TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

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

Wissenschaftszentrum Weihenstephan
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
Technische Universität München

Jahresbericht 2013

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am ZIEL

Milchwissenschaftliche Forschung am ZIEL Weihenstephan

Jahresbericht 2013
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 2013 bis 31. Dezember 2013

56. Band 2013
Weihenstephan, März 2014

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.-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, 2014

ISBN 978-3-939182-63-4

© 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 4
Forschung 4
I. Laktationsphysiologie 4
II. Reproduktionsbiologie 9
III. Lebensmittel, Ernährung und Umwelt 13
IV. Wachstumsphysiologie und Anabolika 15
V. Bioanalytik 15
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 19
Vorträge 20
Tagungen des Lehrstuhls 22
Veröffentlichungen 23

Versuchsstation Veitshof 26
Personal 26
Lehre 27
Forschung 28

Lehrstuhl für BWL – Marketing und Konsumforschung 28
Personal 28
Forschung 29
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 31
Veröffentlichungen 34
Vorträge 35

Seite

ZIEL - Abteilung Mikrobiologie
Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie 36
Personal 36
Einführung 37
Forschung 38
Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Habitaten 38
Arbeitsgruppe: Anpassung pathogener Bakterien an Stress 48
Arbeitsgruppe: Regulation überlappender Gene von pathogenen *Escherichia coli* durch Umweltsignale 51
Arbeitsgruppe: Infektionsstrategien pathogener Darmbakterien 53
Arbeitsgruppe: Emetische *Bacillus cereus* 60
Arbeitsgruppe: Enteropathogene *Bacillus cereus* 62
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 65
Veröffentlichungen 66

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik
Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik
und Verpackung – IVV 68
Personal 68
Forschung 68

ZIEL - Abteilung Technologie
Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie 77
Personal 77
Vorwort 78
Auszeichnungen 79
Forschung 79
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Bioprozess-, Aseptik- und Steril-Verfahrenstechnik 79
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Proteintechnologie und Mikrostruktur-Verfahrenstechnik 98
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Membran- und Chromatographie-Trenntechnik 115
Arbeitsgruppe: Forschungsgebiet Molekulare Strukturen und Biogrenzflächen 126
Habilitationen, Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten 135
Vorträge 138
Posterpräsentationen 144
Veröffentlichungen 145
Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen 146
Partnerschaft Technische Universität München in den bayerischen Gymnasien 147
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen 147

Seite

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. 148
Struktur des Verbandes 148
Zielsetzungen des Verbandes 149
Versammlungen und geförderte Exkursionen 149
Ehrungen 150
Verleihungsrichtlinien 152

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. 154
Vorstand 154
Zweck und Ziele der Fördervereinigung 154
Beitragsordnung 155
Informationstransfer – Mitgliederinformation 155
Beitrittserklärung 156

Technischer Teil 157

d | m | z

druckmedienzentrum

Druckmedienzentrum Gotha GmbH

Verkaufsbüro Süd – Jürgen Eitner

Am Mühlbachbogen 4 a · 85368 Moosburg · Tel. (0 87 61) 7 29 78 78

www.dmz-online.de · E-Mail j.eitner@dmz-online.de

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

komm. Leitung:	Univ.-Prof. Dr. agr. Michael W. Pfaffl	71-3511
Wissenschaftler:	Dr. vet. med. Ines Ballweg (seit 01.07.13)	08161 986 8442
	Dr. rer. nat. Rainer Fürst (bis 14.07.13)	71-3867
	Dr. vet. med. Katharina Gellrich (bis 30.06.13)	986 8398
	Dr. vet. med. Heike Kliem (in Mutterschutz/ Erziehungsurlaub seit 26.08.13)	08161 986 8442
	Dr. rer. nat. Vijay Paul (seit 01.01.13)	71-5552
	Dr. rer. nat. Irmgard Riedmaier-Sprenzel	-5520
	Prof. Dr. vet. med. Dieter Schams, a.D.	-3509
	Dr. rer. nat. Ales Tichopad	-3508
	PD Dr. rer. nat. Susanne E. Ulbrich (bis 31.08.13)	-4429
	Dr. med. Enrique Viturro del Rio	-3510
Sekretariat:	Gertraud Mayer	-3508
	Daniela Königsdorf	-5549
Mitarbeiter:	Elisabeth Aberl, TA	-5549
	Farzad Arbabi, TA (seit 01.05.13)	-5543
	Inge Celler, TA	-5559
	Brigitte Dötterböck, TA	-5544
	Stefanie Dommel, TA (bis 22.07.13)	08161 986 8398
	Christine Fochtmann, Veterinärtechnikerin	08161 986 8398
	Angela Sachsenhauser, TA	-5559
	Waltraud Schmid, TA	-5544

Gäste: Sithyphone **Khounsaknalath,** KYUSHU University, Faculty of Agriculture, Graduate School Kuju Agricultural Research Center, Oita, JAPAN: 03.12.12 – 28.02.13

Dr. Daniela **Bebbere,** University of Sassari, Department of Veterinary Medicine, ITALY: 08.04.13 – 03.05.13

Dr. José Néstor **Caamaño Gualdoni**, Centro de Biotecnologia Animal - SERIDA, Gijon, Asturias, Spain: 17.06.13 – 28.06.13

Yutaka **Suzuki**, KYUSHU University, Faculty of Agriculture, Graduate School of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, School of Agriculture, JAPAN: 16.07.13 – 11.10.13

Prof. Shinobu, **Yasuo,** KYUSHU University, Laboratory of Regulation in Metabolism and Behavior, Faculty of Agriculture, JAPAN: 26.08.13 – 24.09.13

Dr. Sanggun **Roh**, Tohoku University, Dept. of Animal Physiology, JAPAN: 16.09.13 – 28.09.13

Dr. Masahiro **Shibata** (a member of brain circulation, the National Agriculture and Food Research Organization (NARO), JAPAN: 24.09.13 – 28.09.13

Dr. Takafumi **Gotoh**, KYUSHU University, Bioresource Sciences, Faculty of Agriculture, Japan: 26.09.13 – 28.09.13

Dr. Mako **Nakamura,** Kyushu University Faculty of Agriculture, Japan: 25.09.13 – 27.09.13

Dr. Kaoru **Yokoo**, *Fujitsu* Limited, Kawasaki, Japan: 26.09.13 – 28.09.13

Dr. Wataru **Iwasaki**, The National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Japan: 26.09.13 – 28.09.13

Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:

Tierärzte: Christian Altenhofer (seit 01.12.2010); Ines Ballweg (bis 20.07.2013); Margarita Köpf (bis 20.07.2013)

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

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

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

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

M.Sc. Ernährungswissenschaft: Veronika Pistek (seit 01.03.2010)

M.Sc. Molekulare Biotechnologie: Swanhild Urda Meyer (seit 01.02.2008); Corina Zörgiebel (seit 01.12.12)

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

Ehrungen, Ernennungen

Berufungen:
Prof. Dr. Susanne E. Ulbrich an die Georg-August-Universität Göttingen, Biotechnologie und Reproduktion landwirtschaftlicher Nutztiere am Department für Nutztierwissenschaften der Fakultät für Agrarwissenschaften (abgelehnt)

Prof. Dr. Susanne E. Ulbrich an die ETH Zürich, Tierphysiologie, Institut für Agrarwissenschaften des Departments Umweltsystemwissenschaften (angenommen)

Preis:
Veronika Pistek erhielt den „Student Poster Award, 2nd Prize“ im Rahmen der Konferenz “Reproductive Biology, Biotechnology, Animal Welfare and Biodiversity“ in Danzig, Polen am 27.02.2013-01.03.2013:
VL Pistek, RW Fürst, SE Ulbrich “Assessing the precision of pyrosequencing for gene-specific DNA methylation analyses“

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Einfluss eines induzierten Energiedefizits auf die Laktoferrin Konzentration in Milch und die Laktoferrin Sekretion durch primäre bovine Euterepithelzellen *in vitro*

Effects of induced energy deficiency on lactoferrin concentration in milk and the lactoferrin reaction of primary bovine mammary epithelial cells in vitro

Danowski, K.; Gross, J.J.[1]; Meyer, H.H.D.; Kliem, H.: Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 97 (2013) 647-655

Bei Red Holstein Kühen wurde über drei Wochen in der Midlaktation eine diätische Energierestriktion von 49 % des totalen Energiebedarfs hervorgerufen. Am letzten Tag der Energierestriktion wurden primäre bovine Euterepithelzellen (pbMEC) von acht restriktiv gefütterten Kühen (RF) und sieben Kontroll-Kühen (CF) aus einem Liter Milch extrahiert und kultiviert. In der dritten Passage wurden die pbMEC mit hitzeinaktivierten Escherichia coli (E. coli) und Staphylococcus aureus (S. aureus) behandelt, um einen Immunstimulus auszulösen. Anschließend wurde die Genexpression und Proteinkonzentration von Laktoferrin (LF) bestimmt. Mittels eines Enzym-immuno-Assay (ELISA) wurde LF zweimal wöchentlich in der Milch vom Tag 20 post partum bis Tag 150 post partum bestimmt. Außerdem wurde LF im Zellkulturüberstand und im Zellprotein gemessen. Der LF Gehalt in der Milch stieg während der Laktation an und war während der Energierestriktion signifikant bei den RF Kühen verringert. Nach Beginn der Realimentierung stieg der LF Gehalt in der RF Gruppe sofort wieder an und erreichte höhere Werte als vor dem induzierten Energiedefizit. Der Anstieg folgte dem Aufwärtstrend der CF Gruppe. Die Zellkulturergebnisse zeigten eine bis zu siebenfache Aufregulation der Genexpression und signifikant höhere LF Konzentrationen

[1] Veterinary Physiology, Vetsuisse Faculty, University Bern, Switzerland

in der RF Gruppe im Vergleich zur CF Gruppe. E. coli bewirkte dabei einen höheren Anstieg als S. aureus. Die Ergebnisse in der Zellkultur zeigen ein ungewöhnliches Erinnerungsvermögen der aus Milch extrahierten pbMEC an die *in vivo* Situation, obwohl sie *in vitro* weiter kultiviert wurden und sich bereits in der dritten Passage befanden. Die Studie bestätigt die Verwendbarkeit der durch eine nicht-invasive Extraktion gewonnene pbMEC als Zellkulturmodell, um Einflüsse der Fütterung auf immunologische Situationen *in vivo* darzustellen.

Dexamethasone induzierte Eosinopenie ist mit einer geringeren Progesteron Produktion beim Rind assoziiert

Dexamethasone-induced Eosinopenia is associated with lower progesterone production in cattle

Kliem, H.; Rodler, D.[2]; Ulbrich, S.E.; Sinowatz, F.[2]; Berisha, B.[3]; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Reprod Dom Anim 48 (2013) 137-148

Eosinophile Zellen akkumulieren in den Kapillaren des bovinen Graafschen Follikel kurz vor der Ovulation und im frühen sich entwickelnden Corpus luteum (CL). Die Unterdrückung der Einwanderung dieser eosinophilen Zellen mit Dexamethason erlaubte es uns, ihre mögliche Funktion bei der CL Entwicklung zu untersuchen. Braunvieh Kühe (n=10) wurden zufällig in zwei Gruppen unterteilt (n=5). Jede Gruppe wurde einmal als Kontrollgruppe und einmal als Versuchsgruppe mit jeweils zwei Brunstzyklen zwischen jeder Behandlung verwendet. Achtzehn Stunden (h) nach der Zyklussynchronisation wurde entweder Dexamethason oder Kochsalzlösung gegeben. Die Ovulation wurde 24 h später mit Gonadotropin-Releasing Hormon induziert. Zwölf h später wurde erneut eine Injektion Dexamethason oder Kochsalzlösung verabreicht. Die eosinophilen Zellen wurden im Blut bis zum 7. Tag nach der ersten Dexamethason Injektion gezählt. Die Ovarien wurden am 1., 2. und 5. Tag entnommen. Es wurde die Genexpression, die Proteinkonzentration und die Lokalisation von angiogenen Faktoren, Chemokinen, Insulin-Like-Growth-Faktor 1 (IGF1) und eosinophilen Zellen untersucht. In der Versuchsgruppe wurden keine eosinophilen Zellen im CL gefunden. Progesteron im Blut fiel in der Versuchsgruppe signifikant vom Tag 8 bis 17 ab. Die Protein Konzentration von FGF2 stieg signifikant im CL Gewebe am Tag 2 an, während VEGF abfiel. Die lokale IGF1 Gen Expression im CL war nicht reguliert. Aufgrund dieser Ergebnisse nehmen wir an, dass die Migration von eosinophilen Zellen in den frühen CL kein essentieller, aber dennoch wichtiger Stimulus für die Angiogenese während der frühen CL Entwicklung im Rind ist.

[2] Institute of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Ludwig-Maximilians-University of Munich, Germany

[3] Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Prishtina, Pristinë, Kosovo

Nach Milchproteinkonzentration und Energie-korrigierter Milchmenge gruppierte mehrkalbige Kühe während der Frühlaktation – Stoffwechsel, Leistung und Effekt einer kurzzeitigen Futterrestriktion

Multiparous cows categorized by milk protein concentration and energy-corrected milk yield during early lactation – metabolism, productivity and effect of a short-term feed restriction

Sigl, T.; Gellrich, K.; Meyer, H.H.D.; Kaske, M.[4]; Wiedemann, S.[5]: J Anim Physiol Anim Nutr (2013) 278-296

Ziel dieser Studie war die Untersuchung von Milchproduktion, metabolischer Adaptation und Effekt einer kurzzeitigen Futterrestriktion (FR) während der Frühlaktation auf Schlüsselparameter des Stoffwechsels bei Kühen, die anhand Energie-korrigierter Milchmenge (ECM) und Milchproteinkonzentration gruppiert waren. 23 mehrkalbige Holstein-Friesian Kühe wurden anhand ihrer durchschnittlichen Milchproduktion an den Tagen 23 bis 25 nach der Kalbung in vier Gruppen eingeteilt: hohe Leistung (ECM) und hohe Proteinkonzentration; niedrige Leistung (ECM) und niedrige Proteinkonzentration; hohe Leistung (ECM) und niedrige Proteinkonzentration sowie niedrige Leistung (ECM) und hohe Proteinkonzentration. Die Trockenmasseaufnahme wurde für drei aufeinanderfolgende Tage auf 68,3% reduziert. Unsere Ergebnisse zeigten, dass eine kurzzeitige FR in der Frühlaktation das Energiedefizit der Kühe in allen Gruppen vergrößerte. Milchfett-, Milchprotein- und Laktosekonzentration ebenso wie Milchfettmenge wurden durch die FR nicht beeinflusst. Nach der FR war im Lebergewebe erhöhte Abundanz von mRNA feststellbar, die Enzyme im Aminosäurekatabolismus, der β-Oxidation, Glukoneogenese und Ketogenese kodieren. Ähnlich verhielt sich die für den Insulinrezeptor kodierende mRNA. Diese Veränderungen waren vor allem bei den Kühen mit hoher Milchleistung und niedriger Milchproteinkonzentration festzustellen.

Mikrofluidische Hochdurchsatz-RT-qPCR-Messungen der Immunantwort von aus Milch kultivierten primären bovinen Euterepithelzellen auf Mastitispathogene

Microfluidic high-throughput RT-qPCR measurements of the immune response of primary bovine mammary epithelial cells cultured from milk to mastitis pathogens

Sorg, D.; Danowski, K.; Korenkova, V.[6]; Rusnakova, V.[6]; Küffner, R.[7]; Zimmer, R.; Meyer, H.H.D.; Kliem, H.: Animal. 7 (2013) 799-805

Bovine Mastitis, die Entzündung des Euters, ist ein großes Problem für die Milchindustrie und das Tierwohl. Um diese Krankheit besser zu verstehen, und um zwei spezielle Verfahren für die Untersuchung des Milchdrüsen-Immunsystems anzuwenden, haben wir die Immunantwort von primären bovinen Euterepithelzellen (pbMEC) von sechs Braunviehkühen nach einer Stimulation mit den hitzeinaktivierten Mastitiserregern Escherichia coli 1303 und Staphylococcus aureus 1027 gemessen. Extrahiert und kultiviert wurden die Zellen aus Milch anstatt aus Eutergewebe, welches üblicherweise dafür verwendet wird. Die Vorteile dieser Methode sind, dass sie nicht-invasiv ist und zu weniger Kontamination mit Fibroblasten führt. Zum ersten Mal wurde die Genexpression von pbMEC mit einem mikrofluidischen

[4] Clinic for Cattle, University of Veterinary Medicine, Hannover, Germany

[5] Institute of Animal Breeding and Husbandry, Kiel, Germany

[6] Laboratory of Gene Expression, Institute of Biotechnology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

[7] Institute for Bioinformatics, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Germany

Hochdurchsatzsystem für Real-time Reverse Transkription quantitative PCR gemessen, dem BioMark HD™ von Fluidigm. Zusätzlich zur physiologischen Auswertung wurde die Präzision und die Eignung dieser Methode mit einem großen Datensatz ermittelt. Der mittlere Variationskoeffizient (± Standardfehler) zwischen wiederholten Chips war 4,3 ± 0,4 % für hoch und 3,3 ± 0,4 % für niedrig exprimierte Gene. Die Abweichungen zwischen den quantitativen PCR (qPCR)-Replikaten waren geringer als die zwischen Zellkulturreplikaten. Dies weist darauf hin, dass biologische und Zellkulturunterschiede vom Hintergrundrauschen der Messungenauigkeit unterschieden werden konnten. 22 Gene (Komplementsystem, Chemokine, inflammatorische Zytokine, antimikrobielle Peptide, Akutphaseproteine und Toll-like-Rezeptor-Signalweg) waren durch die Behandlung mit E. coli reguliert ($p<0,05$). Das am meisten regulierte Gen war jenes für das Akutphaseprotein Serum Amyloid A3 mit 618-facher Aufregulation. S. aureus induzierte eine leicht erhöhte Expression von CCL5, IL10, TLR4 und S100A12, ansonsten folgte aber keine deutliche Antwort des Immunsystems. Wir haben gezeigt, dass mit der aus Milch gewonnenen pbMEC-Kultur und mit der Hochdurchsatz-qPCR-Technik ähnliche Ergebnisse in der pbMEC-Expression wie mit konventioneller qPCR gemessen werden können, und das mit einer zufriedenstellenden Präzision. So könnte dieses Verfahren in Zukunft bei weiteren Genexpressionsuntersuchungen an pbMEC-Kulturen angewendet werden.

Das mammäre Immunsystem von Englischem Parkrind und Hochlandrind verglichen mit Braunvieh und Red Holstein

Mammary immunity of White Park and Highland cattle compared with Brown Swiss and Red Holstein

Sorg, D.; Fandrey, E.[8]; Frölich, K.[8]; Meyer, H.H.D.; Kliem, H.: Animal Genetic Resources 52 (2013) 91-104

Mastitis ist eine häufige Krankheit moderner Milchkühe, aber alte Rinderrassen scheinen natürlicherweise resistenter dagegen zu sein. Primäre bovine Euterepithelzellen der alten Rassen Hochlandrind und Englisches Parkrind (n=5) und der modernen Milchrassen Baunvieh und Red Holstein (n=6) wurden nicht-invasiv aus Milch isoliert, kultiviert und mit den hitzeinaktivierten Mastitispathogenen Escherichia coli und Staphylokokkus aureus stimuliert, um deren angeborene Immunantwort *in vitro* zu vergleichen. Mit reverser Transkription-quantitativer Polymerasekettenreaktion (RT-qPCR) unterschieden sich die Rassen in der Basalexpression von 16 Genen. Besonders die Basalexpression von CASP8, CXCL8, Toll-like Rezeptor 2 und 4 (TLR2 und TLR4) war höher bei den alten Rassen ($p<0,05$). Bei den modernen Rassen waren nach der Stimulation mehr Gene reguliert. Rassenunterschiede ($p<0,05$) wurden in der Regulation von C3, CASP8, CCL2, CD14, LY96 und TGFB1 entdeckt. Eine Hauptkomponentenanalyse konnte die alten von den modernen Rassen in der Basalexpression unterscheiden, nicht aber nach der Stimulation. ELISA-Messungen von Lactoferrin und Serum Amyloid A-Protein zeigten Rassenunterschiede in den kontroll- und S. aureus-behandelten Proben auf. Die Immunreaktion der alten Rassen erschien weniger intensiv zugunsten einer höheren Basalexpression, welche sich als günstig für die Tiere erwiesen hatte.

[8] Arche Warder, Zentrum für alte Haus- und Nutztierrassen e. V., Warder, Germany

Die angeborene Immunantwort dieser beiden alten Rassen wurde hier zum ersten Mal untersucht. Frühere Hinweise auf eine Rassen- und Tiervarianz im angeborenen Immunsystem wurden bestätigt.

Metabolischer Status und Östrus Zyklus bei Milchkühen
Metabolic status and oestrous cycle in dairy cows
Danowski, K.; Gross, J.J.[1]; Gellrich, K.; Petri, T.[9]; Van Dorland[1], H.A.; Bruckmaier, R.M.[1]; Reichenbach, H.D.[10]; Zimmer, R.[9]; Meyer, H.H.D.; Schwarz, F.J.[11]; Kliem, H.: International Journal of Livestock Production 4 (2013) 135-147

Es wurde eine Studie mit 40 mehrkalbigen Hochleistungskühen durchgeführt, um den Einfluss einer induzierten negativen Energiebilanz (NEB) auf die Reproduktionsleistung zu untersuchen. Für eine Dauer von 3 Wochen wurde eine Energierestriktion von 49% durchgeführt. Die Restriktion wurde am zwölften Tag des ersten Östruszyklus nach Tag 85 post partum (pp) begonnen. Die Ovaraktivität der Kühe wurde von Tag 20 bis Tag 150 pp dreimal wöchentlich mittels rektaler Palpation und Ultraschall kontrolliert. Zur weiteren Kontrolle wurde die Progesteron- und Hydrokortisonkonzentration in Milch zweimal wöchentlich bestimmt. Außerdem wurde einmal wöchentlich der Body Conditioning Score, das Körpergewicht sowie die Konzentrationen von Glukose, nicht veresterten Fettsäuren und beta-Hydroxybutyrat im Blut bestimmt. Die Besamung der Kühe erfolgte ca. 150 Tage pp. Je nach Zyklusaktivität bevor (Periode 1 = natürliches Energiedefizit), während (Periode 2) und nach (Periode 3) des induzierten Energiedefizits wurden die Kühe in folgende Gruppen eingeteilt: Verzögerte erste Ovulation bis Tag 45 pp, normaler Östruszyklus, verlängerter Östruszyklus und verkürzter Östruszyklus. Es wurden sporadische signifikante, aber keine klaren Effekte des metabolischen Status auf die Zyklusaktivität in Periode 1 und 2 gefunden. Besamungserfolg und Konzeptionsrate in Periode 3 waren nicht beeinflusst. Unsere Ergebnisse demonstrieren eine erstaunliche Anpassung der reproduktiven Leistung an metabolische Herausforderungen. Die Kühe waren in der Lage, sowohl die natürliche NEB in Periode 1 als auch die induzierte NEB in Periode 2 zu kompensieren, so dass metabolische Funktionsstörungen verhindert und die reproduktive Leistung aufrecht erhalten werden konnte. Es zeigte sich, dass die aus dem Futter verfügbare Energie keinen Effekt auf die Reproduktionsleistung nach mehr als 85 Tagen pp hatte. Um Fertilitätsprobleme bei Kühen besser verstehen zu können, sollte der Fokus auf die genetische Disposition von Hochleistungskühen gelegt werden, die erfolgreich mit metabolischen Herausforderungen zurechtkommen.

[9] Department of Informatics, Ludwig-Maximilians-Universität, München, Germany

[10] Animal Breeding, Bavarian State Research Centre for Agriculture, Poing, Germany

[11] Animal Nutrition, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, Germany

II. Reproduktionsbiologie

Imprinting-Variationen zwischen Geweben und im kleineren Maß zwischen Individuen stellen eine natürliche Eigenschaft von Rinder Concepti dar und korrelieren nicht mit dem Geburtsgewicht

Tissue-Specific and minor inter-individual variation in imprinting of IGF2R is a common feature of Bos taurus Concepti and not correlated with fetal weight

Bebbere, D.[12,13]; Bauersachs, S.[12,14]; Fürst, R.W.; Reichenbach, H.-D.[10]; Reichenbach, M.[12]; Medugorac, I.[15]; Ulbrich, S.E.; Wolf, E.[12,14]; Ledda, S.[13]; Hiendleder, S.[12,16,17]: PLOS ONE 8 (2013): e59564

Der insulinähnliche Wachstumsfaktor 2 Rezeptor (IGF2R) ist für die pränatale Wachstumsregulation zwingend notwendig. Für ihn wurden gene dosage Effekte auf das fötale Gewicht nachgewiesen, welche durch *in vitro* Embryo Kulturen beeinflusst werden können. Eine durch allelische Programmierung gesteuerte mütterliche Expression des Igf2R

Gens in Mäusen wurde mehrfach in allen fötalen Geweben mit Ausnahme des Gehirns gezeigt. Für den Menschen gibt es hingegen Berichte von polymorphischem Imprinting und biallelischer Expression des IGF2R. Dieser Unterschied wird evolutionären Veränderungen sowie den spezifischen Reproduktionsstrategien zugeschrieben. Zum Testen dieser Hypothese fehlen bisher aber Daten geeigneter Arten. Das Hausrind (Bos taurus) trägt gewöhnlich einen einzelnen Konzeptus mit einer ähnlichen Gestationsdauer wie der Mensch aus. Wir identifizierten aus 68 Bos taurus Föten an Tag 80 (ca. 28% der Trächtigkeitsdauer) 12 heterozygote Konzepti, die sich für eine Imprinting Studie eigneten und fanden eine vorherrschende mütterliche IGF2R Expression in allen fötalen Geweben mit Ausnahme des Gehirns, welches kein Imprinting aufweist. Inter-individuelle Variationen des allelischen Expressions-Ungleichgewichts, d.h. der Expression des paternalen Allels im Verhältnis zum maternalen Allel, befanden sich im Bereich von 4.6-8.9% im Herzen, 4.3-10.2% in den Nieren, 6.1-11.2% in der Leber, 4.6-5.8% in der Lunge und 3.2-12.2% in Skelettmuskeln. Das allelische Ungleichgewicht der mesodermalen Gewebe (Herz, Skelettmuskel) unterschied sich signifikant ($p<0.05$) von dem in endodermalen Geweben (Leber, Lunge). Die Plazenta zeigte teilweises Imprinting mit einem allelischen Ungleichgewicht von 22.9-34.7% und unterschied sich damit signifikant von allen anderen Geweben ($p<0.001$). Vier der informativen Föten wurden durch *in vitro* Fertilisation (IVF) mit Embryo-Kultur gewonnen, zwei dieser Individuen zeigten anschließend ein übermäßiges Wachstum in der Fötalentwicklung.

[12] Chair for Molecular Animal Breeding and Biotechnology, Gene Center, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

[13] Department of Veterinary Medicine, University of Sassari, Sassari, Italy

[14] Laboratory for Functional Genome Analysis (LAFUGA), Gene Center, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

[15] Chair of Animal Genetics and Husbandry, Faculty of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany

[16] JS Davies Non-Mendelian Genetics Group, School of Animal and Veterinary Sciences, The University of Adelaide, Roseworthy Campus, Roseworthy, Australia

[17] Research Centre for Reproductive Health, Robinson Institute, The University of Adelaide, Roseworthy Campus, Roseworthy, Australia

Hinweise auf Veränderung im Imprinting oder der DNA-Methylierung nach IVF ergaben sich aber nicht, ebenso wenig wie Korrelationen zwischen dem allelischen Ungleichgewicht und dem fötalen Gewicht.

Zusammenfassend ergeben sich für Bos taurus ähnliche Imprinting Effekte wie in der Maus mit Ausnahme der Plazenta. Dies könnte auf einen Effekt durch die Reproduktionsstrategie hindeuten. Normale kleinere inter-individuelle Variationen des allelischen Ungleichgewichts sowie die Abwesenheit von Imprinting Anomalien in IVF Föten lässt den Schluss zu, dass Veränderungen der IGF2R Expression in Föten mit verstärktem Wachstum eher durch andere Mechanismen als durch Veränderung im Imprinting verursacht sein könnten.

Versorgung des Präimplantationsembryos: Möglichkeiten und Limitationen verschiedener Forschungsansätze zur Untersuchung Embryo-maternaler Interaktionen beim Rind

Hosting the preimplantation embryo: potentials and limitations of different approaches for analysing embryo-endometrium interactions in cattle

Ulbrich, S.E.; Wolf, E.; Bauersachs, S.[14]: Reprod Fertil Dev 25 (2013) 62-70

Umgestaltungs- und Differenzierungsprozesse während des Zyklus weiblicher Rinder ermöglichen die Bereitstellung eines geeigneten Milieus für die finale Reifung der Keimzellen, die Befruchtung und die Etablierung der Gravidität. Eine unzureichende Rezeptivität kann sowohl die präimplantative Entwicklung als auch die Implantation behindern und somit zu embryonalen Verlusten führen. Allerdings ist Rezeptivität schwer zu fassen, da eine Vielzahl von Faktoren die Fruchtbarkeit beeinflusst. Maternale endokrine Hormone sind für die Bereitstellung eines geeigneten Milieus der Reproduktionsgewebe verantwortlich, und embryonale Signale initiieren eine Reihe von weiteren Vorgängen während der maternalen Erkennung der Gravidität. Nährstoffe, die das Wachstum und die Entwicklung unterstützen, sowie Zytokine, die an der Immunmodulation beteiligt sind, spielen dabei durch orchestriertes Auftreten eine wichtige Rolle. Der molekulare Fingerabdruck des Endometriums sowie die Zusammensetzung der uterinen Milch bezüglich der Prostaglandine und Aminosäuren ist verändert, wenn Embryonen aus somatischem Kerntransfer statt *in vitro* befruchteter Embryonen transferiert werden. Von diesen ist bekannt, dass Plazentationsanomalien häufig auftreten, die mit negativen Auswirkungen auf die spätere Entwicklung des Fötus in Zusammenhang gebracht werden können. Daraus kann gefolgert werden, dass die genetische und epigenetische Konstellation von Mutter und Embryo eine Vielzahl komplexer biologischer Prozesse im Reproduktionstrakt beeinflussen. Bereits vor der Implantation ist ein ungestörter Verlauf von physiologisch synchronisierten Ereignissen für eine erfolgreiche Trächtigkeit entscheidend. Dieser Übersichtsartikel stellt geeignete Modelle und Methoden vor, um die an diesen Vorgängen beteiligten Akteure zu erfassen und somit zum Verständnis der spezifischen Relevanz wichtiger Signalmoleküle während der frühen Gravidität beim Rind beizutragen. Die Möglichkeiten, die umfassende Transkiptom-, Proteom- und Metabolomdaten bieten, werden nicht nur hinsichtlich ihres Potenzials diskutiert, dynamische Regulationsvorgänge möglichst präzise zu erfassen. Es wird auch hinterfragt, welche Modelle eine Unterscheidung von wichtigen Signalmolekülen vor dem Hintergrund eines molekularen Rauschens erlauben. Ein interdisziplinärer Ansatz ist notwendig, um die Vielzahl dieser molekularen Daten zu interpretieren und in Zusammenhang zu bringen mit der Lösung der anhaltenden Fertilitätsprobleme bei Kühen.

