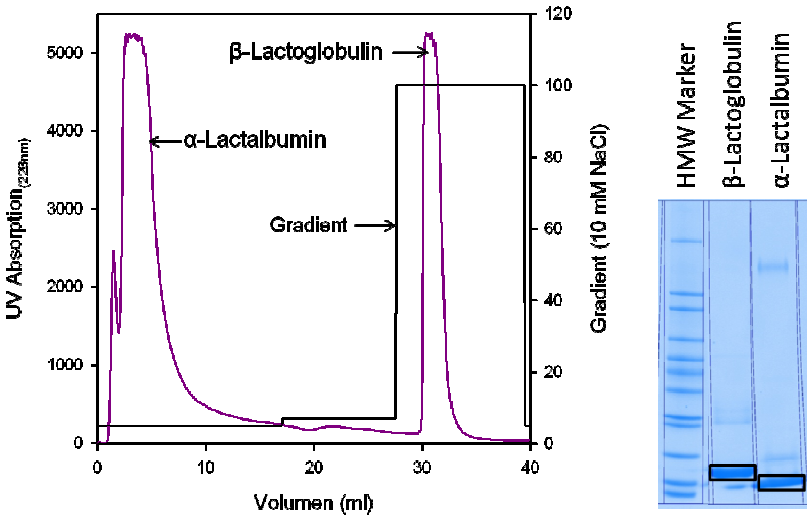


Abb. 2: Chromatogramm der Fraktionierung von WPI Germanprot (0.5 % (w/v)) mittels Anionenaustauscher,0,03 M Na-Phosphat pH 7 (links) und SDS-PAGE der gewonnenen Fraktionen (rechts).

Die Abreicherung von β-Lactoglobulin aus WPI-Lösungen kann in einem chromatographischen high-throughput-Verfahren umgesetzt werden. Die Übertragung des Prozesses auf den Pilotmaßstab sowie eine wirtschaftliche Betrachtung bezüglich des Einsatzes von WPI/WPC im Vergleich zu frischer Molke ist in Vorbereitung.

Literatur:
Ghosh, R. (2002). Journal of Chromatography A. 13–27.
Goodall, S; Grandison, A; Jauregi, P. & Price, J. (2008). J. Dairy Science, 1–10.
Jäger, L. & Vieths, S. (2008). Nahrungsmittelallergien und –intoleranzen. Urban & Fischer, Munich
Jost, R; Maire, J.-C; Maynard, F. & Secretin, M.-C. (1999). Int. J. Food Science & Technology. 533–542.
Lucas, D; Rabiller-Baudry, M; Millesime, L; Chaufer, B. & Daufin, G. (1998). J. Membrane Science. 1–12.
Splitt, H; Mackenstedt, I. & Freitag, R. (1996). J. Chromatography A. 87–97.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AiF-FV 16540 N).

Forschungsgebiet Mikrostrukturaufklärung und -gestaltung
Workgroup: Structural studies on biopolymers
Leitung: Dr. rer. nat. Ronald Gebhard

Salt-induced changes of the size of β-Lactoglobulin

Ieva Petkevičiūtė, Ronald Gebhardt

Physiological salts improve flavor, texture and mouth feel of many processed food (1) and serve as tonicifying agents in protein formulations (2). However, salts can affect protein conformational integrity, stability and association behavior. These effects have been often correlated to the Hofmeister series which ranks the relative influence of both cations and anions (3).

In the case of β-Lactoglobulin (β-Lg) it has been shown that dimerization can be enhanced by the ionic strength of the solution after adding NaCl (4). Furthermore, β-Lg undergoes a number of pH-dependent structural transitions and shows self-association into dimers and octam-

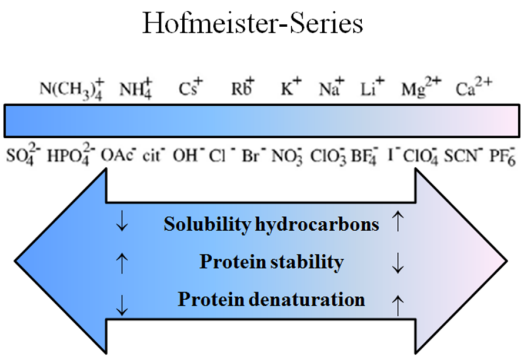


Fig. 1: Ordering (Hofmeister-series) of ions and their Influence on selected protein properties, modified according to (2).

ers. In order to explore the effect of salt on the structural states of β-Lg, we performed dynamic light scattering studies on β-Lg at different pH and salt concentrations.

In detail, we prepared protein solutions of purified β-Lg (5) with different salt concentrations (0.05, 0.1, 0.27, 1, 5, 10 and 100 mM) by dissolving β-Lg in de-ionized (DI) water under continuous stirring at room temperature. The pH of the solutions was adjusted afterwards. Intensity correlation functions were measured using a Zetasizer Nano. Before the measurements, all samples were filtrated with 0.45 µm filter. The data were transformed into size distributions according to the Stokes-Einstein relation and weighted by volume. Fig. 2 shows how the mean size of β-Lg changes with ionic strength relative to the reference state without salt. Interestingly, similar results were obtained for all of the three salts tested. The experimental data show both a decrease at low salt concentrations and an increase at high salt concentrations of the normalized sizes. Generally, slightly attracting interactions dominate between the proteins in deionized water. Attractive forces become neutralized after addition of small amounts of salt and the protein becomes better dissolved in the solvent – a process which is known as *salting-in effect*.

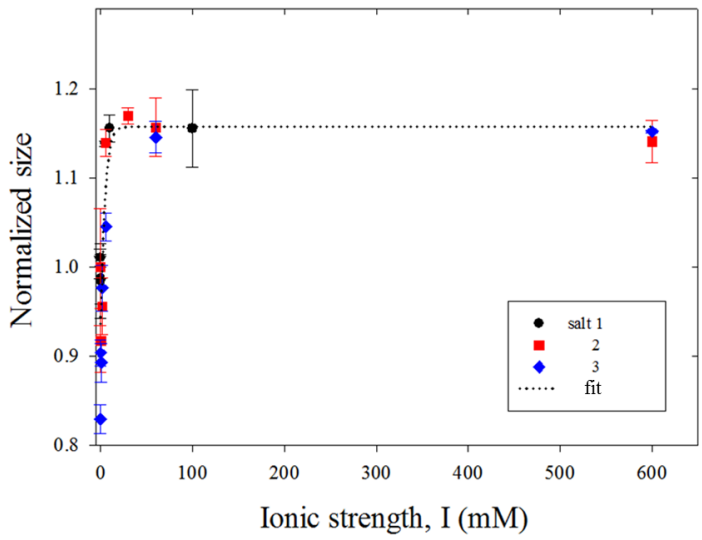


Fig. 2: Normalized size of β-Lg as a function of the ionic strength adjusted by three different salts.

It may cause a decrease in the hydrodynamic size at low salt concentrations. Instead, larger amount of salt compete with the proteins for their hydration water. Non-polar surface areas of the proteins become exposed and prone to aggregate which leads to precipitation (*salting-out effect*).

However, the observed relative size increase is small but significant and suggests rather a conformational change then changes in the degree of aggregation of β-Lg.

The discussion of the current data as well as further experimental studies concerning the influence of salt is currently underway. The relevance of this project can be seen in conjunction with the heat stability of whey proteins in various ionic environments such as sweet and acid whey.

References:

(1) E. Durack, M. Alonso-Gomez, M. G. Wilkinson (2008) Current Nutrition & Food Science, 4, 290-297

(2) T. J. Kamerzell, R. Esfandiary, S. B. Joshi, C. R. Middaugh, D. B. Volkin (2011) Adv. Drug Delivery Rev. 63, 1118-1159

(3) W. Kunz (2010) Current Opinion Coll. Interface Sci. 15, 34-39

(4) G. Baldini, S. Beretta, G. Chirico, H. Franz, E. Maccioni, P. Mariani, F. Spinozzi (1999) Macromolecules, 32, 6128-6138

(5) J. Toro-Sierra, A. Tolkach, U. Kulozik (2011) Food Bioprocess Technology, DOI: 10.1007/s11947-011-0732-2, in press

Structural Changes of β-Lactoglobulin after High Pressure treatment

Ieva Petkevičiūtė, Michael Reitmaier and Ronald Gebhardt

High pressure is an interesting alternative to temperature treatment in order to ensure prolonged shelf-life and food safety. The influence of high pressure on dimeric β-Lactoglobulin (β-Lg) has been investigated at pH 7.0 and pH 3.0 respectively. While at pH 7 β-Lg is negatively charged, the net positive charge reaches up to 15 per monomer (1). It has been shown by small angle neutron scattering experiments at pH 3.0 that high pressure dissociation into monomers depends strongly on solvent properties (2). A similar dissociation behavior without a cosolvent effect was demonstrated in a fluorescence study at pH 7.0 (3). The found increase in size after pressure treatment was related to incorrectly folded conformations of β-Lg dimers induced by high pressure treatment. However, the impact of a high pressure treatment on the structure of β-Lg near its isoelectric point has been poorly investigated so far. In fact, the pressure effect at isoelectric conditions is interesting to study since charge screening effects caused by the present salt should play only a minor role on structural properties of the proteins.

Hence, we investigated structural changes under these conditions using ex-situ dynamic light scattering. Protein powder of purified β-Lg (4) was dissolved in distilled water and equilibrated on a magnetic stirrer for 10 min. The pH was adjusted near the isoelectric point of β-Lg using 1N and 0.1N HCl solutions. Closed reaction tubes were packed in plastic foils, evacuated and sealed using a vacuum machine. Two identical samples were exposed to 300 MPa at T = 20 °C. In detail, the pressure was built-up in the first 3 minutes followed by a pressure holding period of 30 min. After pressure treatment the size of the samples were analyzed using a Zetasizer Nano-Z at T = 25 °C in backscattering geometry (θ = 173°).

Fig. 1 shows the results of two independent high pressure experiments. After high pressure treatment the hydrodynamic size of β-Lg increases by 40 %. This effect could be caused by an incorrectly folded, expanded β-Lg conformations stabilized by newly formed disulfide cross-links as demonstrated for dimers at pH 7.0 by (3). Furthermore, an increase in the degree of oligomerization by the high pressure treatment could result in significant larger sizes.

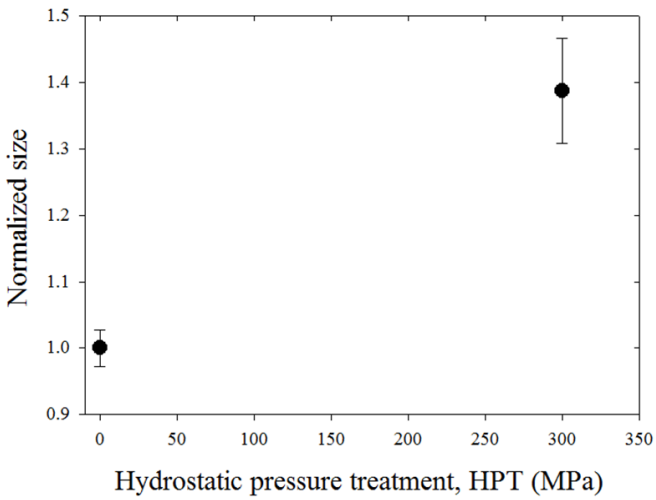


Fig. 1: Normalized sizes of β-Lg measured at ambient pressure and after a pressure treatment with 300 MPa for 30 min.

References:
(1) E. Dufour, G. H.B. Hoa, T. Haertlé (1994) Biochimica et Biophysica Acta 1206, 166-172
(2) M.G. Ortore, F. Spinozzi, F. Carsughi, P. Mariani, M. Bonetti, G. Onori (2006) Chem. Phys. Lett. 418, 342-346
(3) V. L. Valente-Mesquita, M. M. Botelho, S. T. Ferreira (1998) Biophysical Journal 75, 471-476
(4) J. Toro-Sierra, A. Tolkach, U. Kulozik (2011) Food Bioprocess Technol., DOI: 10.1007/s11947-011-0732-2, in press

Röntgenstreuexperimente zur Erforschung der Deckschichtbildung in einer Membranpore

Ronald Gebhardt, Patricia Meyer, Tim Steinhauer

Röntgenstreuexperimente in einer Membranpore liefern strukturelle Details von deckschichtbildendem Material im Membraninneren. Zusätzlich zu Größe und Form des Materials, die sich auch mit anderen Techniken wie der Atomkraftmikroskopie, AFM bzw. der Elektronenmikroskopie, EM abbilden lassen, kann mit fokussierten Mikro/Nano-Röntgenstrahlen und hochauflösenden Scannern auch eine mögliche interne Substruktur ortsaufgelöst untersucht werden (1). Diese weist z.B. bei Kasein-Mizellen charakteristische Größen zwischen 10-20 nm auf, die z.B. der Größe von Kasein-Submizellen, dem κ-Kasein-Bürstensaum oder den mittleren Abständen zwischen Kalziumphosphat-Clustern zugeordnet wird (2). Durch Streuexperimente in einer Einzelpore lassen sich nun z.B. die Auswirkungen von Filtrationskräften auf die innere Struktur der Kasein-Mizellen erforschen. Derartige Untersuchungen sind allerdings mit einigen Einschränkungen verbunden. Einerseits müssen, um ein Transmissionsexperiment zu ermöglichen, zylindrische Poren benutzt werden, wie sie z.B. von Silizium-Nitride Mikrosieben zur Verfügung gestellt werden. Andererseits sind die Untersuchungen derzeit aufgrund von aktuell realisierbaren Strahlgrößen von fokussierten Röntgenstrahlen noch auf Porengrößen von ca. 800 nm beschränkt. Die Experimente wurden am europäischen Elektronen-Synchrotron ESRF in Grenoble, Frankreich durchgeführt. Dafür wurde die Strahllinie ID13 genutzt, welche weltweit den kleinsten fokussierten Röntgenstrahl mit Strahlgrößen von ca. 100x100 nm für Streuexperimente zur Verfügung stellt (3).

Abb. 1 zeigt die wichtigsten Komponenten des verwendeten Nanogoniometers, welches für das Alignement der Probe (Mikrosieb: Nanofiltertechnik GmbH) notwendig ist. Eine erste grobe Positionierung wurde mit einem vertikalen Mikroskop durchgeführt, welches derart kalibriert war, das der Brennpunkt des benutzten Objektivs auf dem Fokus des Röntgenstrahls lag. Dabei wurde das Sieb mithilfe eines Hexapod auf die Untersuchungs-position gefahren, sodass die Membranoberfläche im Mikroskop und damit auch im Röntgenstrahl-Fokus lag. Eine feinere Positionierung, die das Ziel hatte, eine einzelne Pore auf der Membran zu selektieren, wurde dann mithilfe von Röntgens-cans durchgeführt. Dafür wurde das Mikrosieb mithilfe eines Piezo-Scanners bewegt.

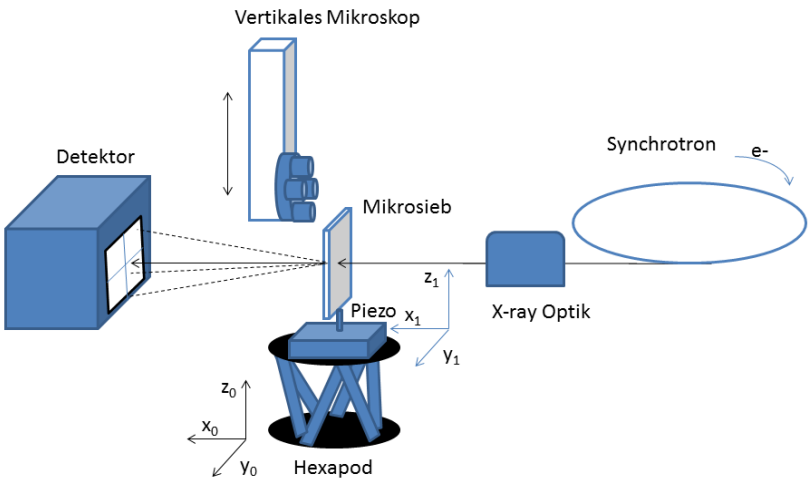
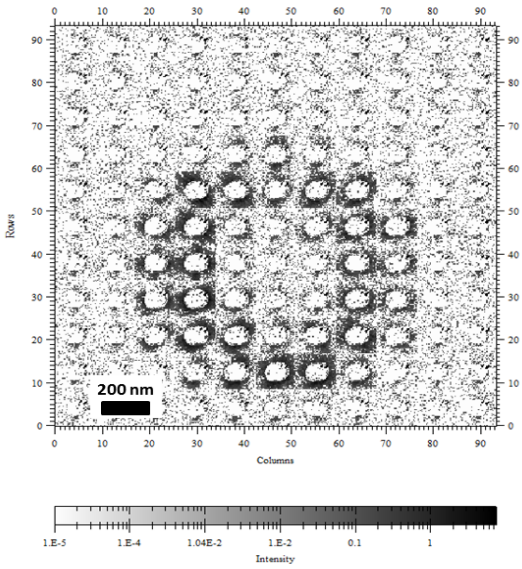


Abb. 1: Experimenteller Aufbau an der ID13 Strahllinie des ESRF in Grenoble, Frankreich.

Das Ergebnis des Röntgenscans ist in Abb. 2 dargestellt. Es zeigt einen Mesh-Scan mit einer Schrittweite von 200 nm im y_1-z_1 Koordinaten-system, der das Gebiet einer einzelnen 800 nm Pore mit einschließt.



Deutlich ist das starke Streusignal vom Porenrand zu erkennen, welches sich radialsymmetrisch über einen Größenbereich von ca. 400 nm erstreckt. Das relevante Streusignal des deckschichtbildenden Materials wird gegen-wärtig aus den ca. 9 inneren Streupattern, nach entsprechender Kalibration und Untergrund-korrektur, extrahiert.

Abb. 2: Mesh-scan (Auflösung: 200 x 200 nm) über eine 800 nm große Pore eines Mikrosiebs mit einem Nano-Röntgenstrahl (Strahlgröße: 200 x 200 nm).

Literatur:
(1) R.Gebhardt, M. Burghammer, M. Hanfland, C. Riekel Biomacromolecules, 2007, 8 (7) 2092-2097
(2) D.G. Dalgleish Soft Matter, 2011, 7, 2265-2272
(3) C. Riekel et al. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2010, 14 (1) 012013.

Formänderungen von Kasein-Mizellen in Deckschichten bewirkt durch Filtrationskräfte

Ronald Gebhardt, Patricia Meyer, Tim Steinhauer, Julia Sterr[1]
[1] Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik, TUM

Im Gegensatz zu hochauflösenden abbildenden Techniken wie der Atomkraftmikroskopie (AFM) und der Elektronenmikroskopie vermag die Röntgenkleinwinkelstreuung unter streifendem Einfall (GISAXS) neben der lateralen auch Tiefeninformation von Deckschichtstrukturen aufzulösen. Dies wird durch einen in Abb. 1 dargestellten Reflexions-Aufbau realisiert. Der unter einem kleinen Winkel α_i einfallende Röntgenstrahl wird an der Deckschicht sowohl reflektiert als auch gestreut. Das Streusignal enthält Strukturinformation über die Dimension der deckschichtaufbauenden Partikel normal zur Oberflache (z-Richtung).

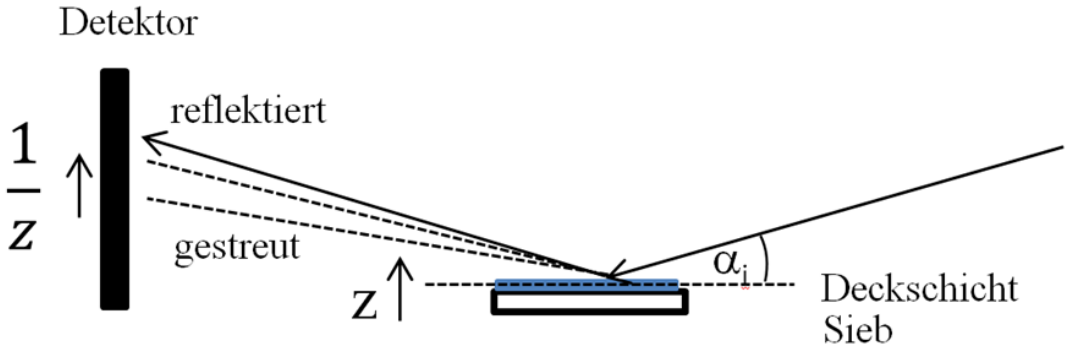
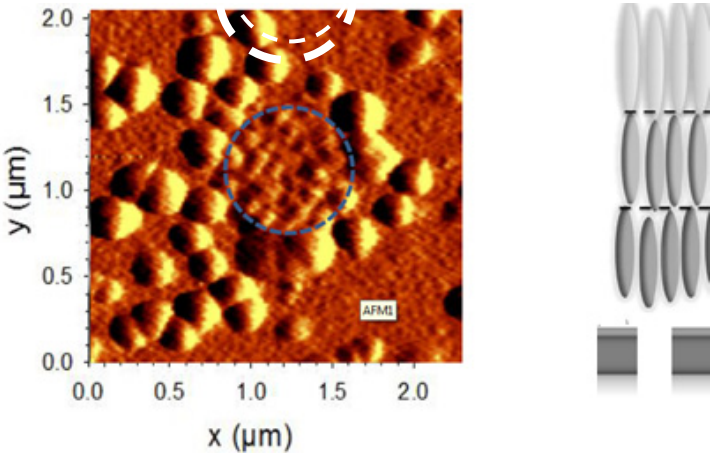


Abb. 1: GISAXS-Streugeometrie, das vom Detektor aufgenommene Streusignal enthält u.a. inverse Strukturinformation normal zur Oberfläche und damit Höheninformation, die aus AFM und EM-Messungen nur schwer extrahiert werden kann.

Diese Information kann insbesondere dann von Nutzen sein, wenn Deckschichtstrukturen aus weicher Materie bestehen und sich während der Deckschichtbildung verformen. Dies konnte kürzlich am Beispiel von Kaseinmizellen während der Filmbildung auf Glasoberflächen demonstriert werden (1). Ebenso wurden die Auswirkungen von Filtrationskräften auf die Struktur von Kasein-Mizellen in Membrandeckschichten untersucht. Die Röntgenstreuexperimente unter streifendem Einfall wurden an der Strahllinie BW4 des HasyLab am Deutschen Elektronensynchrotron DESY durchgeführt. Um eine glatte Membranoberfläche und damit ein geringes Untergrundsignal zu gewährleisten, wurden für die Oberflächenuntersuchungen Siliziumnitride-Mikrosiebe (Nanofiltertechnik GmbH) verwendet. Die Kasein-Deckschichtstrukturen wurden mithilfe einer Vakuummembranpumpe auf die Mikrosiebe auffiltriert. Die erhaltenen GISAXS-Streupatterns entsprachen dem Einteilchen-Strukturfaktor der Kasein-Mizellen in der Deckschicht. Dieser ließ sich am besten durch ein Ellipsoid, welches mit der Längsachse senkrecht zur Membranoberfläche und damit parallel zur Filtratströmung steht, beschreiben. Begleitende AFM-Messungen, die unter gleichen Versuchsbedingungen durchgeführt wurden, konnten die Ergebnisse bestätigen. Sie zeigen oberhalb einer Membranpore (gestrichelte Linie in Abb. 2), dass sich die laterale Dimension der in Lösung kugeligen Kasein-Mizellen in der Deckschicht reduziert.



Literatur:
(1) R. Gebhardt, C. Vendrely, U. Kulozik (2011). J. Phys.: Condens. Matter 23, 444201
(2) Perlich, J. et al. (2010) Rev. Sci. Instrum., 81 (10) 105105.

Abb.: 2, links: AFM-Bild eines Mikrosiebs mit Kasein-Mizellen, aufgenommen über einer Membranpore (gestrichelte Linie), rechts: Modell von ellipsoid-verformten Kasein-Mizellen erstellt anhand von GISAXS-Daten

Forschungsgebiet Proteintechnologie
Work Group Protein Technology

Sprühtrocknung in Kombination mit enzymatischer Modifikation zur Funktionalisierung der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma

Combined effects of spray drying and enzymatic treatment for functionalizing of the dried egg yolk main fractions granula and plasma

Thomas Strixner, Rebecca Würth

Eigelb ist ein komplexes System zahlreicher Lipide, Proteine und Lipoproteine mit einem Trockenmassegehalt von ca. 50 %, das sich durch die gezielte Veränderung von Milieu- und Prozessbedingungen in seiner Funktionalität beeinflussen lässt. Natürliches Eigelb besteht zu 80 % aus einer Plasmafraktion und zu 20 % aus Eigelbpartikeln, den so genannten Granula. Plasma ist die wasserlösliche Fraktion des Eigelbs. Sie besteht zu 85 % aus Low-Density-Lipoproteinen (LDL). Die sedimentierbaren Granulabestandteile bestehen aus High-Density-Lipoproteinen (HDL) und Phosvitin, die durch Calcium-Phosphat-Brücken miteinander verbunden sind. Die beiden Fraktionen lassen sich aufgrund ihrer unterschiedlichen Struktur und Zusammensetzung durch eine zentrifugale Trennung separieren und in Reinform gewinnen. Abb. 1 gibt einen Überblick über die Struktur und Zusammensetzung der beiden Hauptfraktionen.

In der industriellen Praxis hat sich die Behandlung von Eigelb mittels des Enzyms Phospholipase (PLA_2) etabliert. PLA_2 bewirkt eine Abspaltung einer Fettsäure in Position 2 von Phospholipiden mit der Folge gesteigerten Emulgiervermögens und einer deutlich höheren Hitzestabilität des hydrolysierten Eigelbs. Flüssiges Eigelb ist nur begrenzt lagerstabil. Um die mikrobielle Stabilität des Eigelbs zu verbessern, Transport und Lagerkosten zu reduzieren und die Handhabung zu vereinfachen, wird sehr häufig eine Trocknung des Eigelbes durchgeführt.

Eine Kombination aus Trocknung und enzymatischer Behandlung zeigt vor diesem Hintergrund den Vorteil einer verlängerten Haltbarkeit durch die Trocknung bei gleichzeitigem Erhalt der nativen Eigenschaften infolge einer PLA_2 Modifikation auf.

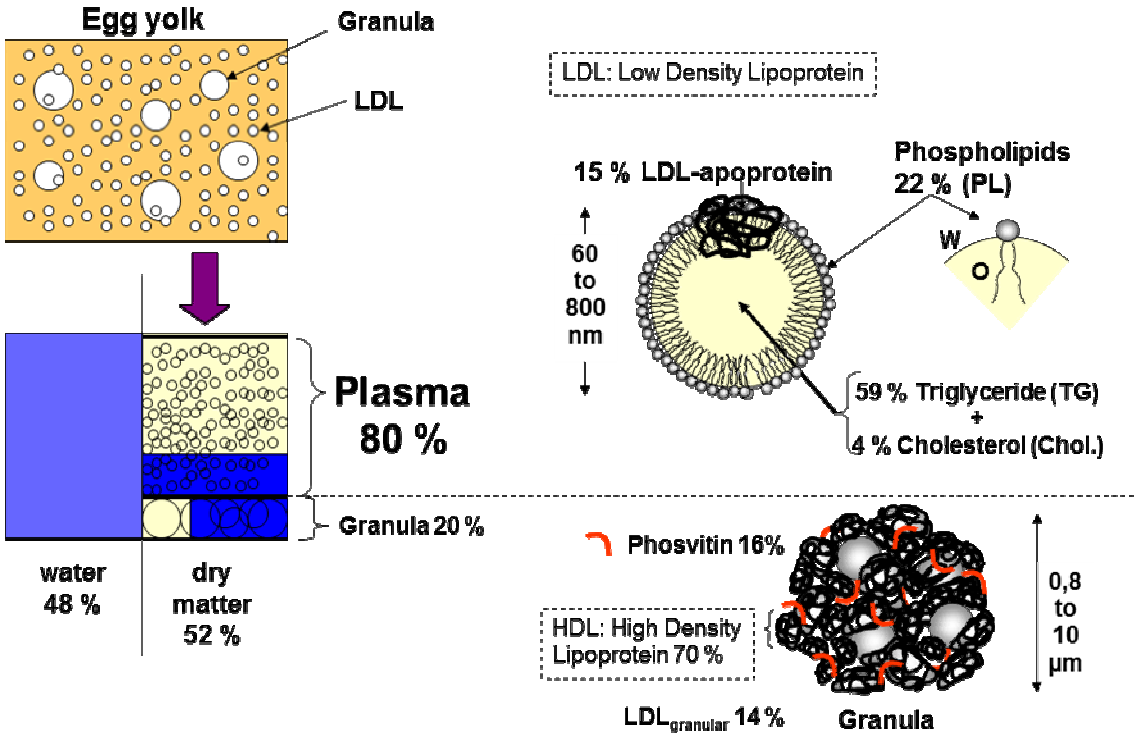


Abb. 1: Schematischer Überblick zu den strukturellen Eigenschaften der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, wie sich eine Sprühtrocknung der Eigelbhauptfraktionen mit und ohne vorangeschalteter enzymatischer Modifikation auf die Emulgiereigenschaften nach der Trocknung auswirkt. Hierzu war es zunächst notwendig, in einem ersten Schritt den Einfluss der Prozessparameter Lufteingangstemperatur T_E und Luftausgangstemperatur T_A zu untersuchen.

Dabei zeigte sich, dass bei der Trocknung von Plasma die Kombination von moderaten Lufteingangs- und Luftausgangstemperaturen (140 °C/70 °C) nicht zwangsweise zum Erhalt der chemisch-physikalischen Eigenschaften vergleichbar denen des nativen Plasmas führen.

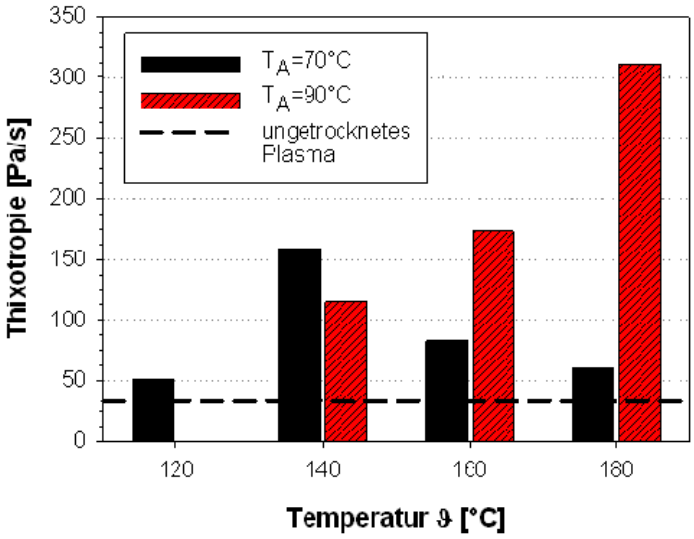


Abb. 2: Thixotropie [Pa/s] (Maß für die Struktur) in Abhängigkeit der Trocknungsbedingungen für rehydratisierte Plasma-Pulver

Wie Abb. 2 zeigt, ist für eine moderate Luftaustrittstemperatur von 70 °C die höchste Thixotropie (Maß für die Produktstruktur) bei einer Luftaustrittstemperatur von 140 °C festzustellen. Es zeigt sich, dass es aufgrund von Proteindenaturierung in Abhängigkeit von Trockensubstanzgehalt und freier Feuchte im Pulverpartikel zur Ausbildung von Gelstrukturen kommen kann. Es kann daher im Hinblick auf den Erhalt des nativen Charakters von Plasma nach der Trocknung sinnvoll sein, eine hohe Luftaustritttemperatur (Produkttemperatur) mit einer

geringen Lufteintrittstemperatur zu kombinieren (140 °C/90 °C). Eine starke thermische Modifikation (180 °C/90 °C) resultierte in einer hohen Proteindenaturierung.

Diese Plasma-Pulver zeigten deutlich verbesserte strukturgebende Eigenschaften im rehydratisierten Zustand, jedoch verringerte Gelbildungseigenschaften und Löslichkeit,

die Granula-Fraktion hingegen eine wesentlich höhere Hitzestabilität als die Plasma-Fraktion. Deutlich wurde auch, dass durch eine thermische Modifikation der Granula-Fraktion die technologisch funktionellen Eigenschaften, insbesondere der Gelbildung, verbessert werden können.

Dabei ist die Trocknung bei hohen Lufteintritts- (180 °C) und niedrigen Luftaustrittstemperaturen (70 °C) positiv zu bewerten. Besonders hervorzuheben ist die Temperaturführung 140°C/90 °C. Wegen der langsamen Trocknungsgeschwindigkeit und dem somit erhöhtem Gehalt an freiem Wasser, jedoch hoher Produktaustrittstemperatur lässt sich ein Granula-Pulver mit maßgeblich verbesserten strukturgebenden Eigenschaften erzeugen (Ergebnisse nicht dargestellt).

Weiter wurde der Einfluss von unterschiedlichen Milieubedingungen und enzymatischer Modifikation vor der Trocknung auf die technologisch funktionellen Eigenschaften der Granula und Plasma-Proben nach der Trocknung untersucht. In Abb. 3 (a) ist die Gelbildung rehydratisierter Plasmaproben für unterschiedliche Trocknungsbedingungen ohne enzymatische Modifikation und in Abb. 3 (b) mit enzymatischer Modifikation dargestellt.

Zusammenfassend zeigt sich, dass eine enzymatische Modifikation von Plasma mittels PLA_2 vor der Sprühtrocknung im Hinblick auf die strukturgebenden und grenzflächenstabilisierenden Eigenschaften bis auf die Milieubedingung pH 4,0 und 3 % NaCl positiv zu bewerten ist. Wie Abb. 3 (a) zeigt, kommt es ohne PLA_2-Modifikation zu einem vollständigen Verlust eines zweigestuften Gelbildungsmechanismus mit Lipidfreisetzung vergleichbar einer nativen Plasmaprobe. Ohne enzymatische Modifikation wird während der Trocknung eine Gelstruktur an der Oberfläche von LDL-Komplexen durch Apoproteine und Livetine gebildet. In der Folge ist eine Lipidfreisetzung nicht mehr möglich. Eine Plateauzone der Lipid-Freisetzung im Gelbildungsmechanismus ist bei den PLA_2-modifizierten Plasma Proben jedoch deutlich vorhanden. Durch die PLA_2-Modifikation vor der Trocknung kommt es bei T_A=70 °C zu einem weitestgehenden Erhalt des nativen Gelbildungsmechanismus. Auch zeigen die PLA_2-behandelten getrockneten Plasmaproben sehr gute grenzflächenaktive Eigenschaften, welche für die Emulsionsbildung und -stabilisierung entscheidend sind. Die Herabsetzung der Grenzflächenspannung wird durch den Einsatz einer enzymatisch-thermisch modifizierten Plasma-Phase sogar gegenüber der nativen, nicht getrockneten Probe deutlich verbessert.

Die Struktur der Granula-Partikel und damit auch die funktionellen Eigenschaften, werden maßgeblich von pH-Wert und Ionenstärke im umgebenden Milieu bestimmt. Ein besonderer Fokus lag daher bei der Trocknung von Granula auf dem Einfluss der Milieubedingung während der Sprühtrocknung. Im Ergebnis konnten zwei primäre Struktur-Funktions-Beziehungen erarbeitet werden. Eine Dissoziation der Granula-Bestandteile vor der Trocknung durch Ionenstärkeerhöhung und enzymatischer Modifikation führte zu verbesserter Löslichkeit und Viskositätserhöhung der rehydratisierten Granula-Pulver, jedoch zu deutlich verschlechterten Gelbildungseigenschaften. Im sauren Milieu werden die grenzflächenaktiven Eigenschaften der Granula-Pulver maßgeblich verschlechtert (Ergebnisse nicht dargestellt). Jedoch zeigen Granula-Proben getrocknet bei saurem pH-Wert mit hohem Salzgehalt und enzymatischer Modifikation überragende Strukturbildungseigenschaften.

Ein Einsatz von Eigelb in fraktionierter Form schafft aufgrund sehr spezifischer Struktur-Funktions-Beziehungen von Granula und Plasma neue Freiheitsgrade in der Produktentwicklung. Auf diese Weise könnten innovative Emulgatorsysteme auf der Basis von getrennt sprühgetrockneten Eigelbfraktionen geschaffen werden.

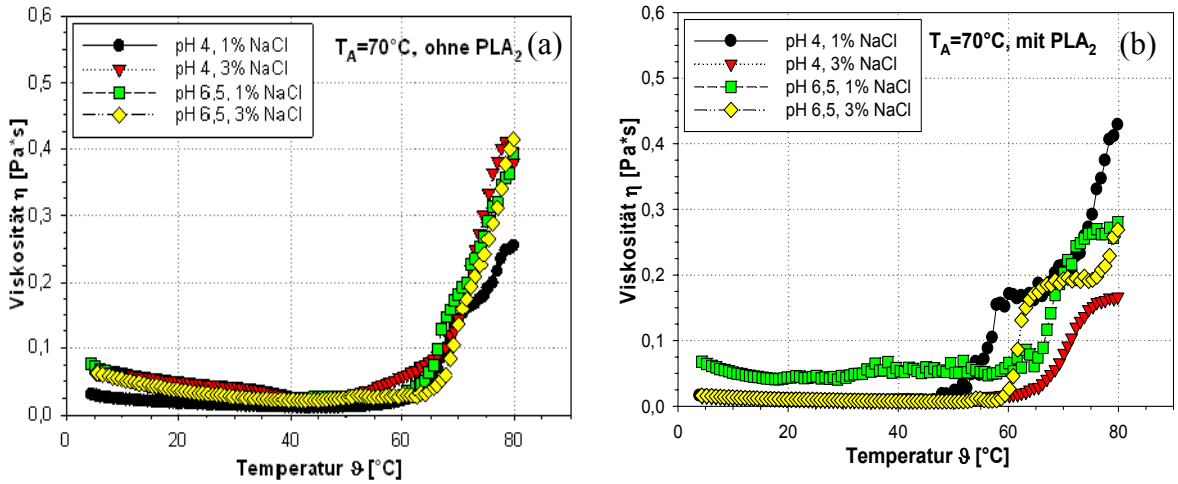


Abb. 3: Viskosität in Abhängigkeit der Erhitzungstemperatur (Gelbildungsverlauf) rehydratisierter Plasmaproben getrocknet bei T_E=160 °C T_A=70 °C ohne (a) und mit (b) enzymatischer Modifikation vor der Trocknung.

Dank: Dieses Projekt wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert (Projekt-Nr. AiF-FV 16009 N).

Eiklarproteinfraktionierung zur Wertsteigerung der entstandenen Fraktionen

Increase in value for egg white proteins by fractionation

Janina Brand

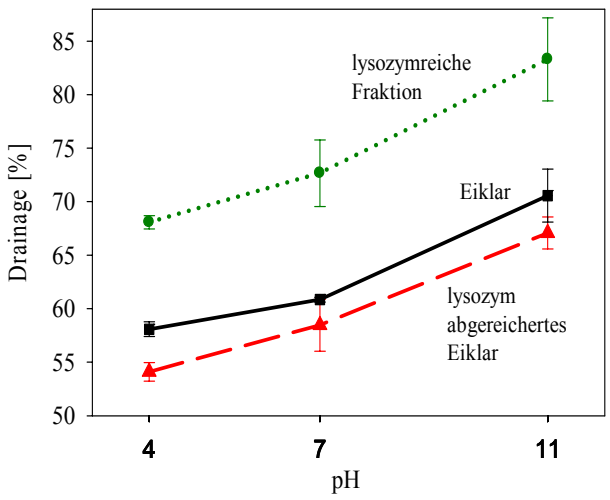
Mit dieser Arbeit soll wie in dem vorangegangenen Beitrag neben Milch mit Ei an einem weiteren komplexen Lebensmittel geforscht werden, um dessen bislang nicht verstandenes Verhalten in Prozessen zu erfassen. Grundlage hierfür ist es, die Einzelkomponenten verfügbar zu machen, um diese getrennt voneinander zu untersuchen und anschließend gegebenenfalls gezielt zuführen zu können.

Eiklar ist auf Grund seiner hervorragenden gel- und schaumbildenden Eigenschaften ein häufig verwendeter multifunktionaler Rohstoff in der Lebensmittelindustrie. Der Trockenmassegehalt von Eiklar liegt bei 12,1 %, wovon die Proteine mit 10,6 % den größten Anteil stellen. Weitere Bestandteile sind 0,9 % Kohlenhydrate, 0,6 % Mineralstoffe sowie 0,03 % Lipide. Eiklar stellt damit eine äußerst reine Proteinquelle dar. Eiklar wurde bisher als System synergistisch funktionierender Proteine angesehen, das wegen deren unterschiedlicher Struktur hervorragende Schaumeigenschaften aufweist. Erste Anzeichen aus der Literatur weisen jedoch darauf hin, dass diese Auffassung in Frage gestellt werden muss. Denn es wurde herausgefunden, dass der Entzug des Proteins Lysozym und eventuell zusätzlich von Ovotransferrin, die Schaumbildung der übrigen Fraktionen sogar verbessert.

Es wird die Hypothese aufgestellt, dass die gute Schaumbildung nicht durch die Synergie der Proteine, sondern durch den geringen Gehalt an schaumschädlichen Substanzen (insbesondere Lipide) erklärt werden kann. Abgesehen davon hat Lysozym als Einzelfraktion bereits wertsteigernde Einsatzzwecke auf Grund seiner konservierenden Eigenschaften gefunden. Für Ovotransferrin liegt das Einsatzgebiet im Bereich der Eisensupplementation ebenfalls auf der Hand. Der hier angestrebte Weg, den Wert von Eiprodukten zu steigern bzw. das Potenzial von Komponenten mit Wertsteigerung zu bestimmen, liegt in der präparativen Fraktionierung von Lysozym, Ovotransferrin und der ovalbuminreichen Restfraktion mittels Membran-Adsorptions-Chromatographie (MAC). Dieses Verfahren hat sich in verschiedenen Ansätzen bereits als überlegene Trenntechnik erwiesen und zeigt auch für Eiklarproteine ein hohes Potenzial. Bei der MAC-Technologie werden die Bindungsstellen der IEC an Stelle der Gelkügelchen auf Membranen bzw. in die Membranporen von Mikrofiltrationsmembranen gekoppelt. Dies bietet eine Reihe von Vorteilen gegenüber konventionellen Chromatographiesäulen, insbesondere wesentlich höhere Flussraten, geringere Gegendrücke, deutlich kürzere Produktionszyklen und längere Standzeiten.

Eiklar weist mit seiner hohen Proteinkonzentration und Viskosität einige erschwerende Eigenschaften auf, die durch eine entsprechende Vorprozessierung modifiziert werden müssen, um das System unterschiedlicher Proteine trennbar zu machen. Es sollen daher in diesem Projekt zunächst die Auswirkungen der unterschiedlichen Vorbehandlungen v.a. auf die Viskosität des Systems Eiklar untersucht werden. Daraufhin werden die Proteine Lysozym und Ovotransferrin mittels MAC im Labormaßstab und anschließend im präparativen Maßstab fraktioniert. Die entstandenen Fraktionen Lysozym, Ovotransferrin und die ovalbuminangereicherte Fraktion werden anschließend physikalisch und bezüglich ihrer Pasteurisierbarkeit charakterisiert, denn auch im Bereich der Flüssigpasteurisierung von Eiklar treten bisher große Schwierigkeiten auf, weshalb Eiklar meist sprühgetrocknet wird. Hinterher folgt die Betrachtung des Schaumbildungsverhaltens, da durch die voraussichtlich verbesserten Verschäumungseigenschaften der ovalbuminreichen Hauptfraktion ein breiteres und neues Einsatzspektrum im Produkt ermöglicht wird.

Erste Versuche mit lysozymabgereichertem Eiklar (0,5 % Lysozym, 82,2 % Ovalbumin) und einer lysozymreichen Fraktion (Lysozym: 70,0 %, Ovalbumin: 17,2 %), jeweils mit geringer Reinheit, untermauern diese Vermutung. Abb. 1 zeigt die Drainage der unterschiedlichen Substrate. Die Drainage liefert Informationen über die Fähigkeit des Schaums, die Flüssigkeit in den Lamellen zu halten und folglich über die Stabilität des Schaums. Es wird deutlich, dass die Drainage des lysozymabgereicherten Eiklars sowohl bei pH 4, als auch bei pH 7 und pH 11 unter der des natürlichen Eiklars liegt.



Es kann davon ausgegangen werden, dass dieser Effekt mit höheren Reinheiten noch deutlicher wird. Auch der Vergleich der mittleren Blasengrößen und der Blasengrößenverteilungen der lysozymreichen Fraktion und des lysozymabgereicherten Eiklars deuten darauf hin, dass Lysozym einen negativen Einfluss auf die Verschäumungseigenschaften hat.

Abb. 1: Drainage unterschiedlichere Eiklarfraktionen nach dem Aufschäumen

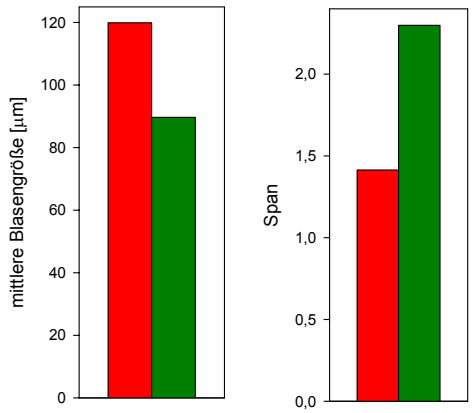


Abb. 2 zeigt, dass die mittlere Blasengröße des lysozymabgereicherten Eiklars zwar größer ist, jedoch ist der Span-Wert (Maß für die Breite der Blasengrößenverteilung) geringer. Der Span-Wert gibt Auskunft über die Homogenität der Blasengrößen und somit auf Grund der Ostwaldreifung über die Stabilität der Blasen. Folglich sind die Blasen umso stabiler, je kleiner der Span-Wert ist. Die Homo- bzw. Heterogenität der Blasengrößen wird in den mikroskopischen Aufnahmen noch verdeutlicht.

Abb. 2: Mittlere Blasengrößen und Span-Werte des lysozymabgereicherten Eiklars (a) und der lysozymreichen Fraktion (b)

Durch das hier zu etablierende Verfahren wird angestrebt, Wege aufzuzeigen, sowohl den Marktwert der reinen Fraktionen Lysozym und Ovotransferrin durch einen Einsatz im Bereich der Konservierung und Supplementation zu steigern, wie auch den der ovalbuminreichen Fraktion durch die resultierenden verbesserten Schaumeigenschaften. Ebenso kann davon ausgegangen werden, dass eine Flüssigpasteurisierung durch getrennte Behandlung von Teilfraktionen möglich sein wird.