Untersuchung der HOXA10 mRNA Expression und Promoter DNA Methylierung in weiblichen Nachkommen von Sauen, welchen während der Trächtigkeit Östradiol-17β verabreicht wurde

HOXA 10 mRNA expression and promoter DNA methylation in female pig offspring after in utero estradiol-17β exposure

Pistek, V.L.; Fürst, R.W.; Kliem, H.; Bauersachs, S.[14]; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 138 (2013) 435-444

Die Gesundheit kann langfristig beeinflusst werden, wenn es in frühen Lebensphasen zu einem Kontakt mit in der Umwelt vorkommenden Östrogen-wirksamen Substanzen kommt. Anhand von Studien mit Nagetieren wurde bereits gezeigt, dass das Homeobox A10 (HOXA10) Gen während früher Lebensphasen ein möglicher Angriffspunkt für endokrine Disruptoren ist, da in den Nachkommen dauerhafte Veränderungen der uterinen HOXA10 Expression und Promoter DNA Methylierung auftraten. Die hier vorliegende Studie hatte das Ziel, Langzeiteffekte von Östradiol-17β auf das im Uterus vorkommende HOXA10 Gen von Schweinen zu untersuchen. Hierzu wurde den Muttersauen während der Trächtigkeit eine niedrige (0,05 oder 10 µg/kg Körpergewicht/Tag) bzw. hohe (1000 µg/kg Körpergewicht/Tag) Dosis verabreicht und deren Nachkommen untersucht. Zusätzlich wurde analysiert, ob Promoter DNA Methylierung generell an der Regulation der HOXA10 Expression beteiligt war. Unerwarteterweise hatte die Östrogenexposition der Muttertiere weder in den pre-, noch postpubertären Nachkommen einen deutlichen Einfluss auf die HOXA10 Expression und Promoter DNA Methylierung. Obwohl Unterschiede in der HOXA10 Expression im endometrialen Gewebe während des Zyklus als auch in der Preimplantationsphase gemessen werden konnten, traten keine deutlichen Veränderungen der Promoter DNA Methylierung auf. Bei dem Vergleich von verschiedenen Geweben jedoch, welche größere Unterschiede in der Transkription von HOXA10 zeigten, korrelierte die Promoter DNA Methylierung in prepubertären weiblichen Ferkeln, nicht aber in postpubertären Sauen, mit der HOXA10 Expression. Die vorliegende Studie konnte zeigen, dass der Einfluss der Promoter DNA Methylierung auf die Genexpression beim Schwein abhängig vom Entwicklungsstadium war sowie, dass eine Exposition mit Östrogenen in einer frühen Lebensphase andere Effekte beim Schwein hervorrief, als bereits vorhandene Studien bei Nagetieren gefunden hatten. Gründe hierfür könnten sowohl endokrine Unterschiede, als auch allgemeine Besonderheiten in der Empfindlichkeit des Gewebes der verschiedenen Spezies gegenüber Östradiol-17β während empfindlichen Zeiträumen der Entwicklung sein.

Transkriptomanalysen ermöglichen die Bestimmung molekularer Faktoren in der Gebärmutterschleimhaut, die zur Fruchtbarkeit beitragen - Erkenntnisse verschiedener Nutztierspezies

Transcriptional profiling to address molecular determinants of endometrial receptivity – Lessons from studies in livestock species

Ulbrich, S.E.; Groebner, A.E.; Bauersachs, S.[14]: Methods 59 (2013) 108-115

Dieser Übersichtsartikel fasst neueste Erkenntnisse von internationalen und eigenen Studien an Nutztieren zusammen, die sich mit der Funktionsfähigkeit der Gebärmutterschleimhaut befassen. Die in einer Reihe von Studien erhobenen beeindruckenden Transkriptomdaten der Gebärmutterschleimhaut während des Zyklus und der frühen Trächtigkeit müssen mit besonderer Sorgfalt mit gezielten Versuchsansätzen überprüft werden, um aus der Vielzahl der potentiellen mRNA funktionsrelevante Gene herauszufinden. Darüber hinaus erlaubt das

Transkriptom der Gebärmutterschleimhaut wegen der besonders ausgeprägten Empfindlichkeit auf Störgrößen den Rückschluss auf ein zurückliegendes erfolgtes Signal. Damit könnten zukünftig auch bislang unbekannte embryonale Signale erkannt werden, z. B. das embryonale Erkennungssignal des Pferdes. Spezifische Biomarker der Gebärmutterschleimhaut wären zudem als Qualitätsbeurteilung für Embryonen denkbar. Über die Kenntnisse der homologen und Spezies-spezifischen Besonderheiten bei den verschiedenen Spezies (v.a. Rind, Pferd, Schwein) wird deutlich, dass Nutztiere geeignete Modelle für die Forschung im Bereich der weiblichen Fruchtbarkeit darstellen.

Expression von lymphangiogenen Gefäßendothel-Wachstumsfaktor Familiemitgliedern im bovinen Gelbkörper

Expression of lymphangiogenic vascular endothelial growth factor family members in bovine corpus luteum

Berisha, B.[3]; Schilffarth, S.; Kenngott, R.[18]; Sinowatz, F.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Anat Histol Embryol. 42 (2013) 292-303

Im bovinen Gelbkörper (CL) wurde die mRNA Expression, Proteinkonzentration sowie die Lokalisation der wichtigen lymphangiogenen Faktoren VEGFC, VEGFD sowie der Rezeptor FLT4 während verschiedener physiologischer Stadien untersucht. In Experiment 1wurden CL am Schlachthof gesammelt, und die Zyklusstadien (Tage 1-2, 3-4, 5-7, 8-12, 13-16, >18) sowie Monate der Trächtigkeit (<3, 3-5, 6-7, >8) wurden bestimmt. In Experiment 2 wurde die Luteolyse mit Hilfe von Prostaglandin 2alpha (PGF) in 30 Kühen induziert. Das PGF Analog wurde am Tag 8-12 (Mitlutealphase) appliziert, und die Gelbkörper wurden nach 0.5, 2, 4, 12, 24, 48 und 64 h entnommen. Die mRNA Expression wurde mittels RT-qPCR analysiert. Alle drei untersuchten Faktoren wurden deutlich exprimiert und zeigten signifikante Veränderungen innerhalb der Gruppen und Perioden in beiden Experimenten. Die Proteinkonzentration von VEGFD und FLT4, gemessen mittels ELISA, waren nicht messbar im frühen CL, aber stiegen während der Gravidität deutlich an auf ein höheres Plateau. Nach PGF induzierter Luteolyse stieg das FLT4 Protein 2 bis 24h nach der Injektion an. FLT4 wurde mittels Immunhistochemie im Zytoplasma von Lutealzellen schwach im frühen CL nachgewiesen. Die Färbung erhöhte sich im späten CL und besonders im CL der Gravidität. Während der Gravidität war die Färbung von FTL4 im Zellkern sowie im Zytoplasma von lymphatischen Endothelzellen zu beobachten. Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass die lymphangiogenen Faktoren im CL produziert werden und eine Bedeutung für die Regulation der Gelbkörperfunktion besonders während der Gravidität haben können.

[18] Department of Veterinary Sciences, Institute of Veterinary Anatomy, Histology and Embryology, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Germany

Expression und Lokalisation des Vaskular Endothel Wachstumsfaktor und seiner Rezeptoren im Gelbkörper während des Zyklus von Wasserbüffeln (Bubalus bubalis)

Expression and localization of vascular endothelial growth factor and its receptor in the corpus luteum during oestrous cycle in water buffaloes (Bubalus bubalis)

Chouhan, V.S.[19]; Panda, R.P.[19]; Yadav, V.P.[19]; Babitha, V.[19]; Khan, F.A.[20]; Das, G.K.[21]; Gupta, M.[19]; Dangi, S.S.[19]; Singh, G.; Bag, S.[19]; Sharma, G.T.[19]; Berisha, B.[3]; Schams, D.; Sarkar, M.[19]: Reprod Domest Anim. 48 (2013) 810-818

Ziel der Untersuchungen war der Nachweis der Expression und Lokalisation von VEGF sowie seiner Isoformen (VEGF 120, VEGF 164 und VEGF 188) und der Rezeptoren (VEGF R1 und VEGF R2) im Corpus Luteum (CL) während verschiedener Stadien im Brunstzyklus des Wasserbüffels. Die Faktoren wurden mit Hilfe der Real-time RT-PCR (qPCR), Western-blot und Immunhistochemie analysiert, um die mRNA Expression, Proteinkonzentration im Gewebe sowie die Lokalisation nachzuweisen. Alle geprüften Komponenten des VEGF Systems (VEGF Isoformen und ihre Rezeptoren) konnten im Gelbkörper des Wasserbüffels während des Brunstzyklus nachgewiesen werden. Die mRNA Expression sowie Proteinkonzentration war am höchsten in der frühen und mittleren Gelbkörperphase, um danach ständig abzufallen ($P<0,05$) nach Tag 10 mit niedrigsten Werten nach der Luteolyse. Mit Hilfe der Immunhistochemie konnte das VEGF Protein vorwiegend in Lutealzellen und die VEGF Rezeptoren 1 und 2 in Lutealzellen sowie in Endothelzellen nachgewiesen werden. Zusammenfassend kann man sagen, dass in dieser Studie das Vorhandensein des VEGF Systems im Gelbkörper von Wasserbüffeln deutlich gezeigt werden konnte. Die Ergebnisse weisen auf eine wichtige Rolle des VEGF Systems bei der Regulation der Angiogenese im Gelbkörper sowie der Proliferation von Lutealzellen und Endothelzellen während ihrer nicht angiogenen Funktion hin.

III. Lebensmittel, Ernährung, Umwelt

C57BL/6N Mäuse erhalten die Methionin-Homöostase in der Leber auch unter einer fettreichen Ernährung aufrecht, obwohl es dabei zu großen Veränderungen im C1-Stoffwechsel kommt

Hepatic Methionine Homeostasis is conserved in C57BL/6N mice on high-fat diet despite major changes in hepatic one-carbon metabolism

Dahlhoff, C.[22,23]; Desmarchelier, C.[22]; Sailer, M.[22]; Fürst, R.W.[23]; Haag, A.[22]; Ulbrich, S.E.; Hummel, B.[24]; Obeid, R.[24]; Geisel, J.[24]; Bader, B.L.[23,25]; Daniel, H.[22]: PLOS ONE 8 (2013) e57387

---

19 Physiology & Climatology, Indian Veterinary Research Institute, Bareilly, India

20 Department of Animal Sciences and D.H. Barron Reproductive and Perinatal Biology Research Program, University of Florida, Gainesville, Florida, USA

21 Animal Reproduction Division, Indian Veterinary Research Institute, Bareilly, India

22 Biochemistry Unit, PhD Group, Research Center for Nutrition and Food Sciences, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, Germay

23 Epigenetics, Imprinting and Nutrition, Research Center for Nutrition and Food Sciences, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, Germany

24 Clinical Chemistry and Laboratory Medicine/Central Laboratory University Hospital of the Saarland, Homburg, Germany

Fettleibigkeit stellt einen grundsätzlichen Risikofaktor für die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen, Dyslipidämie sowie einer nicht-alkoholbedingten Fettleber (NAFLD) dar. Eine vermehrte Fettakkumulation in der Leber ist dabei Kennzeichen einer Progression in Richtung NAFLD, bei der die Störung des Phosphatidylcholin (PC) Metabolismus eine zentrale Rolle in der Pathogenese spielen könnte. Die Synthese von PC in der Leber, welche über die Phosphatidylethanolamine N-methyltransferase mit dem C1-Metabolismus verknüpft ist, ist für den Leber-Export von Fetten durch VLDL Partikeln wichtig. In dieser Arbeit erfassten wir in Mäusen den Einfluss einer fettreichen Ernährung und des NAFLD Zustands auf die Aufwendung von Methylgruppen und des C1-Metabolismus in der Leber, indem wir Genexpression, Protein Level, Metabolit Konzentrationen und epigenetische Prozesse bestimmten. Dabei konnten wir in der Leber von Mäusen, welche durch eine fettreiche Ernährung zu Adipositas geführt wurden, eine signifikante Erniedrigung der Expression der Cystathion-B-Synthase (CBS) sowie eine Erhöhung der Betain-Homocysteine-Methyltransferase (BHMT) feststellen. *In vitro* Experimente mit Leberkrebszellen, welche durch den PPARa-Agonisten WY14,643 stimuliert wurden, zeigten eine signifikant reduzierte CBS mRNA Expression. Weiterhin wurden durch Messungen verschiedener Metabolite erniedrigte Konzentrationen an Cystathion sowie L-a-Amino-n-Butyrat als Teil des Transsulfurations-Stoffwechselwegs und erniedrigte Leber Betain Konzentrationen identifiziert. Veränderungen von Metaboliten im Methionin-Zyklus traten bei fettreich ernährten Mäusen im Vergleich zu Kontrolltieren nicht auf. Des Weiteren konnten wir in der Leber bei einer fettreichen Ernährung eine verminderte Genexpression der de novo Methyltransferase 3b, jedoch keine Effekte auf die globale DNS-Methylierung oder die DNS-Methylierung in der CBS Promoter Region feststellen. Aufgrund unserer Daten vermuten wir deshalb, dass eine fettreiche Ernährung in Mäusen eine PPARa-vermittelte negative Regulation auf Schlüsselenzyme des Transsulfurations-Stoffwechselweges sowie eine vermehrte Expression von BHMT bewirkt, um einerseits der verstärkten Prozessierung von Nahrungsfetten gerecht zu werden, andererseits aber den Vorrat der essentiellen Aminosäure Methionin aufrechtzuerhalten.

Einfluss von nicht-Stärke-Polysaccarid-degradierenden Enzymen als Futterzusatzstoffe auf die Population der Pansenbakterien in nicht laktiernden Kühen, gemessen mit real-time PCR

Effect of non-starch-polysaccharide-degrading enzymes as feed additive on the rumen bacterial population in non-lactating cows quantified by real-time PCR

Zeitz, J.O.[26]; Guertler, P.[27]; Pfaffl, M.W.; Eisenreich, R.[26]; Wiedemann, S.; Schwarz, F.J.[26]:
Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 97 (2013) 1104-1113

[25] Nutritional Medicine Unit, Research Center for Nutrition and Food Sciences, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, Germany

[26] Department of Animal Sciences, Group Animal Nutrition, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, Germany

[27] Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Oberschleißheim, Germany

IV. Wachstumsphysiologie und Anabolika

Transkriptions Biomarker - Hoch Durchsatz Screening, quantitative Verifizierung und bioinformatische Validierungsmethoden

Transcriptional biomarkers – High throughput screening, quantitative verification, and bioinformatical validation methods

Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.: Methods 59 (2013) 3-9

Molekulare Biomarker halten Einzug in viele verschiedene Forschungsbereiche, speziell in der Medizin, aber auch in anderen Bereichen wie der Lebensmittelsicherheit. Es gibt verschiedene Beispiele molekularer Biomarker, welche schon erfolgreich in der klinischen Diagnostik, speziell als prognostisches oder diagnostisches Werkzeug angewendet werden.

Molekulare Biomarker können mit Hilfe spezieller "Omic" Technologien auf verschiedenen molekularen Ebenen identifiziert werden.

Dieser Artikel beschreibt die verschiedenen molekularen Ebenen, auf welchen Biomarkerforschung möglich ist. Hierbei werden die Transkriptomics einschließlich verfügbarer Methoden und biostatistischen Anforderungen detaillierter beschrieben.

V. Bioanalytik

MIQE Richtlinien: Mindestinformationsmenge für die Publikation von quantitativen real-time PCR Experimenten

The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments

Bustin, S.A.[28,41]; Benes, V.[29]; Garson, J.A.[30,31]; Hellemans, J.[32,42]; Huggett, J.[33,43]; Kubista, M.[34,35]; Mueller, R.[36,44]; Nolan, T.[37]; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.L.[38,45]; Vandesompele, J.[32]; Wittwer, C.T.[39,40]: Clinical Chemistry 55(4): 611-22

Extra Special Reports – Übersetzung des englischen Originals ins Japanische und Arabische

---

28 Centre for Academic Surgery, Institute of Cell and Molecular Science, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, London, UK

29 Genomics Core Facility, EMBL Heidelberg, Heidelberg, Germany

30 Centre for Virology, Department of Infection, University College London, London, UK

31 Department of Virology, UCL Hospitals NHS Foundation Trust, London, UK

32 Center for Medical Genetics, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium

33 Centre for Infectious Diseases, University College London, London, UK

34 TATAA Biocenter, Göteborg, Sweden

35 Institute of Biotechnology AS CR, Prague, Czech Republic

36 Sequenom, San Diego, California, USA

37 Sigma-Aldrich, Haverhill, UK

38 Quantitative Genomics Core Laboratory, Department of Integrative Biology and Pharmacology, University of Texas Health Science Center, Houston, Texas, USA

39 Department of Pathology, University of Utah, Salt Lake City, Utah, USA

40 ARUP Institute for Clinical and Experimental Pathology, Salt Lake City, Utah, USA

Die Notwendigkeit von Transparenz und guter Laborpraxis publiziert in der qPCR - Literatur

The need for transparency and good practices in the qPCR literature

Bustin, S.A.[28,41]; Benes, V.[29]; Garson, J.[30,31]; Hellemans, J.[32,42]; Huggett, J.[33,43]; Kubista, M.[34,35]; Mueller, R.[36,44]; Nolan, T.[37]; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.L.[38,45]; Wittwer, C.T.[39,40]; Schjerling, P.[46]; Day, P.J.[47]; Abreu, M.[48]; Aguado, B.[49]; Beaulieu, J.F.[50]; Beckers, A.[51]; Bogaert, S.[52]; Browne, J.A.[53]; Carrasco-Ramiro, F.[49]; Ceelen, L.[54]; Ciborowski, K.[55]; Cornillie, P.[56]; Coulon, S.[57]; Cuypers, A.[58]; De Brouwer, S.[51]; De Ceuninck, L.[59]; De Craene, J.[56]; De Naeyer, H.[60]; De Spiegelaere, W.[61]; Deckers, K.[62]; Dheedene, A.[51]; Durinck, K.[51]; Ferreira-Teixeira, M.[48]; Fieuw, A.[51]; Gallup, J.M.[63]; Gonzalo-Flores, S.[49]; Goossens, K.[64]; Heindryckx, F.[65]; Herring, E. [50]; Hoenicka, H.[66]; Icardi, L.[59]; Jaggi, R.[67]; Javad, F.[47]; Karampelias, M.[68]; Kibenge, F.[69]; Kibenge, M.[69]; Kumps, C.[51]; Lambertz, I.[51]; Lammens, T.[70]; Markey, A.[47]; Messiaen, P.[71]; Mets, E.[51]; Morais, S.[72]; Mudarra-Rubio, A.[49]; Nakiwala,

41 Postgraduate Medical Institute, Anglia Ruskin University, Chelmsford, UK

42 Biogazelle NV, Zwijnaarde, Belgium, Center for Medical Genetics,Ghent University, Ghent,Belgium

43 Molecular and Cell Biology LGC, Teddington, UK

44 RM Consulting, San Diego, California, USA

45 Shipley Consulting, Austin, Texas, USA

46 Institute of Sports Medicine, Bispebjerg Hospital, Copenhagen, Denmark

47 Faculty of Medicine and Manchester Institute of Biotechnology, University of Manchester, Manchester, UK

48 Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal

49 Centro de Biologia Molecular Severo Ochoa (CSIC-UAM), Madrid, Spain

50 Faculty of Medicine and Health Sciences, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada

51 Center for Medical Genetics, Ghent University, Ghent, Belgium

52 Department of Gastroenterology, Ghent University, Ghent, Belgium

53 School of Agriculture and Food Science, University College Dublin, Dublin, Ireland

54 Pathlicon NV, Evergem, Belgium

55 School of Biological Sciences, University of Bristol, Bristol, UK

56 Department of Morphology, Ghent University, Merelbeke, Belgium

57 Department of Gastroenterology and Hepatology, Ghent University, Ghent, Belgium

58 Centre for Environmental Sciences, Hasselt University, Diepenbeek, Belgium

59 Department of Medical Protein Research, VIB, Ghent University, Ghent, Belgium

60 Department of Movement and Sports Sciences, Ghent University, Ghent, Belgium

61 Department of Internal Medicine, Ghent University, Ghent, Belgium

62 Center for Molecular and Vascular Biology, University of Leuven, Leuven, Belgium

63 Department of Veterinary Pathology, Iowa State University, Ames, Iowa, USA

64 Department of Nutrition, Genetics and Ethology, Ghent University, Merelbeke, Belgium

65 Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University, Uppsala, Sweden

66 Thünen Institute of Forest Genetics, Grosshansdorf, Germany

67 Department of Clinical Research, University of Bern, Bern, Switzerland

68 Department of Plant Systems Biology, VIB, Ghent University, Ghent, Belgium

69 Atlantic Veterinary College, University of Prince Edward Island, Charlottetown, Prince Edward Island, Canada

70 Department of Pediatric Hematology, Oncology and Stem Cell Transplantation, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium

71 Department of General Internal Medicine and Infectious Diseases, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium

J.[73]; Nelis, H.[74]; Olsvik, P.A.[75]; Pérez-Novo, C.[76]; Plusquin, M.[58]; Remans, T.[58]; Rihani, A.[51]; Rodrigues-Santos, P.[48]; Rondou, P.[51]; Sanders, R.[33]; Schmidt-Bleek, K.[77], Skovgaard, K.[78]; Smeets, K.[58]; Tabera, L.[49]; Toegel, S.[79]; Van Acker, T.[59]; Van den Broeck, W.[56]; Van der Meulen, J.[51]; Van Gele, M.[80]; Van Peer, G.[51]; Van Poucke, M.[64]; Van Roy, N.[51]; Vergult, S.[51]; Wauman, J.[59]; Tshuikina-Wiklander, M.[81]; Willems, E.[82]; Zaccara, S.[83]; Zeka, F.[51]; Vandesompele, J.[42,51]: Nature Methods 10 (2013) 1063-1067

Die MIQE-Guidelines sollen einen höheren Standard bezüglich der Erstellung der qPCR Ergebnisse, der PCR Prozessierung im Labor sowie deren Dokumentation gewährleisten. Es handelt sich hierbei um Empfehlungen, die den Wissenschaftlern und Laboren einen „roten Faden“ an die Hand geben sollen, welche Arbeitsvorgänge nötig, welche Qualitätskontrollen essentiell sind und wie die Methoden sowie Genexpressionsdaten richtig und verständlich publiziert werden sollen. Dadurch soll anderen Forschern die Möglichkeit gegeben werden, die publizierten Ergebnisse zu reproduzieren und sich auf die Glaubwürdigkeit der Daten und deren physiologischen Schlussfolgerungen zu verlassen.

In der MIQE Konsensus Richtlinie werden die Minimalanforderungen festgelegt, die die Autoren angeben müssen, damit ihre qPCR Daten überhaupt für eine Publikation in Betracht kommen. Ziel dabei ist, für mehr Transparenz bei Studien zu sorgen und deren Qualität zu verbessern, damit Experimente unter Einsatz von qPCR auch von anderen Forschern genau reproduziert werden können und somit die wissenschaftliche Fachwelt die Qualität und Validität dieser Studien leichter beurteilen kann. Die Autoren dieser Richtlinie bestätigten, dass die Art und Weise, wie qPCR Daten angegeben und interpretiert wurden, häufig zu Problemen führe. Bei einer Vielzahl der veröffentlichten quantitativen RT-PCR Studien sind die experimentbezogenen Angaben nicht detailliert genug, sodass Wissenschaftler, die die Artikel lesen, nur schwer beurteilen können, ob die gezogenen Schlussfolgerungen gültig und vor allem richtig sind. Gerade in sogenannten „high impact“ Journalen ist eine signifikante Diskrepanz zwischen der Qualität der publizierten Daten (MIQE konform) und deren Aussagekraft zu bemängeln.

Deswegen wurde eine Checkliste der unerlässlichen und wünschenswerten Schritte erarbeitet, die bei Einsatz der qPCR befolgt werden sollten. Werden diese entsprechend beachtet, sollte dies Autoren in die Lage versetzen, qPCR Experimente richtig umzusetzen und zu veröffentlichen. Gleichzeitig werden Gutachter und Redakteure von Fachzeitschriften und

---

72 IRTA, Sant Carles de la Ràpita, Spain

73 Department of Biomedical Sciences, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium

74 Department of Reproduction, Obstetrics and Herd Health Management, Ghent University, Ghent, Belgium

75 National Institute of Nutrition and Seafood Research, Bergen, Norway

76 Department of Otorhinolaryngology, Ghent University Hospital, Ghent, Belgium

77 Julius Wolff Institute, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin, Germany

78 National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Frederiksberg, Denmark

79 Department of Orthopaedics, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

80 Department of Dermatology, Ghent University, Ghent, Belgium

81 Sigma-Aldrich Sweden AB, Stockholm, Sweden

82 Muscle Development and Regeneration Program, Sanford-Burnham Medical Research Institute, La Jolla, California, USA

83 Laboratory of Transcriptional Networks, Centre for Ingegrative Biology (CIBIO), Trento, Italy

auch Laborleiter auf diese Weise die technische Qualität der veröffentlichten Daten anhand des etablierten Maßstabs beurteilen können. Vor allem aber sollte die Einhaltung dieser Richtlinie dazu führen, dass nur noch Ergebnisse veröffentlicht werden, die sachlich richtig, zuverlässig und somit auch glaubhaft sind.

Das Originalpaper wurde 2009 in Englisch in Clinical Chemistry publiziert und ist bis dato in drei Weltsprachen, das Chinesische (2010), das Japanische (2013) sowie Arabische (2013) übersetzt worden. Bis zum Dezember 2013 sind die MIQE Guidelines bereits 2000-mal rezitiert worden.

Auswertung von unterschiedlichen qPCR Kurvenanalysenmethoden zur zuverlässigen Bestimmung von transkriptionellen Biomarkern: Bias, Auflösung, Präzision und deren Auswirkungen

Evaluation of qPCR curve analysis methods for reliable biomarker discovery: Bias, resolution, precision, and implications

Ruijter, J.M.[84]; Pfaffl, M.W.; Zhao, S.[85]; Spiess, A.N.[86]; Boggy, G.[87]; Blom, J.[88]; Rutledge, R.G.[89]; Sisti, D.[90]; Lievens, A.[91]; De Preter, K.[51]; Derveaux, S.[51,92]; Hellemans, J.[32,42]; Vandesompele, J.[42,51],: Methods 59 (2013) 32-46

In der molekularen Diagnostik werden heute RNA-Transkripte (mRNA oder microRNA) sehr häufig als Biomarker eingesetzt, um Krankheiten zu diagnostizieren oder deren Verlauf zu verfolgen. Die Reverse Transkription (RT) in Verbindung mit der quantitativen PCR (qPCR) hat sich als der Goldstandard entwickelt, diese RNA-Transkripte zu detektieren und um kleinste Mengenänderungen zu quantifizieren. Parallel zur weltweiten Verbreitung der RT-qPCR und der zunehmenden Verwendung in der biomedizinischen Forschung erlebten wir ebenso eine Zunahme der unterschiedlichsten Methoden zur RT-qPCR Datenbestimmung sowie deren Analyse. Die meisten Verfahren verwenden mathematische Algorithmen, um die mRNA oder microRNA Konzentrationen und die Effizienz der PCR-Reaktion, also die x-fache Zunahme des pro PCR Zyklus, zu berechnen. In dieser vergleichenden Studie sollte nun gezeigt werden, welche der publizierten und angewandten Methoden Vorteile oder auch Nachteile mit sich bringt, und welche sich am besten zur Identifizierung von transkriptionellen Biomarkern eignet.

---

84 Department of Anatomy, Embryology & Physiology, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

85 Department of Psychology and Helen Wills Neuroscience Institute, University of California, Berkeley, USA

86 Department of Andrology, University Hospital Hamburg-Eppendorf, Germany

87 DNA Software Inc., Ann Arbor, MI 48104, USA

88 Bioinformatics Resource Facility, Center for Biotechnology, Bielefeld University, Germany

89 Natural Resources Canada, Canadian Forest Service, Laurentian Forestry Centre, Quebec, Canada

90 Department of Biomolecular Science, University of Urbino, Urbino, Italy

91 Department of Applied Mathematics and Computer Science, Ghent University, Ghent, Belgium

92 Current address: Wafergen, Fremont, CA, USA

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Sigl Tanja, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 25.03.13: „Transcript regulation in primary bovine mammary epithelial cells purified from milk and effects of restricted feeding on mammary protein biosynthesis pathways, hepatic regulation, milk yield and composition in dairy cows selected for different milk protein content“

Sorg Diana, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 06.06.13: „Functional characterization and comparison of the intra-mammary immune system of ancient and modern cattle breeds“

Köpf Margareta, Dr. med. vet., Ludwig-Maximilians Universität München, 20.07.13: „Auswirkungen des Durchmelkens in der Trockenstehphase auf Produktivität, Stoffwechsel und Gesundheit von Milchkühen der Rasse Deutsches Fleckvieh“

Ballweg Ines, Dr. med. vet., Ludwig-Maximilians Universität München, 20.07.13: „Vergleich der Immunkompetenz, Mastleistung und Fleischqualität der Rassen Turopolje, Hybridschweine (Deutsche Landrasse x Pietrain) und der Kreuzungsrasse Deutsche Landrasse x Turopolje“

Masterarbeiten

Melanie Maierthaler, Biologie: „Determination of intrinsic breast cancer subtypes by high-throughput PCR – 700 consecutive fresh-frozen specimens from the PiA trial –“

Verena Rist, Agrarmanagement: „Evaluierung eines Intravaginalsensors zur Prognostik des optimalen Besamungszeitpunktes bei Kühen“

Magdalena Liebl, Molekulare Biotechnologie: „Identification of methylation markers in the course of progression of Barrett’s esophagus to esophageal adenocarcinoma“

Susanne Moosecker, Biologie: „A possible link between Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) signaling and Alzheimer´s Disease (AD)“

Markus Hippich, Biologie: „Detection of neutralizing antibodies against PRRS Virus in swine serum“

Anne-Kathrin Lorenz, Biologie: „Genome-wide analysis of small non-codin RNAs in the porcine endometrium“

Franziska Stoiber, Agrarwissenschaften: „Bestimmung von 11-Oxoetiocholanolon im Kot von Kühen als Nachweis von Stress ausgelöst durch den Betrieb eines Spaltenroboters“

Dominika Becherer, Agrarwissenschaften: „Auswirkungen einer Langzeitlagerung mit verschiedenen Verdünnern auf die Qualität von flüssigkonserviertem Ebersperma“

Anna-Katharina Hankele, Molekulare Biotechnologie: „Untersuchungen zum Mechanismus der Spaltung von Estradiol-Prodrugs unter Beachtung von Spezies-spezifischen Besonderheiten“

Bachelorarbeiten

Viktor Eckel, Biochemie: „Effect of a Vaccination on Lactoferrin levels in Milk“

Nadine Isabel Pilz, Molekulare Biotechnologie: „Investigation of the immune response of somatic cells in cow milk on a repeated immunization with clostridium difficile“

Daniela Wolfschoon Ribeiro, Biochemie: „Expression of Genes Involved in Milk Fat Synthesis in Bovine Mammary Epithelial Cells“

Viktor Brandl, Agrarwissenschaften: „Influence of freezing on the quantity and quality of RNA“

Verena Trinkaus, Bioprozesstechnik: „Einfluss von Steroidhormonen und Clenbuterol auf die Genexpression in murinen Muskelzellen“

Vorträge

Pfaffl, M.W.:

„MIQE challenges and solutions in expression profiling and biomarker development“
Agilent Technologies qPCR User Meeting, Klinikum Rechts der Isar, Munich, Germany, 29.01.2013

„The distribution of small RNAs in milk and their functional relation to mammary gland physiology“
6th qPCR & NGS Symposium, Next Generation Thinking in Molecular Diagnostics, 18 - 22 March 2013, Freising-Weihenstephan, Germany

„The use of -omic technologies for transcriptional biomarker development“
Hochschule Lausitz in Senftenberg, Zentrum für Molekulare Diagnostik und Bioanalytik (ZMDB) und BioResponse Innovationsforum Multiparameteranalytik, Senftenberg, Germany, 18.04.2013

„The use of -omic technologies for transcriptional biomarker development“
Kuju Agricultural Research Center, Kyushu Univerisity, Japan, 24.06.2013

„The use of -omic technologies for transcriptional biomarker development“
Main campus, Kyushu Univerisity, Fukuoka, Japan, 25.06.2013“

„The use of -omic technologies for transcriptional biomarker development“
Tohoku University, Sendai, Japan, 27.06.2013

„MIQE challenges: DNA & RNA quantification and mRNA expression profiling on the single cell-level“
MICROGENOMICS – Single-Cell Gene Expression Analysis.EMBL, Heidelberg, Germany, 29.06. – 05.07.2013

„Quantification strategies and qPCR efficiency determination in single-cell expression profiling. “
MICROGENOMICS – Single-Cell Gene Expression Analysis.
EMBL, Heidelberg, Germany, 29.06. – 05.07.2013

„MIQE challenges and solutions – The use of omic technologies for transcriptional biomarker discovery“
Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), Virology Department, Dra. Marilda Siqueira, Dr. Thiago Moreno L. Souza, Rio de Janeiro, Brasil, 12.09.2013

„MIQE challenges and solutions – The use of omic technologies for transcriptional biomarker discovery“
Centro de Transplante de Medula Óssea (Cemo) - INCA (Instituto Nacional do Câncer), Dra. Eliana Abdelhay, Rio de Janeiro, Brasil, 13.09.2013

„MIQE challenges and solutions – The use of omic technologies for transcriptional biomarker discovery“
Instituto de Ciencias Biomedicas - Universidade de Sao Paulo; Prof. Marilene Lopes
16th September 2013, Sao Paulo, Brasil

„MIQE challenges and solutions – The use of omic technologies for transcriptional biomarker discovery“
59th Brazilian Congress on Genetics "60 years post-DNA", Brazilian Society of Genetics, Águas de Lindóia, at the Hotel Monte Real Resort & Convention Center, Sao Paulo, Brasil. 17.09.2013

„Zukünftige Methoden zur Beurteilung des Gesundheitsstatus landwirtschaftlicher Nutztiere“
Agrarwissenschaftliches Symposium des Hans Eisenmann Zentrum „Nutztiere 2020“, Freising Weihenstephan, Germany, 19. September 2013

„Biomarker Development in Translational Research using Small-RNA Seq“
Genomics Research Europe, Barcelona, Spain, 16.-17. October 2013

„Mehr Protein + gesündere Kühe + bessere Diagniostik = mehr Nachhaltigkeit. Die neuen Herausforderungen an die milchwissenschafliche Forschung“
MIV Innovationstagung, Mainz, Germany, 14. – 16.11.2013

„Transkriptionelle Biomarkersignaturen in der Lebensmittelüberwachung“
LGL Fachtagung Gentechnik, Oberschleißheim, Germany, 25.11.2013

„Transkriptionelle Biomarkersignaturen zum Dopingnachweis“
BISP Symposium, Hygienemuseum, Dresden, Germany, 28. – 29.11.2013

Schams, D.