Einfluss von Proteinkonzentration und pH-Wert auf das Schäumungsverhalten von β-Lactoglobulin

Impact of protein concentration and pH on the foaming properties of β-lactoglobulin

Jannika Dombrowski

Die in Form kleinster Blasen vorliegende Gasphase (meist Luft oder Stickstoff) modifiziert in aufgeschäumten Lebensmitteln nicht nur die Mikrostruktur, sondern auch das Mundgefühl der Matrix. Zur Stabilisierung von Lebensmittelschaumstrukturen dienen unter anderem Milchproteine, die natürlicherweise in Form von Proteingemischen vorliegen. Häufig werden auch Teilisolate, wie z. B. Molkenproteinkonzentrat oder –isolat, verwendet. Es ist bekannt, dass die enthaltenen Proteine und Peptide aufgrund struktureller Unterschiede (z. B. globuläres β-Lactoglobulin vs. flexibles β-Casein) abhängig von den Milieubedingungen unterschiedli-

che Grenzflächenaktivitäten aufweisen. Für den Schäumungsprozess resultiert daraus, dass sowohl positive als auch negative Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Proteinen sowie ggf. weiteren Rezepturbestandteilen auftreten können, welche die Eigenschaften der erzeugten Schäume wesentlich beeinflussen. Aufgrund ihrer molekularen bzw. strukturellen Komplexität ist das Zusammenwirken der eingesetzten Proteine bei der Besetzung und Stabilisierung der Luft/Wasser-Grenzfläche in Bezug auf mögliche Konkurrenz- und Verdrängungsvorgänge allerdings bisher nicht ausreichend aufgeklärt.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, repräsentative und strukturell unterschiedliche Milchproteinfraktionen (u. a. β-Lactoglobulin, β-Casein, glykosyliertes und nicht-glykosyliertes Caseinomakropeptid) zunächst einzeln und in hoher Reinheit sowie anschließend in definierten Mischungen hinsichtlich ihres Schäumungsverhaltens in Abhängigkeit der Proteinkonzentration sowie verschiedenen Milieubedingungen (z. B. pH-Wert, Ionenstärke, Temperatur) zu charakterisieren. Zur Beurteilung der Schaumeigenschaften werden unter anderem Merkmale wie der Overrun oder das Serumbindevermögen (Drainage) herangezogen. Der Overrun ist ein Maß für den in der flüssigen Phase stabilisierten Gasanteil und somit die Schaumkapazität. Die Drainage dagegen beschreibt das Abfließen an kontinuierlicher Phase aus den Schaumlamellen innerhalb eines definierten Zeitraums und beschreibt die Schaumstabilität.

Einfluss der Proteinkonzentration auf das Schäumungsverhalten von β-Lactoglobulin

Mit zunehmender Proteinkonzentration und somit steigender Anzahl an grenzflächenaktiven Molekülen erfolgt im Allgemeinen eine schnellere und dichtere Besetzung der Luft/Wasser-Grenzfläche. Dies führt zum einen zu einer schnelleren Reduktion der Oberflächenspannung und resultiert in einer höheren Schaumkapazität. Zum anderen können mehrschichtige Grenzflächenfilme gebildet werden, wodurch wiederum die Schaumstabilität steigt. In Abb. 1 sind beispielhaft die Ergebnisse zu den Schaumbildungs- und Stabilisierungseigenschaften von β-Lactoglobulin in Abhängigkeit der Proteinkonzentration dargestellt. Für die dynamische Oberflächenspannung (Luft/Wasser-Grenzfläche) konnte mit Anstieg der β-Lactoglobulin-Konzentration von 1 auf 2 bzw. 5 % eine zunehmend stärker ausgeprägte Reduktion ermittelt werden. Eine Erhöhung der Konzentration auf 7 % lieferte im Vergleich zur 5 %-igen Lösung keine weitere Abnahme der Oberflächenspannung. In Bezug auf die Schäumungseigenschaften konnte bei konstantem pH-Wert (pH 7) mit zunehmender Proteinkonzentration ein signifikanter Anstieg des Overruns festgestellt werden. Während der Aufschlag bei einer Konzentration von 1 % bei 245 % lag, betrug die Volumenzunahme bei 7 % β-Lactoglobulin 555 %. Passend dazu sank die Drainage mit steigender Proteinkonzentration von 90 % ($c_{\beta\text{-Lg}} = 1$ %) auf 60 % ($c_{\beta\text{-Lg}} = 7$ %).

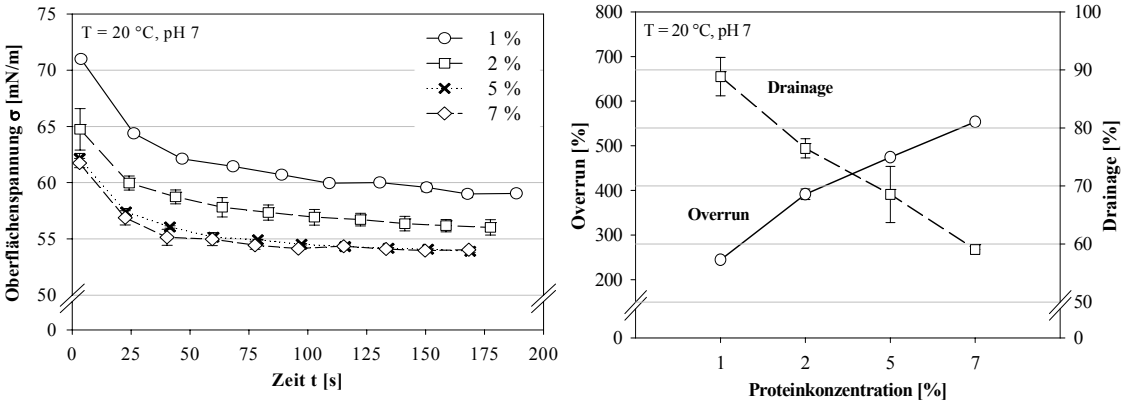


Abb. 1: Einfluss der Proteinkonzentration auf die Oberflächenspannung sowie Schaumeigenschaften von Lösungen aus β-Lactoglobulin

Die Verbesserung der Schaumstabilität lässt sich unter anderem auf eine Zunahme der Viskosität der kontinuierlichen Phase zurückführen, die das Abfließen von flüssiger Phase aus den Lamellen verzögert (Ergebnisse nicht dargestellt). Weiterhin bedingt eine Konzentrationszunahme ein höheres Maß an intermolekularen Wechselwirkungen sowie eine verstärkte Ausbildung kovalenter Bindungen (Disulfidbrückenbindungen), wodurch die Stabilität ebenfalls erhöht wird.

Einfluss des pH-Werts auf das Schäumungsverhalten von β-Lactoglobulin

Prinzipiell beeinflusst der pH-Wert die Nettoladung von Proteinen, woraus eine Veränderung der Oberflächenspannung, der Proteinstruktur und intermolekularen Wechselwirkungen sowie der Dicke und viskoelastischen Eigenschaften der Grenzflächenfilme resultiert. Ergebnisse zu den Schaumbildungseigenschaften in Abhängigkeit des pH-Werts sind in Abb. 2 dargestellt.

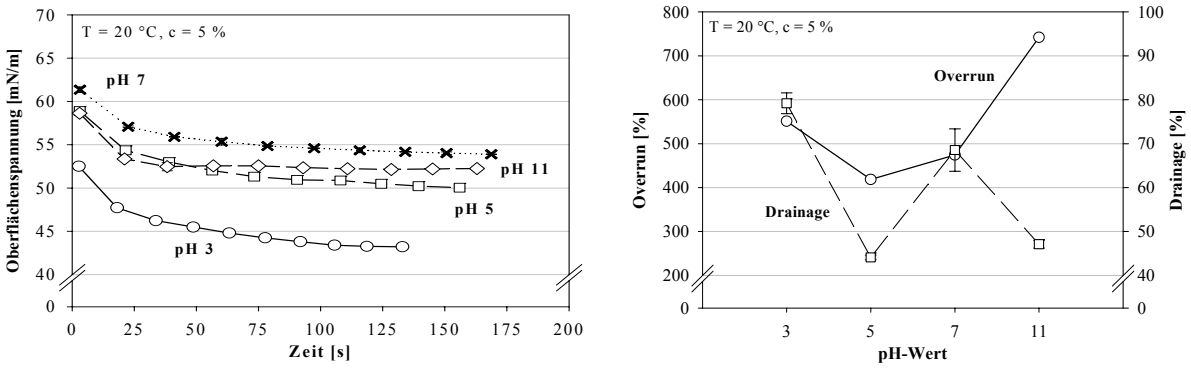


Abb. 2: Einfluss des pH-Werts auf die Oberflächenspannung sowie Schaumeigenschaften von Lösungen aus β-Lactoglobulin

In Bezug auf die Oberflächenspannung konnte für pH 3 eine schnelle und starke Reduzierung festgestellt werden, woraus eine schnelle Besetzung der Luft/Wasser-Grenzfläche und ein relativ hoher Overrun (550 %) resultierte. Gleichzeitig wurde für pH 3 allerdings auch eine vergleichsweise hohe Drainage (80 %) ermittelt. In Relation zu pH 3 und pH 5 war die Reduktion der Oberflächenspannung für pH 11 zwar weniger stark ausgeprägt, bezüglich der Schaumeigenschaften konnte für diese Lösung aber der höchste Overrun (745 %) sowie eine sehr geringe Drainage (47 %) festgestellt werden. Bei diesem stark alkalischen pH-Wert so-

wie auch bei pH 3 liegt β-Lactoglobulin mehrheitlich als Monomer vor, woraus eine hohe Diffusionsgeschwindigkeit der Proteinmoleküle zur Luft/Wasser-Grenzfläche resultiert und somit ein relativ hohes Gasvolumen in der Schaumstruktur stabilisiert werden kann. Die für pH 11 im Vergleich zu pH 3 insgesamt geringere Reduktion der dynamischen Oberflächenspannung lässt sich auf eine denaturierungsbedingte Auffaltung der β-Lactoglobulin-Moleküle bei pH 11 zurückführen. Folglich ist die Belegung der Luft/Wasser-Grenzfläche gegenüber pH 3 verlangsamt.

Dank: Das Forschungsvorhaben (AiF 17124 N) wird als Teil eines DFG/AiF-Cluster-Projekts im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI) gefördert.

Untersuchung des hochdruckinduzierten Zerfalls und Reassoziation der Caseinmizelle

Investigations on the pressure induced dissociation and re-association of casein micelles

Martin Heinrich

Die Hochdrucktechnologie stellt aufgrund ihrer Wirkung auf Caseinmizellen eine interessante und vielversprechende Methode dar, um Caseininteraktionen oder Vorgänge bei der Mizellbildung und Stabilisierung genauer zu ermitteln. Während der Zerfall über Trübungsmessungen (Huppertz & de Kruif, 2006; Regnault et al., 2006) bzw. die Zerfallsprodukte hinsichtlich ihrer Partikelgrößenverteilungen über statische oder dynamische Lichtstreuung (Anema et al., 2005; Gebhardt et al., 2006; Gebhardt & Kulozik, 2011) eingehend beschrieben wurden, existieren kaum Informationen hinsichtlich des Verhaltens der einzelnen Caseinfraktionen beim Zerfall der originären Caseinmizelle. Lediglich Untersuchungen zum Serumcaseingehalt in Milch nach einer Hochdruckbehandlung von Lopez-Fandino et al. (1998) und Anema et al. (2005) zeigten beispielsweise für β-Casein einen stärkeren Konzentrationsanstieg in der Serumphase als für α_{S1}-oder α_{S2}-Casein.

In einem neuartigen, membranbasierten Versuchsaufbau soll deshalb das Dissoziationsverhalten der Einzelcaseine bzw. die Art und Zusammensetzung der Mizellzerfallsfragmente untersucht werden. Keramische Membranröhrchen wurden mit einer Caseinsuspension befüllt, versiegelt und anschließend einer Hochdruckbehandlung unterzogen. Während die Membran für intakte Mizellen impermeabel ist, sollten die entstehenden Mizellfragmente klein genug sein, um sie passieren zu können. Sie diffundieren aufgrund ihres Konzentrationsgefälles über die Membran, wobei größere Fragmente die Membran langsamer passieren als kleine Mizellfragmente und Caseinmonomere. So kann durch die Diffusionsbarriere die Reassoziation der bereits dissoziierten und diffundierten Caseinmizellfragmente und -monomere während des Druckabbaus verhindert und der Zustand unter Druck „konserviert“ werden. Die Analyse der Konzentrationen der einzelnen Caseinfraktionen im Konzentratvolumen erlaubt dann Rückschlüsse auf deren Dissoziationsneigung bei variablen Druckstufen und damit auch auf die Einbindung einzelner Caseinfraktionen in den Mizellverband bzw. auf die Zusammensetzung der druckbedingten Mizellzerfallsprodukte.

Bei der Untersuchung der druckinduzierten, diffusiven Membranpermeation der Caseine bei 20 °C konnte bereits bei einem Prozessdruck von 150 MPa eine signifikante Abnahme der Caseinkonzentration im Inneren der Membrannröhrchen verzeichnet werden.

Abb. 1 zeigt die relativen Gesamtcaseingehalte bezogen auf die Ausgangscaseinkonzentration zum Zeitpunkt t=0 im Inneren der Membranröhrchen – also „retentatseitig“ – während deutlich zu erkennen ist, dass mit steigendem Druck die Konzentrationsabnahme im Verlauf der Prozesszeit verstärkt wird.

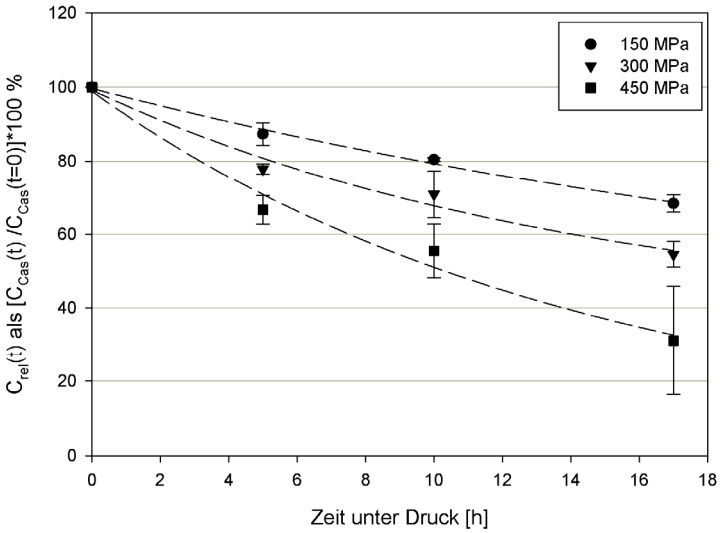


Abb. 1: Abnahme der relativen Caseinkonzentration im Versuchsraum bei einer Druckbehandlung

Da die Membranen unter Atmosphärendruck auch bei auch längerer Inkubation (bis zu 72 h) für intakte Caseinmizellen impermeabel waren, kann aufgrund von Integritätsuntersuchungen der Membransegmente davon ausgegangen werden, dass die Abnahme der Caseinkonzentration in V_1 (Membraninnenvolumen) auf einen Mizellzerfall mit anschließender Diffusion der Zerfallsprodukte nach V_2 zurückzuführen ist.

Wegen des diffusiven Stoffdurchgangs durch das Keramikhaufwerk der Membran kann vorausgesetzt werden, dass kleinere Mizellfragmente und Caseinmonomere die Membran schneller passieren können als größere Fragmente.

Mit diesem Versuchsaufbau war es nun möglich, die Konzentrationsänderung des Gesamtcaseins auf einzelne Caseinfraktionen aufzuschlüsseln und damit den Mizellzerfall hinsichtlich der Zerfallsprodukte näher zu beschreiben. Abb. 1 zeigt in der gleichen Darstellung wie Abb. 2 die druckabhängige Änderung der relativen α_{S1}-Casein- und α_{S2}-Casein-Konzentration bei 20 °C.

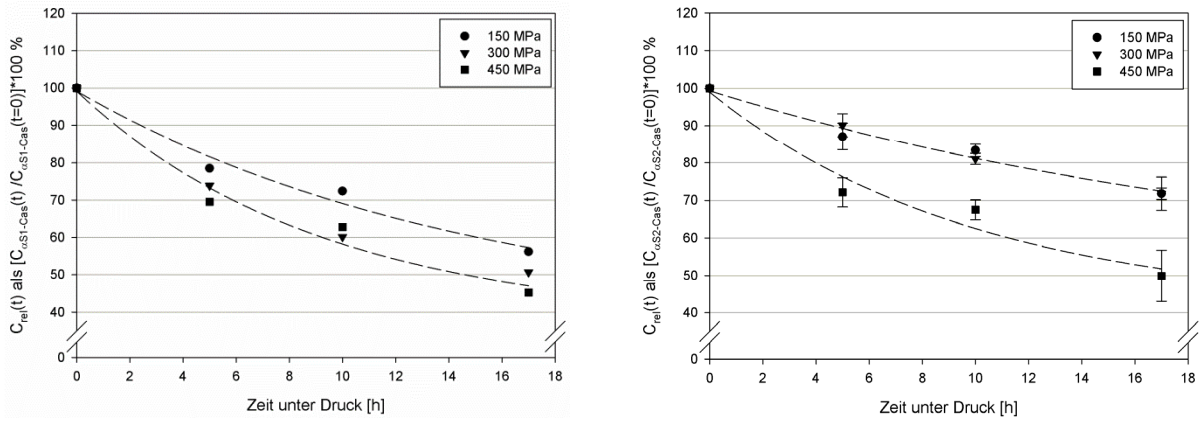


Abb. 2: Zeitabhängige Abnahme der relativen Konzentration von α_{S1}-Casein (links) und α_{S2}-Casein im Membraninnenraum bei einer Druckbehandlung mit 150, 300 und 450 MPa und 20 °C

Die Unterschiede in den Konzentrationsverläufen in den verschiedenen Druckstufen sind reduziert, wobei beim α_{S2}-Casein kein signifikanter Unterschied zwischen 150 und 300 MPa, dann aber eine deutlich beschleunigte Konzentrationsabnahme im Membraninneren bei 450 MPa zu erkennen ist. Beim α_{S1}-Casein dagegen ist eher ein Unterschied beim Sprung von 150 auf 300 MPa Behandlungsdruck zu erkennen, während sich die Konzentrationsverläufe während der 300 und 450 MPa-Behandlung partiell überlagern.

Eine mögliche Erklärung könnte im Phosphoseringehalt der beiden α_S-Caseine liegen: Das α_{S2}-Casein weist mit im Schnitt 11 Phosphoserinresten drei Ankerpunkte mehr für CaP auf als das α_{S1}-Casein. Das Lösen der Ca-Brücken ist als stochastischer Prozess anzusehen. Je geringer die Anzahl dieser Ankerpunkte in den dissoziierenden Partikeln ist, desto wahrscheinlicher ist auch deren Zerfall. Die beschleunigte Diffusion könnte bei α_{S2}-Casein daher erst später oder eben bei höheren Drücken erfolgen.

Abb. 3 zeigt parallel das Verhalten der β-Casein- (a) und der κ-Caseinfraktion (b). Bei deren Konzentrationsverläufen als Funktion der Prozesszeit ist eine deutliche Druckabhängigkeit über alle Druckstufen zu erkennen. Mit steigendem Prozessdruck nimmt deren relative Konzentration im Vergleich zur Ausgangslösung schneller ab. Beim β-Casein bewirkt die Druckerhöhung von 150 auf 300 MPa eine stärkere Beschleunigung des Membrandurchtritts als die Drucksteigerung von 300 auf 450 MPa. Die κ-Caseinfraktion zeigt dagegen eine schnellere Konzentrationsabnahme mit steigendem Druck.

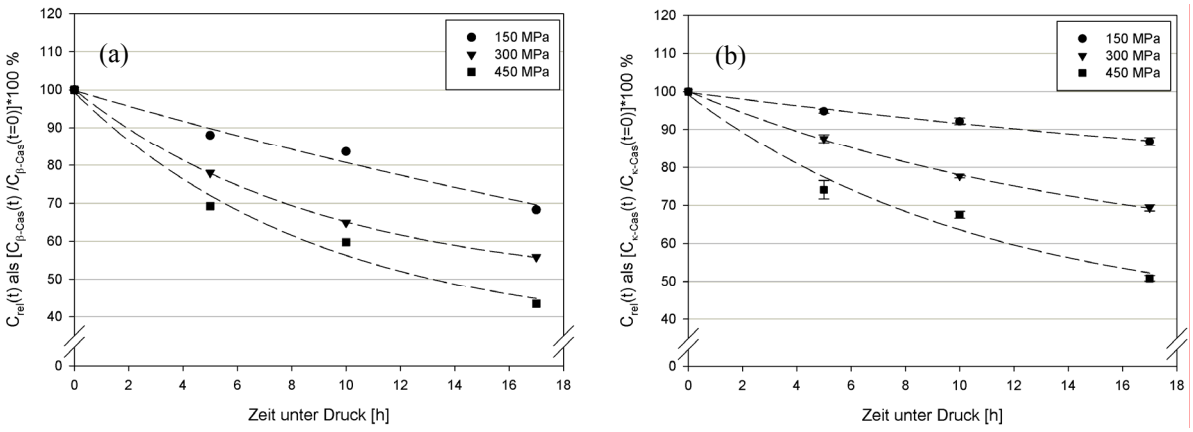


Abb. 3: Zeitabhängige Abnahme der relativen Konzentration von β-Casein (a) und κ-Casein (b) im Membraninnenraum bei einer Druckbehandlung mit 150, 300 und 450 MPa und 20 °C

Eine genauere Beobachtung des zeitabhängigen Membrandurchtritts einzelner Caseinfraktionen legt in der Zusammenschau zudem die Hypothese nahe, dass die bei 150 MPa entstehenden Zerfallsprodukte in erster Linie aus α_S-Caseinen bestehen, in die κ- und β-Caseine locker eingebunden sind. Dort steuern sie aber mengenmäßig nur einen geringen Volumenanteil bei, weshalb deren Konzentration im Vergleich zu den α_S-Caseinen durch die verlangsamte Diffusion nur langsam sinkt. Ein weiteres Aufbrechen dieser α_S-caseinreichen Fragmente durch einen Drucksprung auf 300 MPa steigert die Menge an durch die Membran diffundierten α_S-Casein nur schwach. Der viel deutlichere Anstieg in der β- und κ-Caseinfraktion dagegen spricht dafür, dass diese Caseinfraktionen herausgelöst werden und jetzt unabhängig vom α_S-Casein diffundieren.

Die Druckerhöhung setzt also die schwächer eingebunden Caseine aus den primären Zerfallspartikeln frei und erhöht damit deren Diffusionsfähigkeit. Die α_S-Caseine würden demnach wegen ihrer Verknüpfung über hydrophobe Wechselwirkungen und CaP-Nanocluster erst bei höheren Drücken vollständig solubilisiert werden und entsprechend das stabilsierende Rückgrat der Caseinmizelle bilden.

Literatur
Anema, S.G.; Lowe, E.K.; Stockmann, R. (2005): Food Hydrocoll. 19 (2) 257–267.
Huppertz, T.; Kelly, A.L.; Kruif, C.G. de (2006): J. Dairy Res. 73 (3) 294–298.
Regnault, S.; Thiebaud, M.; Dumay, E.; Cheftel, J.C. (2004): Int. Dairy J. 14 (1): 55–68.
Regnault, S.; Dumay, E.; Cheftel, J.C. (2006): J. Dairy Res. 73 (01) 91.
Gebhardt, R.; Kulozik, U. (2011): High Pressure Res. 31 (1) 243–252.
Gebhardt, R.; Doster, W.; Friedrich, J.; Kulozik, U. (2006): Eur. Biophys. J. 35 (6) 503–509.
Lopez-Fandino, R.; La Fuente, M.A. de; Ramos, M.; Olano, A. (1998): J. Dairy Res. 65 (01) 69–78.
Lopez-Fandino, R. (2006): Int. Dairy J. 16 (10) 1119–1131.

Isolierung von Proteinen aus der Milchfettkugelmembran

Isolation of proteins of the milk fat globule membrane

Wolfgang Holzmüller

Die in die Buttermilch übergehende Milchfettkugelmembran (MFKM) enthält Phospholipide (PL) und Proteine, die bisher noch nicht einzeln verfügbar sind. Daher ist eine Zuordnung von funktionellen Eigenschaften nicht möglich. 90 % der MFKM-Trockenmasse sind Proteine und PL, wobei erstere je nach Rahmbeschaffenheit bis zu 2/3 ausmachen. Bisherige MFKM-Isolate sind unzureichend definierte Mischungen aus Lipid- und Proteinfraktionen, was genaue Aussagen über funktionelle Eigenschaften der Einzelkomponenten erschwert. Aufgrund des hohen Anteils an PL haben MFKM-Konzentrate den Nachteil einer hohen oxidativen Anfälligkeit. Die Trennung der Proteine aus der PL-Membran ist daher notwendig, um die Lagerstabilität von MFKM-Isolate zu steigern und eindeutige Aussagen über funktionelle Eigenschaften treffen zu können. Das Problem ist, dass die PL und Proteine der MFKM eine komplexe Gesamtstruktur bilden. Durch hohen Energieeintrag kann die Struktur der MFKM zerstört und die Proteine von den PL separiert werden. Als MFKM-Quelle dient Buttermilch. Zuvor wurden die im Rahm noch vorhandenen Magermilchproteine durch Waschen (mehrmaliges Separieren von mit Wasser versetztem Rahm) stark abgereichert, so dass bei anschließender Butterung die MFKM-Proteine in sehr reiner Form in der Buttermilch vorliegen.

Zur Desintegration der Membran wurden die Methoden Hochdruckhomogensation im Microfluidizer sowie Ultraschall eingesetzt. Für die Bestimmung des Aufschlussgrades der MFKM wurden die Buttermilchproben durch einen 0,2 µm Spritzenfilter filtriert. MFKM-Bruchstücke aus unbehandelter Buttermilch liegen im Größenbereich von mehreren µm, so dass die Annahme getroffen werden kann, dass nur freies Protein oder sehr kleine MFKM-Fragmente im Permeat detektiert werden. Der Aufschlussgrad kann wie folgt berechnet werden:

$$Aufschlussgrad\ [\%] = \frac{y_D - y_0}{x - y_0} * 100$$

y_D: Proteingehalt der behandelten, filtrierten Buttermilch; y_0: Proteingehalt der unbehandelten, filtrierten Buttermilch; x: Proteingehalt der unbehandelten, nicht filtrierten Buttermilch

In Abb. 1 ist der Aufschlussgrad der MFKM für verschiedene MFKM-Aufschlussverfahren dargestellt. Die Ultraschallversuche (Diagramm A) wurden mit 50 W und 350 W Leistung durchgeführt. Die Zeit der Behandlung wurde hierbei variiert, um unterschiedliche Energieeinträge zu erreichen. Bei dem Microfluidizer (Diagramm B) wurde der Energieeintrag durch Änderung der Drucks (300-1500 bar) variiert. Für beide Versuchsreihen wurde Buttermilch aus gewaschenem Rahm mit einen nativen pH-Wert von 7,7 verwendet.

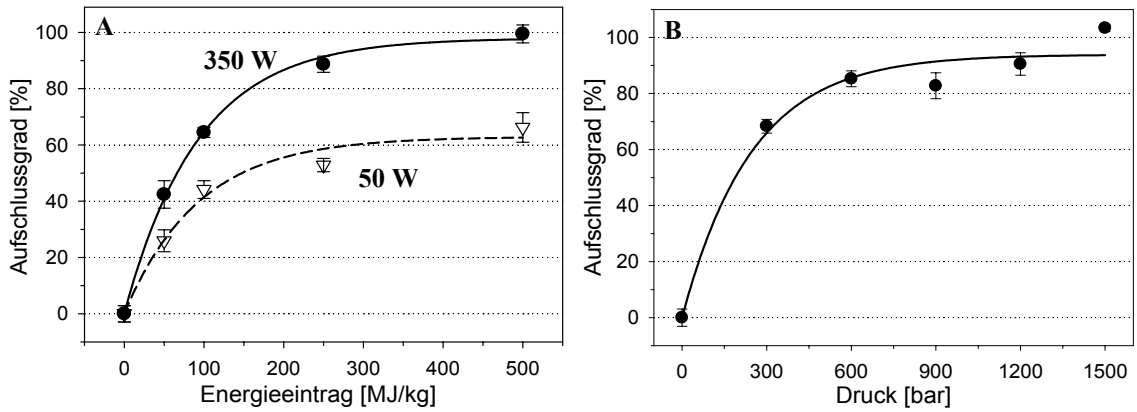


Abb. 1: Änderung des Aufschlussgrades in Abhängigkeit des Energieeintrags (A) und des Drucks (B)

Abb. 1A zeigt deutlich, dass der Aufschlussgrad sowohl vom Energieeintrag als auch von der verwendeten Leistung abhängt. Je höher die Leistung bzw. der Energieeintrag, desto besser der Membranaufschluss. Mit einer Leistung von 350 W konnten im Vergleich zu 50 W signifikant höhere sowie bei den höchsten Energieeinträgen von 500 MJ/kg maximale Aufschlussraten von ~100 % erreicht werden. Gleiche Effekte sind bei der Behandlung von Buttermilch mit dem Microfluidizer zu verzeichnen. Eine Erhöhung des Drucks hat eine Zunahme des Aufschlussgrades bis zu einem Maximum zur Folge. Bereits mit geringem Druck von 300 bar ist eine Desintegration von 70 % messbar. Eine Steigerung des Prozessdrucks auf 1500 bar führt auch hier zum vollständigen Membranaufschluss.

Neben den Prozessparametern wurde der pH-Wert der Buttermilch variiert, um diesbezüglich Veränderungen bei der Desintegration zu untersuchen. In Abb. 2 sind die Abhängigkeiten des Aufschlussgrades der MFKM bei pH-Werten von 2 bis 10 aufgetragen.

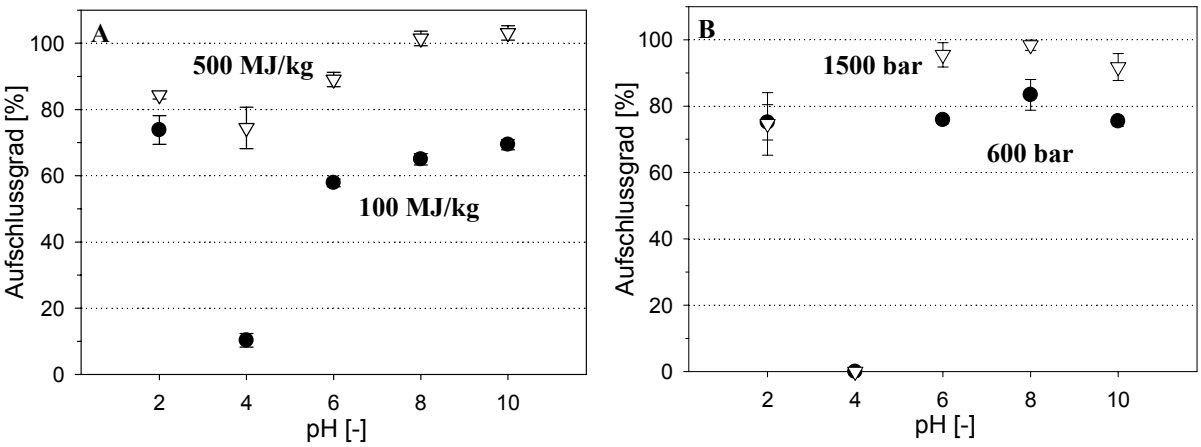


Abb. 2: Änderung des Aufschlussgrades in Abhängigkeit des pH-Werts bei Behandlungen mit Ultraschall (A) und Microfluidizer (B)

Diagramm A zeigt erneut bei 500 MJ/kg erhöhte Desintegration gegenüber 100 MJ/kg mit optimalen Ergebnissen ab pH 8. Die gleiche Tendenz wurde bei den Versuchen mit dem Microfluidizer (Diagramm B) beobachtet. Für beide Methoden wurde sowohl bei niedrigen als auch bei hohen Energieeinträgen die schlechteste Aufschlussbedingung bei pH 4 bestimmt. Auch wenn der IEP der gesamten MFKM derzeit noch nicht bekannt ist, scheint die Löslichkeit in diesem Bereich am geringsten zu sein. Bestandteile der MFKM koagulieren und die Permeation durch den Spritzenfilter ist folglich verringert. Lediglich bei sehr hohen Energieeinträgen kann auch unter diesen Milieubedingungen ein Aufschlussgrad von etwa 75 % erreicht werden. Beide Aufschlussmethoden weisen dieselben Abhängigkeiten bezüglich Energieeintrag und pH-Wert der Buttermilch auf. Stellt man allerdings die absoluten Energieeinträge der beiden Aufschlussmethoden gegenüber, so wird deutlich, dass bei Drücken von 1500 bar mit dem Microfluidizer nur 37,5 MJ/kg benötigt werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass der Microfluidizer eine vollständige Desintegration der MFKM ermöglicht. Bei deutlich geringeren Energieeinträgen im Vergleich zum Ultraschall konnten hier gleiche Proteingehalte wie in unbehandelter Buttermilch detektiert werden. Dadurch erscheint eine vollständige Trennung der PL von den MFKM-Proteinen aussichtsreich, was im Sinne einer höheren Lagerstabilität und einer konkreten Zuordnung von funktionellen Eigenschaften zu einzelnen Proteinen angestrebt wird.

Dank: Das Forschungsvorhaben (AiF 16226 N) wird im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI) gefördert.

Transglutaminase-induzierte Gelbildung von Milchproteinen und Freisetzungsverhalten sensitiver physiologisch wirksamer Stoffe

Transglutaminase-induced gelation of milk proteins, controlled release application for sensitive model drugs

Christopher Guyot, Carina Gerhard

Das Enzym Transglutaminase (TGase) bewirkt die Quervernetzung von Proteinen durch die intermolekulare Verbindung von proteingebundenen Lysin- und Glutamin-Gruppen. Bei hinreichend hoher Proteinkonzentration führen die durch das Enzym katalysierten Isopeptidbindungen zur Ausbildung eines Gelnetzwerks. Insbesondere bei Verwendung des hoch reaktiven Natriumcaseinats können gezielt funktionelle Gele mit definierten Eigenschaften erzeugt werden. Die Eigenschaften dieser Gele wie Mikrostruktur, Strukturfestigkeit, Quellungs- und Freisetzungsverhalten werden maßgeblich durch die Vernetzungs- und die Gelbildungskinetik sowie die vorherrschenden Prozessbedingungen geprägt. Insbesondere im Hinblick auf den Schutz sensitiver Wirkstoffe rückt daher die TGase-induzierte Gelbildung weiter in den Fokus des Interesses. Für die Verkapselung wird dabei eine hinreichend hohe Konzentration des Wirkstoffs der Ausgangssuspension zugefügt und anschließend bei moderaten Temperaturen die Gelbildung durch die Zugabe des Enzyms initiiert (siehe Abb.). Die verkapselten bioaktiven Stoffe werden in der Gelmatrix eingeschlossen und in Abhängigkeit der entstandenen Gelmikrostruktur kontrolliert freigesetzt. Der Zusammenhang zwischen der enzymatisch eingeleiteten Gelbildung, den Gelstrukturen und dem resultierenden Freisetzungsverhalten ist allerdings bisher weitgehend ungeklärt.

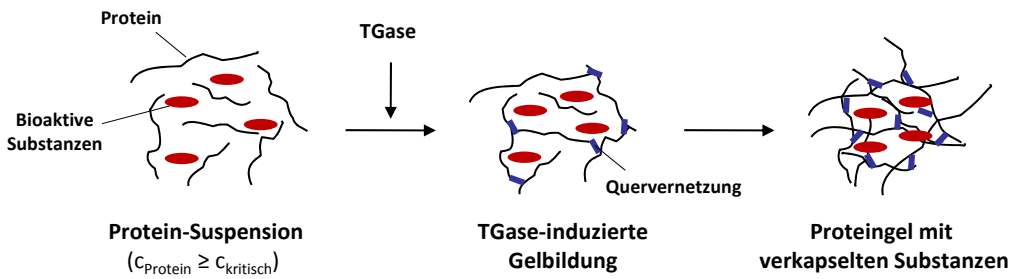


Abb. 1: Verkapselung niedermolekularer Wirkstoffe mithilfe der TGase-induzierten Gelbildung von Na-caseinat.

Um diese Zusammenhänge genauer zu eruieren, wurden die Enzymkinetik und das Gelbildungsverhalten von Natriumcaseinat-Suspensionen ermittelt. Anschließend wurde die Quellung und das Freisetzungsverhalten der in Gelkugeln eingeschlossenen niedermolekularen Modellsubstanzen Brillantblau FCF und Coffein in verschiedenen Freisetzungsmedien unter Variation von Ionenstärke und pH-Wert bestimmt und mit den Geleigenschaften in Relation gesetzt. Es zeigte sich, dass durch die Kenntnis der Enzymkinetik die Gelbildung hinreichend genau beschrieben werden kann.

Zwischen der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten der T-gase-Reaktion und der Strukturentwicklungsgeschwindigkeit bzw. dem Anstieg des Verlustmoduls besteht ein linearer Zusammenhang, sodass der rheologische Verlauf der Gelbildung ausschließlich anhand der reaktionskinetischen Parameter berechnet werden kann. Durch die in Abb. 2 gezeigte gute Übereinstimmung zwischen der modellierten und der analytisch bestimmten Gelbildungskurve lässt sich der Einsatz des Enzyms und die zum Erreichen einer definierten Gelstruktur benötigten Bedingungen gezielt einstellen. Aufgrund der milden Gelbildungsbedingungen eignen sich die TGase-induzierten Natrium-caseinat-Gele für die Verkapselung und die verzögerte Freisetzung von unterschiedlichen bioaktiven Wirkstoffen. Die Freisetzungsgeschwindigkeit kann insbesondere durch die Dichte des Gelnetzwerks kontrolliert werden. Hohe Netzwerkdichten führen zu einer verlangsamten Freisetzung.

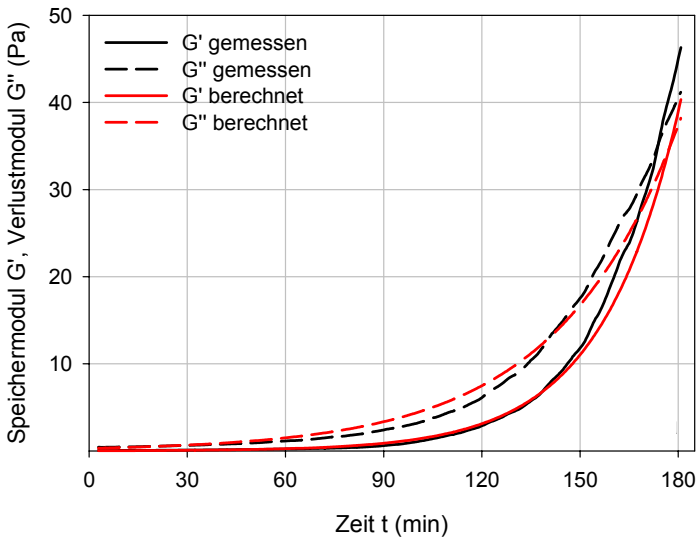
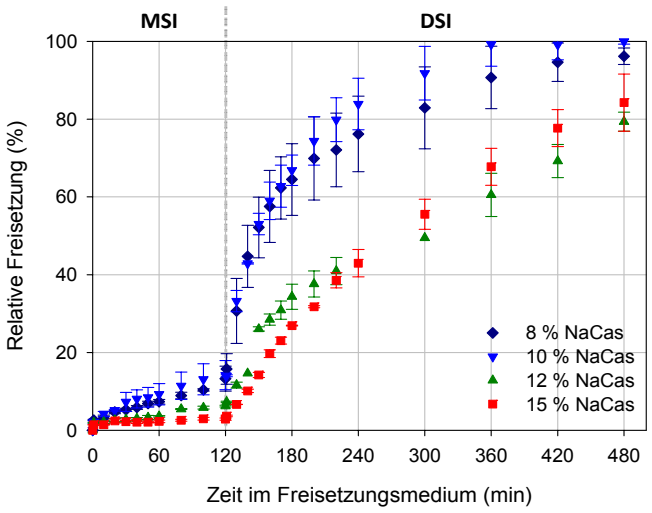


Abb. 2: Gemessener und berechneter Verlauf der TGase-induzierten Gelbildung einer 12% igen Natriumcaseinat-Suspension bei 40 °C unter Verwendung von 3 U TGase g^{-1} Protein.

Des Weiteren wird das Quellungs- und Freisetzungsverhalten maßgeblich von der Ionenstärke und dem pH-Wert des umgebenden Freisetzungsmediums beeinflusst. Während bei pH-Werten ≥ 4,6 eine relativ schnelle Freisetzung aufgrund verstärkter Quellung zu beobachten ist, findet bei niedrigen pH-Werten (pH 1 - 2) kein Quellvorgang statt, sodass sich eine reduzierte Freisetzungsgeschwindigkeit ergibt. Im Hinblick auf funktionelle Lebensmittelsysteme kann so, basierend auf der TGase-induzierten Gelbildung, eine pH-Wert-gesteuerte Freisetzung erreicht werden.



Wie in Abb. 3 zu erkennen ist, können die in TGase-induzierten Natriumcaseinat-Gelen eingeschlossenen Wirkstoffe im sauren pH-Bereich des Magens zurückgehalten werden, um anschließend bei den höheren pH-Werten im Darm mit hoher Geschwindigkeit freigesetzt zu werden.

Abb.3: Relative Freisetzung des Modellwirkstoffs Brillantblau FCF aus TGase-induzierten Natriumcaseinat-Gelen mit unterschiedlichen Proteinkonzentrationen in Magensaftimitat (MSI) und Darmsaftimitat (DSI) während des Standarddissolutiontests.

Mikropartikulierung von Molkenproteinen mittels Heißextrusion

Microparticulation of whey proteins by extrusion cooking

Magdalena Merkl, Timo Hajdu, Ralf Berlehner

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften von mikropartikulierten Molkenproteinen wie Partikelgröße, Denaturierungsgrad und Struktur der Aggregate werden hauptsächlich durch die thermische Behandlung und die Schereinwirkung bestimmt. Diese bestimmen das Verhalten der Proteinaggregate im Endprodukt. Ziel ist es, Partikelgrößen im Größenbereich zwischen 1 bis 50 µm zu erzeugen, da dadurch die besten funktionellen Eigenschaften im späteren Produkt erreicht werden können. Zur Funktionalisierung der Proteine werden verfahrenstechnische Prozesse, wie die thermisch-mechanische Behandlung, eingesetzt. Diese erfolgt bisher meist im Schabewärmetauscher. Dieses Verfahren stellt eine geeignete Möglichkeit dar, Molkenproteine zu partikulieren. Allerdings ist es auf niedrige Trockenmasse- und Proteingehalte beschränkt. Außerdem sind die realisierbaren Prozessbedingungen wie Scherbeanspruchung und Prozesstemperatur begrenzt. Deshalb soll durch die Applikation der Heißextrusion ein neuer Prozess entwickelt werden, bei dem weitaus höhere Proteingehalte eingesetzt und Prozessparameter in einem größeren Bereich variiert werden können.

Bei der Heißextrusion handelt es sich um einen kontinuierlichen verfahrenstechnischen Vorgang, bei dem das Produkt zugleich thermisch und mechanisch erwärmt, vermischt, geformt und texturiert wird. Die stoffliche Zusammensetzung des Rohmaterials und die Prozessvariablen während der Extrusion beeinflussen wesentlich den Partikelbildungsprozess und damit die Eigenschaften der extrudierten Proteine. Dadurch kann sowohl die Größe als auch die Struktur der Aggregate gesteuert werden. Die variierbaren Prozessfaktoren bei der Extrusion sind die Drehzahl, die Temperatur, die Schneckenkonfiguration und der Produktmassenstrom.

Die Drehzahl beeinflusst sowohl die Scherbelastung der Molkenproteine als auch die Verweilzeit im Extruder. In Abb. 1 ist die volumenbezogene mittlere Partikelgröße, die Verweilzeit und der Denaturierungsgrad über der Drehzahl aufgetragen. Die Versuche wurden bei 100 °C und einer Proteinkonzentration von 20 % (w/w) durchgeführt. Es ist zu erkennen, dass mit steigender Drehzahl die mittlere volumenbezogene Partikelgröße deutlich abnimmt. Dies ist auf die kürzere Verweilzeit und die höhere Scherbelastung bei zunehmender Drehzahl zurückzuführen.

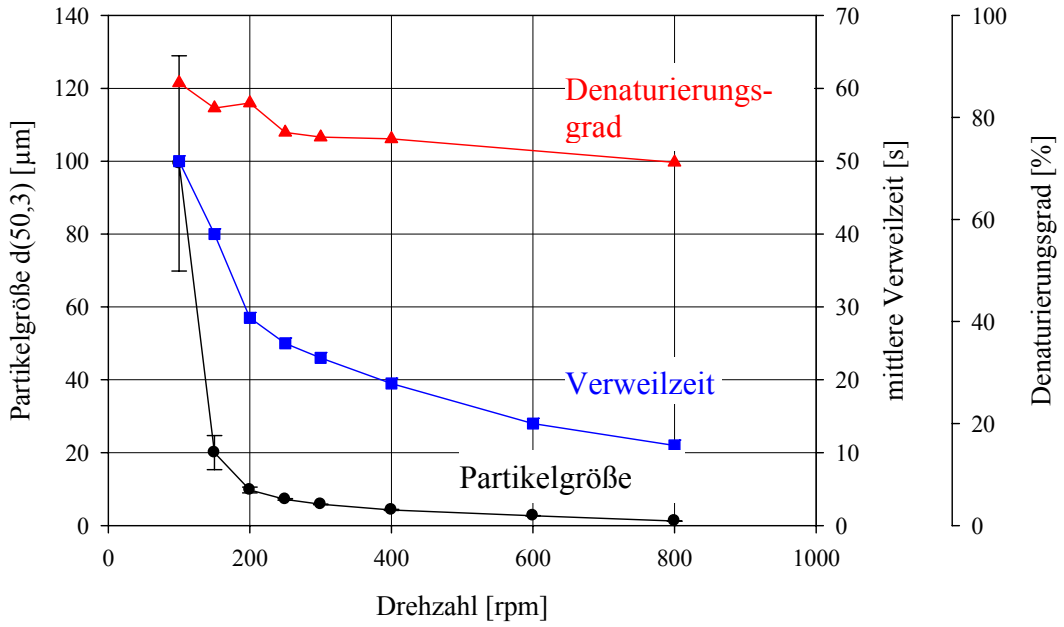


Abb. 1: Abhängigkeit der Partikelgröße, der Verweilzeit und des Denaturierungsgrades von der Drehzahl

Der Denaturierungsgrad sinkt trotz deutlich kürzerer Verweilzeit bei hoher Drehzahl nur um □15 %. Zum Teil kann die verringerte verweilzweitbedinge Denaturierung vermutlich durch eine Denaturierung infolge der erhöhten Scherbelastung kompensiert werden.