„The expression of hypoxia-inducible factor-1 alpha (HIF-1 alpha) and vasohibins during follicle maturation and corpus luteum lifespan in the bovine ovary“
Ludwig-Fraenkel Symposium “Endocrine Control of Corpus Luteum Function”, 05./06.09.2013, Breslau, Polen

Ulbrich, S.E.:

„Hosting the preimplantation embryo – potentials and limitations of different approaches for analyzing embryo-endometrium interactions in cattle"
Presented at: Annual Congress of the International Embryo Transfer Society (IETS), Hannover, 20.01.2013

„Fruchtbarkeit ist Hochleistung"
Presented at: Fachtagung Tierernährung ETH Zürich Vetsuisse Fakultät Universität Zürich-Bern, Agroscope Liebefeld-Posieux, ETH Zürich, Switzerland, 07.05.2013

Tagungen des Lehrstuhls

Der qPCR & NGS 2013 Event wurde vom Lehrstuhl für Physiologie der Technischen Universität München, am Standort Freising-Weihenstephan vom 18.- 23 März 2013 durchgeführt.
Tagungsschwerpunkte: Next Generation Thinking in Molecular Diagnostics

Der Lehrstuhl für Physiologie an der Technischen Universität München (TUM) hat mit Unterstützung durch führende Biotechnologieunternehmen nun zum sechsten Mal die Initiative ergriffen, weltweit agierende Wissenschaftler auf dem Feld der quantitativen real-time PCR (qPCR) sowie Next Generation Sequencing (NGS) in Weihenstephan zusammenzubringen. Während der fünf Konferenztage vom 18. bis 23. März 2013 in Freising-Weihenstephan tauschten 520 internationale Wissenschaftler aus 42 Ländern ihre Ideen und Erfahrungen aus und diskutierten die faszinierende Zukunft dieser innovativen Techniken.
Neben den Tagungsschwerpunkten „Molekulare Diagnostik", „Next Generation Sequencing" sowie „Transcriptional Biomarker" wurden insgesamt 74 Vorträge und 105 Posterbeiträge in den folgenden Themenfeldern präsentiert: Einzell-Diagnostik, nicht-codierende-RNAs (microRNA, siRNA, long non-coding RNAs), Biostatistik & Bioinformatik in NGS und qPCR, Hochdurchsatzapplikationen, Digitale-PCR, Nanofluidics, Strategien der Systembiologie, sowie Aspekte der Standardisierung und Optimierung quantitativer Methoden (MIQE Guidelines).
Die wesentlichen Vorträge der eingeladenen Keynote Sprecher sind in einem METHODS Special Issue 2013 59(1) mit dem Titel *"Transcriptional Biomarkers"* zusammengefasst, was vom Veranstalter Prof. Michael W. Pfaffl editiert und auf dem Symposium jedem Tagungsteilnehmer ausgehändigt wurde.
Parallel zum Symposium fand im Zentralen Hörsaalgebäude der TUM in Weihenstephan eine Industrieausstellung mit 40 weltweit führenden Life Science Firmen statt. Der Tagungsteilnehmer konnte sich über die neuesten Innovationen auf dem Gerätemarkt, Genom orientierte Auswertesoftware sowie über die Dienstleistungen oder diagnostischen Nachweistests der teilnehmenden Firmen informieren.

Direkt im Anschluss an den Kongress fanden vier praktische Anwenderworkshops statt. Unter der Leitung des TATAA Biocenter wurden zwei „qPCR Applikations Workshops“ angeboten, die sich auf die „Optimierung der klassischen qPCR Anwendungen“ sowie „qPCR Biostatistik & mRNA Expression Profiling“ bezogen. Im Weiteren wurden zweitägige Seminare von Life Technologies über „digitale PCR“ sowie ein Seminar „NGS data analysis“ von Genomatix angeboten.

Exkursionen

Exkursion zur Käserei Champignon in Pfeffenhausen im Rahmen der Vorlesung „Produkt Milch“ am 16.01.2013 unter der Leitung von Dr. Heike Kliem

Exkursion zum Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit am 29.04.2013 unter der Leitung von Frau Dr. Irmgard Riedmaier

Exkursion zur Besamungsstation Grub (Landshut) am 03.07.2013 unter der Leitung von Dr. Susanne Ulbrich

Exkursion zum Milchprüfring Bayern, Wolnzach, am 26.06.2013 unter der Leitung von Dr. Heike Kliem

DBV-Informationsfahrt für Wirtschafts- und Agrardiplomaten (Attachéfahrt)

Am 25.09.2013 fand unter der Leitung des Deutschen Bauernverbandes die jährliche Informationsfahrt für Wirtschafts- und Agrardiplomaten statt. Ziel war u.a. die Versuchsstation Veitshof mit einer Besichtigung derselben.

Veröffentlichungen

18 Experimentelle Originalarbeiten

Bebbere, D.; Bauersachs., S.; Fürst, R.W.; Reichenbach, H.-D.; Reichenbach, M.; Medugorac, I.; Ulbrich, S.E.; Wolf, E.; Ledda, S.; Hiendleder, S.: Tissue-Specific and minor inter-individual variation in imprinting of IGF2R is a common feature of Bos taurus Concepti and not correlated with fetal weight. PLOS ONE 8 (2013): e59564

Berisha, B.; Schilffarth, S.; Kenngott, R; Sinowatz, F.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Expression of lymphangiogenic vascular endothelial growth factor family members in bovine corpus luteum. Anat Histol Embryol. 42 (2013) 292-303

Bustin, S.A.; Benes, V.; Garson, J.; Hellemans, J.; Huggett, J.; Kubista, M.; Mueller, R.; Nolan, T.; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.; Wittwer, C.T.; Schjerling, P.; Day, P.J.; Abreu, M.; Aguado, B.; Beaulieu, J.F.; Beckers, A.; Bogaert, S.; Browne, J.A.; Carrasco-Ramiro, F.; Ceelen, L.; Ciborowski, K.; Cornillie, P.; Coulon, S.; Cuypers, A.; De Brouwer, S.; De Ceuninck, L.; De Craene, J.; De Naeyer, H.; De Spiegelaere, W.; Deckers, K.; Dheedene, A.; Durinck, K.; Ferreira-Teixeira, M.; Fieuw, A.; Gallup, J.M.; Gonzalo-Flores, S.; Goossens, K.; Heindryckx, F.; Herring, E.; Hoenicka, H.; Icardi, L.; Jaggi, R.; Javad, F.; Karampelias, M.; Kibenge, F.; Kibenge, M; Kumps, C.; Lambertz, I.; Lammens, T.;

Markey, A.; Messiaen, P.; Mets, E.; Morais, S.; Mudarra-Rubio, A.; Nakiwala, J.; Nelis, H.; Olsvik, P.A.; Pérez-Novo, C.; Plusquin, M.; Remans, T.; Rihani, A.; Rodrigues-Santos, P.; Rondou, P.; Sanders, R.; Schmidt-Bleek, K., Skovgaard, K.; Smeets, K.; Tabera, L.; Toegel, S.; Van Acker, T.; Van den Broeck, W.; Van der Meulen, J.; Van Gele, M.; Van Peer, G.; Van Poucke, M.; Van Roy, N.; Vergult, S.; Wauman, J.; Tshuikina-Wiklander, M.; Willems, E.; Zaccara, S.; Zeka, F.; Vandesompele, J.: The need for transparency and good practices in the qPCR literature. Nature Methods 10 (2013) 1063-1067

Bustin, S.A.; Benes, V.; Garson, J.A.; Hellemans, J.; Huggett, J.; Kubista, M.; Mueller, R.; Nolan, T.; Pfaffl, M.W.; Shipley, G.L.; Vandesompele, J.; Wittwer, C.T.: The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments. Clinical Chemistry 55(4): 611-22. Special Report, Japanese Version. Special Report, Arabian Version

Chouhan, V.S.; Panda, R.P.; Yadav, V.P.; Babitha, V.; Khan, F.A.; Das, G.K.; Gupta, M.; Dangi, S.S.; Singh, G.; Bag, S.; Sharma, G.T.; Berisha, B.; Schams, D.; Sarkar, M.: Expression and localization of vascular endothelial growth factor and its receptor in the corpus luteum during oestrous cycle in water buffaloes (Bubalus bubalis). Reprod Domest Anim. 48 (2013) 810-818

Dahlhoff, C.; Desmarchelier, C.; Sailer, M.; Fürst, M.W.; Haag, A.; Ulbrich, S.E.; Hummel, B.; Obeid, R.; Geisel, J.; Bader, B.L; Daniel, H.: Hepatic Methionine Homeostasis is conserved in C57BL/6N mice on high-fat diet despite major changes in hepatic one-carbon metabolism. PLOS ONE 8 (2013): e57387

Danowski, K.; Gross, J.J.; Meyer, H.H.D.; Kliem, H.: Effects of induced energy deficiency on lactoferrin concentration in milk and the lactoferrin reaction of primary bovine mammary epithelial cells in vitro. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 97 (2013) 647-655

Danowski, K.; Gross, J.J.; Gellrich, K.; Petri, T.; Van Dorland, H.A.; Bruckmaier, R.M.; Reichenbach, H.D.; Zimmer, R.; Meyer, H.H.D.; Schwarz, F.J.; Kliem, H.: Metabolic status and oestrous cycle in dairy cows. International Journal of Livestock Production 4 (2013) 135-147

Kliem, H.; Rodler, D.; Ulbrich, S.E.; Sinowatz, F.; Berisha, B.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: Dexamethasone-induced Eosinopenia is associated with lower progesterone production in cattle. Reproduction in Domestic Animals 48 (2013) 137-148

Pistek, V.L.; Fürst, R.W.; Kliem, H.; Bauersachs, S.; Meyer, H.H.D.; Ulbrich, S.E.: HOXA 10 mRNA expression and promoter DANN methylation in female pig offspring after in untero estradiol-17 exposure. Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 138 (2013) 435-444

Riedmaier, I.; Pfaffl, M.W.: Transcriptional biomarkers – High throughput screening, quantitative verification, and bioinformatical validation methods. Methods 59 (2013) 3-9

Ruijter, J.M.; Pfaffl, M.W.; Zhao, S.; Spiess, A.N.; Boggy, G.; Blom, J.; Rutledge, R.G.; Sisti, D.; Lievens, A.; de Preter, K.; Derveaux, S.; Hellermans, J.; Vandesompele, J.: Evaluation of qPCR curve analysis methods for reliable biomarker discovery: Bias, resolution, precision, and implications. Methods 59 (2013) 32-46

Sigl, T.; Gellrich, K.; Meyer, H.H.D.; Kaske, M.; Wiedemann, S.: Multiparous cows categorized by milk protein concentration and energy-corrected milk yield during early lactation – metabolism, productivity and effect of a short-term feed restriction. J Anim Physiol Anim Nutr (2013) 278-296

Sorg, D.; Danowski, K.; Korenkova, V.; Rusnakova, V.; Küffner, R.; Zimmer, R.; Meyer, H.H.D.; Kliem, H.: Microfluidic high-throughput RT-qPCR measurements of the immune response of primary bovine mammary epithelial cells cultured from milk to mastitis pathogens. Animal 7 (2013) 799-805

Sorg, D.; Fandrey, E.; Frölich, K.; Meyer, H.H.D.; Kliem, H.: Mammary immunity of White Park and Highland cattle compared with Brown Swiss and Red Holstein. Animal Genetic Resources 52 (2013) 91-104

Ulbrich, S.E.; Wolf, E.; Bauersachs, S.: Hosting the preimplantation embryo: potentials and limitations of different approaches for analysing embryo-endometrium interactions in cattle. Reproduction, Fertility and Development 25 (2013) 62-70

Ulbrich, S.E.; Groebner, A.E.; Bauersachs, S.: Transcriptional profiling to address molecular determinants of endometrial receptivity – Lessons from studies in livestock species. Methods 59 (2013) 108-115

Zeitz, J.O.; Guertler, P.; Pfaffl, M.W.; Eisenreich, R.; Wiedemann, S.; Schwarz, F.J.: Effect of non-starch-polysaccharide-degrading enzymes as feed additive on the rumen bacterial population in non-lactating cows quantified by real-time PCR. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition J Anim Physiol Anim Nutr 97 (2013) 1104-1113

Mitteilungen für die Praxis

Viturro, E.; Altenhofer, Ch.: Verringerung des Energie-Defizits in der Frühlaktation. Feed Magazine/Kraftfutter 9-10/2013

Viturro, E.; Altenhofer, Ch.: Kann Leinsaat das Energieloch stopfen? Top agrar 06/2013

Versuchsstation Veitshof

Adresse

Veitsmüllerweg 4
D-85354 Freising-Weihenstephan

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

Personal

Komm. Leitung: Univ.-Prof. Dr. agr. Michael W. Pfaffl

Verwaltung: Dipl.-Ing.agr. (FH) Martin Schmölz

Sekretariat: Dagmar Neumeier

Arbeiter: 2

Allgemeines

a) Bodennutzung

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

b) Viehbestand

Bestand am 31.12.2013	66	Kühe
	5	Kalbinnen
	39	Jungrinder
	17	Kälber
	---	---
	127	Rinder
und	2	Ziegen

Die durchschnittliche Jahresmilchleistung betrug im Kontrolljahr lt. LKV:
8933 kg Milch, 329,7 kg Eiweiß, 3,69 % Eiweiß, 393,7 kg Fett, 4,41 % 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.

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

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

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

Folgende Seminare wurden durchgeführt:

Fragestellungen und Forschungsansätze der Molekularen Physiologie

Forschung

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.

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

Untersuchung der Stressbelastung von Kühen durch den Einsatz eines Spaltenroboters in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Agrarsystemtechnik.

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

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

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: HBrandstetter@tum.de oder RFlax@tum.de

Personal

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

Forschung

Beeinflussen Veränderungen im Leben die Wahrscheinlichkeit des Markenwechsels? Eine Analyse des Lebensmittelkaufverhaltens älterer Konsumenten.

Martina Reitmeier, Jutta Roosen

Der steigende wirtschaftliche und soziale Einfluss älterer Konsumenten erfordert ein besseres Verständnis ihres Kaufverhaltens und ihrer jeweiligen Bedürfnisse. Da Konsumenten in höherem Alter als markentreu und weniger flexibel gelten, wird diese Zielgruppe häufig vernachlässigt. Lebensereignisse, sogenannte Transitionsphasen, bieten jedoch die Chance diese Konsumentengruppe wirkungsvoll anzusprechen. Forschungsergebnisse zeigen, dass Transitionsphasen (z.B. der Übergang in den Ruhestand) mit Veränderungen im Konsumverhalten einhergehen (Andreasen, 1984; Mathur et al., 2008). Bisher gibt es allerdings nur wenige Studien, die den Schwerpunkt auf Lebensmittelauswahl legen, insbesondere bei älteren Konsumenten. Des Weiteren fehlen diesen Studien detaillierte Ansätze hinsichtlich der zugrunde liegenden und beeinflussenden Mechanismen. Da der Verzehr von Lebensmitteln häufig im gesellschaftlichen Kontext stattfindet, bilden soziale Beziehungen eine wichtige Determinante für ernährungsbezogene Entscheidungen.

Vor diesem Hintergrund ist das Ziel der Studie den Zusammenhang zwischen Transitionsphasen und der Wahrscheinlichkeit der Veränderung von Lebensmittelkonsumentscheidungen zu erforschen. In den bisher durchgeführten Vorstudien lag der Fokus auf drei Lebensereignissen: „Übergang in den Ruhestand“, „Veränderung der Haushaltsgröße“ und „Umzug“.

THEORETISCHER HINTERGRUND

Am Tag trifft jeder Mensch durchschnittlich zwischen 200 und 300 ernährungsbezogene Entscheidungen (Wansink und Sobal, 2007). Im Alter von 50 Jahren sind dies rund 3 bis 5 Millionen zurückliegende Entscheidungsprozesse. Aufgrund dieser täglichen Menge an Entscheidungen entwickeln wir Routinen. Diese Routinen sparen kognitive Ressourcen und werden im Laufe des Lebens von Wendepunkten unterbrochen. Solche Wendepunkte können Transitionsphasen sein (Devine, 2005). Transitionsphasen werden als bewusst wahrgenommene Lebensereignisse definiert, die mit Veränderungen von „sozialen Rollen“, „Routinen“, und „sozialen Beziehungen“ einhergehen.

Basierend auf dieser Definition lassen sich vier Mechanismen identifizieren, die den Zusammenhang zwischen Transitionsphasen und Veränderungen im Lebensmittelkonsum erklären. Erstens führen Transitionsphasen zur Veränderung von „sozialen Rollen“: Da in der westlichen Welt Konsum einen Bestandteil der Identität darstellt, ist die Übernahme einer neuen sozialen Rolle mit der Ablegung alter und der Aneignung entsprechend neuer Konsummuster verbunden (Belk, 1988). Zweitens stellt die Umgewöhnung durch Transitionphasen einen Stressfaktor (Moschis, 2007) dar, der Bewältigungsmechanismen, wie beispielsweise exzessives Essen, hervorrufen kann. Drittens verändern Lebensereignisse auch tägliche Routinen und verringern daher die Wahrscheinlichkeit von gewohnheitsbedingten Entscheidungen (Wood, 2010). Viertens findet Lebensmittelkonsum häufig in sozialen Kontexten statt. Konsumenten werden in ihren Entscheidungen von den Personen beeinflusst, die sie umgeben. Folglich ist anzunehmen, dass sich die Wahrscheinlichkeit für Veränderungen von bestimmen Präferenzen bzw. Konsumroutinen erhöht, wenn sich soziale Beziehungen verändern.

Aufgrund dieser theoretischen Prämissen wird angenommen, dass Transitionsphasen die Wahrscheinlichkeit der Veränderung von routinierten Konsumentscheidungen, vor allem im Hinblick auf Markenpräferenz, erhöhen.

DATEN UND METHODEN

Die Studie basiert auf einer Kombination aus qualitativen und quantitativen Methoden. Um die Wechselwirkung zwischen Lebensereignissen und Veränderungen in Konsumroutinen zu untersuchen, wurden vier Fokusgruppendiskussionen mit Konsumenten zwischen 50 und 74 Jahren durchgeführt. Des Weiteren war es Ziel der Fokusgruppen, Erkenntnisse darüber zu erlangen, wie die „Änderungen sozialer Beziehungen" mit Veränderungen in Lebensmittelentscheidungen verbunden sind. Zusätzlich wurden Daten aus dem Haushaltspanel der Gesellschaft für Konsumforschung (GfK) der Jahre 2004 bis 2008 analysiert. Der Datensatz beinhaltet Informationen zu der Menge und Marke des gekauften Produktes sowie soziodemografische Informationen für ca. 10.000 Haushalte, deren Haushaltsführender älter als 45 Jahre ist. Als Produktkategorie für die Analyse wurde Joghurt gewählt. Einerseits, weil Milchprodukte die am dritthäufigsten konsumierte Lebensmittelgruppe in Deutschland darstellen (Statista, 2013); und andererseits, weil Joghurts - im Vergleich zu Obst oder Gemüse - markenbasierende Lebensmittel sind. Darüber hinaus wurde die Wahl der Einkaufsstätte analysiert. Die Wahrscheinlichkeit der Veränderung von Marken- und Einkaufsstättenpräferenz als Folge der drei Transitionsphasen wurde mithilfe verallgemeinerter Schätzgleichungen (General Estimated Equations (GEE)) berechnet.

ERGEBNISSE

Übereinstimmend mit anderen Studien, zeigen die Ergebnisse, dass sich die Wahrscheinlichkeit der Änderungen von Marken- und Geschäftsstättenpräferenz bei den untersuchten Ereignissen „Übergang in den Ruhestand", „Veränderung der Haushaltsgröße" und „Umzug" signifikant erhöht. Dagegen finden sich bei anderen sozio-demografischen Variablen, wie z.B. die Größe der Stadt oder das Einkommensniveau, keine signifikanten Effekte. Verglichen mit den beiden anderen Lebensereignissen, ist die „Veränderung der Haushaltsgröße" der stärkste Prädiktor für die Änderungen der Markenpräferenz: Die Wahrscheinlichkeit die bevorzugte Joghurtmarke zu wechseln erhöht sich um 1,865 ($p<0.001$). Die Fokusgruppen liefern detailliertere Erkenntnisse bezüglich dieses Zusammenhangs. Teilnehmer, bei denen kürzlich ein neuer Partner eingezogen war, berichteten von der Veränderung bestimmter Kaufgewohnheiten. Das Zusammentreffen von zwei Konsumhistorien führte entweder zu einer Veränderung in Richtung des neuen Haushaltsmitglieds oder zu einer völlig neuen Markenwahl. Diejenigen, deren Kind kürzlich aus dem Haushalt ausgezogen war, berichteten ebenfalls eine Veränderung bestimmter Kaufmuster. Ein Grund dafür war die Wiederentdeckung ihrer eigenen Präferenzen. Die Wahrscheinlichkeit der Änderungen der Markenpräferenz erhöht sich um 1, 286 ($p<0.05$), wenn Haushalte in den „Ruhestand" gehen und um 1,763 ($p<0,001$) bei einem „Wohnungsumzug". Die Wahrscheinlichkeit der Änderung der bevorzugten Geschäftsstätte dagegen erhöht sich bei einem bei einem „Umzug" um das Dreifache (3,155 ($p<0,001$)). Bei „Veränderung der Haushaltsgröße" erhöht sich die Wahrscheinlichkeit der Präferenzänderung um 1,818 ($p<0,001$); mit dem „Übergang in den Ruhestand" um 1,350 ($p<0,01$).

Die Daten zeigen darüber hinaus, dass, je stärker die Präferenz für eine bestimmte Marke, desto geringer ist die Wahrscheinlichkeit einer Veränderung. Zudem ist die Veränderung der Geschäftsstättenpräferenz, wie erwartet, ein starker Prädiktor für die Änderung der Markenpräferenz (Exp (B) = 5,701 mit $p<0,001$).

AUSBLICK

Basierend auf diesen Ergebnissen wird derzeit in einer bevölkerungsrepräsentativen quantitativen Befragung der Zusammenhang zwischen Lebensereignissen und den daraus resultierenden Veränderungen der vier Faktoren „soziale Beziehungen", „soziale Rollen", „Routinen" und „Stress", sowie die Wahl von Lebensmitteln untersucht.

QUELLEN

- Andreasen, A.R. (1984). Life Status Changes and Changes in Consumer Preferences and Satisfaction. In: *Journal of Consumer Research*, Vol. 11, pp. 784-794.
- Belk, R.W. (1988). Possessions and the extended self. In: *Journal of Consumer Research*, Vol. 15, pp. 139-168.
- Devine, C. (2005). A Life Course Perspective: Understanding Food Choices in Time, Social Location, and History. In: *Journal of Nutrition Education and Behavior*, Vol. 37(3), pp. 121-128.
- Mathur, A.; P. Moschis and E. Lee (2008). A longitudinal study of the effects of life status changes on changes in consumer preferences. In: *Journal of the Academy of Marketing Science*, Vol. 36, pp. 234-246.
- Moschis, G.P. (2007). Life course perspective on consumer behavior. In: *Journal of the Academy of Marketing Science*, Vol. 35, pp. 295-307.
- Statista (2013). Pro-Kopf-Verbrauch ausgewählter Nahrungsmittel in Deutschland in den Jahren 2000/2001 bis 2010/2011. Auf Basis der Daten des BMELV. Online: http://de.statista.com/statistik/daten/studie/187341/umfrage/pro-kopf-verbrauch-ausgewaehlter-nahrungsmittel/ (18.02.13)
- Wansink, B. and J. Sobal (2007). Mindless Eating: The 200 Daily Food Decisions We Overlook. In: *Environment and Behavior*, Vol. 39(1), pp.106-123.
- Wood, S. (2010). The Comfort Food Fallacy: Avoiding Old Favorites in Times of Change. In: *Journal of Consumer Research*, Vol. 36, pp. 950-963.

Dissertationen, Master-, Diplom- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Aue, Katja (2013). Health behavior: a dynamic analysis with regard to poverty and social inequality.

Kargerer, Christian (2013). Optimierung von Qualitätssicherungs- und Risikomanagementsystemen mit Hilfe einer internetbasierten Infoplattform zur Reduzierung von Eintragsquellen in die fleischerzeugende Produktionskette am Beispiel der Informationsplattform Qualifood.

Köttl, Barbara (2013). Verbraucherschutz im bayerisch-tschechischen Grenzgebiet.

Lax, Jutta (2013). Gesundheitsförderliche Schulverpflegung in Bayern.

Masterarbeiten

Brouwer, Anne (2013). Consumers` perception towards a changing Best Before Date on yoghurt products.

Elizarova, Inna (2013). Consumer perception of organic and local labels.

Elkhoshet, Lora (2013). Comparison of the motives behind consumers' buying behavior of organic versus local food products.

Engbertz, Janka (2013). Consumer communications for B2B companies.

Englmann, Michael Josef (2013). Online-Lebensmittelhandel und die Rolle der sozialen Normen.

Eremeeva, Marina (2013). Consumer Perceptions towards Labelling and Mislabelling of Fish and Fish Products.

Festila, Alexandra (2013). Healthy Eating Practices in Romania.

Georgescu, Mirela-Alina (2013). Perception of Bavarian Food Products in Romania.

Göschl, Barbara (2013). Einweg versus Mehrweg – Prüfung der Marktchancen einer Einweg-Leichtglasflasche auf dem deutschen Milchmarkt.

Hering, Josephine (2013). Tierwohl aus Verbrauchersicht - Analyse emotionaler und rationaler Aspekte.

Hinder, Anne (2013). Social TV - aktive Mitmachformate als Zukunft des Fernsehens?

Jordan, Gwen (2013). Marktsegmentierung im Bereich regional und ökologisch erzeugte Lebensmittel: Eine Kundencharakterisierung in Bayern.

Kalner, Anastasia (2013). Life Cycle Effects on Consumption, Savings and Retirement: Empirical Evidence from SOEP.

Kim, Yoovin (2013). Perception of South Korean Consumers Towards Bavarian Food Products.

Lienhart, Julia (2013). Consuming Symbolic Meaning - Women and Automobile Brands.

Lingl, Christoph (2013). Analyse der Anforderungen von ausgewählten Einrichtungen der Gemeinschaftsverpflegung im Hinblick auf neue Absatzmöglichkeiten für ökologische landwirtschaftliche Direktvermarkter.

Marchev, Plamen Angelov (2013). The influence of food label’s context factors and non-label information upon consumers’ understanding of health claims and attitudes to them with regard to less popular functional ingredients.

Metzler, Amberly (2013). Consumers’ Perception of Corporate Responsibility in the Class of Insurance: Analyzing the Impact of Human Values towards Growing Social and Environmental Trends.

Nagaeva, Natalia (2013). Consumer Perceptions of Corporate Social Responsibility.

Nien, Kai-Chun (2013). Numeracy and Consumer Perception of Food-related Risks: A Comparative Study in Germany and Taiwan.

Pan, Shuyun (2013). Exploration of Chinese`s Understanding on Diabetes through Web Mining.

Panina, Vera (2013). Exploring cross-cultural differences in lead userness: lead user integration in the process of new concept development for Bosch hand blender in Russia and Germany.

Petrova, Liliya (2013). Perception of Bavarian Food Products in Bulgaria.

Ries, Elke (2013). Warum Landwirte umstellen - Analyse von Umstellungshemmnissen aus der Sicht von IP-Suisse und Bio Suisse.

Sánchez, Gisela (2013). The Role of Affect on the Impact of Anti-Smoking Videos on Smoking Behavior Intentions.

Schutt, Eleonore (2013). The Effect of Expiration Indicators on Consumer Acceptance and Food Waste Reduction.

Stoica, Denisa (2013). Personal branding on social media platforms – an exploratory research.

Streltsova, Alina (2013). Changes in Food Consumption during Life Transition Phases: An Analysis of the Transition to Retirement.

Tello, Marc (2013). Defining young adults' perception of premium car brands in the 21st century.

Vlad, Zaharia (2013). Consumer reactions to companies' CSR activities.