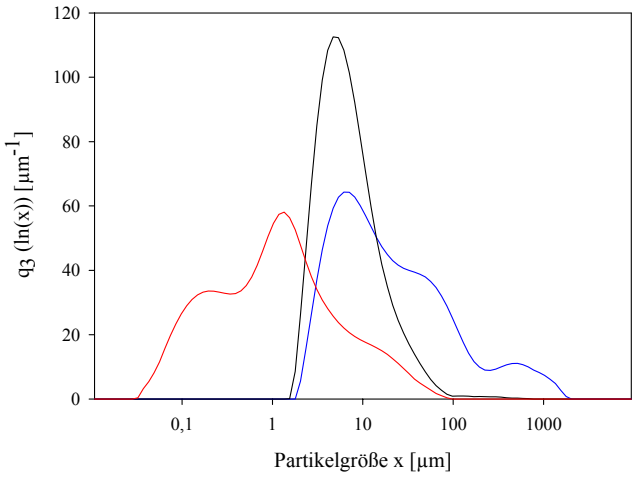


Abb. 2: Partikelgrößenverteilung der Molkenproteinpartikulate bei unterschiedlichen Drehzahlen

Abb. 2 zeigt die Partikelgrößenverteilungen der Molkenproteine, die bei unterschiedlichen Drehzahlen extrudiert wurden. In Abhängigkeit der Drehzahl und damit auch der Verweilzeit ändert sich sowohl die mittlere Partikelgröße als auch die Form und Breite der Verteilung. Bei sehr niedrigen Drehzahlen, d.h. bei langen Verweilzeiten und niedriger Scherbelastung, entstehen sehr große Aggregate und eine breite Partikelgrößenverteilung.

Bei hoher Drehzahl ist die Verteilung ebenfalls breit, da nur ein Teil der Proteine, aufgrund der kurzen Verweilzeit in den aggregierten Zustand überführt werden können. Bei mittlerer Drehzahl sind die Partikelgrößen dagegen monomodal verteilt. Die Aggregatgrößen sind bei diesen Bedingungen deutlich homogener, da die Verweilzeit einerseits lang genug ist, um eine vollständige Aggregation zu erreichen und andererseits die Scherbelastung groß genug ist, um infolge der Desaggregation durch Bruch der Aggregate die Partikelgröße zu beschränken.

Die geeigneten Prozessbedingungen zum Erzeugen gewünschter Partikelgrößen hängen neben der Drehzahl noch von weiteren Stoff- und Prozessparametern ab. Diese Zusammenhänge zu untersuchen, ist das Ziel der weiteren Forschungsarbeit sowie eines in der Vorbereitung befindlichen Forschungsantrags.

Funktionalität von mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen in Eiskrem

Functionality of microparticulated whey protein fractions in ice cream

José Toro-Sierra, Andreas Naarmann, Jens Schumann

Ziel der Arbeit war die Herstellung von mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen in Pilotmaßstab für die Untersuchung der Eigenschaften von Modellsystemen mit einzeln mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen im Vergleich mit einer Standard-Rezeptur. Ein Schwerpunkt war es festzustellen, ob Unterschiede bei der Funktionalität von Mikropartikulaten aus den majoren Molkenproteinfraktionen α-Lactalbumin (α-La) und β-Lactoglobulin (β-Lg) in isolierter Form und in natürlicher Mischung der Molke (ca. 20% α-La und 70% β-Lg) zu verzeichnen sind. Aus physikalischer Sicht stellt Eiskrem ein komplexes Mehrphasensystem mit den Strukturelementen einer Emulsion, eines Schaums und eines Gels dar. Aus Arbeiten von Koxholt (2000) war bekannt, dass durch den Austausch der Hälfte der fettfreien Trockenmasse durch mikropartikulierte Molkenproteine aus Molkenprotein-konzentrat eine erhebliche Verbesserung der Abschmelzeigenschaften von Eiskrem erreicht werden kann. Um eine ähnliche Strategie zu verfolgen und die Effekte von verschiedenen mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen festzustellen, wurde ein Eismix mit 10 % Fett und 11 % fettfreier Trockenmasse hergestellt, in dem die Hälfte der fettfreien Trockenmasse (Magermilchpulver) durch mikropartikuliertes Molkenprotein in trockener Form ausgetauscht wurde.

Es wurden Konzentrate aus isoliertem β-Lg und α-La mit 10 % (w/w) Protein und 13 % (w/w) Laktose hergestellt, in dem die jeweiligen Proteinfraktionen in Pulverform in Milchserum aufgelöst wurden. Dazu wurde eine Lösung aus einem Molkenproteinkonzentrat (ca. 20 % α-La und 70 % β-Lg) in Wasser mit einem Proteingehalt von 10 % (w/w) hergestellt. Jede einzelne Lösung wurde mittels Schabewärmetauscher hitze- und scherbehandelt um einen Denaturierungsgrad höher als 90 % und eine mittlere Partikelgröße kleiner als 20 µm zu erzielen. Die Konzentrate wurden unmittelbar nach der Produktion in einer Pilotanlage sprühgetrocknet. Die Zusammensetzung der Konzentrate, die Erhitzungs- und Trocknungsbedingungen sowie die Charakterisierung des Produktes sind in Tab. 1 dargestellt.

Tabelle. 1: Zusammensetzung und Erhitzungsbedingungen für die Herstellung von mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen in Pilotmaßstab

Produkt	Zusammensetzung	Erhitzungs-bedingungen (SWT)	$d_{50,3}/d_{90,3}$ flüssig [µm]	Denaturierungsgrad [%]
α-La MP (Verhältnis α-La:β-Lg 100:0)	Protein 98 $g \cdot L^{-1}$ Laktose 136 $g \cdot L^{-1}$ pH 4,6 ; TM 266,8 $g \cdot L^{-1}$ Ca:Protein 1:15	90 °C, 20 min 1200 min^{-1} 30 $L \cdot h^{-1}$	12,2 / 31,6	$DG_{\alpha\text{-La}}$ = 94 %
β-Lg MP (Verhältnis α-La:β-Lg 100:0)	Protein 100 $g \cdot L^{-1}$ Laktose 130 $g.L^{-1}$ pH 4.6 ; TM 277,2 $g \cdot L^{-1}$ Ca:Protein 1:15	90 °C, 5 min 1200 min^{-1} 80 $L \cdot h^{-1}$	15,8 / 26,7	$DG_{\beta\text{-Lg}}$ = 96 %
WPC (Verhältnis α-La:β-Lg 20:80)	Protein 100 $g \cdot L^{-1}$ Laktose 130 $g \cdot L^{-1}$ pH 4.6 ; TM 269,9 $g \cdot L^{-1}$ Ca:Protein 1:15	95 °C, 6 min 1200 min^{-1} 65 $L \cdot h^{-1}$	4,9 / 19,6	$DG_{\alpha\text{-La}}$ = 87% $DG_{\beta\text{-Lg}}$ = 94%

Zusätzlich zu den mittels Schabewärmetauscher mikropartikulierten Fraktionen wurde ebenfalls eine zweite Fraktion von α-La in *molten globule state* hergestellt und sprühgetrocknet.Der *molten globule state* bezeichnet eine molekulare Konformation des α-La in der das Protein dem nativen Zustand nicht entspricht und durch Calciumentzug geringfügig löslich ist (Kuwajima, 1996). Diese Fraktion wurde als „α-La 2 MP“ bezeichnet. Die Trocknungsbedingungen sowie die Zusammensetzung und charakteristische Größen der Pulver sind Tab. 2 zu entnehmen.

Tabelle 2: Trocknungsbedingungen und Eigenschaften der mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen in trockener Form

Produkt	Trocknung ϑ_{ein} / ϑ_{aus} [°C]	$d_{50,3}$ / $d_{90,3}$ Trocken [µm]	Trockenmasse [%]	Protein [%]
a-La MP („α-La 1 MP“)	190 / 95	19,8 / 42,0	94,8	36,2
α-La *molten globule* („α-La 2 MP“)	190 / 95	19,5 / 37,9	95,0	94,0
β-Lg MP	200 / 105	38,1 / 76,1	93,7	35,1
WPC MP	180 / 105	16,1 / 34,9	95,8	35,5

Verschiedene Eiskremmixrezepturen mit 10% Fett, 11% Fettfreietrockenmasse, 10% Saccharose, 5% Glucosesirup und 0,5% Stabilisator-Emulgator-Mischung wurden hergestellt. In der Referenzprobe bestand die gesamte fettfreie Trockenmasse aus Magermilchpulver, während weitere vier Eismixrezepturen mit den in der Tab. 2 aufgelisteten mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen hergestellt wurden. Die Hälfte der Magermilchpulvermasse wurde durch pulverförmiges Mikropartikulat ersetzt. Die Zusammensetzung der jeweiligen Eismixrezepturen zeigt Tab. 3.

Tabelle 3: Zusammensetzung der Eismixrezepturen

Eismix	Trockenmasse [%]	Fettgehalt [%]	Proteingehalt [%]
Standard	35,02 ± 0,24	9,55 ± 0,10	4,18 ± 0,03
α-La 1 MP	34,77 ± 0,16	9,50 ± 0,12	4,18 ± 0,02
α-La 2 MP	35,13 ± 0,19	9,60 ± 0,10	7,06 ± 0,09
β-Lg MP	34,90 ± 0,17	9,15 ± 0,10	4,35 ±0,02
WPC MP	35,23 ± 0,25	9,40 ± 0,10	3,66 ± 0,04

Die Herstellung der Eiskrem erfolgte nach Reifung des Eismix (18 h, 4 °C) in einem kontinuierlichen Eiskremfreezer mit Stickstoffeintrag. Die Auswirkung der zugesetzten Molkenproteine auf die chemischen, physikalischen und rheologischen Eigenschaften des Eismixes sowie die Effekte der Molkenproteinzugabe auf Overrun, Textur und das Abschmelzverhalten der Eiskrem wurden untersucht. Betreffend die rheologische Eigenschaften ist in der Abb. 1 ersichtlich, dass bei allen Proben einen Viskositätsanstieg zu verzeichnen ist. Höhere Denaturierungsgrade der Proteine führen aufgrund des größeren Volumens zu einem besseren Serumbindevermögen und somit zu einer höheren Viskosität (Kennel, 1994).

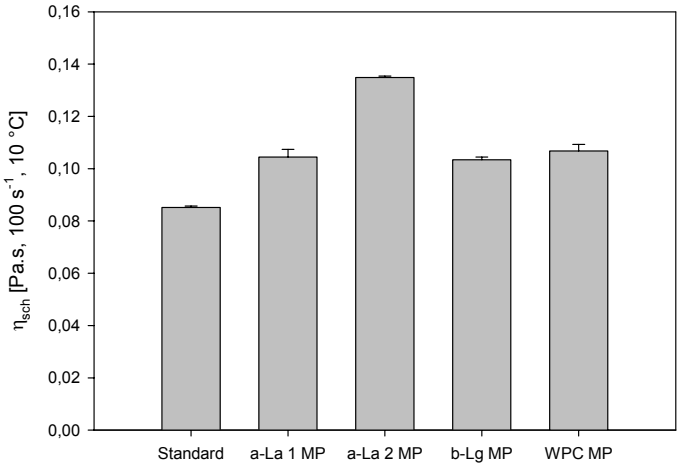


Abb. 1: Änderung der Viskosität von Eismix bei Zugabe von mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen.

Generell ist das Abschmelzverhalten der Proben mit dem Austausch von Magermilchpulver durch mikropartikuliertes Molkenprotein deutlich besser als bei der Standardrezeptur, mit Ausnahme der Proben mit zugesetztem β-Lg-Mikropartikulat (Abb. 2). Ein stark verbesserter Abschmelzgrad konnte hingegen bei der Eiskrem mit partikuliertem WPC und α-La-2 erreicht werden, bei denen nach 5 h (bei 18 °C und 75 % Luftfeuchte) nur 30 % abgeschmolzen war. Während es zu einer leichten Verbesserung bei α-La-1 (48 %) im Vergleich zur Kontrollprobe (53%) kam, fiel die Eiskrem mit β-Lg rasant in sich zusammen und schmolz bereits nach 60 min auf 70 % ab.

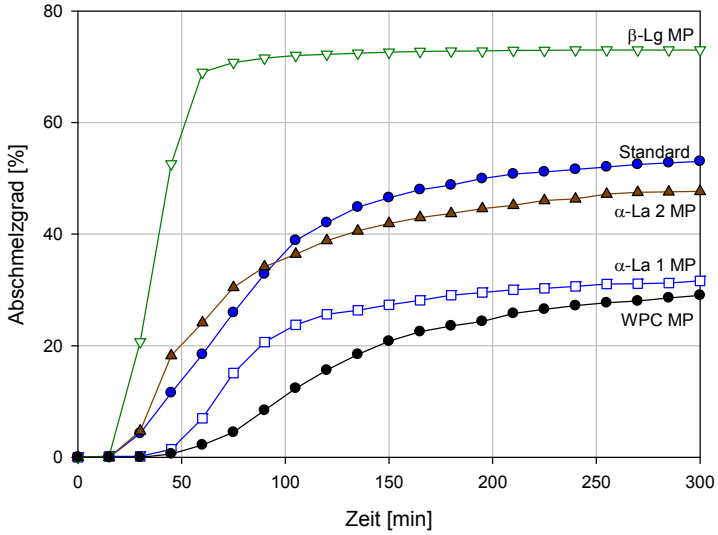


Abb. 2: Abschmelzrate von Eiskrem mit zugesetzten mikropartikuliertem Molkenproteinen.

Eiskrem ist ein komplexes System, in dem die Stabilisierung eines gefrorenen Schaums durch emulgiertes und destabilisiertes Fett, Hydrokolloide sowie Partikel gewährleistet wird. Der Austausch von 50 % der fettfreien Trockenmasse durch mikropartikuliertes Molkenprotein resultierte in einer deutlichen Verbesserung der Schmelzeigenschaften von Eiskrem wenn Partikulate aus WPC oder α-La eingesetzt wurden. Der Einsatz von Partikulaten aus isoliertem β-Lg führte dagegen zu einer deutlich verschlechterten Auftaustabilität. Aus dem Vergleich der strukturellen Effekte in Eismix bzw. in gefrorenem Speiseeis konnte festgestellt

werden, dass mikropartikuliertes Molkenprotein in natürlicher Mischung sowie in isolierter Form in Eiskrem unterschiedlich funktionell sind. Folgende Schlüsse auf die Struktur bzw. physikalische Eigenschaften der unterschiedlichen Partikulate können daraus gezogen werden:

- Wenn Schäume und Emulsionen durch Partikel aus irreversibel denaturiertem und aggregiertem Protein und nicht durch aufgefaltete Proteine stabilisiert werden, spielen die Partikelgröße sowie die Oberflächenhydrophobizität der Partikel eine starke Rolle in der Stabilität der Strukturen. Da die Benetzbarkeit der Partikel an der Grenzfläche direkt mit ihrem hydrophoben Charakter verbunden ist (Dickinson, 2010), bewirkt eine zu hohe Oberflächenhydrophobizität der β-Lg-Mikropartikel eine niedrige Benetzung der Partikel an der Grenzfläche Luft/Wasser und somit eine niedrige Schaumstabilität.
- Mikropartikel aus isoliertem β-Lg sind zu groß, um eine genügende Anzahl an Partikel an die Grenzflächen während der Eisherstellung anbringen zu können, so dass nicht genug Material zur Stabilisierung des Schaums während des Abschmelzens vorliegt. Kleinere Partikel aus α-La oder WPC können sich besser an der Grenzfläche anlagern und der Schaum dadurch stabilisieren.
- Die Fähigkeit von α-La und WPC, sich an den Grenzflächen anzulagern, erhöht die Stabilität der Eiskrem. Die Anwesenheit von α-La, das nach der thermischen Denaturierung eine günstigere Bilanz zwischen den hydrophoben und hydrophilen Gruppen an der Oberfläche zeigt, führt durch bessere Benetzung zu einer erhöhten Schaumstabilität.
- Die Anlagerung von partikuliertem Material zwischen den Schaumlamellen kann ebenfalls die Drainage von Flüssigkeit aus dem System während des Auftauens senken und somit die Abschmelzeigenschaften von Eiskrem mit zugesetztem mikropartikulierten α-La und WPC gegenüber einer Standardrezeptur deutlich verbessern. Diese Fraktionen zeichnen sich durch eine höhere Serumbindefähigkeit im Vergleich zu partikuliertem β-Lg aus. Es kommt so zu einer Erhöhung der Viskosität und zur Verbesserung der Schaumstabilität.

Literatur:

Dickinson, E. (2010) Food emulsions and foams: Stabilization by particles. Curr. Opin. Coll. Interface Sci., 15, 40-49.

Kennel, R. (1994). Hitzeinduzierte Aggregatbildung von Molkenproteinen – Größenbestimmung und Strukturanalyse. TU München, Dissertation.

Koxholt, M. (2000). Untersuchung zur Strukturierung und Strukturausbildung von Eiskrem – Einfluss verfahrenstechnischer Parameter und technologischer Variationen. TU München, Dissertation.

Kuwajima, K. (1996). The molten globule state of α-lactalbumin. FASEB J., 10, 102-109.

Dank: Das Forschungsvorhaben (AiF 15834 N) wurde im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI) gefördert.

ZIEL-Nachwuchsforschergruppe Bioaktive Peptide und Proteintechnologie Leitung: Seronei Chelulei Cheison, PhD

Selective hydrolysis of α-lactalbumin by Acid Protease A

Seronei Chelulei Cheison

The major component of whey proteins are β-lactoglobulin (β-Lg) and α-lactalbumin (α-La). β-Lg is responsible for most of the bioactive and functional properties of whey proteins. Several methods are used to fractionate α-La and β-Lg. The methods which exploit selective precipitation yield a product which is variably denatured, a side-effect which is undesirable if applications which require native proteins are targeted. Alternative methods are necessary in order to develop processes that yield pure and native protein fractions.

α-La is resistant to trypsin while β-Lg is resistant to pepsin at specific conditions. It was expected that since β-Lg is resistant to hydrolysis at acid pH, it would remain largely unhydrolysed unlike α-La. Our work is concerned with investigations of the effect of the hydrolysis milieu and it impact on driving the enzyme hydrolysis process.

The effect of the hydrolysis pH showed that with an increase in the hydrolysis pH from 2.5 to 3.5, there was a corresponding six-fold increase in the degree of hydrolysis (DH).

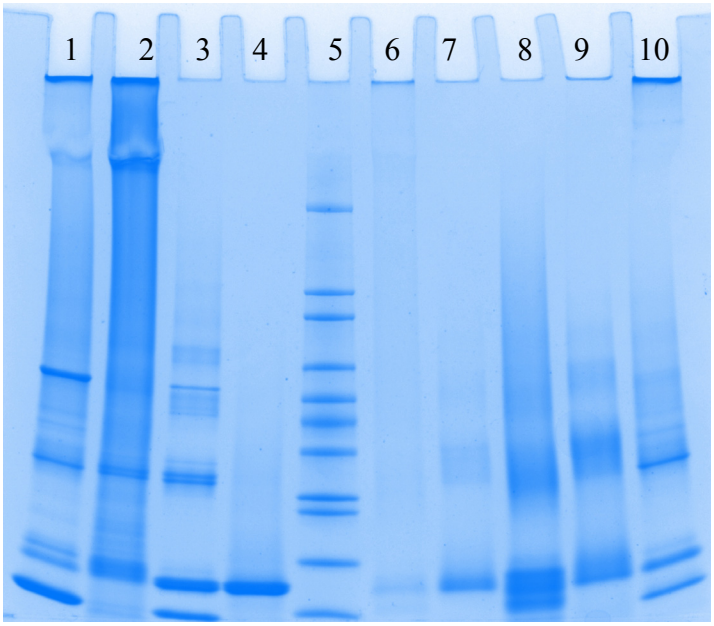


Figure 1: Electrophoretogram of WPI samples and hydrolysates
Legend: Channels represent samples produced as follows. Lane 1: 37.5 °C, pH 2.5, t = 0; Lane 2: 37.5 °C, pH 2.5, t = 120 min; Lane 3: 37.5 °C, pH 3, t = 0; Lane 4: 37.5 °C, pH 3, t = 120 min; Lane 5: protein and peptide calibration standards (SigmaMarker™) ; Lane 6: 37.5 °C, pH 3.5, t = 120 min ; Lane 7 : 37.5 °C, pH 3.5 t = 0 ; Lane 8 : 45 °C, pH 3.5, t = 0 ; Lane 9 : 45 °C, pH 3.5, t = 120 min and Lane 10: 45 °C, pH 2.5, t = 120)

The electrophoretograms (Fig. 1) show that there was already depletion of α-La in lanes 2, 4, 6, 7 and 9 with lane 6 showing that all the proteins were depleted during hydrolysis for 120 min at 37.5 °C and pH 3.5. Lane 10 shows that in 2 h hydrolysis at 45 °C and pH 2.5 was not effective in depleting α-La as contrasted to hydrolysis at the same temperature and pH 3.5 (Lane 9) which shows full depletion of α-La and reduction of β-Lg.

It is evident that the increase of pH at 37.5 °C from pH 2.5 (Lane 1 and 2) through pH 3.0 (Lane 3 and 4) to pH 3.5 (Lane 6 and 7) led to increased ease of hydrolysis of α-La even though these were higher than the optimum pH reported to be 2.5. Furthermore, an increase of the temperature from 37.5 °C to 45 °C at pH 3.5 suggests aggregation/gelation of the proteins (compare Lanes 6 and 7 vs Lanes 8 and 9).

Acid Protease A enzyme has an optimum activity at temperature of 55 °C but with a pH stability range of 3.0-6.0 although its optimum lies in the region of its instability (pH 2.5). An increase of the temperature from 37.5 °C to 45 °C at pH 2.5 led to resistance of the proteins to complete hydrolysis. This factor seems to be attributable to the pH effect because a comparison of the corresponding increase at pH 3.5 shows that α-La was depleted (Lanes 6 and 7 for 37.5 °C and Lanes 8 and 9 for 45 °C).

Hydrolysis of WPI by Acid Protease A showed remarkable influence of the pH on α-La resistance. For example with a change in the pH from 2.5 to 3.0, the protein could be depleted faster at the higher pH value, while remaining relatively resistant at the lower pH, even though the declared enzyme optimum is pH 2.5. The protein is less easily digested in its molten globule state, MG (lower pH). Generally, an increase of the pH from 2.5 to 3.5 favoured protein selective hydrolysis with the consequence that α-La was depleted. Likewise an increase in the temperature from 30 °C to 37.5 °C was favourable for α-La depletion but a further increase to 45 °C led to resistance to hydrolysis probably due to heat-acid aggregation.

Analysis of the hydrolysis environment showed that the pH and temperature played crucial roles in determining the hydrolysis. Resistance of α-La was higher at low pH near the enzyme optimum of pH 2.5, which was reversed at higher pH. Acid Protease A can be used instead of the expensive pepsin for the selective depletion of α-La while β-Lg was resistant in a genetic-variant dependent manner with β-Lg B being less susceptible to hydrolysis than β-Lg A. This enzyme and selective hydrolysis offers potential for of ingredients rich in β-Lg.