Vlasyuk, Tatyana (2013). Consumers' Perception of Bavarian Food Products in Russia.

Wechslberger, Christiane (2013). Entwicklung des Konsums und der Wahrnehmung von ökologisch erzeugten Lebensmitteln in Bayern.

Woortmann, Veronika (2013). Analyse des Verbraucherverhaltens zur Abschätzung von Vermarktungsmöglichkeiten von namibischem Premiumfleisch.

Zhang, Yu (2013). International Typology of Consumer Policy.

Diplomarbeiten

Amelung, Peter (2013). Das neue Label "Für mehr Tierschutz" - geschichtliche und wirtschaftliche Hintergründe, sowie kritische Betrachtung.

Ganal, Andreas (2013). Analyse der Bayerischen Obstbrandprämierung und Ansatzpunkte zur Weiterentwicklung.

Haßauer, Christine (2013). Vermarktungsstrategien der "Bayerischen Museen des guten Geschmacks".

Heigl, Martin (2013). Diversifizierung in der Landwirtschaft - Fallstudie zu Geschäftsbeziehungen in der Direktvermarktung.

Koller, Kerstin (2013). Motive zur Lebensmittelauswahl - Welche Rolle spielen soziodemografische Faktoren?

Kotschenreuther, Martin (2013). Case ICH Farmall U Pro EP / Steyr Multi ET - eine SWOT-Analyse zur Überprüfung der strategischen Zielformulierung.

Leupold, Tina (2013). Analysis of German consumers monetary assets in form of real estate assets.

Lux, Sabrina-Lavinia (2013). Analyse des Sparverhaltens deutscher Konsumenten in Form von Barvermögen - ein Ost-West und Geschlechtervergleich.

Mikula, Serah (2013). Marktsituation von Biohonig in den Einkaufsstätten von München.

Nellen, Amelie (2013). Gesichertes Einkommen durch Diversifizierung in der Landwirtschaft: Sind Marketingstrategien wie z.B. "Gesundheitshöfe Bayern" dabei hilfreich?

Riedmiller, Natalie (2013). Analyse der Nutzung regionaler Begriffe in Werbeprospekten.

Schroeter, Julian (2013). Anforderungen und Herausforderungen an eine Online-Plattform für Regionalvermarktung aus der Sicht der Gastronomie.

Wiedemann, Verena (2013). Das ernährungsbezogene Konsumverhalten der deutschen Bevölkerung früher und heute.

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

Bieberstein, A., J. Roosen, S. Marette, S. Blanchemanche, F. Vandermoere (2013). Consumer choices for nano-food and nano-packaging in France and Germany. European Review of Agricultural Economics. 40(1): 73-94. doi:10.1093/erae/jbr069

Drescher, L.S., J. Roosen (2013). A cohort analysis of food-at-home and food-away-from-home expenditures in Germany. German Journal of Agricultural Economics. 62(1): 39-51.

Grebitus, C., H.H. Jensen, J. Roosen (2013): US and German consumer preferences for ground beef packaged under a modified atmosphere – Different regulations, different behaviour? Food Policy, 40, 109–118.

Grebitus, C., H.H. Jensen, J. Roosen, J. G. Sebranek (2013). Fresh Meat Packaging: Consumer Acceptance of Modified Atmosphere Packaging including Carbon Monoxide. Journal of Food Protection 75(1): 99-107.

Marette, S., S. Blanchemanche, J. Roosen (2013). Multiple equilibria with a multiple price list. Applied Economics Letters, 20(8): 809-812.

Truthmann, J., A. Richter, S. Thiele, L. Drescher, J. Roosen, G. Mensink (2013). Associations of dietary indices with biomarkers of dietary exposure and cardiovascular status among adolescents in Germany. Nutrition & Metabolism 9 (92): 1-14. 10.1186/1743-7075-9-92

Weitere Veröffentlichungen

Forschungsberichte

Roosen, J., B. Köttl, J. Hasselbach (2013). *Regional und Bio: Kaufmotive und kaufverhalten bei bayerischen Ökoprodukten.* Bericht für das Bayerische Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten. 45 Seiten.

Konferenzbeiträge mit Begutachtungsprozess

Hasselbach, J., J. Roosen (2013) Consumer Heterogeneity in the Willingness to pay for local and organic food. Presented paper – International Food Marketing Research Symposium, Budapest 20-21 June 2013.

Hasselbach, J., J. Roosen (2013) Consumer Heterogeneity in the Willingness to pay for local and organic food. Presented paper – 137th EAAE Seminar 'Workshop on Valuation Methods in Agro-food and Environ-mental Economics: Methodological and empirical challenges in Valuation Methods', Castelldefels 27-28 June 2013.

Hasselbach, J., J. Roosen (2013) Consumer Heterogeneity in the Willingness to pay for local and organic food. Presented paper – International Choice Modelling Conference, Sydney 03-05 July 2013.

Reitmeier, M.; Roosen, J. (2013). The impact of life transitions on food consumption decisions – Analysis of older consumers. Präsentation auf dem Workshop "Context-Dependent Consumer Decision-Making. An interdisciplinary inquiry", Dip. Economia e Management, Trento, June 2013.

Seitz, C., J. Roosen (2013) An empirical analysis of international consumers' associations with Bavarian food products. Presented at the International Food Marketing Research Symposium, Budapest 20-21 June 2013.

Herausgeberschaften

Roosen, J. (editor) 2013. Consumer choice and the acceptance of production practice: introduction and overview. Special paper collection from the IAAE conference 2012. Agricultural Economics 44(4-5), Editorial, p. 511-512.

Vorträge

Vorträge Wissenstransfer

Reitmeier, M.; Roosen, J. (2013). Veränderung der Markenpräferenz für Milchprodukte durch Lebensphasenänderung. Präsentation auf der Milchwirtschaftlichen Herbsttagung, Freising, Oktober 2013.

ZIEL - Abteilung Mikrobiologie
Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie

Adresse:

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

Personal

Leitung:	Univ. Prof. Dr. rer. nat. Siegfried Scherer	-3516
Sekretariat:	Brigitte Stable	-3516
	Maria Thole	-3516
Wissenschaftler:	Prof. Dr. Thilo Fuchs	-3518
	Dr. Evi Lang Halter	-2257
	Dr. Viktoria Krey	-5091
	Dr. Genia Lücking *(Teilzeit)*	-5091
	Dr. Stefanie Müller-Herbst	-3945
	Dr. Klaus Neuhaus	-3945
	Dr. Mareike Wenning	-2257
Doktoranden:	Dipl.Biol. Marlies Böhm	-5091
	Dipl.Biol. Lea Fellner	-3945
	M.Sc. Elena Ferrari	-3851
	M.Sc. Jessica Hellinckx	-5570
	M.Sc. Lisa Holland	-3945
	M.Sc. Christopher Huptas	-5570
	M.Sc. Tanja Kern	-3859
	M.Sc. Anna Mühlig	-3851
	Dipl.Biol. Richard Landstorfer	-3945
	Dipl.Biol. Mario von Neubeck	-5570
	M.Sc. Nicoletta Nolle	-3859
	Dipl.Biol. Johannes Rothhardt	-3859
	M.Sc. Andrea Rütschle	-5091
	M.Sc. Lena Staib	-5570

Technische Mitarbeiter	Scharifa Bornschier *(bis 11.10. 2013)*	-5567
	Christine Braig *(Teilzeit ab 12.10.2013)*	-3520
	Sabrina Cabric *(ab 01.05.2013)*	-5562
	Angela Felsl *(Teilzeit)*	-5357
	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
	Katharina Sturm	-3520
	Romy Wecko *(ab 12.11.2013)*	-3520

Einführung

In der Forschung arbeiten wir am Schnittpunkt zwischen Lebensmittel und Ernährung. Einerseits stehen Biodiversität und Identifikation von lebensmittelrelevanten Mikroorganismen im Mittelpunkt. Andererseits liegt ein wesentlicher Schwerpunkt der Abteilung auf dem Studium von Krankheitserregern, welche durch Lebensmittel übertragen werden. Verschiedene Arbeitsgruppen befassen sich mit *Listeria*, *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 praxisbezogenen Forschungsarbeiten werden vielfach in enger Kooperation mit der Industrie durchgeführt.

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

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

Forschung

Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Habitaten

Gruppenleiterin: Mareike Wenning

Der Fokus der Forschungsgruppe liegt auf den Mikrobiota unterschiedlicher Habitate 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 Mikrobiota von Interesse sind. Hier konzentrieren wir uns nicht nur auf die Bestimmung der Speziesebene, sondern Typisieren auch unterhalb der Artgrenze. Des Weiteren sind Organismen mit hohem Verderbspotential wie Kältetoleranz oder großem Enzymbildungsvermögen von besonderem Interesse.

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

Hofspezifische Mikrobiota in Rohmilch

Farm specific microbiota in raw milk

Mareike Wenning

Die Zusammensetzung von Rohmilchmikrobiota ist ein wesentlicher Faktor für die mikrobiologische Rohmilchqualität wie auch ein Indikator für den Gesundheitszustand der Kühe. Zudem können die Mikrobiota auch die Qualität resultierender Milchprodukte maßgeblich beeinflussen. Die Komposition der Mikrobiota ist sehr komplex und stark von den Haltungs- und Fütterungsbedingungen der Kühe sowie dem Hygienezustand beim Melken und der Melkgerätschaften abhängig.

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, welchen Schwankungen die Mikrobiota eines einzelnen Erzeugerhofes unterliegt und wie stark diese ausgeprägt sind. Ferner war von Interesse, ob sich auch stabile Elemente in der Flora finden lassen, die für die Ausprägung einer gewissen Hofspezifität sprechen. Sechs Proben frischer Rohmilch wurden zwischen April und August 2012 gezogen und pro Probe wurden 300 Einzelisolate gewonnen und mit FTIR-Spektroskopie und DNA-Sequenzierung identifiziert. Mit den FTIR-Spektren wurde ein Ähnlichkeitsvergleich über hierarchische Clusteranalyse durchgeführt und anhand dessen repräsentative Vertreter für jedes Cluster ausgewählt, die dann mittels RAPD oder rep-PCR auf Stammebene typisiert wurden.

Insgesamt wurden in einem Zeitraum von vier Monaten an sechs Zeitpunkten Proben gezogen, die im Folgenden mit V1 bis V6 bezeichnet sind. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die Keimzahlen sowie die detektierte Biodiversität auf Art- und Gattungsebene. Die Keimzahlen sind durchweg niedrig und bewegen sich zwischen 5.000 und 10.000 KbE/mL. Insgesamt wurden 140 verschiedene Spezies aus 56 Gattungen detektiert, wobei auffällig ist, dass die Biodiversität der ersten beiden Proben deutlich höher als die der weiteren vier Proben ist, obwohl die Keimzahlen weitgehend ähnlich sind (Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht über die ermittelten Gesamtkeimzahlen sowie die Art- und Gattungsdiversität der sechs Rohmilchproben.

	No. species	No. genera	Cell count (cfu/mL)
V1	63	34	9.82E+03
V2	68	39	7.45E+03
V3	48	22	7.68E+03
V4	46	25	6.09E+03
V5	47	22	8.70E+03
V6	41	19	4.97E+03
Total	140	56	Ø 7,45E+03

Mit sogenannten Rarefaction-Analysen kann die detektierte Artenvielfalt einer Probe in Abhängigkeit von der Zahl der identifizierten Individuen analysiert werden. Kurven, die abflachen, zeigen, dass mit zusätzlichem Probenaufwand nicht viel mehr zusätzliche Biodiversität detektiert werden kann, wohingegen bei steil steigenden Kurven noch ein Großteil der Biodiversität nicht erfasst ist. Für Proben V1 und V2 ist in Abbildung 1 klar zu erkennen, dass die Artenvielfalt noch nicht annähernd ausreichend erfasst war, bei den übrigen vier Proben hingegen haben die Kurven bereits nur noch wenig Steigung und die Biodiversität war hier mit den ca. 300 Isolaten schon deutlich besser abgedeckt. Unter den 30 häufigsten Arten finden sich 29 gram-positive Spezies und die Hefe *Candida pararugosa*, wobei die häufigste detektierte Art *Enterococcus faecalis* ist, der allein 10,5% aller Isolate auf sich vereint.

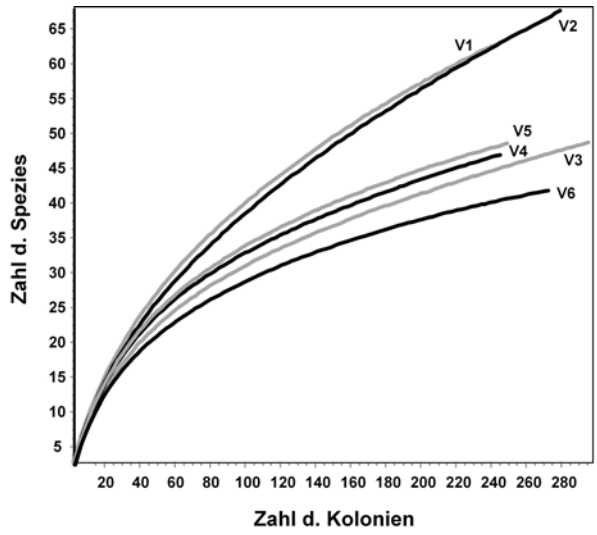


Abb. 1: Rarefaction-Analyse der Proben V1-V6. Darstellung der detektierten Artenvielfalt in Abhängigkeit der identifizierten Kolonien.

Eine Analyse der Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen Arten und Gattungen in den sechs Proben zeigt, dass 50% aller Arten und knapp 36% aller Gattungen nur in einer Probe detektiert wurden (Tabelle 2). Auf Artebene nimmt der Anteil der Arten dann kontinuierlich ab; nur 2,2% (3 Arten) sind in fünf Proben nachgewiesen. Der Anteil der Arten, die in allen sechs Proben identifiziert wurden liegt hingegen mit 14 bei 10% und damit fast fünfmal höher als der der Arten, die fünf Proben gemeinsam sind.

Eine Analyse der Häufigkeit des Auftretens der jeweiligen Arten und Gattungen in den sechs Proben zeigt, dass 50% aller Arten und knapp 36% aller Gattungen nur in einer Probe detektiert wurden (Tabelle 2). Auf Artebene nimmt der Anteil der Arten dann kontinuierlich ab; nur 2,2% (3 Arten) sind in fünf Proben nachgewiesen. Der Anteil der Arten, die in allen sechs Proben identifiziert wurden liegt hingegen mit 14 bei 10% und damit fast fünfmal höher als der der Arten, die fünf Proben gemeinsam sind.

Tabelle 2: Häufigkeit des Vorkommens aller Arten und Gattungen in den sechs Rohmilchproben. Angegeben ist der prozentuale Anteil der Arten und Gattungen, die in einer Probe, in zwei Proben usw. vorkommen sowie die Gesamtzahl an Arten und Gattungen.

	1 Probe	**2 Proben**	**3 Proben**	**4 Proben**	**5 Proben**	**6 Proben**	**Gesamtzahl**
Art	50,4%	18,7%	12,9%	5,8%	2,2%	10,0%	140
Gattung	35,7%	21,4%	7,1%	10,7%	7,1%	17,9%	56

Um zu prüfen, ob es sich bei den Arten, die in mehreren Proben identifiziert wurden, um die identischen Stämme handelte oder ob zwar die Art die gleiche ist, die Stämme jedoch wechseln, wurden ausgewählte Isolate mit molekularbiologischen Methoden typisiert. In Abbildung 2 sind die Typisierungsergebnisse für zwei ausgewählte Arten dargestellt; die Probennummer ist jeweils am Kopfende der Bahnen angegeben. Es ist ersichtlich, dass es zwar nicht ausnahmslos, aber doch in vielen Fällen zu übereinstimmenden Mustern bei der Typisierung kam. Für *Staph. arlettae* stimmen die Muster für alle sechs untersuchten Isolate überein, für *Koc. salsicia* sind mehr verschiedene Muster zu erkennen, doch finden sich auch Überlappungen zwischen einzelnen Proben.

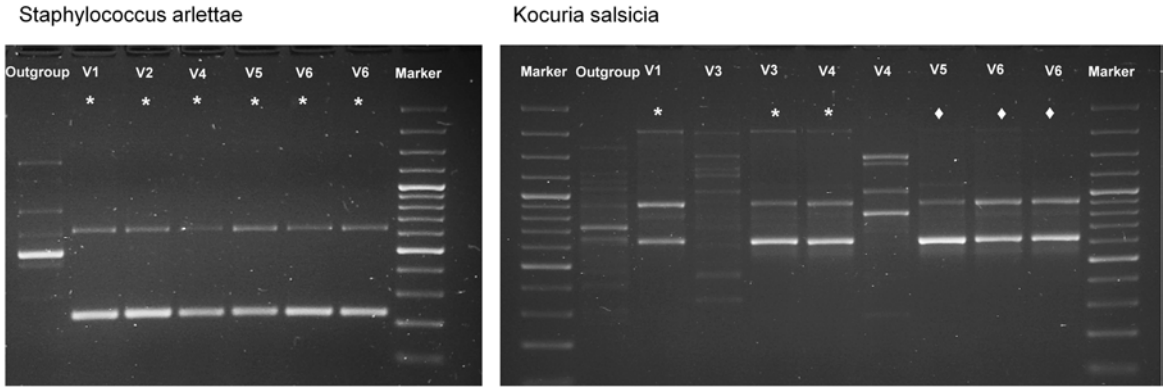


Abb. 2: Typisierungsmuster ausgewählter Isolate von Staphylococcus arlettae und Kocuria salsicia. Oberhalb der Bahnen ist jeweils die Probe angegeben, aus der das Isolat stammt, die mit Marker bezeichneten Bahnen sind die Größenmarker. Übereinstimmende Muster sind für jede Art mit einem Stern oder einer Raute gekennzeichnet. Die Outgroup bezeichnet einen Stamm der jeweils gleichen Art, aber aus anderer Quelle, der belegt, dass der gewählte Primer ausreichende Unterscheidungsmerkmale für einzelne Stämme generiert.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen eindeutig, dass die Rohmilchmikrobiota zumindest auf dem hier untersuchten Hof eine starke und ausgeprägte Stabilität aufweist, die sich über viele Arten und bis auf die Stammebene hinab erstreckt. Sie lässt sich aufgrund der großen Biodiversität jedoch nur ausreichend erfassen, wenn mit hohen Stichprobengrößen von mehreren hundert Isolaten gearbeitet wird, da andernfalls viele Arten unterhalb der Detektionsgrenze liegen. Die Rohmilchmikrobiota sind somit nur bedingt Resultat eines Eintrags zufällig vorhandener Organismen, vielmehr muss davon ausgegangen werden, dass ein nicht unerheblicher Teil einer stabil etablierten mikrobiellen Gemeinschaft entstammt, die damit maßgeblichen Einfluss auf die mikrobiologische Rohmilchqualität hat. Damit stellt sie ein potentielles Ziel im Rahmen einer Kontrolle und positiven Beeinflussung der Rohmilchmikrobiota dar.

Lipolytische und proteolytische Aktivität der Mikrobiota von Rohmilch und Milchhalbfabrikaten

Lipolytic and proteolytic activity of raw milk and semi-finished products microbiota

Mario Freiherr von Neubeck

Die Biodiversität der Mikrobiota in Rohmilch und Halbfabrikaten unterliegt neben saisonalen auch hygienebedingten Schwankungen. Während der Kühllagerung verändert sich die mikrobielle Flora, da manche Gattungen oder Arten bei kühlen Temperaturen besser wachsen können als andere und sich dadurch ihr Anteil an der Mikrobiota erhöht. Ausgehend von der Rohmilch fallen in den Molkereibetrieben verschiedene Zwischenprodukte (Halbfabrikate) an, die direkt weiterverarbeitet, zwischengelagert oder auch gehandelt werden können. Zu den wichtigsten Halbfabrikaten gehören Magermilchkonzentrat, (Milch-) Eiweißkonzentrat, eiweißangereichertes Molkenkonzentrat und Rahm/Sahne. Im Rahmen dieser Arbeit, als Teil des AiF-Forschungsvorhabens 16588 N, wurde die mikrobielle Flora von 10 Rohmilchen direkt von den Erzeugerhöfen, von 10 Rohmilchen aus Molkereistapeltanks und von jeweils 5 Proben der vier bereits erwähnten Halbfabrikat-Typen auf ihre Biodiversität untersucht. Von jeder der 20 Rohmilchproben wurden nach 7-tägiger Inkubation bei 15 °C 150 Einzelkolonien isoliert und durch Fourier-transform Infrarot-(FT-IR)-Spektroskopie und DNA-Sequenzierung identifiziert, bei den 20 Halbfabrikaten wurden pro Probe jeweils 100 Einzelkolonien isoliert und untersucht. Von allen isolierten Mikroorganismen wurden repräsentative Isolate über eine hierarchische Clusteranalyse (HCA) der FTIR-Spektren ausgewählt und diese dann auf ihr Potential zur Bildung von Lipasen und Peptidasen untersucht.

Der prozentuale Anteil einzelner Gattungen an der ermittelten Biodiversität ist für die Mikrobiota der jeweils 20 Halbfabrikate und Rohmilchen in Abbildung 1 zusammengefasst (Legende immer von li. o. → re. u.).

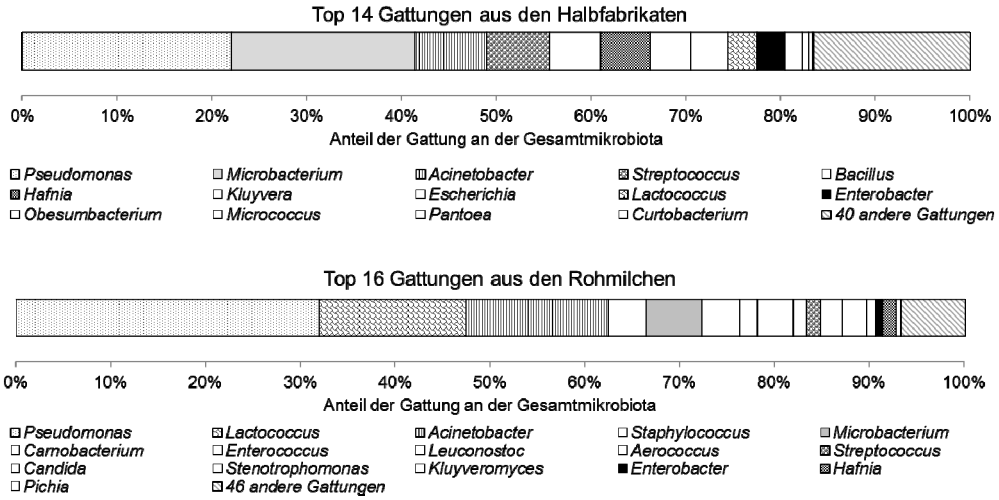


Abb. 1: Prozentualer Anteil, der 14 bzw. 16 am häufigsten isolierten Gattungen aus den Halbfabrikaten bzw. den Rohmilchen an der Biodiversität. Die angegebenen Werte beziehen sich immer auf die Gesamtheit der Isolate (1906 bzw. 2906 Isolate).

Aus den 20 Halbfabrikaten wurden insgesamt 1906 Isolate gewonnen, die 54 verschiedenen Gattungen zugeordnet werden können, bei den Rohmilchen waren 2906 Isolate aus 62 Gattungen. Die 14 bzw. 16 häufigsten Gattungen aus den Halbfabrikaten und Rohmilchen wurden aus jeweils mindesten drei Proben isoliert und stellen rund 84 % bzw. 93 % aller Isolate. Somit machen die restlichen 40 bzw. 46 Gattungen nur einen Anteil von rund 16 % bzw. 7 % an der Gesamtmikrobiota aus. Die drei häufigsten Gattungen aus den Halbfabrikaten und Rohmilchen sind mit insgesamt 49 % bzw. 63 % der Isolate *Pseudomonas*, *Acinetobacter* und *Microbacterium* bzw. *Lactococcus*. Die Gram-negativ, obligat aeroben Bakterien und die Milchsäurebakterien sind die vorherrschenden taxonomischen Großgruppen in der Rohmilch, bei den Halbfabrikaten sind es Gram-negative Bakterien allgemein, sowie Gram-positive High GCs und aerobe Sporenbildner.

Die 2906 Isolate der Rohmilchen wurden mittels HCA auf 966 repräsentative Isolate reduziert, bei den Halbfabrikaten waren es 1906 Isolate, die auf 379 repräsentative Isolate reduziert werden konnten. Diese insgesamt 1345 Isolate wurden auf ihre lipolytische und/oder proteolytische Aktivität bei 6°C untersucht und die zusammengefassten Aktivitätsdaten sind in Abbildung 2 dargestellt.

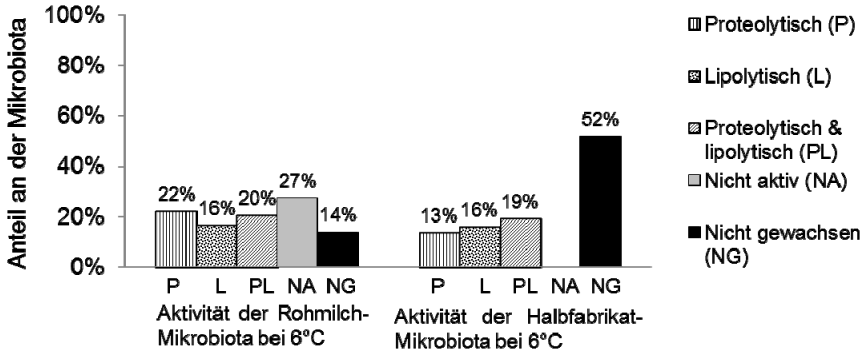


Abb. 2: Enzymatische Aktivität der repräsentativen Mikrobiota bei 6°C (P: Anteil der Isolate mit proteolytischer Aktivität; L: Anteil der Isolate mit lipolytischer Aktivität; PL: Anteil der Isolate mit proteolytischer und lipolytischer Aktivität; NA: Anteil nicht aktiver Isolate; NG: Anteil nicht gewachsener Isolate)

Für die drei Kategorien der enzymatischen Aktivität (proteolytisch, lipolytisch und proteolytisch & lipolytisch) finden sich für beide Produktgruppen ähnliche Werte, wobei in der Rohmilch ein höherer Anteil der Isolate Aktivität zeigt und bei den Halbfabrikaten nur die Hälfte der Isolate überhaupt Wachstum bei 6°C. Jedoch wiesen hier alle Isolate mit Wachstum auch enzymatische Aktivität auf; somit ist im Umkehrschluss die psychrotolerante Mikrobiota zu 100 % aktiv; bei den Rohmilch-Isolaten sind es 70 %.

Bezogen auf die Art der enzymatischen Aktivität lassen sich klare gruppen- aber auch gattungsspezifische Tendenzen erkennen. Abbildung 3 zeigt die enzymatische Aktivität der Gattungen *Pseudomonas*, *Acinetobacter* und *Microbacterium*, sowie der taxonomischen Großgruppen der Milchsäure- und Enterobakterien, der aeroben Sporenbildner und Hefen.

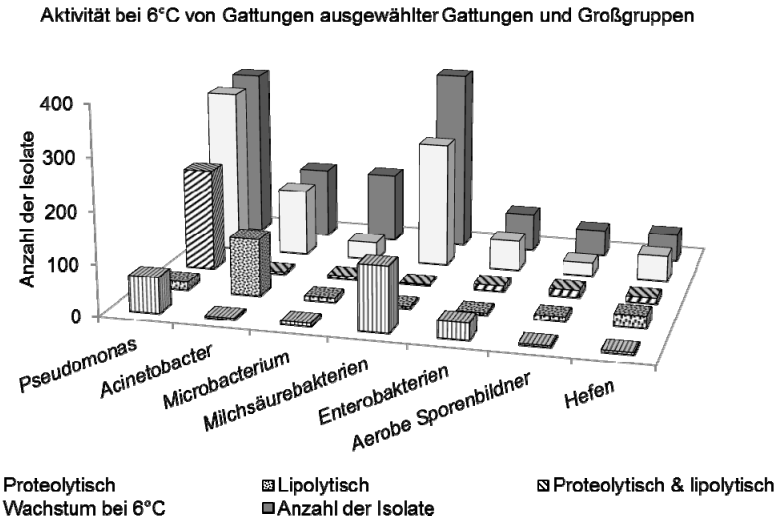


Abb. 3: Tendenzen in der enzymatischen Aktivität ausgewählter Großgruppen und Gattungen

Die Gattung *Pseudomonas* betreibt vorwiegend Proteolyse und Lipolyse oder Proteolyse allein, aber reine Lipolyse taucht nur selten auf. Gleiches gilt für die taxonomische Großgruppe der Enterobakterien, wobei diese bevorzugt reine Proteolyse zeigten. Fast ausschließlich Lipolyse wird von der Gattung *Acinetobacter* betrieben, Hefen zeigen ebenfalls überwiegend Lipolyse, aber auch Proteolyse und Lipolyse; dieser Aktivitätstrend liegt auch bei den aeroben Sporenbildnern vor. Milchsäurebakterien hingegen zeigen i. d. R. fast ausschließlich Proteolyse. Die Gattung *Microbacterium* hingegen lässt außer dem schlechten Wachstum bei 6°C keinen klaren Trend erkennen, generell sind sowohl Proteolyse als auch Lipolyse möglich.

Im weiteren Projektverlauf werden die von den repräsentativen Isolaten gebildeten Lipasen und Peptidasen auf ihre Hitzeresistenz untersucht. Aus den daraus resultierenden Ergebnissen können dann evtl. Rückschlüsse auf eine technologische Relevanz einzelner Gattungen oder Arten in Bezug auf die Endproduktstabilität gezogen werden. Bekannt ist, dass einige Lipasen und Peptidasen mikrobiellen Ursprungs die Pasteurisierung aber auch die UHT-Behandlung überstehen, somit im Endprodukt vorliegen und durch ihre Restaktivität sensorische Abweichungen hervorrufen können.

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

Detaillierte Analyse einer Rohmilchmikrobiota

Detailed analysis of raw milk microbiota

Etienne Doll

Rohmilch mit ihrem neutralen pH und hohem Gehalt an Protein, Kohlenhydraten und Fett stellt ein ideales Medium für das Wachstum einer diversen Mikrobiota dar. Milch, die im gesunden Euter noch steril ist, wird während des Melkens kontaminiert. Typische Eintragsquellen sind vor allem die Euterhaut, aber auch Heu, Staub, die Stallluft und das Melksystem. Die meisten Studien in diesem Kontext befassen sich mit einzelnen dominanten oder technologisch relevanten Gattungen oder Arten. Über die mikrobielle Biodiversität der Rohmilch ist dagegen wenig bekannt. Um einen detaillierten Einblick in die qualitative und quantitative Zusammensetzung und Vielfalt der Rohmilchmikrobiota zu gewinnen wurde daher eine große Stichprobe von 1500 Keimen kulturabhängig identifiziert. Dafür wurde eine Rohmilchprobe aus dem Kühltank eines Einzelhofes auf unselektivem PC-Agar mit Magermilchzusatz ausplattiert und 5 Tage bei 30°C inkubiert. Anschließend wurden Bakterien- und Hefekolonien zufallsbedingt isoliert und die resultierenden Reinkulturen anhand ihrer 16S rRNA-, 26S rRNA- bzw. *rpoB*-Gensequenzen oder mit Hilfe der FTIR-Spektroskopie identifiziert.

Von den 1500 gewonnenen Reinkulturen konnten 1472 identifiziert werden. Die Klassifizierung dieser Isolate in taxonomische Großgruppen zeigt, dass die Probe klar von gram-positiven Keimen dominiert wurde (Tabelle 1). Vor allem die Gruppe der gram-positiven Organismen mit hohem G+C-Gehalt in ihrer DNA (z.B. *Microbacterium*) und die Staphylokokken machten einen signifikanten Anteil der Isolate aus. Gram-negative Bakterien, die oft als Indikator für mangelnde Hygiene angesehen werden, waren dagegen nur mit 6,1% vertreten. Wie für Rohmilch typisch machten Hefen den geringsten Anteil der Stichprobe aus.

Tabelle 1: Klassifizierung der identifizierten Isolate in taxonomische Großgruppen (n=1472).

Taxonomische Großgruppe	Anteil der Isolate
Gram-positiv, High G+C	41,8%
Gram-positiv, *Staphylococcus*	38,0%
Gram-positiv, Milchsäurebakterien	12,3%
Gram-positiv, Sporenbildner	0,1%
Gram-negativ, obligat aerob	5,8%
Gram-negativ, Enterobakterien	0,3%
Hefen	1,7%

Die 1472 identifizierten Isolate wiesen mit 117 Spezies und 51 Gattungen, von denen 17 Arten und sogar vier Genera noch nicht beschrieben sind, eine enorme Biodiversität auf. Die fünf häufigsten Gattungen waren *Staphylococcus*, der mehr als ein Drittel der gesamten Stichprobe ausmachte, außerdem *Microbacterium*, *Corynebacterium*, *Gordonia* und *Streptococcus* (Abb. 1). Abgesehen von *Gordonia* gelten alle diese Keime als typische Rohmilchbakterien, die über Heu oder Euterhaut in die Rohmilch gelangen. Während die acht häufigsten Gattungen zusammen fast 80% der Isolate ausmachten, wiesen die verbleibenden 20% der Stichprobe eine Diversität von 43 Gattungen auf. Die meisten Genera (37) stellten sogar jeweils weniger als 1% der Stichprobe. Man spricht hierbei von einer für Rohmilch typischen, unebenen Häufigkeitsverteilung, die auch auf Speziesebene klar zu erkennen war.

Dies zeigt, dass der Großteil der enormen mikrobiellen Biodiversität in den seltenen Isolaten liegt. Um diese annähernd zu erfassen, sind deshalb große Stichproben, wie in dieser Studie, unverzichtbar.

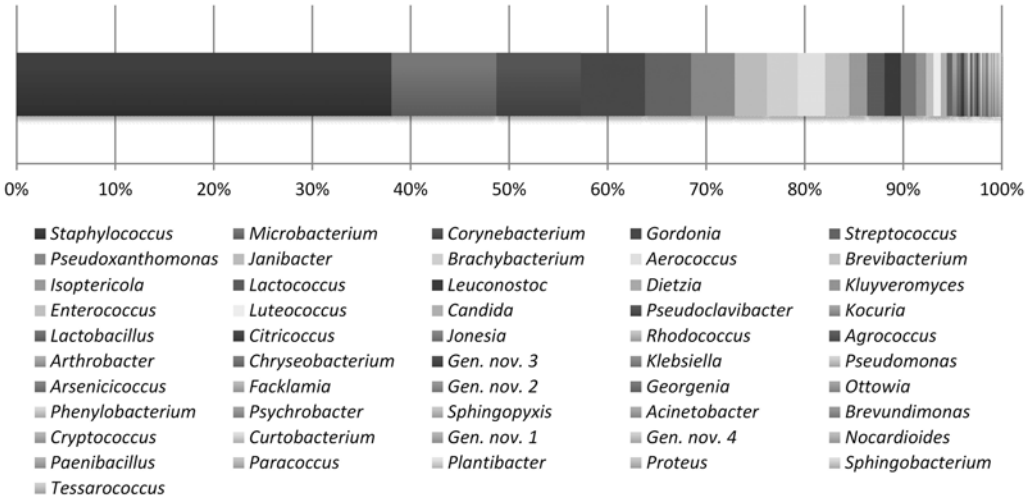


Abb. 1: Quantitative Zusammensetzung der Rohmilchmikrobiota auf Gattungsebene (n=1472).

Die Rarefactionanalyse als Werkzeug zur Abschätzung der Artenvielfalt, stellt die Anzahl der vorhandenen Arten als Funktion der Stichprobengröße dar. Je vollständiger die Biodiversität erfasst ist, desto weiter flacht die Kurve ab, bis sie einen asymptotischen Verlauf erreicht hat. Die Rarefactionanalyse für die analysierte Rohmilchprobe ist in Abb. 2 dargestellt.

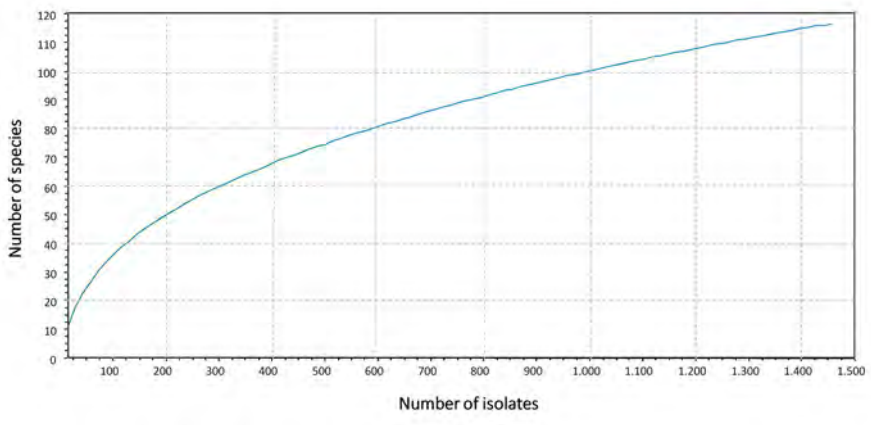


Abb. 2: Rarefactionanalyse der mikrobiellen Biodiversität in Rohmilch eines Einzelhofes (n=1472).

Deutlich ist hier zu erkennen, dass die Kurve zu Beginn sehr steil ansteigt. Mit einer Stichprobengröße von 300 Isolaten wurden bereits 60 der 117 Spezies erfasst. Im weiteren Verlauf nimmt die Steigung immer weiter ab. Unter den letzten 300 Isolaten waren lediglich 10 neue Spezies. Dies zeigt zum einen, dass die gewählte Stichprobengröße von 1500 Rohmilchisolaten die Identifizierung eines Großteils der kultivierbaren, mesophilen Rohmilchmikrobiota ermöglichte. Zum anderen wird jedoch deutlich, dass für die Erfassung extrem seltener Keime und somit der gesamten Diversität noch größere Studien nötig wären.

Hochdurchsatz-Sequenzierung bakterieller Genome
High-throughput sequencing of bacterial genomes
Christopher Huptas

Der Begriff des *Next-Generation-Sequencing* oder auch *Second-Generation-Sequencing* umfasst drei unterschiedliche Sequenziertechnologien. Zu diesen gehört die 454 Pyrosequenzierung, die SOLiD Sequenzierung, sowie die Illumina Sequenzierung. Im Gegensatz zur bisher weitläufig genutzten Sequenzierung nach Sanger ermöglichen die *Next-Generation-Sequencing*-Technologien eine hochgradige Parallelisierung und Automatisierung des Sequenzierprozesses. Im Ergebnis kommt es also zur Sequenzierung mehrerer Millionen DNA Fragmente zum selben Zeitpunkt. Diesem Umstand ist es zu verdanken, dass sich im Vergleich zur traditionellen Sanger-Sequenzierung die Sequenzierkosten pro Nukleotid drastisch senken ließen, so dass die Sequenzierung kompletter Genome, Transkriptome und Translatome nun ökonomisch nicht mehr nur durch die großen Sequenzierzentren geschultert werden kann. Einer der großen Vorteile für die genetische, molekular- und evolutionsbiologische Forschung liegt darin begründet, dass die bisherige prädominante Erforschung einzelner Gene nun auf die Erforschung ganzer Gengruppen oder sogar Genpoole ausgeweitet werden kann.

Seit Anfang 2012 ist die Abteilung Mikrobiologie im Besitz einer Illumina MiSeq Sequenzierplattform und in den letzten zwei Jahren wurde sowohl die Probenvorbereitung zur Sequenzierung bakterieller Genome als auch die bioinformatische Datenaufbereitung und -Auswertung optimiert, um den Durchsatz der Sequenzdaten hinsichtlich ihrer Qualität und Quantität auf hohem Niveau zu gewährleisten. Abbildung 1 fasst schematisch die wichtigsten Schritte der Probenvorbereitung zusammen. Zuerst wird die bakterielle DNA mit Hilfe von Ultraschallwellen gescheert und in kleine Fragmente zerteilt. Es folgt die enzymatische Probenaufbereitung. Bei dieser werden zunächst die nach der Scheerung teilweise einzelsträngig vorliegenden Enden der DNA-Fragmente wieder zu einem Doppelstrang aufgefüllt (End-Repair). Die durchgängig doppelsträngigen DNA-Fragmente werden anschließend adenyliert, um die im letzten Schritt durchzuführende Ligation spezifischer Adaptersequenzen an die DNA-Fragmente zu ermöglichen. Nach jedem enzymatischen Schritt findet eine Aufreinigung und Längenselektion der DNA-Fragmente mit Hilfe magnetischer Beads statt. Die Aufreinigung und Längenselektion mit magnetischen Beads, anstatt wie bisher üblich über eine Gelelektrophorese und Gelextraktion, verringert die Kontaminationsgefahr der zu sequenzierenden DNA-Probe erheblich. Auch kann eine mögliche Schädigung der DNA-Probe durch ihre Sichtbarmachung mit Hilfe von UV-Strahlung, was bei gelbasierten Methoden leider unabwendbar ist, vermieden werden. Nachdem die DNA-Probe aufbereitet wurde, wird sie auf eine Flusszelle aufgetragen. Auf dieser findet der DNA-Sequenziervorgang in hoch parallelisierter Form statt. Am Ende eines Sequenzierlaufs, der ca. zwei Tage dauert, steht die Ausgabe von mehreren Millionen sequenzierten DNA-Fragmenten in digitaler Textform, den sog. Sequenzrohdaten.

Die einzelnen DNA-Sequenzen innerhalb der gesamten Rohdaten können sich in Bezug auf ihre Verlässlichkeit (Qualität) zum Teil erheblich unterscheiden. So finden sich innerhalb der Rohdaten DNA-Sequenzen, die mehr Sequenzierfehler aufweisen als andere. Der erste Schritt der bioinformatischen Datenaufbereitung (Abbildung 2) wird als Qualitätskontrolle bezeichnet. Bei der Qualitätskontrolle werden DNA-Sequenzen mit einer Vielzahl von zu erwartenden Sequenzierfehlern vom Rest der Rohdaten getrennt.

Übrig bleibt ein hochqualitativer Sequenzdatensatz dessen DNA-Sequenzen ein hohes Verlässlichkeitsmaß (= wenige Sequenzierfehler) aufweisen. Die Qualitätskontrolle ist unverzichtbar, da zu fehlerbehaftete Sequenzdaten mit der anschließenden Assemblierung interferieren würden.

Unter Assemblierung versteht man die Rekonstruktion des Genomes. Ausgangsbasis hierfür ist der hochqualitative Sequenzdatensatz. Die Sequenzen dieses Datensatzes entsprechen im übertragenen Sinn kurzen DNA-Fragmenten. Ähnlich wie beim Puzzle kommt es während der Assemblierung also darauf an, die einzelnen kurzen DNA-Fragmente wieder zu einem großen Ganzen (dem Genom) zusammenzufügen. In der Regel ist eine komplette Rekonstruktion des Genomes allerdings nicht möglich. Der Grund hierfür sind vor allem die vorkommenden repetitiven Elemente, d.h. DNA-Bereiche die identisch oder fast identisch an unterschiedlichen Stellen im Genom mehrfach auftreten. Ergebnis einer Assemblierung ist für gewöhnlich eine Menge von Contigs (= contigous sequences). Contigs können als längere rekonstruierte Bereiche des Genomes angesehen werden.

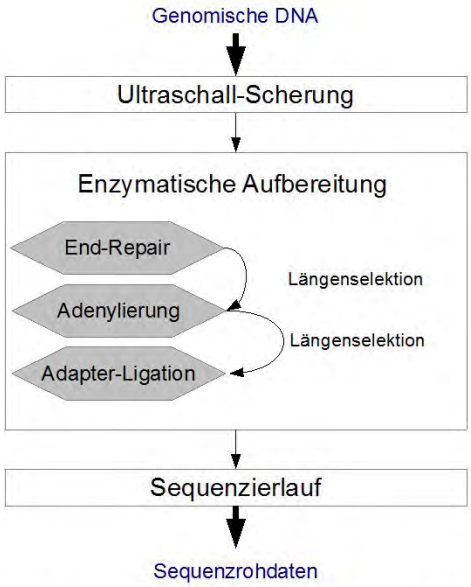


Abb. 1: Schematische Darstellung der wichtigsten Schritte der Probenvorbereitung für die Sequenzierung bakterieller Genome

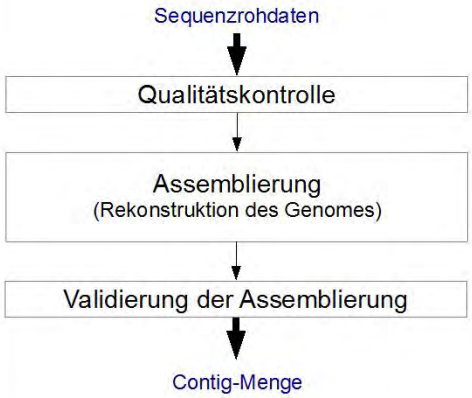


Abb. 2: Schematische Darstellung der wichtigsten Schritte der bioinformatischen Datenaufbereitung nach der Sequenzierung

Als Maß des Erfolges einer Assemblierung kann zum Beispiel die Anzahl und die durchschnittliche Länge der resultierenden Contig-Menge dienen. Zum Beispiel ist es uns im Laufe der Optimierung der Probenvorbereitung sowie der bioinformatischen Datenaufbereitung gelungen, ein anfängliches Assembly des Genomes von *Listeria weihenstephanensis* von 92 Contigs mit einer durchschnittlichen Länge von 36.590 Nukleotiden pro Contig auf ein Assembly mit 23 Contigs und einer durchschnittlichen Länge von 146.960 Nukleotiden pro Contig maßgeblich zu verbessern. Solche verbesserten Asssemblies werden dem Lehrstuhl in Zukunft als Grundlage für weitergehende molekular- und evolutionsbiologische Analysen in einem nahezu gesamt-genomischen Kontext dienen.

So wird beispielsweise die Beschreibung neuer bislang unbekannter Arten mit Genomdaten vereinfacht und präzisiert; gleichzeitig stehen die generierten digitalen Daten für eine unbestimmte Zahl an Analysen zur Verfügung, wo mit herkömmlichen Methoden wie der DNA-DNA-Hybridisierung für jede neue Paarung jeweils ein eigener Vergleich gemacht werden musste. Auch im Bereich der Charakterisierung bestimmter Organismen kann mit Genomdaten eine erhebliche Beschleunigung der Untersuchungen erreicht werden.

Wo früher mühsam nach bestimmten Genen für Charakteristika, z.B. Peptidasegenen für proteolytische Eigenschaften, gesucht werden musste, was teilweise monatelange Laborarbeit bedeutete, kann heute mit der Generierung einer Genomsequenz die Suche stark abgekürzt werden. Bekannte Motive einer Gengruppe werden mit der Genomsequenz verglichen und so die vorhandenen Gene in einem Schritt im gesamten Genom lokalisiert.

Arbeitsgruppe: Anpassung pathogener Bakterien an Stress

Gruppenleiterin: Stefanie Müller-Herbst

Unter den in Deutschland meldepflichtigen bakteriellen Infektionskrankheiten spielen vor allem solche, die durch Lebensmittelinfektionserreger hervorgerufen werden, eine zentrale Rolle. Kontaminationen von Lebensmitteln mit pathogenen Bakterien und daraus resultierende Ausbruchsgeschehen bergen neben dem Gesundheitsrisiko für den Verbraucher auch wirtschaftliche Risiken für bestimmte Bereiche der Lebensmittelindustrie. Der Forschungsschwerpunkt unserer Arbeitsgruppe liegt auf der molekularen Charakterisierung der Anpassung pathogener Bakterien wie *Salmonella* enterica Serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium), enterohämorrhagischer *E. coli* (EHEC) sowie *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) an verschiedenste 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.

Inhibitorische Wirkung von Nitrit auf Wachstum und Überleben pathogener Bakterien

Inhibitory effect of nitrite on growth and survival of pathogenic bacteria

Anna Mühlig, Katharina Sturm

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

Am Max-Rubner-Institut in Kulmbach konnte gezeigt werden, dass die Verwendung von Nitritpökelsalz tatsächlich in einer deutlich besseren Reduktion der Keimzahlen der pathogenen Bakterien *L. monocytognes* und *S.* Typhimurium resultiert. Im Rahmen von FEI/AiF geförderten Projekten sollte 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.

In vitro Wachstumsversuche von *L. monocytogenes* und *S.* Typhimurium, in denen die inhibitorische Wirkung von Nitrit in Kombination mit weiteren für die Lebensmittelherstellung relevanten Parametern wie pH-Wert, NaCl-Konzentration, Temperatur und Sauerstoffverfügbarkeit untersucht wurde, ergaben, dass das Wachstum der Pathogenen durch Nitrit vor allem in Kombination mit einem sauren pH-Wert inhibiert wird.

Es wird postuliert, dass nicht Nitrit selbst das eigentliche antibakterielle Agens ist, sondern Derivate, die während des Reifungsprozesses aus Nitrit entstehen. Eine Verbindung, die oft in diesem Zusammenhang genannt wird, ist Stickstoffmonoxid (NO). Interessanterweise sind pathogene Bakterien auch während des Infektionsprozesses NO ausgesetzt, welches von der Wirtsabwehr produziert wird. *Salmonella* Typhimurium und EHEC besitzen NO-detoxifizierende Systeme (HmpA, NorV, NrfA), wohingegen solche Systeme in *L. monocytogenes* nicht beschrieben sind. Dies deckt sich auch mit Beobachtungen aus globalen Transkriptionsstudien, die mittels Microaaray-Analysen bzw. Next Generation RNA Sequenzierung durchgeführt wurden (Abb. 1).

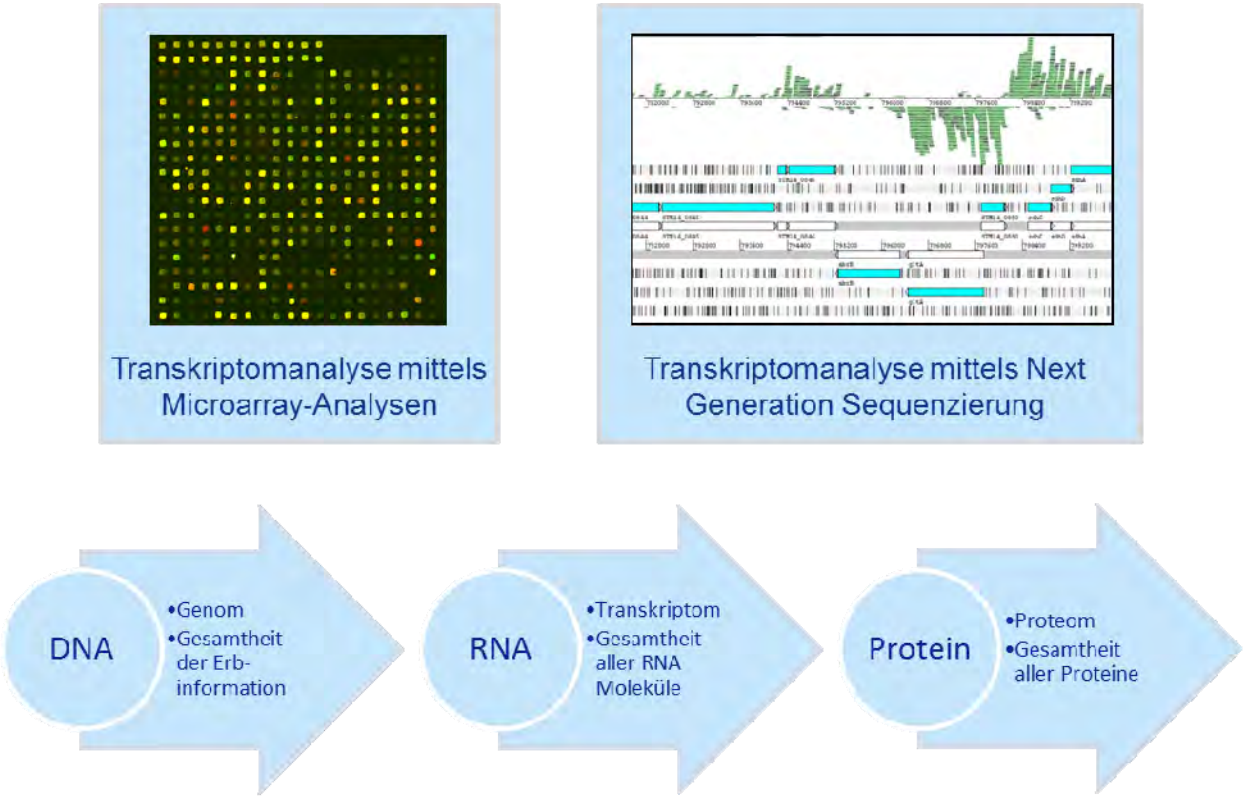


Abb. 1: Globale Transkriptionsanalysen. Unter Transkriptom versteht man die Gesamtheit aller RNA-Moleküle in der Zelle. Veränderungen im Transkriptionsprofil lassen sich über globale Transkriptionsstudien wie Microarray-Analysen oder Next Generation Sequenzierung nachweisen.

Die Kombination aus saurem pH-Wert und Nitrit führt sowohl in *L. monocytogenes* als auch in *S.* Typhimurium zu massiven Veränderungen im Transkriptionsprofil. In *L. monocytogenes* kommt es zur Induktion einer allgemeinen Stress-Antwort, wohingegen die Anpassung von *S.* Typhimurium an Nitrit- bzw. NO-Stress spezifischer zu sein scheint. Das Gen *hmpA* ist hier eines der am stärksten induzierten Gene. Die Anpassung an Nitrit- bzw. NO-Stress auf molekularer Ebene unterscheidet sich somit zwischen unterschiedlichen Bakterien, was sich auch auf deren Reaktion auf Nitrat/Nitrit im Lebensmittel auswirken dürfte. Gegenwärtig wird die Anpassung an Nitrit-Stress unter Berücksichtigung weiterer für die Rohwurstherstellung wichtiger Parameter mittels Next Generation RNA Sequenzierung durchgeführt, um ein differenziertes Bild der Nitrit-Stressantwort für verschiedenste Wachstumsparameter zu erhalten.

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*

Anaerobic metabolism in Listeria monocytogenes

Elena Ferrari

L. monocytogenes als ubiguitär vorkommender Keim besiedelt häufig ökologische Nischen, in denen ein mikroaerophiles oder anaerobes Milieu vorliegt. Anaerobe bzw. miroaerobe Bedingungen findet der Keim im Boden, im Wasser, in verrottendem Pflanzenmaterial sowie im Gastrointestinaltrakt von Wirtstieren vor. Solche anaeroben Nischen können aber auch im Lebensmittel, vor allem in vakuumverpackten Lebensmitteln vorliegen. Obwohl die Anpassung an anaerobe Bedingungen für *L. monocytogenes* in vielen ökologischen Nischen relevant ist, ist der aerobe Metabolismus deutlich besser untersucht als der anaerobe Metabolismus. Nachdem in vorhergegangenen Projekten die Anpassung von *L. monocytogenes* an anaerobe Wachstumsbedingungen auf Transkriptomebene untersucht wurde und Gene identifiziert wurden, die essentiell für das anaerobe Wachstum des Bakteriums sind, sollte nun die Beteiligung dieser Gene an der Kolonisierung des Gastrointestinal-Trakts von *L. monocytogenes* im Tiermodell untersucht werden. Zu diesem Zweck wurde zunächst der Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* mit *L. monocytogenes* infiziert und die Proliferation des Bakteriums im Wirt bestimmt (Abb. 2).

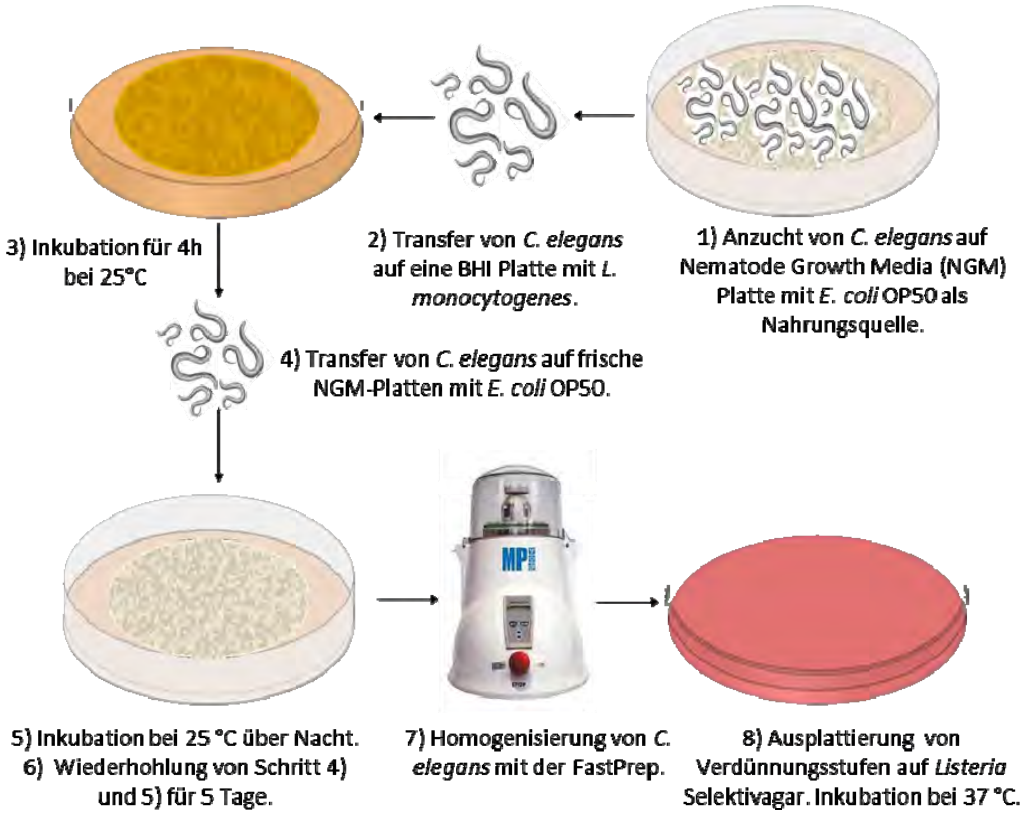


Abb. 2: Infektion von *C. elegans* mit L. monocytogenes.

Eine Kolonisierung des Nematoden konnte auch für Mutanten beobachtet werden, in welchen Gene, die essentiell für das anaerobe Wachstum von *L. monocytogenes* sind, deletiert wurden. Aus diesen Versuchen lässt sich folgern, dass der Gastrointestinal-Trakt des Nematoden *C. elegans* nicht anaerob ist.

Eine Bedeutung anaerob induzierter Gene für die Kolonisierung des anaeroben Gastrointestinal-Trakts lässt sich also mit diesem Modell nicht untersuchen. Momentan wird eine Modifikation des Versuchsaufbaus angestrebt, um anaerobe Gastrointestinale Bedingungen analysieren zu können.

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

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

Gruppenleiter: Klaus Neuhaus

DNA kann, aufgrund des Triplett-Codes, an einem gegebenen Ort theoretisch sechs verschiedene Proteine kodieren. In der Natur sind vor allem zweifach überlappende Gene bekannt. 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 DFG Schwerpunkts InKoMBio SPP 1395. Hierzu kooperieren wir mit dem Lehrstuhl „Datenanalyse und Visualisierung“ von Prof. D. Keim an der Universität Konstanz und dem Lehrstuhl “Nachrichtentechnik“ von Prof. M. Bossert an der Universität Ulm.

Charakterisierung überlappender Gene in EHEC & Re-annotation von EHEC

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

Lea Fellner, Klaus Neuhaus

Bisher wurden nur wenige überlappende Gene bei Bakterien experimentell nachgewiesen, daher sollten weitere überlappende Genpaare experimentell untersucht werden. Ein bereits bekanntes Genpaar *htgA* / Z0011 (Abbildung 1) wurde mittels Promoterfusionen mit „green fluorescent protein“ näher untersucht. Des weiteren wurden von diesem Genpaar zum ersten Mal Strang-spezifische „single knockouts“ für beide Gene hergestellt und auf ihren Phänotyp überprüft. Etliche weitere Genpaare, für die mittlerweile experimentelle Daten für ihre Existenz vorliegen, wurden in derselben Weise Strang-spezifisch ausgeknockt und Phänotypen mittels kompetetiven Wachstums unter Stressbedingungen und Metabolomanalysen charakterisiert.

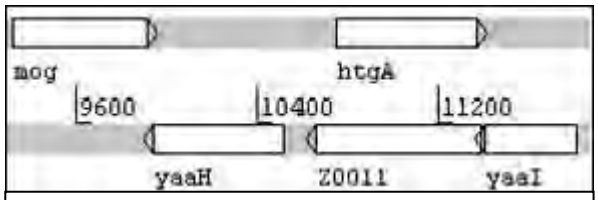


Abbildung 1 Ausschnitt aus dem Genom des Bakteriums *Escherichia coli* O157:H7 mit eingezeichneten Genen (weiße Pfeile). Hier befindet sich eines der wenigen bekannten, vollständig überlappenden Genepaare aus diesem Bakterium (*htgA* / Z0011).

Das Genom von EHEC wurde bereits vor über 10 Jahren erstellt und ist weder vollständig, noch in allen Teilen korrekt. Zudem sind einige offene Leserahmen in der Originalpublikation nicht annotiert, obwohl sie exprimiert werden. Next-Generation Sequencing und andere Techniken erlauben eine vollständigere und genauere Annotation, die zukünftige Arbeiten erleichtern wird.

Identifikation überlappender Gene und Orphan-Gene in pathogenen Bakterien
Identification of overlapping and orphan-genes in pathogenic bacteria
Richard Landstorfer, Klaus Neuhaus

Das Transkriptom von EHEC EDL933 wurde mittels moderner *Next-Generation-Sequencing*-Technologie bei verschiedensten Wachstumsbedingungen untersucht. Für diese Sequenzierungen verwendeten wir die SOLiD bzw. Illumina Plattform. Die Analysen verschiedener Bedingungen, wie Wachstum in Labor-Standardmedien, auf Pflanzen, und unter Stress (pH9, Nitrit, Zugabe von Antibiotika) zeigten eine differentielle Regulation der annotierten Gene. Insbesondere wiesen wir auch die Aktivität vieler bislang hypothetischer Gene nach. Die weitere Auswertung der Umwelt-spezifischen Transkriptregulation wird helfen, das pathogene Potential und die Umweltpersistenz von EHEC besser verstehen zu können. Zusätzlich entdeckten wir viele Bereiche, in denen überlappend kodierende Gene transkribiert werden.