Fraktionierung des tryptischen β-Lg Hydrolysats mittels Membranadsorptionschromatographie

Fractionation of the tryptic hydrolysate of β-lactoglobulin by means of membrane adsorption chromatography

Elena Leeb, Seronei Cheison

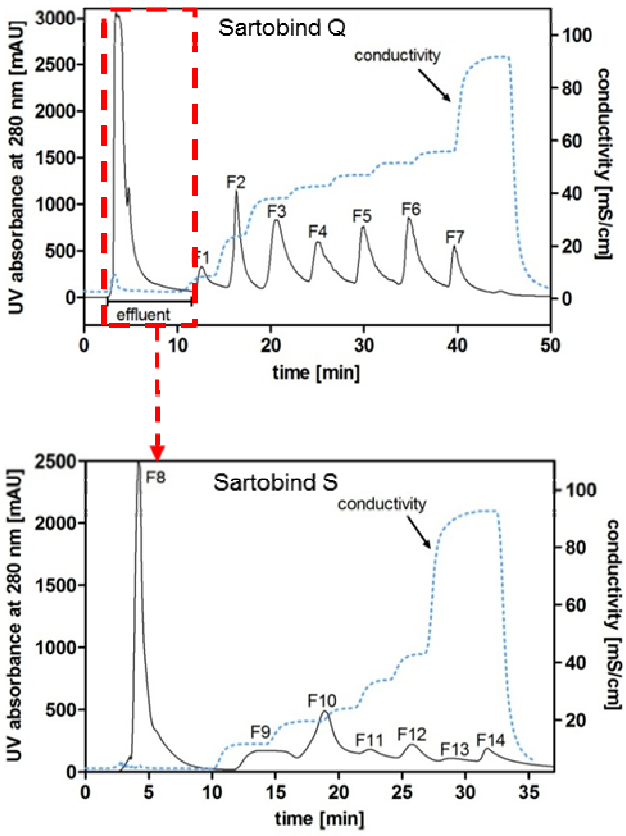
Das majore Molkenprotein β-Lactoglobulin (β-Lg) ist ein Vorläufer-Protein für eine Vielzahl an biologisch aktiven Peptiden. Eine Möglichkeit, diese funktionellen Peptide in ihrer aktiven Form freizusetzen, ist die enzymatische Hydrolyse. Jedoch werden bei diesem Prozess neben den gewünschten Peptiden auch eine Vielzahl anderer Peptide produziert. Um die positiven Eigenschaften der funktionellen Peptide gezielt nutzen zu können, ist eine Abtrennung und Konzentrierung dieser aus dem Hydrolysat notwendig. Solch eine selektive Trennung aus einem komplexen Peptidgemisch, beruhend auf den unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften, ist derzeit nur mit Hilfe klassischer gepackter Chromatographie-Säulen möglich. Diese Verfahren sind jedoch in ihrem Durchsatz stark limitiert. Prozesse, die eine Fraktionierung von Peptiden in industrierelevanten Mengen erlauben, sind bis heute noch nicht bekannt.

Eine Alternative zur klassischen Flüssig-Chromatographie, die ebenfalls im großen Maßstab durchführbar ist, stellt die Membranadsorptionschromatographie (MAC) dar. Bei dieser Technologie werden funktionelle Liganden auf eine Cellulose-Membran aufgebracht. Je nach Milieubedingungen binden die in Lösung befindlichen Peptide über nicht kovalente Bindungen an die Liganden und werden durch Einsatz eines geeigneten Elutions-Gradienten spezifisch von der Membransäule eluiert. Die MAC erreicht die Selektivität klassischer Chromatographie-Säulen, wobei deutlich höhere Durchsätze erzielt werden können.

Im Falle der Ionenaustauschermembranen werden bei der MAC Kationen- oder Anionenaustauscher als Liganden auf eine Cellulose-Membran aufgebracht. Eine spezifische Elution der gebundenen Peptide kann schließlich durch Einsatz eines pH- oder Salzgradienten erfolgen. Da jedoch der Einsatz von MAC-Modulen bisher nur für die Fraktionierung unterschiedlicher Proteingemische untersucht wurde, war es Ziel dieser Studie, einen Prozess zur Fraktionierung komplexer Peptidgemische am Beispiel des tryptischen β-Lactoglobulins Hydrolysat zu entwickeln. Die Prozessentwicklung wurde zunächst im Labormaßstab durchgeführt. Die dabei ermittelten Ergebnisse lassen sich in folgenden Untersuchungen durch die Bauweise der MAC-Module direkt in den Pilotmaßstab umsetzten. Es wurden Anionenaustauscher Typ Sartobind Q und Kationenaustauscher Typ Sartobind S eingesetzt.

Zunächst wurden Anionen- sowie Kationenaustauscher getrennt voneinander untersucht. Die Variablen waren die Probenkonzentration, das gewählte Puffersystem und dessen pH-Wert sowie unterschiedliche NaCl-Gradienten zur selektiven Elution der Peptide. Als optimales Fließmittel wurde ein 0,03 M Natriumphosphatpuffer ermittelt, dessen pH-Wert während des Anionenaustauscherprozesses auf 7 eingestellt wurde, wohingegen der Kationenaustauscherprozess beste Fraktionierungsergebnisse bei einem pH-Wert von 3 lieferte. Für Sartobind S musste ein solch niedriger pH-Wert gewählt werden, da bei Elutionspuffern mit einem pH-Wert zwischen 4 und 5 ein starker Anstieg des Gegendrucks in der Membran zu verzeichnen war. Dieser Effekt wurde nachweislich auf eine Aggregation der Peptide zurückgeführt, die in diesem pH-Bereich auftreten. Die dabei gebildeten Aggregate mit einer durchschnittlichen Partikelgröße von bis zu 10 µm führten zur Verblockung der Membran.

Zur gezielten Elution der Peptide wurden verschiedene Elutions-Gradienten-Profile untersucht. Unter Einsatz eines linearen Gradienten konnte weder bei Sartobind S noch bei Sartobind Q keine Basislinientrennung erreicht werden. Erst durch Einsatz eines Stufengradienten konnten mit Sartobind Q ein Effluenten-Peak und 7 basisliniengetrennte Peaks gewonnen werden. Im Gegensatz dazu wurden bei der Fraktionierung des Hydrolysats unter Einsatz des Kationenaustauschers kaum zufriedenstellende Ergebnisse erzielt. Hier wurde selbst bei einer Vielzahl an Stufen und maximaler Stufenlänge nur eine schlechte Bindekapazität der Peptide und geringe Trennschärfe erreicht. Daher wurden Versuche zur Kopplung der beiden Membranadsorber durchgeführt. Dazu wurde der Effluent des Anionenaustauschers in einem zweiten Schritt auf den Kationenaustauscher Sartobind S gegeben. So konnte der Effluent in 7 weitere einzelne Fraktionen separiert werden, so dass insgesamt 14 einzelne Fraktionen resultierten. Die ermittelten Chromatogramme und dazugehörigen Kennzahlen der eingesetzten Stufengradienten sind in der folgenden Abbildung und Tabelle dargestellt.



Eingesetzter Stufengradient Sartobind Q	
Stufe	Länge
0 M NaCl	8 CV
0,05 M NaCl	8 CV
0,20 M NaCl	8 CV
0,35 M NaCl	8 CV
0,40 M NaCl	8 CV
0,45 M NaCl	8 CV
0,50 M NaCl	8 CV
0,55 M NaCl	8 CV
1 M NaCl	8 CV

Eingesetzter Stufengradient Sartobind S	
Stufe	Länge
0 M NaCl	5 CV
0,08 M NaCl	8 CV
0,15 M NaCl	8 CV
0,20 M NaCl	5 CV
0,30 M NaCl	5 CV
0,40 M NaCl	5 CV
1 M NaCl	5 CV

Abb. 1: Elutionsprofile der chromatographischen Trennung des tryptischen β-Lactoglobulin Hydrolysats mittels gekoppelten Anionen- und Kationenaustauscher; Eingesetzte Elutionspuffer: 0,03 M Natriumphosphatpuffer pH 7 (Sartobind Q) und pH 3 (Sartobind S); Flussrate: 5 ml·min^{-1}; Säulenvolumen (CV): 3 ml;

Die Peptid-Zusammensetzung der einzelnen Fraktionen wurde anschließend massenspektrometrisch mittels LC-ESI-MS bestimmt und die erfolgreiche Anreicherung unterschiedlich funktioneller Peptide in verschiedenen Fraktionen ermittelt. Das bakterizide Peptid f(92-100) wurde in der Fraktion F2, F3 und F4 und das ACE-inhibitorische Peptid f(142-148) in den Fraktionen F10 und F11 angereichert. Einen Spezialfall stellt die Fraktion F9 dar. Hier konnten drei unterschiedliche funktionelle Peptide konzentriert werden. Das ACE-inhibitorische Peptid f(9-14), das bakterizide Peptid f(78-83) und das Cholesterin senkende Peptid f(71-75).

Die vorliegenden Ergebnisse machen deutlich, dass Ionenaustauschermembranen zur Fraktionierung komplexer Peptidgemische erfolgreich eingesetzt werden können. Die Membranadsorptionschromatographie bietet demnach eine geeignete Alternative zur klassischen Gelbettchromatographie bei der Fraktionierung von tryptischen β-Lg Hydrolysaten, deren Vorteile in einer verkürzten Prozesszeit und der Möglichkeit der einfachen Methoden-Übertragung in den Großmaßstab liegen.

Das Forschungsvorhaben (AiF 16541 N) wurde im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“ vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI) gefördert“.

Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Piry, Alexander: Untersuchung zur Längenanhängigkeit der Filtrationsleistung bei der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration, 3. Februar 2011

Jakubasch, Malgorzata: Einfluss der Protein-Protein-Wechselwirkungen zwischen Eiklar und Molkenproteinen auf ihr Denaturierungs-, Gel- und Schaumbildungsverhalten, 20. Dezember 2011

Bachelorarbeiten

Albrecht, Steffen: Die Wirkmechanismen von flüssigem und gasförmigem Wasserstoffperoxid und Resistenzmechanismen in Mikroorganismen

Bruckmaier, Simon: Freisetzung niedermolekularer Stoffe aus tranglutaminase-induzierten Milchproteingelen

Diener, Katharina: Untersuchungen der Eigenschaften extrudierter Molkenproteine

Doll, Etienne: Einfluss der thermischen Substratvorbehandlung auf die trytische Hydrolyse von ß-Lactoglobulin

Engelbrecht, Sabrina: Einfluss der Sprühtrocknungsbedingungen auf den Lysinverlust in Babynahrungsprodukten

Fiedler, Jennifer: Einfluss einer Sprühtrocknung und enzymatischee Modifikation auf die emulgativen Eigenschaften der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma

Fuchs, Therese: Rückschlüsse aus der pH-abhängigen Denaturierung und Ladung von Molkenproteingelen auf deren Quellung und Permeabilität

Gepperth, Stefan: Packstoffentkeimung mittels Wasserstoffperoxid – Einfluss der Vorbehandlung mit Wasser auf die Inaktivierung von Sporten

Graßl, Kerstin: Effekte von Ca^{+2} auf die hitzeinduzierte Denaturierung von Molkenproteinkonzentraten

Hermann, Maria: Mikroverkapselung von bioaktiven Pflanzenstoffen mittels Sprühkühlung und Untersuchung der Anthocyan-Stabilisierung durch Molkenproteine

Kiener, Kerstin: Bestimmung der Enzymkinetik der Transglutaminase-Reaktion bei der Vernetzung von Natriumcaseinat-Suspensionen

Klement, Markus: Auswirkung von variierendem Fettgehalt und mikropartikulierten Molkenproteinen auf die Eigenschaften von Joghurt

Krauß, Sebastian: Einfluss der Prozessparameter und der Zerstäubungsform auf die Sprühtrocknung am Beispiel Magermilch

Leda, Sabrina: Einfluss der Matrixzusammensetzung auf den thermisch induzierten Lysinverlust in Säuglingsnahrung

Liebhart, Marina: Aggregation von Molkenproteinen mittels Extrusion – Einfluss von Temperatur und Trockenmasse

Naarmann, Andreas: Einsatz von mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen in Eiscreme

Nyguyen, Thuy-Tien: Einfluss der Transglutaminase-Behandlung auf die säure- und labinduzierte Gelbildung von Caseinmicellen

Obermaier, Daniela: Packstoffentkeimung mittels Wasserstoffperoxid in der Dampfphase-Einfluss der kontaminierten Oberfläche auf das Inaktivierungsergebnis

Von Rüden, Daniel: Fraktionierung von Proteinen aus Süß- und Sauermolke mittels Membranadsorptionschromatographie

Ringsleben, Gesine: Einfluss des physikalischen Zustandes während der Trocknung auf die Überlebensrate und Aktivität von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*

Schenzielorz, Anna: Einfluss der relativen Feuchte auf die Intaktivierung bakterieller Sporen mit gasförmigem Wasserstoffperoxid

Seidl, Julia: Einfluss verschiedener Produkt- und Prozessparameter auf das Schäumungsverhalten von ß-Lactoglobulin

Sutter, Anja: Stabilität von bioaktiven Glykoverbindungen gegenüber mikrobiologischem Abbau bei der Fermentation

Wiesner, Sven Peter: Einfluss der Dehydratisierungsbedingungen auf den Lysinverlust in Milchpulver

Zeißler, Annett: Einfluss der relativen Feuchte H_2O_2-haltiger Heißluft auf die Inaktivierung bakterieller Sporen auf Packstoffe

Zirkelbach, Steffen: Bestimmung der Bildung von Transglutaminase-behandelten säureinduzierten Milchproteingelen mittels Konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie

Zurawski, Silvia: Ermittlung der Zerfallsprodukte bei der druckbedingten Caseinmizelldissoziation

Diplom- und Masterarbeiten

Ambros, Sabine: Feasibility study on microwave-assisted vacuum dehydration of microbial cultures

Böhmichen, Katja: Einfluss der Oberflächeneigenschaften und der Auftragungsweise von bakteriellen Sporen auf deren Inaktivierung mit wasserstoffperoxidhaltiger Heißluft

Batyrov, Sanzharbek: Effects of roller extrusion on some rheological properties of process cheese

Gerwing, Nadine: Influence of different capsule matrices on the survival rate of encapsulated bacteria during storage and acid treatment

Grammüller, Eva: Die Rolle des Glaszustandes für Lagerstabilität von *Lb. paracasei ssp. paracasei*

Kling, Helene: Einfluss der Sprühtrocknung auf den Lysinverlust in Milchpulver im Labor- und Pilotmaßstab

Neuhofer, Kathrin: Fractionation of the tryptic of ß-Lactoglobulin by means of membrane adsorption chromatography

Ravash, Samira: Transglutaminase-induced gelation of milk proteins and production of milk protein-based films

Rechenmacher, Magdalena: Bestimmung und Modellierung der Trocknungskinetik eines Babymilchmodells

Schumann, Jens: Herstellung von mikropartikulierten Molkenproteinfraktionen mittels Homogenisator und deren Sprühtrocknung

Schwing, Julia: Längenabhängiges Foulingverhalten von Süßmolke: Steigerung der Ultrafiltrationsleistung und Reduktion der Gesamtkeimzahl durch vorgeschaltete Mikrofiltration

Senger, Melanie: Techno-functional properties of Transglutaminase-treated milk protein powders

Setzer, Karina: Mikro- und Ultrafiltration von Bierwürze: Beschreibung des Foulingverhaltens durch Variation von Prozess- und Milieubedingungen

Stier, Simone: Mikroverkapselsung von probiotischen Keimen – Milchproteinmatrices mittels Sprühtrocknung

Vorträge

Ambros, S.: Strahlungstrocknung versus Kontakttrocknung: Anwendung der Mikrowellen-Vakuumtrocknung für mikrobielle Kulturen, Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Ambros, S.: Feasibility study on microwave-assisted vacuum dehydration of microbial cultures. Projekttreffen, Hoersholm, DK, 4.7.2011

Ambros, S.: Mikrowellen-Vakuumtrocknung von Milchsäurebakterien. Abschlussvortrag der Masterarbeit am Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik des Karlsruher Instituts für Technologie, Karlsruhe, 21.7.2011

Ambros, S.: Machbarkeitsstudie zur Mikrowellen-Vakuumtrocknung von mikrobiellen Kulturen, Hochschultag, Freising-Weihenstephan, 24.6.2011

Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Foerst, P.: Die Rolle des Glaszustandes als Stabilisierungsmechanismus während der Gefriertrocknung und Lagerung von Mikroorganismen. DECHEMA-VDI-GVC ProcessNet, Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Vlaardingen, NL, 22.-24.3.2011

Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Foerst, P.: The role of the glassy state in production and storage of freeze-dried starter cultures, ICEF, 11th Int. Congr. on Engineering and Food, Athen, GR, 22.-26.5 2011

Aschenbrenner M., Kulozik, U., Foerst, P.: Microbial inactivation kinetics and the glassy state in freeze-dried systems, 5th Nordic Drying Conference, (NDC). Helsinki, FI, 19.-21.6.2011

Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Foerst, P.: Entwicklung eines effizienten Gefriertrocknungsprozesses - Prozessanalyse und Produkteinflüsse. Technologieseminar 2011 „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Bauer, S.A.W., Först, P.: Strategies of fermentation, "Quantitative Biology: From cell to process" Summer School devised by the Young Biotechnology Researchers Network of DECHEMA, Society for Chemical Engineering and Biotechnology, Berlin, 19.-23.9. 2011

Bauer, S.A. W.: Niedertemperatur-Vakuumtrocknung von mikrobiellen Kulturen: Stammeinflüsse und verfahrenstechnische Aspekte, Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Betz, M., Kulozik, U.: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen. Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses für das AiF/DFG Cluster: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Bonn, 17./18.1.2011

Betz, M.: Encapsulation of active food ingredients: basics, examples and limitations. “EVOLUTION” The R&D Continuous Education Programme, Fresenius-Kabi AG, Bad Homburg, 25.1.2011.

Betz, M., Kulozik, U.: Whey protein gels for the microencapsulation of bioactive bilberry anthocyanins, Jahrestreffen ProcessNet-Fachausschuss, Vlaardingen, NL, 22.-24. 3.2011.

Betz, M., Kulozik, U.: Microencapsulation of bioactive bilberry anthocyanins by means of whey protein gels, 11th Int. Congr. on Engineering and Food, ICEF, Athens, GR, 22.-26.5.2011

Betz, M., Kulozik, U.: Milchproteinhydrogele als Trägerstoffe für bioaktive Substanzen. Abschlusssymposium zum AiF/DFG Cluster: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen, AiF/FEI-Forschungsvorhaben FV 15611 N, Karlsruhe, 9.11.2011.

Brand, J., Kulozik, U.: Eiklarproteinfraktionierung zur Verbesserung der Verschäumungseigenschaften und Pasteurisierbarkeit der entstandenen Fraktionen, 3. AiF-Projektausschuss-Sitzung, AiF 16009 N, Neuenkirchen-Vörden, 19.5. 2011

Brand, J., Strixner, T., Kulozik, U.: Innovative Food Foaming Additives: Interfacial and Foaming Properties of Lysozyme and Lysozyme Free Egg White, 3rd Int. Conf. on Biofoams, Capri, IT, 21.-23.9.2011

Cheison S. C., **Leeb, E., Kulozik**, **U.**: Membranreaktoren in enzymatischen Verfahren, Technologieseminar 2011 „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Cheison S. C., **Leeb, E., Kulozik, U.**: Novel ways to control enzymatic hydrolysis as a tool to produce functional peptides, Milchkonferenz, Bern, CH, 12.-14.9.2011

Cheison S. C., Leeb, E., Kulozik, U.: Trypsin hydrolysis of β-lactoglobulin: Analysis by MALDI-TOF-MS/MS, ICEF, 11th Int. Congr. on Engineering and Food, Athen, GR, 22.-26.5.2011

Cheison S. C., **Leeb, E., Kulozik, U.**: Influence of the Milieu Conditions on Selective Trypsin Hydrolysis of Whey Proteins, World Congress on Biotechnology, Hyderabad, IN, 21.-23.3.2011

Dombrowski, J., Kulozik, U.: Charakterisierung der Struktur und Dynamik von proteinstabilisierten Schäumen, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses für das DFG/AiF-Cluster Proteinschäume in der Lebensmittelproduktion: Mechanismenaufklärung, Modellierung und Simulation, AiF/FEI-Forschungsvorhaben 17124 N, Bonn, 6.6.2011.

Dombrowski, J., Kulozik, U.: Innovative membrane based food aeration: foam structures as influenced by preparation process, 3rd Int. Conf. on Biofoams, Capri, IT, 21.-23.9.2011

Först, P., Kulozik, U.: Modellierung der dynamischen Inaktivierung eines probiotischen Testkeims während der Vakuumtrocknung, ProcessNet, Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Vlaardingen, NL, 22.-24.3.2011

Först, P.: Stabilisation of starter and probiotic cultures by means of drying and microencapsulation, Seminar Chr. Hansen, Hoersholm, DK, 4.7.2011

Först, P., Kulozik, U.: Modeling the dynamic inactivation of a test microorganism during vacuum drying. 1st Europ. Congr. of Applied Biotechnology, Berlin, 27.9.2011

Först, P. Kulozik, U.: Neue Möglichkeiten der Stabilisierung und Vitalitätssteigerung von Starter- und probiotischen Kulturen, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 6./7.10.11

Först, P.: Technologies for the stabilization of functional food ingredients. Universität für Bodenkultur Wien, AT, 10.10.2011

Först, P.: Gefriertrocknung und thermische Trocknung sensitiver Biomaterialien – Grundlagen und Optimierungspotenziale, Technologieseminar 2011 „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Gebhardt, R., Holzmüller, W., Steinhauer, T., Meyer, P., Kulozik, U.: Structure of casein micelle deposits on porous micro-sieves and smooth interfaces, ICEF, 11th Int. Congr. on Engineering and Food, Athen, GR, 22.-26.5.2011

Gebhardt, R., Holzmüller, W., Steinhauer, T., Meyer, P., Kulozik, U.: GISAXS study on casein micelle deposits formed after filtration, Int. Congr. on Membranes and Membrane Processes, ICOM, Amsterdam, NL, 23.-29.7.2011

Gebhardt, R., Toro, J., Kulozik, U.: High Pressure Dissociation of oligomeric β-Lactoglobulin, 49th EHPRG Conference, Budapest, HU, 28.8.-2.9.2011

Gebhardt, R., Holzmüller, W., Steinhauer, T., Meyer, P., Kulozik, U.: Structural changes of the casein micelle film structure, Milchkonferenz, Bern, CH, 12./13.9.2011

Gebhardt R.: Mechanismus des Einsalzeffektes und der Salzfällung und deren Anwendungen, Technologieseminar 2011 „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Guyot, C., Kulozik, U.: Enzymatisch unterstützte Gelbildung und Freisetzungsverhalten sensitiver physiologisch wirksamer Stoffe, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising, 6./7. Oktober 2011

Heinrich, M., Kulozik, U.: Characterisation of the pressure induced fragments of casein micelles by means of ceramic membranes, ProcessNet, Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Vlaardingen, NL, 22.-24.3.2011

Holzmüller, W., Kulozik, U.: Prozessentwicklung zur Fraktionierung der Milchfettkugelmembran, 1. Projektausschuss-Sitzung, AiF 16226 N, Freising-Weihenstephan, 15.9.2011

Holzmüller, W., Kulozik, U.: Isolation of Proteins in the Milk Fat Globule Membrane, EFFoST Annual Meeting, Berlin, 9.-11.11.2011

Kühnl W., Steinhauer T., Piry A., Gebhardt R., Kulozik U.: Impact of colloidal interactions between whey proteins on membrane fouling during micro- and ultrafiltration processes. 2011 EFFoST Annual Meeting, Berlin, 09.–11.11.2011

Kulozik, U.: Einsatz von Membrantrennverfahren zur Herstellung von Lebensmittelkonzentraten – Neue Verfahrensansätze und Möglichkeiten zur Energieeinsparung, Sitzung des Arbeitsausschusses Membrantechnik, DECHEMA, Frankfurt/Main, 27.01.2011, ,

Kulozik U., Kühnl W., Piry A., Steinhauer T.: Colloidal interactions in the deposition of casein micelles on membranes: Modelling the surface energies by contact angle measurements to understand the fractionation of milk proteins, Int. Congr. on Membranes and Membrane Processes (ICOM 2011), Amsterdam, NL, 23.-29.07.2011

Kulozik, U.: Aufklärung und Minimierung von Deckschichtbildungsvorgängen in der Crossflow-Membrantrenntechnik, FEI-Jahrestagung 2011, Erlangen, 6.-7.09.2011

Kulozik, U.: Novel processes for bio-functional and techno-functional food concepts, 7th Int. Congr. of Food Technol., Biotechnol. and Nutrition, Opatija, HR, 21.9.2011

Kulozik, U.: Proteinfraktionierung durch Mikrofiltration mittels Crossflow-UTP-Technik bzw. Gradientenmembranen, Technologieseminar 2011 „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Kulozik, U.: Eindampfen, Umkehrosmose - Grundlagen, Stand der Technik und neuere Entwicklungen, Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Kulozik, U., Kühnl W., Steinhauer T., Piry A.,. Gebhardt R.: Impact of colloidal interactions between whey proteins on membrane fouling during micro- and ultrafiltration processes, 2011 EFFoST Annual Meeting, Berlin, 9.–11.11.2011

Leeb, E., Kulozik, U., Cheison, S.: Novel Ways to Control Enzymatic Hydrolysis as a Tool to Produce Functional Peptides, BIT Life Sciences, 2nd Symp. on Enzymes & Biocatalysis-2011, Dalian, CN, 25.-29.4.2011

Leeb, E., Siegert, N., Kulozik, U.: Impact of thermal processing on stability of milk glycoproteins, ICEF, 11th Int. Congr. on Engineering and Food, Athen, GR, 22.-26.5.2011

Leeb, E., Kulozik, U., Cheison, S.: Einfluss der Substratvorbehandlung auf die tryptische Hydrolyse von β-lactoglobulin, Symposium zum Ehemaligentreffen des Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie, Freising, 1.7.2011

Leeb, E., Kulozik, U., Cheison, S.: Substrate Pre-treatment as a Tool to Control Enzymatic Hydrolysis, Milchkonferenz, Bern, CH, 12./13.9.2011

Leeb, E., Cheison, S. C., Kulozik, U.: Tryptische Hydrolyse des modifizierten β Lactoglobulin, Fraktionierung des β-Lactoglobulin Hydrolysats mittels Membranadsorptionschromatographie, 2. Projektausschuss-Sitzung AiF 16541 N, Freising, 22.11.2011

Lisak, K., Toro-Sierra, J., Kulozik, U., Božanić, R., Cheison, S. C.: Influence of temperature, pH, enzyme and substrate concentration on the chymotrypsin hydrolysis of whey proteins for recovery of native α-lactalbumin, 7th Int. Congr. Food Technol., Biotechnol. and Nutrition, Opatija, HR, 20.-23.9.2011

Meyer, P., Kulozik, U.: Präparative Proteinfraktionierung zur Analyse und Technologieoptimierung bezüglich der Vollmundigkeit und Trübungsstabilität in Bier – Aufreinigung von Proteinfraktionen im präparativen Maßstab, 1. Projektausschusssitzung AiF 17037 N, Freising, 21.11.2011

Schmitz, I., Kulozik, U., Foerst, P.: "Drying of sensitive products to drive nutrition, health and wellness" - Research topic: Minimizing losses of nutritionally valuable ingredients during drying of infant formula, Nestlé Research Center, Lausanne, CH, 18.2.2011

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Först, P.: Kinetics of available lysine losses in powdered infant formulas, DECHEMA-VDI-GVC ProcessNet, Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Vlaardingen, NL, 22.-24.3.2011

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Wiesner, S., Kulozik, U., Foerst, P.: Influence of the dehydration conditions on lysine availability in an infant formula-like system, 5th Nordic Drying Conference, NDC 2011 – Helsinki, FI, 21.6.2011

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Först, P.: Kinetik des Lysinverlustes bei der Trocknung von Milchpulver, Symposium zum Ehemaligentreffen des Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie, Freising, 1.7.2011

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Först, P.: Minimierung von thermischen Effekten auf Verluste an wertgebenden Inhaltsstoffen in Babynahrungsprodukten, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 6.10.11

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Först, P.: Funktionelle Eigenschaften sprühgetrockneter Eigelbfraktionen Granula und Plasma, Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen", Freising, 27./28.10.2011

Steinhauer T., Kulozik U.: Hochanreicherung von Protein aus Milch und Molke durch Kombination energetisch optimierter Membranverfahren, Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen", Freising, 27./28.10.2011

Steinhauer T., Kulozik U.: Kombination thermischer und mechanischer Verfahren zur Haltbarmachung von Milch- und Molkenkonzentraten, Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen", Freising, 27./28.10.2011

Steinhauer T., **Kulozik U.**: Einfluss kolloidaler Wechselwirkungen auf Struktur und Eigenschaften von Kaseindeckschichten während Mikrofiltrationen, Arbeitsausschuss Membrantechnik, Frankfurt/Main, 27.1.2011

Steinhauer T., Kulozik U.: Impact of colloidal interactions between whey proteins on membrane fouling during micro- and ultrafiltration processes, EFFoST, European Federation of Food Science and Technology Annual Meeting, Berlin, 9.-11.11.2011

Steinhauer T., Kühnl W., Kulozik U.: Impact of protein interactions and transmembrane pressure on physical properties of filter cakes formed during filtrations of skim milk, 11th Int. Congr. on Engineering and Food - ICEF, Athen, GR, 22.-26.5.2011

Steinhauer T., Kulozik U.: Membranfouling während Mikro- und Ultrafiltrationen von Molkenproteinen: Erfassung eines Reaktionsmechanismus für β-Lactoglobulin, Symposium zum Ehemaligentreffen des Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie, Freising, 1.7.2011

Steinhauer T., Kulozik U.: Optimierung der Ultrafiltrationsleistung sowie Verbesserung der mikrobiologischen Qualität bei der Herstellung von WPC durch vorgeschaltete Mikrofiltration: 2. Projektausschuss-Sitzung AiF 16300 N, Freising, 28.6.2011

Steinhauer T., Kulozik U.: Präparative Proteinfraktionierung zur Analyse und Technologieoptimierung bezüglich der Vollmundigkeit und Trübungsstabilität in Bier: Grundlagen der Membrantrenntechnik. 1. Projektausschuss-Sitzung AiF 17037 N, Freising, 21.11.2011

Steinhauer T., Kulozik U.: Micro- and ultrafiltration processes of whey proteins: Impact of colloidal interactions on membrane fouling, Milchkonferenz, Bern, CH, 12./13.9.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Innovative concepts for food emulsifiers from natural resources: Influence of environmental conditions on emulsifying properties of egg yolk granula and plasma fraction, Project Meeting H.J. Heinz Co., 21.1.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula, 3. Projektausschuss-Sitzung, AiF 16009 N, Neuenkirchen-Vörden, 19.5.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Spray drying as innovative processing tool: Combined effects of spray drying and enzymatic treatment on the techno-functional properties of the dried egg yolk main fractions granula and plasma, 5th Nordic Drying Conference, (NDC), Helsinki, FI, 21.6.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula. Symposium zum Ehemaligentreffen des Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie, Freising, 1.7.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula, Emulsions-Workshop Firma G.C. Hahn, Lübeck, 19.9.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Die Rolle von Protein-Protein und Protein-Material Wechselwirkungen in lebensmittelverfahrenstechnischen Prozessen und deren Bestimmung über oberflächenenergetische Methoden, KRÜSS Fachtagung zur Kontaktwinkelmessung und Schaumanalytik, München , 12.10.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Funktionelle Eigenschaften sprühgetrockneter Eigelbfraktionen Granula und Plasma. Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula, 4. AiF-Projektausschuss-Sitzung AiF 16009 N, Freising, 7.12.2011

Toro-Sierra, J., Kulozik, U.: Optimization of spray drying conditions of microparticulated whey proteins in laboratory and pilot plant scale towards minimization of particle size, 5th Nordic Drying Congress NDC 2011 – Helsinki, FI, 19.–21.6.2011.

Toro-Sierra, J., Kulozik, U.: Production of microparticles from whey protein fractions and analysis of their techno-functional properties, Milchkonferenz, Bern, CH, 12./13.9.2011

Toro-Sierra, J., Kulozik, U.: Production, drying and functional properties of microparticulated whey protein fractions, 6th Int. Whey Conf., IWC2011, Chicago, USA, 18.–22.9.2011

Toro-Sierra, J., Tolkach, A., Kulozik, U.: Anwendung der selektiven Fällung und der Renaturierung zur Fraktionierung von Molkenproteinen, Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Fractionation of whey proteins by means of membrane adsorption chromatography, ICEF, 11th Int. Congr. on Engineering and Food, Athen, GR, 22.-26.5.2011

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Tangential-flow adsorptive membranes for high throughput fractionation of whey proteins, Milchkonferenz, Bern, CH, 12./13.9.2011

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Whey Protein Fractionation in One Unit Operation: A Lab Scale Approach, 6th Int. Whey Conference IWC2011, Chicago, USA, 18.–22.9.2011

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Chromatographische Proteinfraktionierung aus unfiltrierten Lebensmitteln und Fermentationsbrühen, Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, Freising, 27./28.10.2011

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Präparative Proteinfraktionierung zur Analyse und Technologieoptimierung bezüglich der Vollmundigkeit und Trübungsstabilität in Bier – Proteine in Bierwürze: Einfluss auf die Bierqualität, 1. Projektausschusssitzung AiF 17037 N, Freising, 21.11.2011

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Fraktionierung von Proteinen aus Molke mit adsorptiven Membranen. 2. Projektausschuss-Sitzung, AiF 16540 N, Freising, 5.12.2011

Würth, R., Kulozik, U., Först, P.: In-vivo-Untersuchungen der probiotischen Effekte von in Milchproteinen mikroverkapselten probiotischen Keimen. 2. Projektausschuss-Sitzung, AiF 16537 N, Freising, 8.9.2011

Würth, R., Kulozik, U., Först, P.: Einsatz der Sprühtrocknung zur Mikroverkapselung funktioneller Inhaltsstoffe. Technologieseminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Starterkulturen“, Freising, 27./28.10. 2011

Posterpräsentationen

Aschenbrenner, M., Kulozik, K., Foerst, P.: Freeze drying of microorganisms and the protective effect of sugar glasses. ECCE/ECAB 8th European Congress of Chemical Engineering & 1st European Congress of Applied Biotechnology, Berlin, 25.-29.9.2011

Brand, J., Kulozik, U.: Influence of lysozyme on egg white protein stabilized foam structures, EFFoST, European Federation of Food Science and Technology Annual Meeting, Berlin, 9.-11.11.2011

Dombrowski, J., Kulozik, U.: Membrane based food aeration: foam structures as influenced by preparation process, EFFoST, European Federation of Food Science and Technology Annual Meeting, Berlin, 9.-11.11.2011.

Guyot, C., Kulozik U.: Influence of transglutaminase-treated milk powders on the properties of acid-induced milk protein gels, ProcessNet - Jahrestreffen des Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Vlaardingen, NL, 22.-24.3.2011

Heinrich, M., Rauh, V., Zurawski,S., Kulozik, U.: Characterisation of the pressure induced fragments of casein micelles by means of ceramic membranes, World Dairy Summit, Parma, IT, 15.-19.10.2011

Kühnl W., Steinhauer T., Kulozik, U.: Impact of protein interactions and transmembrane pressure on physical properties of filter cakes formed during filtrations of skim milk. Int. Congr. on Membranes and Membrane Processes, ICOM, Amsterdam, NL, 23.-29.7.2011

Leeb, E., Kulozik, U., Cheison, S. C.: Neue Verfahren zur gezielten enzymatischen Hydrolyse von Milchproteinen. ProcessNet - Jahrestreffen des Fachausschusses Lebensmittelverfahrenstechnik, Vlaardingen, NL, 22.-24.3.2011

Leeb, E., Kulozik, U., Cheison, S. C.: Novel ways to control enzymatic hydrolysis as a tool to produce functional peptides. ICEF, 11th Int. Congr. on Engineering and Food, Athen, GR, 22.-26.5.2011

Pruß, K., Stirtzel, S., Kulozik, U.: Aseptic Packaging – Influence of surface properties of microorganisms on inactivation by means of hydrogen peroxide vapor. World Dairy Summit, Parma, IT, 15.-19.10.2011

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Först, P.: Influence of temperature and the physical state on available lysine in powdered infant formula. ICEF, 11th Int. Congr. on Engineering and Food, Athen, GR, 22.-26.5.2011

Steinhauer, T., Gebhardt R., Holzmüller, W., Perlich J., Kulozik U.: Milk proteins on smooth and porous surfaces, HASYLAB Users' Meeting, Hamburg, 26.-28.1.2011

Steinhauer T., Kulozik, U.: Membrane fouling during micro- and ultrafiltration of whey proteins: The role of native and aggregated β-Lactoglobulin, Int. Congr.on Membranes and Membrane Processes (ICOM), Amsterdam, NL, 23.-29.7.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Innovative concepts for food emulsifiers from natural resources: Influence of environmental conditions on emulsifying properties of egg yolk granula and plasma fraction, ProcessNet Jahrestreffen der Fachausschüsse Lebensmittelverfahrenstechnik und Mehrphasenströmungen, Frankfurt/Main, 23.-25.3.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Influence of environmental conditions on emulsifying properties of egg yolk granula and plasma fraction, 5. Karlsruher Lebensmittelsymposium, Karlsruhe, 27.-29.3.2011

Strixner, T., Betz, M., Kulozik, U.: Fractionation of liquid egg yolk: Influence of chemical and structural characteristics of egg yolk granular and plasma fraction on the continuous centrifugal separation process, ICEF, 11th Int. Congr. on Engineering and Food, Athen, GR, 22.-26.5.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Influence of chemical and structural characteristics of egg yolk granular and plasma fraction on the continuous centrifugal separation process, Zentralinstitut für Ernährung und Lebensmittelforschung, Workshop, Westerham, 14./15.10.2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Combined effects of spray drying and enzymatic treatment on the interfacial and emulsifying properties of the dried egg yolk main fractions granula and plasma, EFFoST, Europ. Fed. of Food Sci. Technol. Annual Meeting, Berlin, 9.-11.11.2011

Toro-Sierra, J., Kulozik, U.: Mikropartikulierte Molkenproteinfraktionen und deren Einsatz bei der Strukturgestaltung von Milchprodukten. 5. Symp. Produktgestaltung in der Partikeltechnologie, Fraunhofer ICT, Pfinztal (Berghausen), 19./20.5.2011.

Toro-Sierra, J., Kulozik, U.: Functional properties of microparticulated whey protein fractions. EFFoST, Europ. Fed. of Food Sci. Technol. Annual Meeting, Berlin, 9.-11.11.2011

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Adsorptive tangential-flow membranes for high throughput fractionation of whey proteins from cheese whey. Int. Congr. on Membranes and Membrane Processes, ICOM, Amsterdam, NL, 23.-29.7.2011

Viturro, E., Holzmüller, W., Kulozik, U., Meyer, H.: Milk fat globule diameter and cholesterol content in milk. Zentralinstitut für Ernährung und Lebensmittelforschung, Workshop, Westerham, 14./15.10.2011

Würth, R., Kulozik, U., Först, P.: Microencapsulation of probiotics by spray-drying. EFFoST, Europ. Fed. of Food Sci. Technol. Annual Meeting, Berlin, 9.-11.11.2011

Veröffentlichungen

Wissenschaftliche Originalarbeiten (Peer reviewed)

Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Foerst, P.: In-situ determination of the physical state of biological samples during freeze-drying. Drying Technology, 29 (4) 461-471, 2011

Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Foerst, P.: The role of the glassy state in production and storage of freeze-dried starter cultures. Procedia Food Science, Vol. 1, 347-354, 2011

Bauer, S.A.W., Schneider, S., Behr, J. Kulozik, U., Foerst, P.: Combined influence of fermentation and drying conditions on survival and metabolic activity of starter and probiotic cultures after low-temperature vacuum drying, J. Biotechnol., doi:10.1016-/j.jbiotec.2011.06.010

Betz, M., Kulozik, U.: Whey protein gels for the entrapment of bioactive anthocyanins from bilberry extract, Int. Dairy J., 21, 703–710, 2011

Betz, M., **Kulozik, U**.: Microencapsulation of bioactive bilberry anthocyanins by means of whey protein gels, Procedia Food Science, Vol. 1, 2047-2056, 2011

Cheison S. C., **Brand, J., Leeb, E., Kulozik, U.**: Analysis of the effect of temperature changes combined with different alkaline pH on the β-lactoglobulin trypsin hydrolysis pattern using MALDI-TOF-MS/MS, J. Agric. Food Chem. 59 (5) 1572-1581, 2011

Cheison S. C., **Ming-Yu Lai, Leeb, E., Kulozik, U.**: Hydrolysis of β-lactoglobulin by trypsin under acidic pH and analysis of the hydrolysates with MALDI-TOF-MS/MS, Food Chem. 125 (4) 1241-1248, 2011

Cheison S. C., E. Leeb, J. Toro-Sierra and Kulozik, U.: Influence of hydrolysis temperature and pH on the selective trypsinolysis of whey proteins and potential recovery of native alpha-lactalbumin, International Dairy Journal 21 (3) 166-171, 2011

Cheison S. C., **Leeb, E., Letzel, T., Kulozik, U.**: Influence of the buffer type and concentration on the peptide composition of trypsin hydrolysates of β-lactoglobulin, Food Chem. 125 (1) 121-127, 2011

Först, P.; Kulozik, U.: Modelling the dynamic inactivation of the probiotic bacterium *L. paracasei* during a low temperature drying process based on stationary data in concentrated systems Food and Bioprocess Technol., 10.1007/s11947-011-0560-4, 2011

Först, P., Kulozik, U., Schmitt, M., Bauer, S., Santivarangkna, C.: Storage stability of vacuum-dried probiotic bacterium *L. paracasei,* Food Bioproduction Processing, 3, 2–7, 2011

Gebhardt R., Takeda N., Kulozik, U., Doster, W.: Structure and Stabilizing Interactions of Casein Micelles Probed by High-Pressure Light Scattering and FTIR, J. Physical Chem. B, 10, 115, 2349-2359, 2011

Gebhardt, R., Kulozik, U.: High Pressure Stability of Protein Complexes studied by Static and Dynamic Light Scattering, High Pressure Res., 1, 31, 243-252, 2011

Gebhardt, R., Holzmüller, W., Zhong, Q., Müller-Buschbaum, P., Kulozik, U.: Structural ordering of casein micelles on silicon nitride micro-sieves during filtration, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 1, 88, 240-245, 2011

Gebhardt, R., Vendrely, C., Kulozik, U.: Structural characterization of casein micelles: Shape changes during film formation, J. Phys.: Condens. Matter, 44, 23, 1-7, 2011

Gebhardt R., Holzmüller W., Zhong Q., Müller-Buschbaum P., Kulozik U.: Formation and structure of casein micelle cakes on micro-sieves during dead-end filtration, Procedia Food Science, Vol. 1, 2033-2039, 2011

Guyot, C., Kulozik, U.: Effect of transglutaminase-treated milk powders on the properties of skim milk yoghurt. Int. Dairy J., 21 (9) 628–635, 2011

Heidebach, Th.; Leeb, E., Först, P.; Kulozik, U.: Microencapsulation of probiotic cells, Colloids in biotechnology, Monzer Fanun (Ed), CRC Press, 2011

Heinrich, M., Kulozik, U.: Study of chymosin hydrolysis of casein micelles under ultra high pressure: Effect on re-association upon pressure release, Int. Dairy J., 21, 664-669, 2011

Leeb, E., Kulozik, U., Cheison, S. C.: Thermal pre-treatment of β-Lactoglobulin as a tool to steer enzymatic hydrolysis and control the release of peptides, Procedia Food Science, Vol. 1, 1540–1546, 2011

Oidtmann, J., Schantz, M., Mäder, K., Baum, M., Berg, S., Betz, M., Kulozik, U., Leick, S., Rehage, H., Schwarz, K., Richling, E.: Preparation and comparative release characteristics of three anthocyanin encapsulation. J. Agric. Food Chem., DOI: 10.1021/jf2047515, online 19.12.2011

Özer, B., Guyot, C., Kulozik, U.: Simultaneous use of transglutaminase and rennet in milk coagulation: Effect of initial milk pH and renneting temperature, Int. Dairy J., online 15.11. 2011

Santivarangkna, C., Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Foerst, P.: Role of Glassy State on Stabilities of Freeze-Dried Probiotics, Journal of Food Science, 76 (8) 152-156, 2011

Santivarangkna, C., Kulozik, U. and Foerst, P.: Storing Lactic Acid Bacteria: Current Methodologies and Physiological Implications, K. Papadimitriou and E. Tsakalidou (Eds.): Stress Response in Lactic Acid Bacteria, Springer Publisher, ISBN-10:0387927700, 2011

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Foerst, P.: Influence of temperature and the physical state on available lysine in powdered infant formula. Procedia Food Science, Vol 1, 1031-1038, 2011

Schmitz, I.; Gianfrancesco, A.; Kulozik, U.; Först, P.: Kinetics of Lysine Loss in an Infant Formula Model System at Conditions Applicable to Spray Drying, Drying Technology 29, 1876-1883, 2011

Steinhauer, T., Kühnl, W., Kulozik, U.: Impact of protein interactions and transmembrane pressure on physical properties of filter cakes formed during filtrations of skim, Procedia Food Science, Vol. 1, 886-892, 2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Egg Proteins, Handbook of food proteins, edited by G. O. Phillips and P. A. Williams, Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, UK, ISBN 978-1-84569-758-7

Toro-Sierra, J., Tolkach, A., Kulozik, U.: Fractionation of α-Lactalbumin and β-Lactoglobulin from Whey Protein Isolate Using Selective Thermal Aggregation, an Optimized Membrane Separation Procedure and Resolubilization Techniques at Pilot Plant Scale, Food and Bioprocess Technology, DOI: 10.1007/s11947-011-0732-2, online, 2011

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Fractionation of whey proteins by means of membrane adsorption chromatography. Procedia Food Science, Vol. 1, 900-907, 2011

Proceedings und Fachpublikationen

Aschenbrenner, M., Kulozik, U., Foerst, P.: The role of the glassy state in production and storage of freeze-dried starter cultures, Proc. 11th Int. Congr. on Engineering and Food (ICEF), Vol. II, 957-958, 2011

Aschenbrenner M., Kulozik, U., Foerst, P.: Microbial inactivation kinetics and the glassy state in freeze-dried systems, Proc. 5th Nordic Drying Conference (NDC), 2011

Brand, J., Strixner, T., Kulozik, U.: Innovative Food Foaming Additives: Interfacial and Foaming Properties of Lysozyme and Lysozyme Free Egg White, Proc. 3rd International Conference on Biofoams, 192-198, 2011

Dombrowski, J., Kulozik, U.: Innovative membrane based food aeration: foam structures as influenced by preparation process, Proc. 3rd Int. Conf. on Biofoams, 199-205, 2011

Först, P., Gebhardt, R., Kulozik, U.: Neue Forschungsgebiete in der Lebensmittelverfahrenstechnik: Fraktionierung und Stabilisierung von sensitiven funktionellen Stoffen für Lebensmittel, GIT Labor-Fachzeitschrift, 9, 592-595, 2011

Först, P., Bauer, S.A.W., Kulozik, U., Behr, J.: Niedertemperatur-Vakuumtrocknung zur Stabilisierung von Milchsäurebakterien, Deutsche Molkerei-Zeitung (DMZ), 16, 24-28, 2011

Gebhardt, R., Steinhauer, T., Perlich, J., Niedermeier, M., Koerstgens, V., Müller-Buschbaum, P., Kulozik, U.: Milk proteins on smooth and porous surfaces, Desy-Annual Report 2010, Photon Science-HasyLab, 1-2, 2011

Gebhardt, R., Holzmüller, W., Zhong, Q., Müller-Buschbaum, P., Kulozik, U..: Casein micelles on silicon-sieves studied by atomic force microscopy and light scattering, Proc. 11th Int. Congr. Engineering and Food, (ICEF), Vol. I, 13-14, 2011