Um die Existenz eines überlappenden Genes zu belegen, muss man die Expression eines Proteins von diesen Genen nachweisen. Dazu etablierten wir in unserem Labor die *Ribosomen-Footprinting*-Methode. Bei dieser Spezialanwendung des *Next-Generation-Sequencing* werden nur diejenigen RNA-Fragmente sequenziert, welche vom Ribosomen geschützt sind. Dadurch konnten wir eine Translation vieler unbekannter Gene, und damit indirekt auch deren Proteine, zeigen. Im Umkehrschluss konnten zahlreiche nicht proteinkodierende funktionelle RNAs nachgewiesen werden, die dieser Translation nicht aufweisen. Der Vorteil dieser neu etablierten Methode liegt in einer wesentlich höheren Sentivität im Vergleich zu bisherigen Techniken. Zusätzlich ist ein Sequenzierdurchgang ausreichend, um das komplette Transkriptom und Translatom eines Bakteriums abzudecken.

Das überlappende Genpaar *dmdR1* und *adm* aus *Streptomyces*
The overlapping gene pair dmdR1 and adm in Streptomyces
Lisa Holland, Klaus Neuhaus

In 2009 wurde ein überlappendes Genpaar in *Streptomyces coeolicolor* beschrieben, *dmdR1/adm*, und Phänotypen für entsprechende Mutanten dieser beiden Gene ermittelt. Die Streptomyceten sind eine gut untersuchte Gruppe, da sie viele Antibiotika produzieren. Unser Interesse richtete sich auf die Evolution solcher Genpaare: Wann und wie evolvierte das überlappende Genpaar *dmdR1* und *adm*? Die Beantwortung hilft, ähnliche Prozesse in anderen Bakterien zu verstehen. Eine phylogenetische Analyse ergab, dass das neue Gen kommt nur in *S. coelicolor* und seinen engeren Verwandten vorkommt. Es hat dort offenbar regulatorische Aufgaben übernommen.

Arbeitsgruppe: Infektionsstrategien pathogener Darmbakterien

Gruppenleiter: Thilo M. Fuchs

Relevante mikrobielle Stoffwechselwege zur Besiedelung von Darmnischen

Microbial metabolism relevant for gut niche occupation

Lena Staib, Nicoletta Nolle

Die Funktionen eines beträchtlichen Teils bakterieller Genome sind von bislang unbekannter Funktion. Bei der Aufklärung dieser funktionalen Lücken rücken zunehmend metabolische Eigenschaften in den Vordergrund des Interesses. Metabolische Fähigkeiten werden häufig durch sog. distinkte chromosomale Regionen, 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 somit der Prophylaxe und Bekämpfung von Infektionskrankheiten.

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

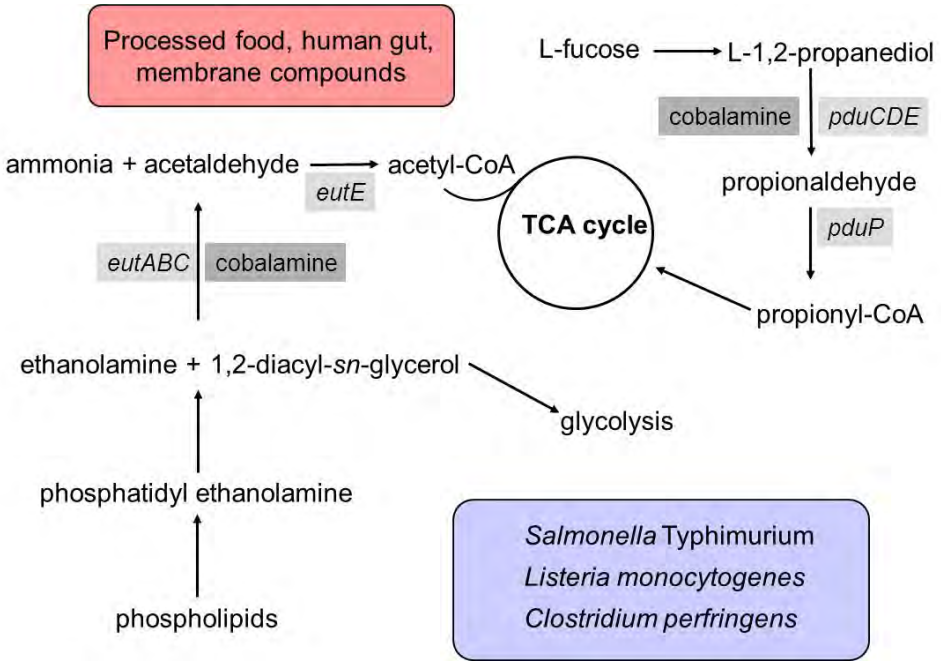


Abb. 1: Die von Vitamin B12 abhängigen Abbauwege von Phospholipiden (Ethanolabbau) bzw. von L-Fucose. Ethanolamine kann als Energie-, Stickstoff- und Kohlenstoffquelle für Bakterien dienen. Die aus dem Darmmucus gewonnene L-Fucose wird via 1,2-Propandiol verwertet. Von allen krankheitserregenden Bakterien besitzen lediglich die Lebensmittel-Pathogene Salmonella, Listeria und Clostridium beide Abbauwege (modifiziert nach Klumpp & Fuchs, Microbiol. 2007, 153:1207-1220).

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

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

Myo-inositol metabolism of Salmonella enterica serovar Typhimurium

Johannes Rothhardt, Jessica Hellinckx, Angela Felsl

Die Enteritis-Salmonellosen des Menschen gehören zu den bedeutendsten Infektionskrankheiten des Gastrointestinaltrakts. Erfreulicherweise hat sich die Zahl der dem Robert Koch-Institut gemeldeten Fälle seit 2006 etwa halbiert. Im Jahr 2012 wurden aber immer noch mehr als 20.000 Fälle bekannt, wobei die Anzahl der nicht registrierten Erkrankungen vermutlich deutlich höher liegt. Die durch eine Vielzahl verschiedener Salmonellen induzierten Infektionen werden häufig durch die Aufnahme kontaminierter Nahrungsmittel ausgelöst. Obgleich die meisten Salmonellen vorwiegend in 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. Obwohl Salmonellen zu den sehr gut untersuchten Modellorganismen zählen, ist es noch weitgehend ungeklärt, welche Nährstoffe ihnen während der Infektion zum Wachstum zur Verfügung stehen, und welche spezifischen, zu ihren Virulenzeigenschaften beitragenden Stoffwechselwege sie dabei für ihre Proliferation aktivieren.

Ein Beispiel hierfür ist die Nutzung von *myo*-Inositol als Kohlenstoff- und Energiequelle durch *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium). Die „metabolische Insel" GEI4417/4436 trägt die für den Abbau benötigten *iol*-Gene. In den letzten Jahren konnten wir die komplexe Regulation der *iol*-Gene entschlüsseln, indem wir die Transkriptionsaktivität einzelner Promotoren mittels des Luziferase-Reporters charakterisierten. Über Protein-DNA-Bindungsexperimente konnte der zentrale Repressor dieses Abbauweges, IolR, charakterisiert werden (Kröger & Fuchs, J. Bacteriol. 2009, 191:545-554). Außerdem gelang in Zusammenarbeit mit Jürgen Stolz (ZIEL, Abteilung Biochemie) die Identifizierung des hauptsächlichen Transporters von *myo*-Inositol, dessen Regulation, Expression und Aktivität detailliert bestimmt wurden (Kröger *et al*., Microbiology. 2010, 156:128-138).

Zuletzt untersuchten wir einen neuartigen, für den *myo*-Inositol-Abbau essentiellen Transkriptionsfaktor. Dieser Faktor, den wir als Aktivator einzelner *iol*-Gene identifizieren konnten, ist auch insofern einzigartig, als er in anderen Bakterien bislang nicht gefunden werden konnte. Darüber hinaus offenbarte sich eine hoch komplexere Regulation der *iol*-Gene. So wurde gezeigt, dass neben den rein metabolischen Signalen auch die Haupt-Virulenzregulatoren von *S.* Typhimurium eine Rolle für die Expression der GEI4417/4436-Gene spielen.

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

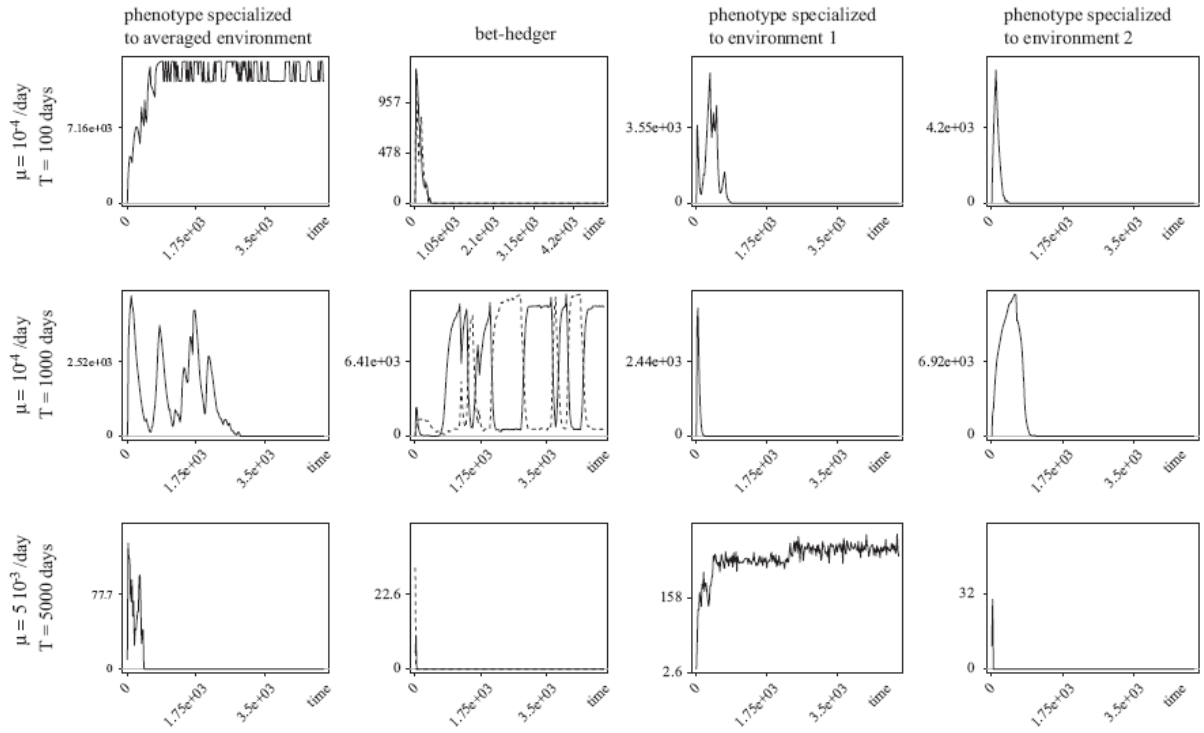


Abb. 2: Modellierung des sog. „Bet-hedgings“, einer biologischen Strategie in stochastisch wechselnden Umgebungen, die nach unserer Hypothesenbildung auch auf den Abbau von myo-Inositol zutrifft. Zu sehen ist eine Simulation des stochastischen Modells mit vier konkurrierenden bakteriellen Phänotypen (Säulen), nämlich den an die durchschnittliche Umgebung angepassten Spezialisten, den „Bet-hedgern“, und den an zwei verschiedene, definierte Umwelten angepassten Spezialisten (Details bei Müller et al., 2013).

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

Metabolismus und Virulenz: ein neues Pathogenitätskonzept am Beispiel von *Listeria monocytogenes* (Schwerpunktprogramm 1316 der DFG)
***Metabolism meets virulence: a novel concept of pathogenicity as exemplified by* Listeria monocytogenes**
Tanja Kern

Die meisten bekannten *Listeria*-Arten sind harmlos, jedoch können *Listeria monocytogenes* und *Listeria ivanovii* bei Mensch und Tier 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 und vor allem 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 phagozytische Zellen wie Makrophagen, aber auch nicht professionell phagozytische Zellen wie z.B. Epithelzellen, Hepatocyten, Fibroplasten oder Endothelzellen fungieren. Die Fähigkeit, die Vakuolen zu verlassen und frei im Zytoplasma der Wirtszelle zu replizieren, unterscheidet *L. monocytogenes* von dem Großteil der intrazellulären Pathogene. Eine erfolgreiche intrazytoplasmatische Lebensweise ist die Folge von einer Reihe metabolischer Anpassungen des Pathogens, die von uns kürzlich näher charakterisiert wurden (Schauer *et al*., BMC Genomics 2010, 11:573; Fuchs *et al*., FEMS Microbiol. Rev. 2012, 36:435-462). Mittels einer Insertionsmutanten-Bank wurden dazu Gene identifiziert, die für die intrazelluläre Lebensphase von *L. monocytogenes* von entscheidender Bedeutung sind, nämlich solche, 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 ihre Bedeutung für das intrazelluläre Überleben. So konnten wir zeigen, dass die inaktivierten Gene zum größten Teil für Transportproteine und für an spezifischen Stoffwechselwegen beteiligte Enzyme kodieren.

Hierzu gehört z.B. die Verwertung des im Zytosol durch den Abbau von Phospholipiden oder Triglyceriden freigesetzten Glycerins, das während des intrazellulären Wachstums alternativ zu Glukose als C-Quelle dient. Außerdem sind intrazellulär lebende Listerien von der *de novo* Biosynthese einiger Aminosäuren wie Tryptophan, Isoleucin, Leucin, Valin und Arginin sowie von der Aufnahme von Thiamin-Vorläufern abhängig (Josep et al., J. Bacteriol. 2006, 188:556-568; Schauer et al., J. Bacteriol. 2009, 191:2218-2227). *L. monocytogenes* besitzt darüber hinaus Spezies-spezifische Peptidtransporter, die für eine erfolgreiche Infektion wichtig sind.

Unsere Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass ein erfolgreiches Replizieren von *L. monocytogenes* im Zytosol auf die Fähigkeit des Pathogens zurückgeht, seinen Metabolismus an die Gegebenheit der Wirtszelle anzupassen. In Zusammenarbeit mit Wolfgang Eisenreich (Lehrstuhl für Biochemie der Technischen Universität München, Garching) werden derzeit umfangreiche Untersuchungen zum Kohlenhydrat- und Stickstoff-Metabolismus von *L. monocytogenes* durchgeführt. Hierbei werden die metabolischen Flüsse *in vitro* und während der Infektion von Epithelzellen mittels der $^{13}C/^{15}N$-Isotopologen-Analyse gemessen und analysiert. Im Mittelpunkt stehen dabei die Fragestellungen, in welchem Ausmaß welche Kohlenstoff- oder Stickstoffquellen in den Anabolismus oder den Katabolismus der Listerienzelle einfließen, und welche Stoffwechselwege hierfür genutzt werden.

Außerdem wurde der Nematode *Caenorhabditis elegans* als Modellorganismus etabliert, um Stoffflüsse zwischen Wirt und Pathogen nachzuweisen (Abb. 3).

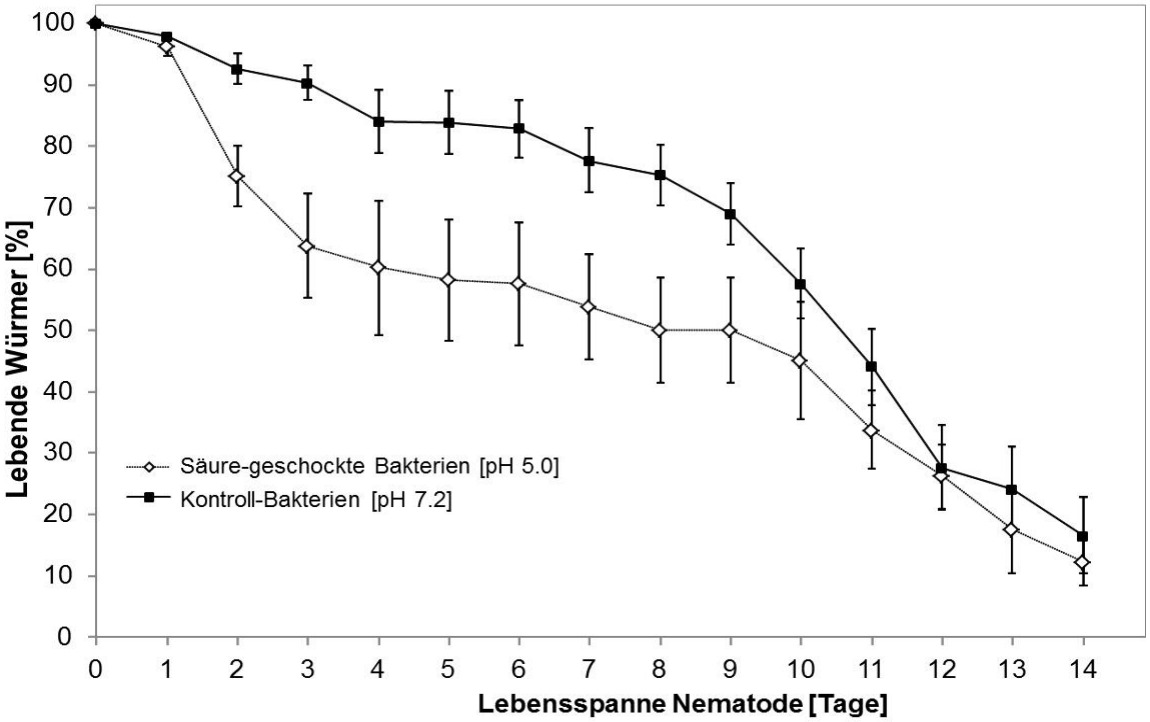


Abb. 3: Überlebensrate von Würmern, die mit Säure-geschockten Listerien gefüttert wurden. Nicht-geschockte Bakterien dienten als Kontrolle. Überlebende Würmer wurden zwei Wochen lang täglich auf Agarplatten mit frisch präparierten *L. monocytogenes* umgesetzt. Die Fehlerbalken stammen aus vier unabhängigen Experimenten mit jeweils 20 Würmern (Neuhaus et al., 2013). *L. monocytogenes* vermehrt sich im Darm von *C. elegans* und stellt somit ein geeignetes Modell für die Untersuchung von Stoffflüssen zwischen Wirt und Pathogen dar.

Zu diesem Zweck wurden ^{15}N-markierte Nematoden mit *L. monocytogenes* infiziert, diese anschließend isoliert und ebenfalls mit der ^{15}N-Isotopologen-Analyse analysiert. Erste Ergebnisse lassen darauf schließen, dass pathogene Bakterien ihre Nährstoffe zum größten Teil aus dem Darmlumen, einen gewissen Teil ihres Stickstoff- und Kohlenstoffbedarfs jedoch direkt vom Wirt beispielsweise über abgestoßene Epithelzellen oder die Mukosa beziehen.

Insektizide Aktivität von *Yersinia enterocolitica*

***Insecticidal activity of* Yersinia enterocolitica**

N. N.

Die Gruppe der Yersinien umfasst mindestens 15 verschiedene Arten, darunter die drei humanpathogenen Arten *Yersinia pestis*, den Erreger der Pest, sowie *Yersinia pseudotuberculosis* und *Yersinia enterocolitica*, zwei Keime, die gastrointestinale Erkrankungen in Säugetieren hervorrufen können. Bis auf *Y. pestis*, ein Bakterium, das auf einen komplexen Lebenszyklus mit Nagetieren als Reservoir und Flöhen als Überträger angewiesen ist, sind die Vertreter der Gattung *Yersinia* in der Natur weit verbreitet. Während die für den Menschen krankheitsauslösenden Faktoren des Pathogens mittlerweile gut untersucht sind, ist über die Molekularbiologie der Vermehrung von Yersinien außerhalb des Menschen noch vergleichsweise wenig bekannt. Zwar wurde kürzlich gezeigt, dass *Y. pestis* sowie *Y. pseudotuberculosis* auch den Nematoden *Caenorhabditis elegans* infizieren können, die Assoziation von

Y. enterocolitica mit Invertebraten hingegen war bislang unerforscht. Als notwendige Grundlage für eine solche Untersuchung wurde von uns das komplette Genom des Stammes *Y. enterocolitica* W22703 sequenziert, annotiert und analysiert (Fuchs *et al.*, BMC Microbiology 2011, 12:168). Besonders bemerkenswerte Ergebnisse waren die Identifikation eines neuen Typ 3-Sekretionssystems sowie die Charakterisierung einer artspezifischen Zone hoher genomischer Flexibilität.

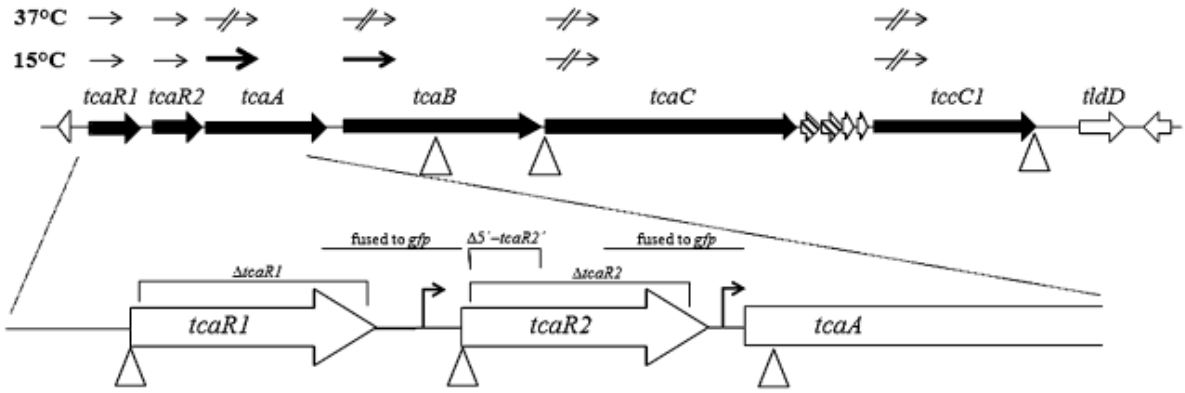


Abb. 4: Genetische Organisation der insektiziden Pathogenitätsinsel Tc-PAIYe von Y. enterocolitica W22703. Die rechtwinkligen Pfeile zeigen die transkriptionellen Startpunkte einzelner Gene an. Die Pfeile oberhalb der Gene verdeutlichen die transkriptionellen Aktivitäten bei Umwelt- bzw. Säugetiertemperatur. Die Dreiecke markieren Insertionen der Luciferase-Reporterkassette luxCDABE, die für Transkriptionsstudien genutzt wurden (aus: Starke & Fuchs, 2013).

Der Stamm *Y. enterocolitica* Stamm W22703 trägt außerdem eine temperaturregulierte Pathogenitätsinsel, die so genannte TC-PAI$_{Ye}$ (*toxin complex pathogenicity island of Y. enterocolitica*), deren Gene für insektizide Toxinkomplexe (Tc) kodieren (Abb. 4). Diese werden nur bei Umwelttemperaturen produziert, während ihre Transkription bei 37°C vollständig reprimiert ist. Die Tc-Proteine kommen auch in dem mit Nematoden assoziierten, gegenüber Insektenlarven hochpathogenen Bakterium *Photorhabdus luminescens* vor. Obwohl von *Y. pestis* und *Y. pseudotuberculosis* bereits länger entsprechende Genomdaten vorlagen, gelang es unserer Arbeitsgruppe erstmals, am Beispiel von *Y. enterocolitica*, das Vorkommen der *tc*-Gene in Yersinien mit der Aktivität gegenüber Insekten in einen kausalen Zusammenhang zu bringen (Bresolin *et al.*, Mol. Microbiol. 2006, 59:503-512). Überraschenderweise zeigen die *Yersinia*-Arten und -Stämme eine hohe Diversität in Bezug auf ihr insektizides Potential (Fuchs *et al.*, BMC Microbiology 2008, 8:214). Um einen tieferen Einblick in die Interaktion von *Yersinia* spp. mit Invertebraten zu gewinnen wurde, zusätzlich der Nematode *C. elegans* als Modellorganismus etabliert. In Zusammenarbeit mit Britta Spanier (ZIEL, Abteilung Biochemie) konnten die Kolonisierung und die Proliferation von *Y. enterocolitica* W22703 in *C. elegans* sowie die Expression des insektiziden Toxins *tcaA* im Nematoden nachgewiesen werden (Spanier *et al.*, Appl. Environ. Microbiol. 2010, 76:6277-6285).

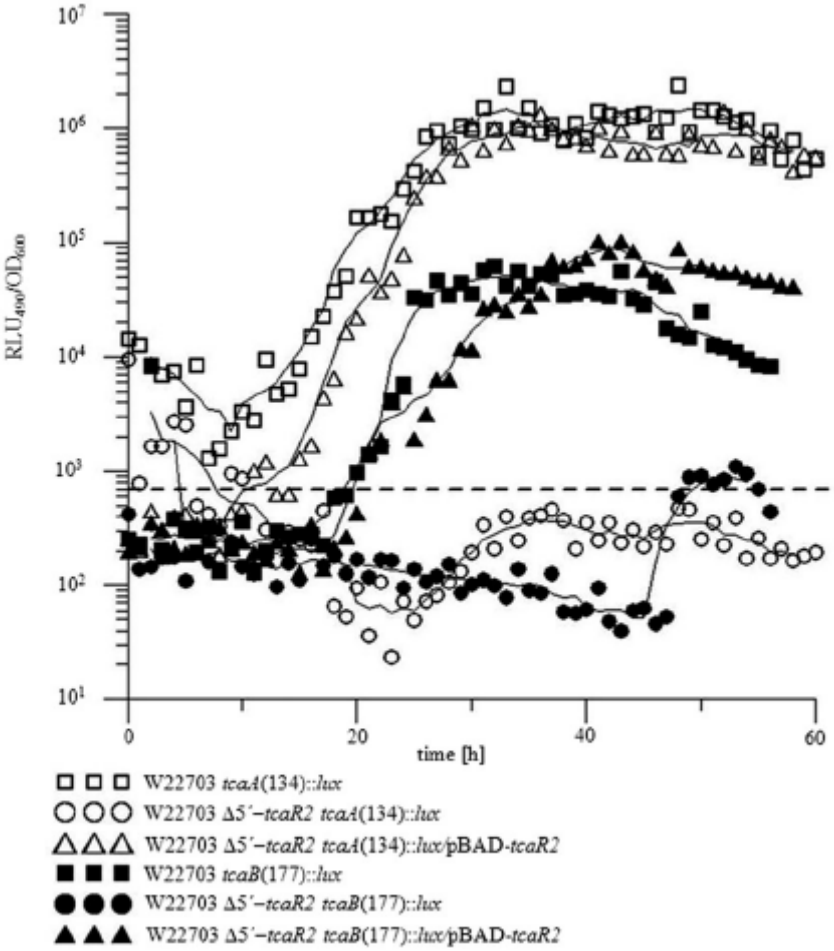


Abb. 5: Einfluss von TcaR2 auf die Transkription von tcaA und tcaB. Die Reporterstämme W22703 tcaA(134)::lux und W22703 tcaB(177)::lux, beide Stämme ohne tcaR2 sowie diese Deletionsmutanten komplementiert mit pBAD-tcaR2 wurden während des Wachstums bei 15°C gemessen. Biolumineszenz als Maß für transkriptionelle Aktivität wurde während zweieinhalb Tagen jede Stunde gemessen. Die gestrichelte Linie markiert den Schwellenwert von etwa 700 RLU490/OD600 für eine signifikante Lichtemission. Jedes Experiment wurde drei Mal in 96er Mikrotiterplatten mit je vierfacher Redundanz durchgeführt; das gewichtete Mittel der Werte jeden Zeitpunktes ist gezeigt (Starke et al., 2013).

Mit Hilfe des Luziferase-Reportersystems sowie durch den Knockout verschiedener globaler *Yersinia* Transkriptionsregulatoren haben wir jüngst die molekularen Mechanismen, die der kälteinduzierten Expression der *tc*-Gene sowie der Freisetzung bzw. dem Transport der Tc-Proteine aus der Zelle zugrunde liegen, untersucht. Hierbei wurde ein neuartiger, LysR-artiger Transkriptionsfaktor als Schlüsselfaktor für die Aktivierung der *tc*-Gene bei niedrigen Temperaturen identifiziert (Abb. 5). TcaR2 ist autoreguliert, bindet an verschiedene Promotoren der Pathogenitätsinsel und ist bei 37°C instabil. Aktuelle Daten lassen auf das Vorhandensein eines weiteren, möglicherweise die Transkription der insektiziden Gene reprimierenden Faktors schließen.

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.

Arbeitsgruppe: Emetische *Bacillus cereus*

Gruppenleiterin: Genia Lücking

Toxinproduktion von emetischen *Bacillus cereus*

Toxin production of emetic Bacillus cereus

Andrea Rütschle, Genia Lücking, Sandra Marxen[2], Timo Stark[2], Thomas Hofmann[2], Elrike Frenzel[1], Monika Ehling-Schulz[1] und 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 hervorrufen.
Ein Schwerpunkt unserer Forschungsarbeiten ist die Aufklärung der Lokalisation und des Transports von Cereulid innerhalb bzw. außerhalb der Zelle, um Verbreitung des Toxins im Lebensmittelumfeld besser verstehen zu können. Aufgrund der Präsenz von Transportergenen im sog. Cereulidsynthetase-Genclusters liegt die Vermutung nahe, dass diese am Transport von Cereulid beteiligt sein können (Abb. 1).

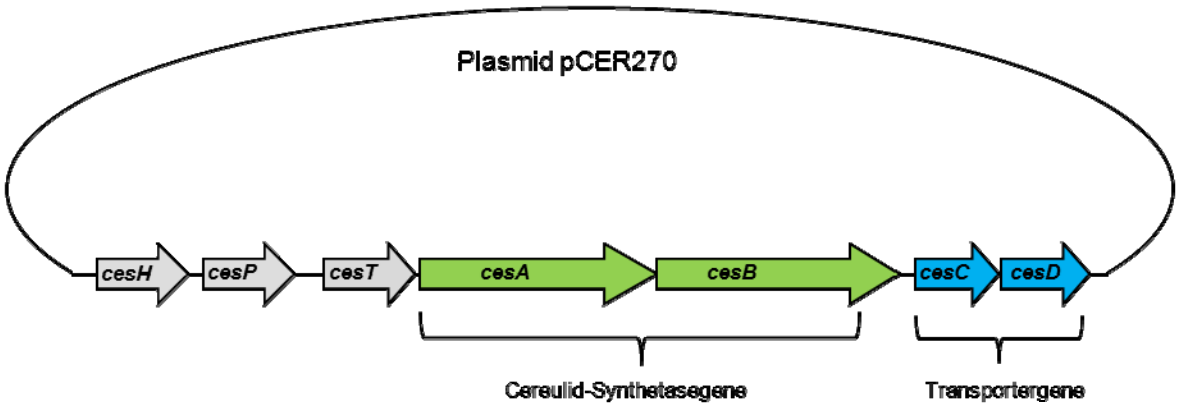


Abb. 1: Strukturelle Organisation des Cereulidsynthetase-Genclusters in emetischen Bacillus cereus Stämmen. Während die Gene cesA und cesB für den Enzmykomplex codieren, der für die nicht- ribosomale Cereulidsynthese verantwortlich ist, codieren cesC und cesD für einen putativen ABC Transporter.