Kühnl, W., Piry, A., Gebhardt, R., Kulozik, U.: Aufklärung und Minimierung von Deckschichtbildungseffekten in der Crossflow-Membrantrenntechnik, Dok. FEI Jahrestagung Erlangen, 99-113, FEI Bonn, 2011

Leeb, E., Kulozik, U., Cheison, S. C.: Novel ways to control enzymatic hydrolysis as a tool to produce functional peptides. Proc. 11th Int. Congr. on Engineering and Food (ICEF), Vol. III, 2099-2100, 2011

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Foerst, P.: Available lysine in powdered infant formula as described by reaction kinetics. Proc. 11th Int. Congr. on Engineering and Food, (ICEF), Vol. II, 1801-1802, 2011

Schmitz, I., Gianfrancesco, A., Wiesner, S., Kulozik, U., Foerst, P.: Influence of the dehydration conditions on lysine availability in an infant formula-like system, Proc. 5th Nordic Drying Conference (NDC), 2011

Steinhauer, T., Kühnl, W., Kulozik, U.: Impact of protein interactions and transmembrane pressure on physical properties of filter cakes formed during filtrations of skim, Proc. 11th Int. Congr. on Engineering and Food (ICEF), Vol. I, 375-376, 2011

Strixner, T., Betz, M., Kulozik, U.: Fractionation of liquid egg yolk: Influence of chemical and structural characteristics of egg yolk granular and plasma fraction on the continuous centrifugal separation process. Proc. 11th Int. Congr. on Engineering and Food, (ICEF), Vol. III, 1687-1688, 2011

Strixner, T., Kulozik, U.: Spray drying as innovative processing tool: Combined effects of spray drying and enzymatic treatment on the techno-functional properties of the dried egg yolk main fractions granula and plasma, Proc. 5th Nordic Drying Conference (NDC), 2011

Toro-Sierra, J., Kulozik, U.: Mikropartikulierte Molkenproteinfraktionen und deren Einsatz bei der Strukturgestaltung von Milchprodukten, Proc. 5. Symposium Produktgestaltung in der Partikeltechnologie, Fraunhofer ICT, Pfinztal, 2011

Toro-Sierra, J., Kulozik, U.: Optimization of spray drying conditions of microparticulated whey proteins in laboratory and pilot plant scale towards minimization of particle size, Proc. 5th Nordic Drying Conference (NDC), 2011,

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Fractionation of whey proteins by means of membrane adsorption chromatography. Proc. 11th Int. Congr. on Engineering and Food, (ICEF), Vol. I, 381-382, 2011

Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. 6./7.10.2011 in Weihenstephan

Technologie-Seminar „Konzentrieren und Trocknen von Lebensmitteln und Zellkulturen“, 27./28. 10.2011 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 15611 N „Clustervorhaben: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 17./18.1.2011 in Bonn

AIF-FV 15611 N „Clustervorhaben: Bioaktive Inhaltsstoffe aus mikrostrukturierten Multikapselsystemen“, Abschlußsitzung des Projektausschusses am 9.11.2011 in Karlsruhe

AIF-FV 16009 N „Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 19.5.2011 in Neuenkirchen-Vörden

AIF-FV 16009 N „Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch-funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Plasma und Granula“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 7.12.2011 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 16226 N „Prozessentwicklung zur Fraktionierung der Milchfettkugelmembran“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 15.9.2011 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 16300 N „Optimierung der Ultrafiltrationsleistung sowie Verbesserung der hygienischen Qualität bei der Herstellung von Molkekonzentraten durch vorgeschaltete Mikrofiltration (MF)“, Sitzung des Projektausschusses am 28.6.2011 in Freising-Weihenstephan.

AIF-FV 16537 N „In-Vivo Untersuchungen der probiotischen Effekte von in Milchproteinen mikroverkapselter probiotischer Keime“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 8. September 2011 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 16540 N „Fraktionierung von Proteinen aus Molke mit adsorptiven Membranen“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 5.12.2011 in Freising-Weihenstephan

AIF FV 16541 N „Technologische Potenziale zur Fraktionierung von Milchproteinhydrolysaten“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 22.11.2011 in Freising-Weihenstephan

AIF-FV 17037 N Clustervorhaben: „Präparative Proteinfraktionierung zur Analyse und Technologieoptimierung bezüglich der Vollmundigkeit und Trübungsstabilität in Bier“, Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 21.11.2011 in Freising-Weihenstephan

Typprüfungen

Typprüfung der Eiscrememaschine PASTOMASTER RTL (Fa. Carpigiani, Anzola Emilia/Italien) nach den Richtlinien des Erhitzerausschusses für Dauererhitzer, Bericht W – ED 04/11. Freising-Weihenstephan, 13.7. 2011

Exkursionen

1-Tages-Exkursion im Rahmen der Vorlesung Bioprozesstechnik zur Fa. Roche, Penzberg am 11.2.2011

2-Tages-Exkursion im Rahmen der Vorlesung Technologie der Milch- und Milchprodukte, Molkereien im Allgäu: Karwendel, Müller, Alpavit vom 31.3 - 1.4.2011

5-Tages-Pfingstexkursion im Rahmen der Vorlesung Lebensmittelverfahrenstechnik zu Betrieben in Norditalien (Parma, Modena) vom 13.-17.6.2011

2-Tages-Exkursion im Rahmen der Vorlesung Technologie der Milch- und Milchprodukte, Nürnberg: Fa. Zott, Danone, Rosen Eiscreme am 25./26.8.2011

Partnerschaft Technische Universität München in bayerischen Gymnasien

Im Rahmen des TUM–Programms „Partnerschaft Schule“ werden betreut:

Dom-Gymnasium, Freising (OStD Manfred Röder)
Staatliches Gymnasium, München-Moosach (StD René Horak)
Katharinen-Gymnasium, Ingolstadt (OStD Dr. Reinhard Kammermayer)
Gnadenthal-Gymnasium, Ingolstadt (OStD Kurt Müller)

Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen bzw. Mitarbeit in Hochschulgremien

Kulozik, U.

- Mitglied im Editorial Board von Int. Dairy Journal (IDJ) und Food Sci. and Technol (LWT)
- Mitglied im Wiss. Ausschuss des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
- Mitglied im Wissenschaftlichen Beirat des Milchindustrieverbandes (MIV) e.V.
- Mitglied im Technologieausschuss des Verbandes Deutscher Marktmolkereien (VDM)
- Gewähltes Mitglied des Studienfakultätsrates Brau- und Lebensmitteltechnologie
- Berufenes Mitglied im ProcessNet Arbeitsausschuss „Membrantechnik“ und im Arbeitsausschuss „Lebensmittelverfahrenstechnik“
- Gewählter Gutachter der Allianz Industrie Forschung (AIF) "Otto von Guericke" e.V.
- Prodekan der Fakultät des Wissenschaftszentrums Weihenstephan der TU München

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V.

Adresse

Geschäftsführung:
Thomas Strixner, Tim Steinhauer
Vorstand:
Prof. H.C. Langowski

Weihenstephaner Berg 1
D – 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-2507
Telefax: 08161-71-4384
Email: wmbl@wzw.tum.de
Internet: www.verband-weihenstephan.de

Verbandsinformation 2011 (Stand 31.12.2011)

Mitglieder insgesamt: 1759 (Vorjahr: 1664)

Mitgliedsbeitrag: 20,00 Euro pro Jahr

Versammlungen: Vorstandssitzung am 03.03.2011
Vorstandssitzung am 05.10.2011
Mitgliederversammlung am 06.10.2011

Geförderte Exkursionen

Lehrstuhlexkursionen:

11.05.-13.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr. H.-C. Langowski) der TUM mit 7 Studenten zur Fachmesse „Interpack“ in Düsseldorf.

14.06-17.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Verfahrenstechnik disperser Systeme (Komm. Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 35 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Hessen/Odenwald

13.06.-17.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 37 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Parma-Modena-Bologna.

25.08.-26.08 unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 25 Studenten nach Mertingen und Nürnberg

13.06.-17.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr. H.-C. Langowski) der TUM mit 19 Studenten im Raum Norddeutschland

13.06.-17.06. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr. H.-C. Langowski) der TUM mit 19 Studenten im Raum Süddeutschland

14.06.-17.06. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 15 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Baden-Württemberg.

14.06.-17.06. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 22 Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Bayern.

Privatexkursionen:
Neben den universitär organisierten Fachexkursionen wurden im Jahr 2011 auch 17 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 dritten Mal in Folge wurden in diesem Jahr zusätzlich zum Preis für „herausragende Diplom- und Masterarbeiten“ Preise für die beste Bachelorarbeit und die beste Doktorarbeit verliehen.

Der mit 500 € dotierte Preis für die beste Semester-/Bachelorarbeit wurde in diesem Jahr an **Herrn Sven Peter Wiesner** aus Gelnhausen für seine mit der Note 1,0 bewertete Semesterarbeit zum Thema „Einfluss der Dehydratisierungsbedingungen auf den Lysinverlust in Milchpulver“.

Der zum 16. Mal in Folge ausgeschriebene Preis des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. für die beste Diplom-/Masterarbeit, der mit 1000 € dotiert ist, wurde in diesem Jahr infolge einer Pattsituation nach dem Begutachtungsprozess gesplittet. Anlässlich der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung am 06. Oktober 2011 wurde ein Preis für die beste Masterarbeit an **Frau Stefanie Wüstner, M.Sc.,** aus Engelskirchen verliehen. In Ihrer Arbeit (Note 1,0) beschäftigte Sie sich mit den „Molecular effects of acidified nitrite on Listeria monocytogenes“. Ein Preis für die beste Diplomarbeit ging an **Herrn Dipl.-Ing. Wolfgang Holzmüller** aus Freising. In seiner Arbeit (Note 1,0) beschäftigte er sich mit der „Untersuchung von Deckschichtstrukturen abgelagerter Caseinmiellen während der Filtration“.

Den Preis für herausragende Doktorarbeiten (2000 €) erhielt **Herr Dr.-Ing. Wolfgang Kühnl** aus Nortrup. Er schloss seine Dissertation mit dem Titel „Kolloidale Wechselwirkungen zwischen Proteinen im Zusammenspiel mit fluid-dynamischen Kräften an der Grenzfläche von Filtrationsmembranen - gezeigt am Beispiel der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration“ am Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie mit summa cum laude ab.

Der Verband gratuliert allen Preisträgern sehr herzlich und freut sich auch zukünftig über Studenten und Wissenschaftler die sich in der milchwirtschaftlichen, bio- und lebensmitteltechnologischen Forschung in Weihenstephan engagieren.

Ehrung langjähriger Verbandsmitglieder

Neben den studentischen Preisträgern werden bereits seit vielen Jahren langjährige Mitglieder des Verbandes im Rahmen der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung geehrt.

In diesem Jahr konnten Herrn Prof. Dr. Alfred Schebler, Herrn Johann Dankesreiter sowie Herrn Helmut Klein zu Ihrer 40-jährigen Mitgliedschaft und Herrn Hansjörg Voit, Herrn Herbert Schuster zu ihrer 50jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden. Herrn Josef Koch, Herrn Horst Ziegenhain, Herrn Hermann Krämer konnte zu ihrer 60jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden.

Durch die langjährige Treue haben die Jubilare Vorbildfunktion erworben. Professor Langowski überreichte den anwesenden Jubilaren einen Milchkrug mit der Aufschrift: „Zur Erinnerung an Weihenstephan“.

Verleihungsrichtlinien zum Preis für Semester-, Bachelor- , Diplom-, Master sowie Doktorarbeiten von Verbandsmitgliedern

Präambel

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ist einer der traditionsreichsten Hochschulverbände mit über 1700 Mitgliedern. Das stetige Wachsen des Verbands ist eng mit den Erfolgen der Absolventen der Lebensmittelforschung in Weihenstephan verbunden. Der Verband möchte durch die Vergabe eines Preises für herausragende Studien-/Forschungsleistungen die Verbundenheit zu den Forschungsinstituten noch stärker zum Ausdruck bringen und die studentischen Mitglieder dazu ermutigen, sich an den Einrichtungen der Lebensmittelforschung weiter zu engagieren.

Dotierung

Die Preise werden je nach Kategorie mit folgenden Beträgen honoriert:

- Semester- oder Bachelorarbeit: 500 €
- Diplom- oder Masterarbeit: 1000 €
- Doktorarbeit: 2000 €

In jeder Kategorie wird jährlich jeweils ein Preis verliehen.

Auswahlkriterien

- Der/die Ausgezeichnete muss Mitglied beim Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. sein.
- Es muss sich um eine herausragende Arbeit in Zusammenhang mit einer überdurchschnittlichen Gesamtnote handeln.
- Die Arbeit muss thematisch aus einem milchwirtschaftlichen, bio- oder lebensmitteltechnologischen Forschungsbereich kommen.

Bewerbung und Verleihungsverfahren

Die Arbeit muss vom betreuenden Institut bzw. Lehrstuhl nominiert werden. Die Arbeit wird zusammen mit einem Bewerbungsformular (erhältlich unter www.verband-weihenstephan.de) bei der Geschäftsstelle des Verbands Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. zu folgenden Daten eingereicht:

- Semester- oder Bachelorarbeit: bis 30. April
- Diplom- oder Masterarbeit: bis 30. Juni
- Doktorarbeit: bis 30. Juni

Die Arbeit darf als ältestes Datum (Abgabetermin beim Lehrstuhl) den 30. April/Juni des Vorjahres tragen. Der Preis für die Semester-/Bachelorarbeit wird am Weihenstephaner Hochschultag verliehen. Die Preise für Diplom-/Master- und Doktorarbeit werden vom Vorstand des Verbands jährlich bei der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung verliehen. Nur der Verbandsvorstand ist berechtigt, die Preisträger öffentlich bekannt zu geben.

Jury

Die Jury besteht aus 5 Professoren der TUM und der Fachhochschule Weihenstephans. Die Jury kontrolliert, ob die vorgeschlagenen Kandidaten den Bedingungen dieser Verleihungsrichtlinien entsprechen, prüft die eingereichten Unterlagen und benennt die Preisträger. Sie ist berechtigt, sich Beurteilungen von dritter Seite zu beschaffen und Kandidaten zur persönlichen Beurteilung einzuladen. Die Entscheidung der Jury ist unanfechtbar. Ein Rechtsanspruch auf Zuerkennung eines Preises besteht nicht.

Antragsformulare finden sich auf der Homepage des Verbandes oder können beim Geschäftsführer des Verbands angefordert werden.

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V.

Adresse

c/o Lebensmittelverfahrenstechnik – WZW
Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik
Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising

Telefon: 08161-71-4205
Telefax: 08161-71-4384
Mail: foerderverein.weihenstephan@t-online.de

Vorstand

1. Vorsitzender	Dr. Hans Schraml
Stellvertr. Vorsitzender	**Dr. Thomas Obersojer**
Stellvertr. Vorsitzender	Dr. Timo Winkelmann
Geschäftsführer	Univ. Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik

Zweck und Ziele der Fördervereinigung

Die Fördervereinigung wird getragen von ca. 70 Mitgliedsunternehmen aus der Milch- und Lebensmittelindustrie. Die Vereinigung hat die Aufgabe, insbesondere die milchwissenschaftliche Forschung an der TU München in ihrer ganzen Breite zur Fortentwicklung der gesamten Milch- und Lebensmittelwirtschaft zu fördern. Die Vereinigung verfolgt ausschließlich und unmittelbar gemeinnützige Zwecke im Sinne des Abschnitts steuerbegünstigte Zwecke der Abgabenordnung. Sie sucht dies zu erreichen durch:

- Bereitstellung von Mitteln für Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Milch- und Lebensmittelwirtschaft, insbesondere der milchwissenschaftlichen Forschung,
- Förderung des Nachwuchses durch Stipendien,
- ständigen Gedanken- und Erfahrungsaustausch mit der Milch- und Lebensmittelwirtschaft, den land- und milchwirtschaftlichen Organisationen, wissenschaftlichen Gesellschaften, Anstalten und Instituten des In- und Auslandes, durch Tagungen und Vorträge.

Unterstützt werden die am Campus Weihenstephan milchwissenschaftlich forschenden Einrichtungen in Form von Mitteln für neue Forschungsgebiete entweder direkt milchbezogen oder auch auf die Lebensmitteltechnologie allgemein bzw. für spezifische Ausstattungen.

Oftmals werden dadurch Vorarbeiten initiierbar, die später zu öffentlich geförderten, vorwettbewerblich durchgeführten Gemeinschaftsforschungsprojekten führen, so dass die bereit gestellten Mittel mehrfach multipliziert werden. Die Vergabe der Forschungsmittel bzw. die Auswahl der beantragten Vorhaben nimmt der Vorstand vor, wobei ein aus dem Mitgliederkreis gewähltes Kuratorium mit 12 Industrievertretern den Vorstand berät. Die Kuratoriumsmitglieder haben eine Amtszeit von 3 Jahren.

Die Mitgliedsunternehmen ermöglichen mit ihren nach der Unternehmensgröße (Umsatz) gestaffelten Beiträgen eine substratspezifische Forschung in allen relevanten Disziplinen (Physiologie, Mikrobiologie und Produktsicherheit, Analytik, Technologie und technische Innovation, Betriebswirtschaft und Biofunktionalität), die sich vorrangig mit zukunftsgerichteten Fragestellungen in der Milch- bzw. Lebensmittelwissenschaft befassen kann, die ohne diese Förderung nicht zustande kommen könnten. Insofern übernimmt die Branche ein hohes Maß an Verantwortung und Engagement in Bezug auf stetige Innovation eines Segments der Lebensmittelindustrie, das seit jeher eine Leitfunktion in der gesamten Lebensmittelbranche innehat.

Im laufenden Jahr geförderte Projekte sind nachfolgend aufgeführt:

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik

- Einsatzmöglichkeit einer antimikrobiell ausgerüsteten Deckelplatine bei der Verpackung von Milchprodukten

Abteilung Mikrobiologie

- Enteropathogene *Bacillus cereus* in Lebensmitteln: Identifizierung und Risikoabschätzung
- Nachweis psychotoleranter Bakterien in Rohmilch (Fortsetzung)

Abteilung Physiologie

- Modulation des Immunsystems neugeborener Kälber durch maternale micoRNAs in Milch

Abteilung Technologie

- Teilfinanzierung eines Durchflusszytometers zur Verbesserung der analytischen Infrastruktur

Nachwuchsforschergruppe Bioaktive Peptide und Proteintechnology

- Glycosylation of bovine ß-lactoglobulin (ß-LG) and ist effect on enzyme kinetics and peptide compositions

Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang die öffentlich durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) geförderten Forschungsprojekte im Rahmen der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“, die über den Arbeitskreis für industrielle Gemeinschaftsforschung (AiF) bzw. den Forschungskreis der Ernährungsindustrie (FEI) ausgeschrieben werden. An derartigen Vorhaben beteiligen sich Mitglieder der Fördervereinigung unter Einsatz von Mitgliedsbeiträgen regelmäßig, so dass eine enge Anbindung der Wissenschaft an industrierelevante Fragestellungen gewährleistet ist.

Beitragsordnung

1. Unternehmen

Mindestbeitrag	500,00 €	bis 10 Mio. € Umsatz
	1.000,00 €	über 10 - 50 Mio. € Umsatz
	2.500,00 €	über 50 - 125 Mio. € Umsatz
	3.750,00 €	über 125 - 250 Mio. € Umsatz
	5.000,00 €	über 250 Mio. € Umsatz

2. Einzelmitglieder

Mindestbeitrag	100,00 €

Informationstransfer – Mitgliederinformation

Ein wichtiges Hilfsmittel zum Informationsaustausch ist der **"Wissenschaftliche Jahresbericht",** der mit Unterstützung der Vereinigung zusammengestellt wird. Neben diesem Bericht sind auch regelmäßige Rundschreiben ein wesentlicher Beitrag zur Informationspolitik der Vereinigung.

Ferner führt die Fördervereinigung gemeinsam mit dem Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. die „**Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung“** durch, die sich als Branchentreffpunkt mit ca. 200 Teilnehmern einen festen Platz im Austausch zwischen Forschung und Industrie erarbeitet hat, jedoch Wert auf branchenübergreifende Beiträge legt.

Im Rahmen von spezifischen Aktivitäten werden regelmäßig **Transferseminare** für Technologie- bzw. Wissensübertragung angeboten, zu denen die Mitglieder und Interessierte gesondert eingeladen werden. Die Institute bieten jederzeit **Beratung** auch für unternehmensspezifische Fragestellungen (Technologie- bzw. Investitionsentscheidungen, Produktions- und Absatzoptimierung, Krisenmanagement) an.

Ferner steht die Fördervereinigung in engem Kontakt mit Industrieverbänden wie dem Milchindustrie-Verband (MIV) und dem Verband Deutscher Maschinen- und Anlagenbau e.V. (VDMA), die als Multiplikatoren wirken und Forschungsergebnisse in ihre jeweiligen Netzwerke hineintragen.

Interessierte Neumitglieder können das nachstehend abgedruckte Beitrittsformular verwenden.

Vereinigung zur Förderung der
Milchwissenschaftlichen Forschung
an der Technischen Universität München
in Freising-Weihenstephan e.V.

c/o Lebensmittelverfahrenstechnik - WZW
85354 Freising, Weihenstephaner Berg 1
Telefon: 0 81 61 / 71 42 05
Telefax: 0 81 61 / 71 43 84
Bankverbindung: Sparkasse Freising
Konto 171 876 - BLZ 700 510 03

B E I T R I T T S E R K L Ä R U N G

Ich (wir) erkläre(n) meinen (unseren) Beitritt zur Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München in Freising-Weihenstephan e.V. ab ..... und werde(n) gemäß Satzung/Beitragsordnung einen jährlichen Förderungsbeitrag von € .....……..... leisten. Die Bedingungen der Mitgliedschaft sind mir (uns) aus den mir (uns) übermittelten Satzungen der Vereinigung bekannt.

Name: .....

bzw. Firma: .....

Anschrift: .....

....., den ..... …….....….....

(Unterschrift)

Technischer Teil

Hinweise auf neue Techniken und Produkte

Der technische Teil des wissenschaftlichen Jahresberichtes will den Leserkreis auch in diesem Jahr über Neuigkeiten in der milchwirtschaftlichen Technologie informieren und auf neue Produkte und Angebote von Milch verarbeitenden Unternehmen hinweisen. Die Herausgeber danken den im Folgenden aufgeführten Firmen, die zu diesem Zweck eine Anzeige zur Verfügung gestellt haben und den Druck des Jahresberichtes unterstützten.

Verzeichnis der Fachfirmen

		Seite
1.	Bauer GmbH & Co. KG, Wasserburg/Inn	168
2.	Bayerische Milchindustrie eG, Landshut	167
3.	Bücker-Fachverlag GmbH & Co. KG, Bad Breisig	174
4.	DSM Food Specialities Germany GmbH, Düsseldorf	169
5.	GKC Dr. Öttl & Partner GmbH, Eching/Kronwinkl, Ndb.	175
6.	Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH , Cham	166
7.	Hofmeister Champignon Unternehmensgruppe / Käserei Champignon Hofmeister GmbH & Co. KG, Lauben im Allgäu	172
8.	Hochland AG, Heimenkirch	170
9.	Milchindustrie-Verband e.V., Berlin	166
10.	Milchwerke Schwaben eG, Ulm	168
11.	Molkerei Gropper GmbH & Co., Bissingen	170
12.	Molkerei Weihenstephan, Freising	165
13.	TÜV SÜD, München	171
14.	Zentis GmbH & Co. KG, Aachen	173
15.	Zott GmbH & Co. KG, Mertingen	172