Um die Funktion der beiden Gene *cesC* und *cesD* auf das Wachstums- und Cereulidproduktionsverhalten untersuchen zu können, wurden die Gene in Bc03 deletiert und eine ΔcesCD Mutante hergestellt. Beim Vergleich des Wachstums und der Sporulation zeigten sich im LB Medium keine signifikanten Unterschiede zwischen Wildtyp und Mutante. Um die Cereulidbildungsrate der Stämme zu bestimmen, wurden zu bestimmten Zeitpunkten im Wachstumsverlauf Kulturproben genommen, davon ethanolische Extrakte hergestellt und diese mittels einer UPLC-MS/MS-SIDA Methode quantifiziert. Beim Wildtyp zeigte sich im Wachstumsverlauf ein starker Anstieg der Cereulidkonzentration, während in den Proben der ΔcesCD Mutante keine Cereulidbildung festgestellt werden. Um die Spezifität dieses Phänomens zu testen, wurde eine sog. Komplementationsmutante von ΔcesCD erstellt, in welcher die *cesCD* Gene *in trans* mit Hilfe eines Plasmids eingebracht wurden.

In diesem Stamm (ΔcesCD/com) konnte Cereulid mittels UPLC-MS/MS-SIDA erneut detektiert werden, wenn auch in geringeren Mengen als im Wildtyp (Abb.2). Diese Beobachtungen deuten darauf hin, dass die Genprodukte von *cesC* und/oder *cesD* im direkten Zusammenhang zur Cereulidproduktion stehen und für diese sogar essentiell sind.

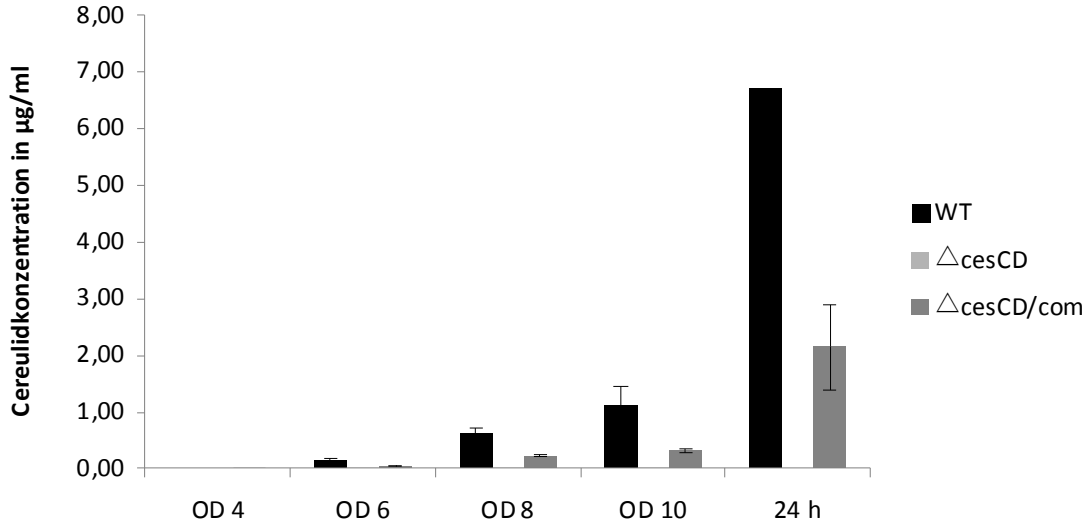


Abb. 2: Cereulidproduktion des Wildtyps Bc03 und der Mutanten ΔcesCD und ΔcesCD/com im Wachstumsverlauf. Gezeigt sind die Toxinkonzentrationen zu unterschiedlichen Probenahmezeitpunkten (Optische Dichte von 4, 6 ,8 ,10 und nach 24 h Inkubation).

Um zu überprüfen, ob das Toxindefizit der ΔcesCD Mutante auf Transkriptionsunterschiede der Cereulidsynthetasegene zurückzuführen sind, wurde die Transkriptmenge des *cesA* Gens mittels quantitativer RT-PCR gemessen. Hierbei wurden keine deutlichen Unterschiede zwischen Wildtyp und Mutante festgestellt. Darüber hinaus wurde die Expression der Cereulidsynthetase mittels Westernblotanalyse und spezifischen CesB Antikörper verglichen, aber auch hier zeigten sich keine signifikanten Differenzen zwischen Bc03 und ΔcesCD.

Es konnten somit keine Unterschiede auf Transkriptions- oder Translationsebene gefunden werden, welche den Mangel an Cereulid in der ΔcesCD Mutante erklären würden. Folglich scheint der CesCD Transporter posttranslational eine Rolle auf die Cereulidproduktion zu spielen. Weiterführende Experimente sollen nun zeigen, ob der Transporter z.B. an der Aktivierung, Stabilisierung oder Lokalisierung des Cereulidsynthetasekomplexes beteiligt sein könnte.

Das Forschungsvorhaben (AiF 16845 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.

Arbeitsgruppe: Enteropathogene *Bacillus cereus*

Gruppenleiterin: Viktoria Krey

Bacillus cereus ist ein ubiquitär vorkommender Bodenkeim und bekannter Lebensmittelvergifter. Auf Grund der Hitzeresistenz seiner Endosporen, der stark ausgeprägten proteolytischen Aktivität, aber besonders seines Toxinbildungsvermögens stellt *B. cereus* ein reales lebensmitteltechnologisches und -hygienisches Problem unter anderem in der Milch verarbeitenden Industrie dar. Das von emetischen *B. cereus* Stämmen produzierte Toxin Cereulid kann nicht durch Erhitzen inaktiviert werden und führt nach Aufnahme über die Nahrung zur Intoxikation, mit Übelkeit und Erbrechen als Folge. Häufiger kommt es allerdings zur Lebensmittelinfektion mit enteropathogenen *B. cereus* Stämmen, die im Dünndarm unterschiedliche Mengen an hitzelabilen Enterotoxinen (Nhe, Hbl, CytK) produzieren und so Durchfallerkrankungen verursachen. Da *B. cereus* in Deutschland nicht zu den meldepflichtigen Erregern zählt, wird die Prävalenz der *B. cereus*-assoziierten Erkrankungen wahrscheinlich deutlich unterschätzt. Weltweit zeigte sich in den letzten Jahren eine drastische Zunahme der durch *B. cereus* verursachten Lebensmittelinfektionen (Anonymous, 2013; Scallan *et al.*, 2011; Mead *et al*., 1999). Im Jahr 2012 registrierte das Bundesinstitut für Risikobewertung *B. cereus* auch in Deutschland als einen der häufigsten Erreger von Lebensmittelvergiftungen (BfR 2013). Verschiedene *B. cereus* Stämme variieren allerdings stark in ihrem toxischen Potential. Das Spektrum reicht hier von Stämmen, die als Probiotika in der Tierzucht eingesetzt werden (Hong *et al.,* 2005), bis hin zu hoch toxischen Stämmen (Lund *et al.,* 2000), die bereits Todesfälle verursacht haben. Trotz langjähriger Forschung sind die genetischen Grundlagen der stamm-spezifischen Toxizitätsunterschiede nur wenig bekannt. Zusätzlich scheint die Toxinproduktion von einer Vielzahl an Parametern beeinflusst zu werden. Schwerpunkt der Arbeitsgruppe ist daher die Charakterisierung der Toxinproduktion von enteropathogenen *B. cereus* Stämmen mit unterschiedlichem Pathogenitätspotential. Im Mittelpunkt stehen hierbei die molekularen Regulationsmechanismen und der Einfluss von variierenden Umweltbedingungen, insbesondere simulierten Darmbedingungen.

Vergleichende Analyse der Virulenzfaktoren enteropathogener *Bacillus cereus* Stämme

Comparative analysis of virulence factors of enteropathogenic B. cereus strains

Marlies Böhm

Das opportunistische Pathogen *B. cereus* stellt besonders die Milchindustrie vor große Herausforderungen. Da sich *B. cereus* Kontaminationen in vielen Produkten technologisch kaum vermeiden lassen, ist im Kontaminationsfall eine fundierte Risikobewertung des enteropathogenen Potentials eines vorliegenden *B. cereus* Stamms unverzichtbar für die schnelle und zuverlässige Entscheidung über Freigabe oder Sperrung des Produkts. Allerdings reicht das momentan verfügbare Wissen über die An- oder Abwesenheit einzelner Virulenzfaktoren in einem Stamm nicht aus, um eine belastbare Risikoabschätzung vor zu nehmen. Die alleinige Anwesenheit eines Enterotoxingens, nachgewiesen über PCR, ermöglicht noch keine Aussage über die tatsächliche Expression des aktiven Toxins und die Konzentration, in der es im Wirt vorliegt. Zudem ist die Rolle zusätzlicher, möglicherweise noch unbekannter Virulenzfaktoren, sowie der Faktoren oder Regulationsmechanismen, welche starke von schwachen Toxinproduzenten unterscheiden nicht bekannt. Im Rahmen eines FEI/AiF geförderten Projektes (AiF_17506N) werden in Kooperation mit Prof. M. Ehling-Schulz (Institut für Funktionelle Mikrobiologie, Veterinärmedizinische Universität Wien) und Prof. E. Märtlbauer (Lehrstuhl

für Hygiene und Technologie der Milch, LMU) unterschiedlich toxische *B. cereus* Stämme hinsichtlich ihrer Genomsequenz, Virulenz- und Regulatorgen-Transkription, Toxinexpression und Sekretion charakterisiert. Diese Daten sollen als Grundlage dienen, um geeignete Methoden zu entwickelt, die bei einer *B. cereus* Kontamination die schnelle, praxisrelevante Unterscheidung zwischen schwachen und starken Toxinproduzenten erlauben. Bisher wurden die Genome von 10 *B. cereus* Stämmen eines repräsentativen Stammsets mittels *Next Generation Sequencing* Technologie am hauseigenen MiSeq Sequencer von Illumina sequenziert und assembliert. Durch Alignment der Contigdaten mit Referenzgenomen, konnten die Enterotoxingene lokalisiert und ihre kodierende DNS-Sequenz, sowie flankierende regulatorische Bereiche identifiziert werden. Die erhaltenen Sequenzdaten ermöglichten die vergleichende Analyse von Gesamtgenomsequenzen sowie Toxingen- und Regulatorgensequenzen (Abb. 1) von diarrhöassoziierten und harmlosen *B. cereus* Stämmen mit bereits veröffentlichen Genomsequenzen verschiedener *B. cereus* Gruppenmitglieder. Es zeigte sich, dass trotz starker Stamm-spezifischer Unterschiede in den Gesamtgenomsequenzen (Sequenzähnlichkeiten zwischen 50 % - 90 %), die Sequenzen des als Haupttoxin postulierten *nheABC* Clusters sehr stark konserviert sind (Abb. 1).

Organism	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1: *B. cereus* WSBC 10035	100	99	93	93	84	84	84	88	82	81	81	80	76	74	3
2: *B. cereus* NVH 0075-95	99	100	93	93	85	84	84	89	83	81	81	81	76	74	3
3: *B. cereus* MHI 86	93	93	100	100	83	82	82	82	85	82	81	79	77	73	7
4: *B. cereus* F4429/71	93	93	100	100	83	82	82	82	85	82	81	79	77	73	7
5: *B. cereus* F4430/73	84	85	82	82	100	96	97	82	75	74	74	81	79	80	2
6: *B. cereus* ATCC 14579	84	84	82	82	96	100	95	80	74	75	76	81	78	74	3
7: *B. thuringiensis* s. b. ATCC 10792	83	84	82	82	97	95	100	81	75	73	74	81	79	79	2
8: *B. cereus* SDA KA 96	83	84	77	77	79	78	79	100	83	80	79	86	71	65	3
9: *B. cereus* F837/76	82	83	85	85	76	75	75	84	100	88	88	78	81	68	3
10: *B. cereus* HWW 274-2	81	81	82	82	74	75	73	80	90	100	96	80	80	77	6
11: *B. anthracis* Ames	81	81	81	81	76	78	76	81	90	96	100	82	80	74	6
12: *B. cereus* 14294-3 (M6)	78	79	77	77	79	79	79	86	78	76	80	100	78	74	5
13: *B. cereus* MHI 226	76	76	77	77	79	78	79	73	80	80	80	82	100	78	6
14: *B. weihenstephanensis* KBAB4	74	76	73	73	80	74	79	71	71	77	74	74	78	100	5
15: *B. cytotoxicus* NVH 391-98	3	3	7	7	2	4	2	3	3	6	6	5	6	5	100

Abb. 1: Ähnlichkeitsmatrix (Heatplot) der konkatenierten nheABC Gene von 16 B. cereus sensu lato Stämmen. Die Sequenzdaten der selbst sequenzierten B. cereus wurden mit Hilfe des Programms Gegenees mit den Gensequenzen ausgewählter komplett sequenzierter Referenz- und Typstämme verglichen. Angegeben ist der durchschnittliche Ähnlichkeitsscore [%].

Unterschiede zwischen enteropathogenen und apathogenen Stämmen können folglich nicht allein auf spezifische Gensequenzvarianten zurückgeführt werden. Vielmehr müssen potentielle Markersequenzen zur Differenzierung in regulatorischen DNS-Bereichen (Promotorregionen) vermutet werden, die die Toxingen-Transkription maßgeblich beeinflussen könnten.

Daten aus der Literatur legen nahe, dass große Unterschiede zwischen *B. cereus* Wachstum und Toxinproduktion im menschlichen Darm und unter optimierten *in vitro* Bedingungen bestehen. Die Adaptionsfähigkeit eines *B. cereus* Stammes an gastrointestinale Bedingungen stellt somit einen entscheidenden Pathogenitätsfaktor dar. Daher wurden Wachstum und Toxingentranskription von starken und schwach toxischen *B. cereus* Stämmen unter optimalen und simulierten gastrointestinalen Bedingungen untersucht und verglichen.

Unter optimalen Bedingungen nach 6 Stunden bestätigten sowohl Transkription als auch Toxintiter die Klassifizierung der 10 Stämme als starke und schwache Toxinproduzenten. Trotz geringeren Wachstums wurde die maximale Toxingentranskription nach 2 bis 4 Stunden unter simulierten Darmbedingungen detektiert und nicht unter optimalen Wachstumsbedingungen (Abb. 2).

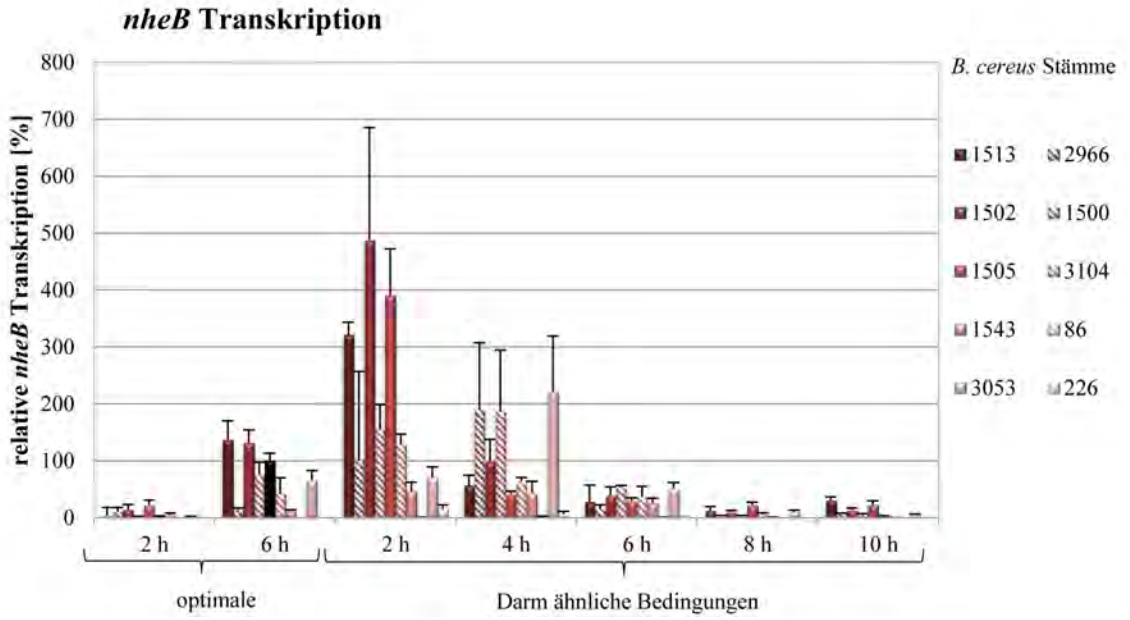


Abb. 2: Toxingentranskription von 10 B. cereus Stämmen unter optimalen und simulierten intestinalen Bedingungen. Dargestellt ist die relative Transkriptmenge des jeweiligen Toxingens bezogen auf den Referenzstamm 1505 nach 6h in CGY (schwarz) und normalisiert auf die Transkriptmenge des 16S rDNA Gens rrn, ermittelt durch qRT PCR. Die Stämme sind jeweils in der Reihenfolge starker (gefüllt) und zugehöriger schwacher (gestrichelt) Toxinproduzent aufgetragen.

Offenbar wird die Toxingentranskription von *B. cereus* unter Darmbedingungen durch bislang nicht identifizierte Faktoren (Nährstoffverfügbarkeit, O_2 Gehalt, Temperatur) unspezifisch angeregt, so dass hier schneller als unter optimalen Laborbedingungen funktionelles Toxin gebildet werden kann. Zusätzlich erfolgt bereits auf transkriptioneller Ebene die Differenzierung zwischen starken und schwachen Toxinproduzenten. Die Analyse der Promotorstrukturen und der Beteiligung verschiedener Regulatorproteine an dieser differenziellen Transkriptionsregulation ist Gegenstand der derzeitigen Forschung.

Das Forschungsvorhaben AiF 17506N 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, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Hitkova Ivana: Dr. rer. nat., Technische Universität München, 25.11.2013 „Die Funktion von Caveolin-1 in Helicobacter pylori-induzierter Entzündung des Magens"

Masterarbeiten

Doll, Etienne: „Detailed analysis of row milk microbiota"

Geyer, Philipp: „Globotriaosylceramid als neuartige Zielstruktur für zielgerichtete Tumortherapie mit bakteriellem Shiga Toxin B"

Hellinckx, Jessica: „Untersuchung der Hysterese während des Abbaus von myo-Inositol durch *Salmonella Typhimurium*"

Kühne, Caroline: „Untersuchungen zum Einfluss des pCER270-Psasmid-kodierten vermuteten Quorum-Sensing-Systems (Rap270/Phr270) auf die Virulenzeigenschaften des *Bacillus cereus* Referenzstammes F4810/72"

Vogt, Elisabeth: „Untersuchungen zum Einfluss von intestinalen Epithelzellen auf das stammspezifische Sporenauskeimungsvermögen und die Transkription von Virulenzgenen und -regulatoren in enteropathogenen *B.cereus*"

Bachelorarbeiten

Poser, Sandra: „Genome annotation of *Listeria weihenstephanensis* and further characterization of the anaerobic growth in *L. monocytogenes*"

Reiter, Johanna: „Analyse der Promotoraktivität verschiedener Virulenzgene in *Bacillus cereus*"

Sievert Dominik: „Examination of selected overlapping genes from enterohaemorrhagic *Escherichia coli*"

Voh, Natalie: „Charaktreisierung der Peptidaseproduktion von Pseudomonas in Rohmilch"

Veröffentlichungen

Doll VM, Ehling-Schulz M, Vogelmann R. (2013) Concerted action of sphingomyelinase and non-hemolytic enterotoxin in pathogenic *Bacillus cereus*. *PLoS One*, 8**,** e61404

Fellner L, Bechtel N, Witting M.A. Simon S, Schmitt-Kopplin P, Keim D, Scherer S, Neuhaus K (2013) Phenotype of *htgA (mbiA)*, a recently evolved orphan gene of *Escherichia* and *Shigella*, completely overlapping in antisense to *yaaW*. FEMS Microbiol Lett 1-8

Grunert T, Wenning M, Barbagelata MS, Fricker M, Sordelli DO, Buzzola F, Ehling-Schulz M (2013) Rapid and reliable identification of *Staphylococcus aureus* capsular serotypes my means of artificial neural network-assisted Fourier-Transform Infrared Spectroscopy. J Clin Microbiol 51, No. 7:2261-2266

Kabisch J, Höning C, Böhnlein C, Pichner R, Gareis M, Wenning M (2013) *Kazachstania psychrophila* sp. nov., a novel psychrophilic yeast isolated from vacuum-packed beef. Antonie Van Leeuwenhoek 104:925-931

Lücking G, Stoeckel M, Atamer Z, Hinrichs J, Ehling-Schulz M (2013) Characterization of aerobic spore-forming bacteria associated with industrial dairy processing environments and product spoilage. International Jounal of Food Microbiology 166: 270-279

Mir K, Neuhaus K, Bossert M, Schober S (2013) Short Barcodes for Next Generation Sequencing. PLOS one 8(12):e82933

Müller J, Hense B.A, Fuchs TM, Utz M, Pötzsche C (2013) Bet-hedging in stochastically switching environments. J. Theor. Biol., 336: 144-157

Neuhaus K, Satorhelyi P, Schauer K, Scherer S, Fuchs TM (2013) Acid shock of *Listeria monocytogenes* at low environmental temperatures induces *prfA*, epithelial cell invasion, and lethality towards *Caenorhabditis elegans*. *BMC Genomics* 14:285

Neuhaus K, Satorhelyi P, Schauer K, Scherer S, Fuchs TM (2013) Acid shock of *Listeria monocytogenes* at low environmental temperatures induces *prfA*, epithelial cell invasion, and lethality towards *Caenorhabditis elegans.* BMC Genomics 2013, 14:285

Peng Z, Krey V, Wei H, Tan Q, Vogelmann R, Ehrmann M.A., Vogel R.F. (2013) Impact of actin on adhesion and translocation of *Enterococcus faecalis*. *Arch Microbiol*.

Rieser G, Scherer S, Wenning M (2013) *Micrococcus cohnii* sp. nov., isolated from the air in a medical practice. Intern. Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 63:80-85

Seiler H, Scherer S and Wenning M (2013) *Lysinibacillus meyeri* sp. nov, isolated from a medical practice. Int J Syst Evol Microbiol 63:1512-1518

Seiler H, Wenning M, Scherer S (2013) *Domibacillus robiginosus* gen. nov., sp. nov., isolated from a pharmaceutical clean room. Int J Syst Evol Microbiol 63:2054 – 2061

Seiler H, Wenning M (2013) *Virgibacillus halotolerans* sp. nov., isolated from a dairy product. Int J Syst Evol Microbiol 63:3358-3363

Seiler H, Wenning M, Schmidt V, Scherer S (2013) *Bacillus gottheilii* sp. nov., isolated from a pharmaceutical manufacturing site Intern. Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 63:867-872

Stark T, Marxen S, Rütschle A, Lücking G, Scherer S, Ehling-Schulz M, Hofmann T (2013). Mass spectrometric profiling of *Bacillus cereus* strains and quantitation of the emetic toxin cereulide by means of stable isotope dilution analysis and HEp-2 bioassay. Analytical and bioanalytical chemistry 405:191-201

Starke M, Richter M, Fuchs TM (2013) The insecticidal toxin genes of *Yersinia enterocolitica* are activated by the thermolabile LTTR-like regulator TcaR2 at low temperatures. *Mol. Microbiol.* 89:596-611

Starke M, Richter M, and TM Fuchs (2013) The insecticidal toxin genes of *Yesinia enterocolitica* are activated by the thermolabile LTTR-like regulator TcaR2 at low temperatures. Molecular Mikrobiology 89:596-611

Wenning M, Scherer S (2013) Identification of microorganisms by FTIR spectroscopy: perspectives and limitations of the method. Appl Microbiol Biotechnol 97:7111-7120

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

Ermittlung des Einflusses eines eisenbasierten Sauerstoff-Scavenger-Systems auf die Qualität von Joghurt

Doris Gibis, Hanna Szyrkowiec, Dr. Klaus Rieblinger
Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik TUM und Fraunhofer IVV

1 Problemstellung

Viele Lebensmittel sind anfällig für oxidative Reaktionen. Der in der Packung vorhandene sowie auch der im Füllgut physikalisch gelöste Rest-Sauerstoff spielen hierbei eine wesentliche Rolle. Besonders bei transparent verpackten Produkten tragen zusätzlich durch Lichteinfluss katalysierte Oxidationsreaktionen zu einem schädigenden Einfluss auf das Produkt bei.

Um den Verpackungsaufwand möglichst gering zu halten und dabei aber gleichzeitig das Lebensmittel optimal vor Veränderungen zu schützen, müssen alle diese Faktoren beachtet werden [1].

Milchprodukte, wie z. B. Naturjoghurt, sind aufgrund der Anwesenheit von Inhaltsstoffen wie Fett, Protein und Riboflavin anfällig gegenüber schädigenden, oxidativen Reaktionen. Durch seine starke Lichtstreuung ist Joghurt zwar in gewissem Maße vor oxidativen Reaktionen geschützt und auch die lebenden Kulturen in Naturjoghurt tragen durch Reaktionen mit Sauerstoff zu einer verminderten Empfindlichkeit bei. Das Abfüllen in kleinere, verkaufsgerechte Portionen begünstigt jedoch ein ungünstiges Verhältnis von Kopfraum zu Füllgut, wodurch es zu einer erhöhten Reaktivität des vorhandenen Sauerstoffs gegenüber dem Füllgut kommt. Aus ökonomischen und ökologischen Gründen geht der Trend außerdem zum Einsatz von Bechern mit geringen Wandstärken, wodurch eine höhere Licht- und Sauerstoff-Durchlässigkeit der Becher begünstigt wird. Meist werden hier auch Polymere wie Polystyrol (PS) und Polypropylen (PP) eingesetzt, welche ohnehin bereits hohe Durchlässigkeiten für Sauerstoff und Licht besitzen. Wird zusätzlich aus ökologischen Gründen noch auf lichtdichte Aluminiumdeckel verzichtet, so besteht nur mehr ein geringer (bis gar kein) Lichtschutz für das verpackte Lebensmittel [2; 3; 4; 5; 6; 7].

Für den Qualitätsverlust bei Molkereiprodukten sind unterschiedliche Reaktionsmechanismen verantwortlich. Die wichtigsten Reaktionspartner sind der Farbstoff Riboflavin, die schwefelhaltige Aminosäure Methionin, Vitamine, Fettbestandteile sowie Sauerstoff. Durch unterschiedliche Reaktionsmechanismen können diese – vor allem bei Anwesenheit von Licht – zu einem nachhaltigen Qualitätsverlust (z. B. ranziger Geschmack; Lichtgeschmack; Abbau von Vitaminen) beitragen [8; 9; 10].

Schutz vor diesen lichtbedingten oxidativen Veränderungen würden z. B. eine Brauneinfärbung des Kunststoffes bieten oder eine Ummantelung des Bechers mit Karton. Allerdings ist dies aus Marketinggründen oft nicht erwünscht. Daher werden oftmals transparente Verpackungen gewählt. Der Produktschutz muss dann durch anderweitige Maßnahmen, wie z. B. den Verkauf in Licht abschirmenden Steigen, Gestaltung des Packmittels, Einsatz lichtdichter Deckelfolien, erreicht werden. Da der schädigende Einfluss des Lichtes nur in Verbindung mit der Anwesenheit von Sauerstoff auftritt, ist ein möglicher Ansatz das Entfernen des Sauerstoffes aus der Packung. Dies sollte durch den Einsatz von Sauerstoff-Scavengern, z. B. in der Deckelfolie, erreicht werden können. Eine weitere Lichteinwirkung auf den Joghurt würde folglich keine schädigende photooxidative Reaktion mehr zur Folge haben [3; 4; 9; 11].

2 Projektziel

Ziel des Projektes war es, den Einfluss eines eisenbasierten Sauerstoff-Scavenger-Systems auf die Qualität von Naturjoghurt mit unterschiedlichen Fettgehalten zu untersuchen. Dabei sollten vor allem in Verbindung mit sensorischen Untersuchungen Aussagen über eine mögliche Schutzwirkung des Sauerstoff-Scavenger-Systems auf die Ausbildung von oxidativen Veränderungen getroffen werden.

3 Lösungsweg

Auswahl der zu untersuchenden Proben

Naturjoghurt wurde anhand seiner Konsistenz sowie seines Fettgehaltes (1,5 % bzw. 3,8 % Fett) ausgewählt. Die Produkte wurden direkt vom jeweiligen Hersteller bezogen und Qualitätsveränderungen während der Lagerdauer untersucht. Dabei wurde Naturjoghurt im transparenten (Fettgehalt: 1,5 % bzw. 3,8 %) sowie im weißen Polystyrol (PS) - Becher (Fettgehalt: 1,5 %), sowie Naturjoghurt im transparenten Glas (Fettgehalt: 3,8 %) untersucht (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Übersicht über die Art und Sauerstoff-Durchlässigkeit (OTR) des untersuchten Packmaterials, sowie die Fettgehalte und die Füllmengen der untersuchten Naturjoghurts

Muster	Behälter	Fettgehalt [%]	Füllmenge [g]	OTR (STP) (23 °C / 50 % RH) [cm^3 O_2/(Becher*d*bar]
Muster A	PS-Becher (weiß)	1,5	200	19,1
Muster B	PS-Becher (transparent)	1,5	200	6,8
Muster C	PS-Becher (transparent)	3,8	200	6,8
Muster D	Glas (transparent)	3,8	500	nicht messbar

Durchführung der Untersuchungen

Zu Beginn jeder Versuchsreihe wurde sowohl im Kopfraum der Becher bzw. Gläser als auch in der Joghurtmasse der vorhandene Sauerstoffgehalt bestimmt. Der Naturjoghurt wurde frisch vom Hersteller bezogen und anschließend (innerhalb eines Tages) die Sauerstoffkonzentration bestimmt bzw. die Proben präpariert. Die Ermittlung der Sauerstoffkonzentration erfolgte dabei mittels Fluoreszenzmesstechnik (Sauerstoffmessgerät Microx TX3 trace) der Firma PreSens Precision Sensing, Regensburg [12; 13].

Um den Einfluss eines eisenbasierten Sauerstoff-Scavengers auf die Qualität von Naturjoghurt zu untersuchen, wurden (innerhalb eines Tages nach Bezug der frischen Proben direkt vom Hersteller) eisenbasierte Sauerstoff-Scavenger-Labels im Modellversuch innen an die Deckelplatinen angebracht und die Becher bzw. Gläser anschließend wieder luftdicht unter Atmosphäre verschlossen. Die verwendeten Sauerstoff-Scavenger-Labels des Typs FRESHCARE® LS150 (nominale Sauerstoffzehrkapazität laut Herstellerangabe: 150 ml pro Label; Größe: 4,5 cm x 4,9 cm) wurden von der Firma O2CONTROL BV, Niederlande, zur Verfügung gestellt.

Anschließend wurden die Proben in einem Wandkühlregal unter handelsüblicher Belichtung (Tageslichtleuchtstoffröhren; ca. 500 lux Belichtungsstärke) bei 5 °C gelagert. Über die gesamte Lagerdauer von max. 30 Tagen wurde zu definierten Zeitpunkten die Änderung der im Naturjoghurt physikalisch gelösten Sauerstoffmenge neben der im Kopfraum der Becher vorhandenen Sauerstoffmenge bestimmt. Zur Bestimmung des Einflusses des eisenbasierten Sauerstoff-Scavengers wurde eine begleitende sensorische Analyse (Farbe; Geruch; Geschmack) gemäß einer 9-Punkte-Skala (nach DIN 10952/Teil 2) durchgeführt. Hierbei entsprach die Punktzahl 9 eine sehr starke Ausprägung des Merkmals und die Punktzahl 1, dass das Merkmal nicht ausgeprägt war.

4 Ergebnisse

Im Handel findet sich Naturjoghurt auf unterschiedliche Arten verpackt – vom transparenten Becher oder Glas bis hin zum eingefärbten und mit Papier umhüllten Becher. In Abbildung 1 sind Transmissionskurven unterschiedlicher Verpackungsmaterialien für Naturjoghurt dargestellt. Die höchste Lichtdurchlässigkeit im sichtbaren Bereich zeigte sich dabei mit 90 % bei transparenten Gläsern (Muster D). Diese hohe Lichtdurchlässigkeit führt – bei gleichzeitiger Anwesenheit von Sauerstoff – zu starken photooxidativen Veränderungen am Naturjoghurt und folglich zu hohen Qualitätseinbußen für das Produkt. Verantwortlich für diese Veränderungen ist dabei vor allem der Sensibilisator Riboflavin, welcher sein Absorptionsmaximum im sichtbaren Bereich bei einer Wellenlänge von 445 nm besitzt (siehe Abbildung 1). Transparente Becher aus Polystyrol (Muster B bzw. C) weisen ebenfalls eine sehr hohe Transmission von 70 % bei einer Wellenlänge von 445 nm auf. Durch eine Weißeinfärbung des PS-Bechers (Muster A) kann die Transmission zwar vermindert werden, ist jedoch mit 40 – 50 % noch ausreichend, um photooxidative Schäden zu verursachen. Eine zusätzliche Papierumhüllung des weißen PS-Bechers bietet hingegen einen sehr guten Lichtschutz (Transmission < 5 %) im sichtbaren Bereich. Dies trägt folglich zu einer guten Schutzwirkung des Naturjoghurts vor photooxidativen Veränderungen bei [9; 10; 11].

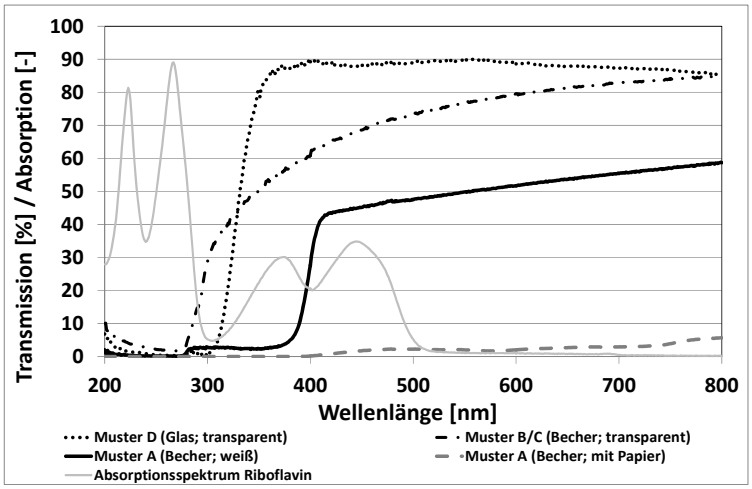


Abb. 1: Transmission [%] durch unterschiedliche Verpackungsmaterialien für Naturjoghurt und Absorptionsspektrum von Riboflavin

Entscheidend für das Ablaufen schädigender photooxidativer Reaktionen ist neben der Anwesenheit von sichtbarem Licht auch das Vorhandensein von bereits geringen Mengen an Sauerstoff [10]. In Abbildung 2 ist die Sauerstoffkonzentration [mg/kg] bei unterschiedlichen Schichttiefen in der Masse von frischem Naturjoghurt, welcher original verpackt im PS-Becher (links) bzw. im Glas (rechts) abgefüllt wurde, dargestellt. Im Kopfraum von Naturjoghurt (Muster B, 1,5 % Fett) im PS-Becher wurde ein Sauerstoffpartialdruck von 154 ± 5 mbar gemessen. In der Joghurtmasse von Naturjoghurt im PS-Becher (Muster B, 1,5 % Fett; Abbildung 2, links) konnte eine Abnahme der Sauerstoffkonzentration von 5,9 ± 0,2 mg/kg (bei einer Eindringtiefe des Messsensors von 0,5 cm; Messpunkt: Bechermitte) bis zur Mitte der Joghurtmasse (auf eine Sauerstoffkonzentration von 3,9 ± 0,2 mg/kg) gemessen werden (Löslichkeit von Sauerstoff im Naturjoghurt: 41 mg/(kg*bar); bei 21 °C; 970 mbar). Im unteren Bereich der Joghurtmasse (Becherboden) stieg die Sauerstoffkonzentration wieder auf einen Wert von 5,1 ± 0,3 mg/kg an. Die geringste Sauerstoffkonzentration konnte demnach im mittleren Bereich der Joghurtmasse festgestellt werden.

Der Naturjoghurt wurde vermutlich unter Luftzutritt abgefüllt, was die hohen Sauerstoffkonzentrationen in der gesamten Joghurtmasse erklärt. Zwischen dem Sauerstoff im Kopfraum und der obersten Joghurtschicht bestanden Gleichgewichtsbedingungen. Die Ursache für höhere Sauerstoffkonzentrationen an den äußeren Bereichen des Joghurtbechers (oben und unten) liegt in der hohen Sauerstoffpermeation durch die Behälterwand (siehe Tabelle 1). Aufgrund der langsamen Diffusion des Sauerstoffs in der Joghurtmatrix verteilt sich dieser jedoch nur langsam über die gesamte Joghurtmasse bis hin zur Mitte der Joghurtmasse. Naturjoghurt mit höherem Fettgehalt (Muster C, 3,8 % Fett) zeigte über die gesamte Joghurtmasse ca. 0,5 mg/kg höhere Sauerstoffkonzentrationen. Die Ursache hierfür liegt in der höheren Löslichkeit von Sauerstoff in Fett.

In Abbildung 2 (rechts) ist die Sauerstoffverteilung in einem mit frischem Naturjoghurt gefüllten, transparenten Glas dargestellt (Muster D, 3,8 % Fett). Im Kopfraum der Gläser wurde ebenfalls, wie bei den PS-Bechern, ein hoher Sauerstoffpartialdruck von 134 ± 4 mbar gemessen. In der Joghurtmasse zeigten sich jedoch deutlich geringere Mengen an physikalisch gelöstem Sauerstoff. Mit 1,0 ± 0,1 mg/kg war bereits bei einer Eindringtiefe des Messsensors von 0,5 cm (oberer Bereich der Joghurtmasse) deutlich weniger Sauerstoff physikalisch gelöst als bei Naturjoghurt im PS-Becher. In der Glasmitte und am Behälterboden konnte kein Sauerstoff mehr nachgewiesen werden (< 0,05 mg/kg). Der Naturjoghurt wurde vermutlich entgast und zudem unter Sauerstoff-Ausschluss abgefüllt. Daher konnte lediglich im Kopfraum und im oberen Bereich der Joghurtmasse Sauerstoff nachgewiesen werden. Aufgrund der hohen Dichtigkeit von Glas gegenüber eindringendem Sauerstoff war die Joghurtmasse zum Boden hin sauerstofffrei.

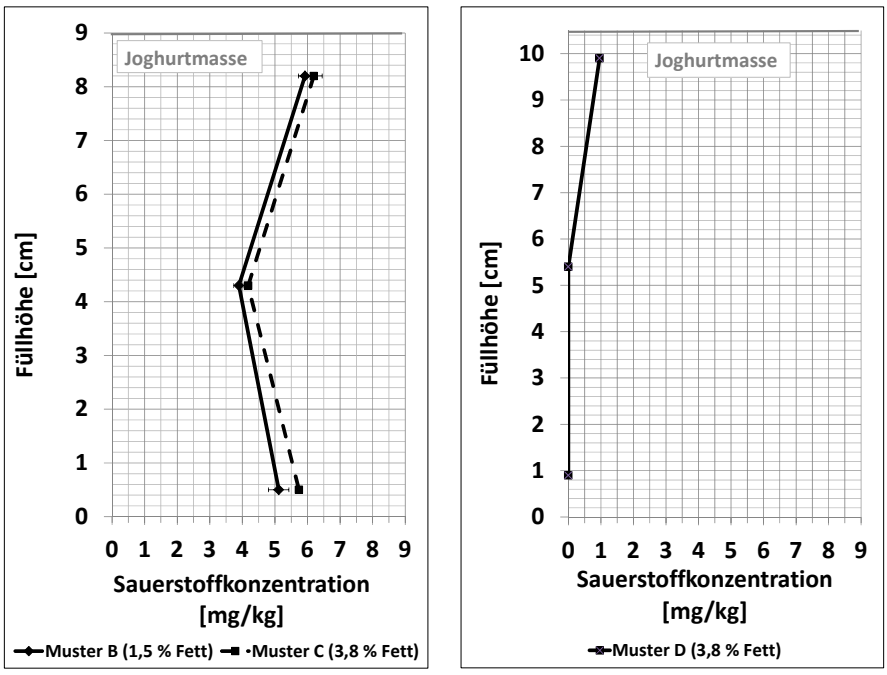


Abb. 2: Verlauf der Sauerstoffkonzentration [mg/kg] in der Masse von frischem Naturjoghurt mit unterschiedlichem Fettgehalt, original verpackt im transparenten PS-Becher (links) sowie im transparenten Glas (rechts), in Abhängigkeit von der Füllhöhe der Joghurtmasse (Messpunkt: Bechermitte) bei Lagerbeginn

Um den Naturjoghurt vor oxidativen Schäden zu schützen, wurde einigen Bechern bzw. Gläsern ein Sauerstoff-Scavenger-Label zugegeben. Die Behälter wurden anschließend wieder luftdicht verschlossen und bei 5 °C dunkel (0 lux) bzw. belichtet (ca. 500 lux) gelagert. Abbildung 3 (links) zeigt den Verlauf der Sauerstoffkonzentration [mg/kg] in der Joghurtmasse bei einer Eindringtiefe des Messsensors von 0,5 cm (Messpunkt: Bechermitte) bei Naturjoghurt im PS-Becher (Muster A) während der Lagerung. Aufgrund der hohen Sauerstoffdurchlässigkeit des PS-Bechers (Muster A) zeigte sich bei Lagerung im Dunkeln (0 lux) ohne Scavenger ein geringfügiger Anstieg der Sauerstoffkonzentration in der Joghurtmasse. Unter Lagerung bei Licht (ca. 500 lux) ohne Scavenger ergab sich ein geringfügig niedrigerer Verlauf der Sauerstoffkonzentration in der oberen Schicht der Joghurtmasse als bei Lagerung im Dunkeln ohne Scavenger. Durch den Einsatz eines eisenbasierten Sauerstoff-Scavenger-Labels konnte der Sauerstoffgehalt in der Joghurtmasse bei Lagerung unter Licht zwar deutlich gesenkt werden, jedoch verblieben noch geringe Sauerstoffkonzentrationen von ca. 0,5 mg/kg über die gesamte Lagerdauer. Dies kann auf die hohe Sauerstoffpermeation durch die Behälterwand (siehe Tabelle 1) zurückgeführt werden.

In Abbildung 3 (rechts) ist der Verlauf der Sauerstoffkonzentration [mg/kg] in der Joghurtmasse von gelagertem Naturjoghurt im Glas (Muster D) bei einer Eindringtiefe des Messsensors von 0,5 cm (Messpunkt: Glasmitte) dargestellt. Im Vergleich zu Naturjoghurt im PS-Becher (vgl. Abbildung 3 links) war bei Naturjoghurt im Glas mit einer Sauerstoffkonzentration von 1,0 ± 0,1 mg/kg zu Lagerbeginn eine deutlich geringere Menge an Sauerstoff physikalisch gelöst (mit 5,4 ± 0,4 mg/kg; Muster A). Die Untersuchungen zeigten außerdem, dass die Sauerstoffkonzentration in der Joghurtmasse bei unbelichteter Lagerung ohne Scavenger geringfügig zunahm. Aufgrund der hohen Dichtigkeit von Glas gegenüber Sauerstoff ist dies vorwiegend auf Diffusionsprozesse von Sauerstoff aus dem Kopfraum in die Joghurtmasse zurückzuführen. Unter belichteten Verhältnissen (ohne Scavenger) blieb die Sauerstoffkonzentration nahezu konstant während der Lagerung.

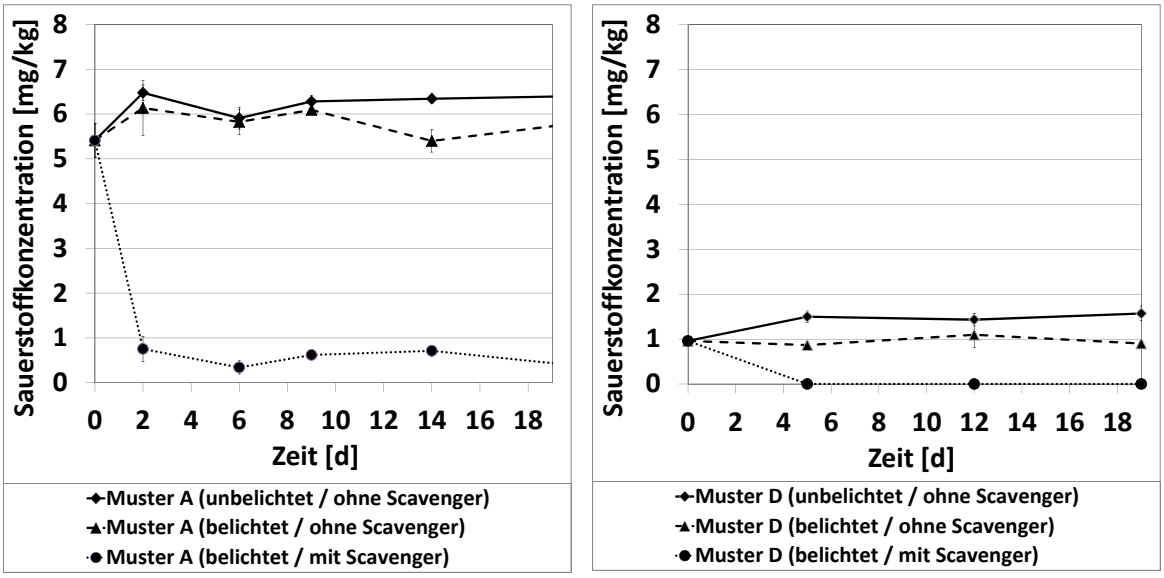


Abb. 3: Sauerstoffkonzentration [mg/kg] in der Masse (Eindringtiefe Messsensor: 0,5 cm; Messpunkt: Bechermitte) von Naturjoghurt im PS-Becher (Muster A, links) bzw. Glas (Muster D, rechts) während der Lagerung bei 5 °C (unbelichtet / belichtet; mit / ohne Scavenger)

Im Gegensatz zu Naturjoghurt im PS-Becher konnten bei Joghurt im Glas durch den Einsatz eines Sauerstoff-Scavengers sauerstofffreie Bedingungen in der gesamten Joghurtmatrix erreicht werden. Somit stand kein Sauerstoff mehr für oxidative Reaktionen zur Verfügung, wodurch das Produkt vor unerwünschten oxidativen Qualitätsveränderungen geschützt war [10; 11].

Um eine mögliche Schutzwirkung eines eisenbasierten Sauerstoff-Scavengers bei Naturjoghurt qualitativ zu beurteilen, wurden sensorische Analysen mittels einer 9-Punkte-Skala (9 = Merkmal sehr stark ausgeprägt; 1 = Merkmal nicht ausgeprägt) hinsichtlich farblichen, geruchlichen sowie geschmacklichen Veränderungen durchgeführt. Abbildung 4 zeigt die sensorische Beurteilung von frischem Naturjoghurt (in Glas, Muster D) sowie nach 19 Tagen Lagerung bei einer Lagertemperatur von 5 °C (unbelichtet bzw. belichtet; mit bzw. ohne Scavenger). Die stärksten Veränderungen zeigten sich bei der Variante, die ohne Scavenger und unter Licht (ca. 500 lux) gelagert wurde. Ursache für den entstandenen oxidativen Fehlgeruch bzw. Fehlgeschmack sind dabei photooxidative Reaktionen, welche bei gleichzeitiger Anwesenheit von Sauerstoff und Licht ablaufen [7; 10]. Die geringsten Veränderungen – sowohl farblich, als auch in Geruch und Geschmack – zeigten sich bei Naturjoghurt, welcher unbelichtet gelagert wurde. Bei Lagerung unter Licht zeigten die Varianten mit Sauerstoff-Scavenger geringere sensorische Veränderungen als die Varianten ohne Sauerstoff-Scavenger. Für die Merkmale „Geschmack oxidiert“ (retronasal aufgenommener Geruchseindruck), „Geruch oxidiert“ sowie „Farbe abweichend“ wurden dabei jeweils Verbesserungen von bis zu zwei Bewertungseinheiten erzielt. Diese sensorisch wahrnehmbaren Unterschiede stehen demnach direkt in Zusammenhang mit der Schutzwirkung eines Sauerstoff-Scavengers vor oxidativen Veränderungen durch Licht bei Naturjoghurt.

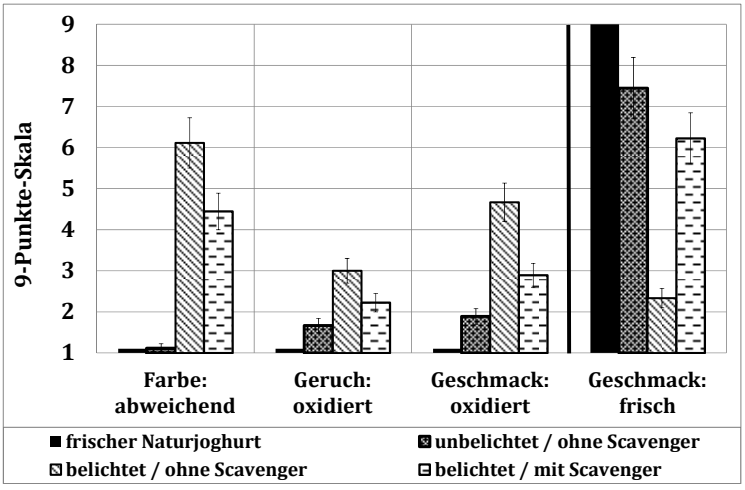


Abb. 4: Sensorische Beurteilung von frischem und gelagertem Naturjoghurt (Muster D) gemäß einer 9-Punkte-Skala; Lagerung 0 bzw. 19 Tage (unbelichtet / belichtet bzw. mit / ohne Scavenger) Lagertemperatur: 5 °C

5 Schlussfolgerungen

Die Untersuchungen an Naturjoghurt zeigten, dass Joghurt, welcher in PS-Bechern mit hoher Sauerstoff-Durchlässigkeit und vermutlich unter Luftzutritt abgefüllt wurde, hohe Sauerstoffgehalte sowohl im Kopfraum als auch in der Joghurtmatrix aufwies. Durch Einsatz eines Sauerstoff-Scavenger-Labels, welches an die Innenseite der Deckelplatine angebracht wurde, konnte die Sauerstoffkonzentration in der Joghurtmasse zwar auf einen Wert von 0,5 mg/kg reduziert, jedoch nicht komplett entfernt werden (Abbildung 3, links). Ursache dafür war vor allem der permeierende Sauerstoff aufgrund der hohen Sauerstoffdurchlässigkeit durch das Packmaterial Polystyrol.

Bei im Glas abgefülltem gerührtem Naturjoghurt, waren grundsätzlich deutlich niedrigere Sauerstoffmengen vorhanden und auch nur im oberen Bereich der Joghurtmasse nachweisbar (Abbildung 2, rechts). Durch den Einsatz eines eisenbasierten Sauerstoff-Scavenger-Labels konnte der Sauerstoff bei Naturjoghurt im Glas daher sehr schnell und vollständig entfernt werden, sodass über die Lagerdauer sauerstofffreie Bedingungen in der Joghurtmasse vorherrschten (Abbildung 3, rechts). Begleitende sensorische Untersuchungen zeigten, dass durch den Einsatz eines eisenbasierten Sauerstoff-Scavengers geringere oxidative Veränderungen auftraten (Abbildung 4). Bei Lagerung unter Licht konnten durch den Einsatz des Sauerstoff-Scavengers für die Merkmale „Geschmack oxidiert“ (retronasal aufgenommener Geruchseindruck), „Geruch oxidiert“ sowie „Farbe abweichend“ jeweils Verbesserungen von bis zu zwei Bewertungseinheiten im Vergleich zur normalen Variante ohne Sauerstoff-Scavenger erzielt werden. Dies stellte einen wahrnehmbaren Unterschied dar. Dadurch konnte eine Schutzwirkung vor sensorischen Veränderungen durch den Einsatz eines eisenbasierten Sauerstoff-Scavengers bei Naturjoghurt im Glas nachgewiesen werden. Im Vergleich dazu zeigte sich auch mit Einsatz eines Sauerstoff-Scavengers bei Naturjoghurt im PS-Becher aufgrund der hohen Sauerstoffdurchlässigkeit des Packmaterials ein sehr deutlich wahrnehmbarer oxidierter Fehlgeruch sowie Fehlgeschmack. Dies bedeutet, dass ein Sauerstoff-Scavenger-Einsatz bei Naturjoghurt im PS-Becher keine signifikante Stabilisierung der Joghurtqualität herbeiführen konnte.

In künftigen Untersuchungen könnte die anfängliche Konkurrenzreaktion zwischen Sauerstoff und Licht bei Joghurt bzw. Sauerstoff mit dem Sauerstoff-Scavenger (v.a. zu Lagerbeginn) näher untersucht werden. Um dem Sauerstoff-Scavenger zu ermöglichen, den Sauerstoff zu binden noch bevor photooxidative Reaktionen stattfinden, könnte das Einhalten einer sog. Karenzzeit (Lagerung der ersten Tage im Dunkeln) zu sauerstofffreien Bedingungen im Joghurt führen. Dies hätte eine weitere Reduzierung photooxidativer Reaktionen zur Folge und wäre die Voraussetzung für die Stabilisierung der sensorischen Qualität von Naturjoghurt.

6 Literatur

1 Bekbölet, M. (1990): Light effects on food. J Food Protection 53: 430-440

2 Danzl, W. (2009): Lichteinfluss auf verpackte UHT-Milch. Jahrestagung IVV (2009) – Lebensmittel verpacken: Qualität – Convenience – Sicherheit

3 Langowski, Prof. Dr. H.C. (2006): Entwicklungen bei Kunststoffverpackungen für Molkereiprodukte – Teil I. dmz 7 / 2006

4 Langowski, Prof. Dr. H.C. (2006): Entwicklungen bei Kunststoffverpackungen für Molkereiprodukte – Teil II. dmz 8 / 2006

5 Ahlhaus, O.E. (1997): Verpackung mit Kunststoffen; C. Hanser; München

6 Töpel, Alfred (2004): Chemie und Physik der Milch. Naturstoff-Rohstoff-Lebensmittel. 1. Aufl., Hamburg:Behr

7 Tamime, A.Y.; Robinson, R.K. (2007): Tamime and Robinson´s yoghurt. Science and technology. 3. Aufl. Cambridge, New York: Woodhead; CRC.

8 Adhikari, A.K.; Singhal, O.P. (1992): Effect of Dissolved Oxygen Content on the Flavour Profile of UHT Milk during the Storage. In: The Australian Journal of Dairy Technology 47 (1992) S.1-6

9 Alexander Saffert, Gabriele Pieper, Jan Jetten (2008): Effect of Package Light Transmittance on Vitamin Content of Milk. Part 2: UHT Whole Milk; Packag. Technol. Sci. 2008; 21:47-55

10 Skibsted, L.H. (2000): Light-induced changes in dairy products. In: Bulletin-International Dairy Federation (346), S. 4-9

11 Daget, N. (1989): The protective effect of packaging material against photo-oxidation. V. Flavour study of various yogurts during storage. IN Trav. Chim. Aliment. Hyg 80, S. 87-99

12 Anonymous (2011): Instruction manual-Microx TX3 trace, Micro fiber optic trace oxygen transmitter for use with oxygen microsensors and trace oxygen microsensors; PreSens Precision Sensing GmbH, Regensburg

13 Huber, Ch., Nguyen, T.A., Krause, Ch., Humele, H., Stangelmayer, A. (2006): Oxygen ingress measurement into PET bottles using optical-chemical sensor technology; Monatsschr. Brauwiss., Nov./Dez., p.5-15

Das Projekt wurde dankenswerterweise finanziell unterstützt von der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihen-stephan 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:	M.Sc. Sabine Ambros	-3856
	M.Sc. Simon Bauer	-5031
	BA (FH) Ralf Berlehner (ab 14.08.2013)	-2474
	M.Sc. Janina Brand	-3856
	Annette Brümmer-Rolf	-3937
	PhD Seronei Cheison (bis 31.05.2013)	-5056
	Dipl.-Ing. (FH) Evelyn Dachmann	-5317
	Dipl.-Ing. Jannika Dombrowski	-3534
	Dipl.-Ing. Joseph Dumpler	-3939
	Rosemarie Eberhard	-3942
	Christian Ederer	-3537
	Dipl.-Ing. Elisabeth Eschlbeck	-3939
	Dr.-Ing. Petra Först (seit 01.04.12 komm. Vertretung Lehrstuhl für Verfahrenstechnik Disperser Systeme)	-3536/3289
	Franz Fraunhofer	-3537
	Dr. rer. nat. Ronald Gebhardt	-3536
	Carina Gerhard (bis 31.08.2013)	-3937
	Cornelia Glashauser	-3856
	Christian Gottwald	-2507
	Dipl.-Ing. (FH) Sabine Grabbe	-3534
	Ilona Hager	-2474
	Brigitte Härter	-3941
	Dipl.-Ing. Hans-Jürgen Heidebrecht	-3481
	Marianne Holzmann (bis 30.09.2013)	-3937
	Dipl.-Ing. Wolfgang Holzmüller	-3534
	M.Sc. Sabine Husby	-3719
	M.Sc. Malee Kallbach	-5317
	Claudia Kanli (ab 01.01.2014)	-3937
	Dipl.-Ing. Christian Kleemann	-3719

M.Sc. Elena Leeb	-3855
M.Sc. Melanie Marx	-3855
Dipl.-Ing. Magdalena Merkl	-5032
Dipl.-Ing. Patricia Meyer	-2507
Dipl.-Ing. (FH) Michael Reitmaier	-3942
Dipl.-Chem. Daniel Saalfeld	-3536
Dipl.-Ing. (FH) Rita Schaupp	-3481
Erich Schneider	-3537
Astrid Steen (ab 01.01.2013)	-3937
Dipl.-Ing. Tim Steinhauer	-2507
Dipl.-Ing. Thomas Strixner	-2507
Mirjana Stulac	-5056
Günther Unterbuchberger	-3942
Dipl.-Ing. Linda Voswinkel	-5032
Dipl.-Ing. (FH) Julia Wilke	-3855
Heidi Wohlschläger	-3941
Dipl.-Ing. Rebecca Würth	-5317
M.Sc. Yu Zhuang	-3939

Vorwort

Im Jahr 2013 waren Investitionen in ungewöhnlicher Höhe von 570.000 € zu tätigen. Einige Großgeräte wie eine neue multifunktionale UHT-Anlage wurden installiert, die alle Optionen der indirekten und direkten Produkterhitzung erlaubt, inklusive Dampfinfusion nach einer neuen Technik. Diese Investition wurde in erheblichem Umfang durch die Fa. GEA TDS unterstützt. In großem Maße waren auch unerwartete Aufwendungen für den Austausch von in die Jahre gekommenen, irreparablen Geräten und Apparaten zu schultern. Unterstützt durch Studienbeiträge konnte eine neue Membrananlage in Betrieb genommen werden. Ein neues ATR-FTIR-Spektrometer erlaubt die Charakterisierung von mikrobiellen Starterkulturen, die in Trocknungsverfahren an Zellwandintegrität verlieren können. Durch den Ausbau eines neuen Labors für die Rheologie und Partikelgrößenmessung wurde zusätzliche analytische Kapazität geschaffen. Neu installiert wurde auch ein Inline-Mehrwinkel-Streulichtmessgerät zur Erfassung von Partikelgrößen im nm-Bereich. In diesem Zuge wurde auch die Ultraschallspektroskopie wieder in Betrieb genommen und kann für reaktionskinetische Messungen genutzt werden.

Eine Habilitation und vier Dissertationen sowie vier Auszeichnungen wissenschaftlicher Arbeiten konnten 2013 erfolgreich abgeschlossen bzw. entgegen genommen werden. 17 laufende Forschungsvorhaben (davon 3 Verbundvorhaben mit anderen Universitäten), fast 2,0 Mio. € im Wettbewerb eingeworbene Forschungsmittel, 86 Vorträge und Poster bei 12 internationalen und 8 nationalen wissenschaftlichen Tagungen sowie 12 Publikationen in wissenschaftlichen und 16 in Fachjournalen bzw. Proceedings komplettieren die Ergebnisbilanz. In 35 Bachelor und 12 Diplom- und Masterarbeiten wurden Studenten mehrerer Studiengänge an die Methodik des wissenschaftlichen Problemlösens in systematischer Arbeitsweise herangeführt.

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

Auszeichnungen 2013

Dr.-Ing. Christopher Guyot, Herausragende Doktorarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V., ausgezeichnet am 10.10.2013 in Weihenstephan

M.Sc. Maria Springer, Herausragende Masterarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V., ausgezeichnet am 10.10.2013 in Weihenstephan

Alexander Götz, Herausragende Bachelorarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V., ausgezeichnet am 10.10.2013 in Weihenstephan

Otto von Guericke Preis 2013, Innovatives Fraktionierungsverfahren: „Für das Gelbe vom Ei!“ Das Projekt, hervorgegangen aus einem AIF-FEI-geförderten Forschungsvorhaben war Finalist (2. Sieger) bei der Wahl zum diesjährigen Otto von Guericke-Preis der AiF, der einmal im Jahr für herausragende Leistungen auf dem Gebiet der IGF vergeben wird, 12. Juni 2013 in Berlin

Forschung

Forschungsgebiet Bioprozess-, Aseptik- und Steril-Verfahrenstechnik
Workgroup Bioprocess Engineering, Aseptic- and Sterile Technology
Leitung: Dr.-Ing. Petra Först

Mikrowellen-Vakuumtrocknung von Starterkulturen und Probiotika

Microwave-Vacuumdrying of starter and probiotica cultures

Sabine Ambros

Um bei der Trocknung von Starterkulturen und Probiotika eine gute Produktqualität zu gewährleisten, müssen die Kulturen schonend getrocknet werden. Die Mikrowellen-Vakuumtrocknung stellt hier ein vielversprechendes Trocknungsverfahren dar, das sich in Zukunft als Alternative für die energieintensive Gefriertrocknungstechnologie erweisen könnte, die derzeit noch als industrieller Standard gilt.

Im laufenden AiF/FEI-Forschungsprojekt zur Mikrowellen-Vakuumtrocknung von mikrobiellen Kulturen wurde bereits ein schonendes Trocknungsverfahren mittels Mikrowellen entwickelt, bei dem die Mikrowellenenergie in Abhängigkeit der Produkttemperatur gepulst eingetragen wird, um ein Überhitzen der Kulturen zu verhindern. Es resultierten bereits Überlebensraten, die vergleichbar mit der Gefrier- und Vakuumtrocknung sind.

Um das Überleben, der wesentliche Qualitätsfaktor solcher Kulturen, noch weiter zu verbessern, war nun ein wichtiger Punkt, die Inaktivierung bei der für den verwendeten Modellorganismus *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* F19 während des Trocknungsverlaufs zu bestimmen. Die Kulturendispersion wurde dafür für unterschiedliche Zeiten bei den als bisher optimal gefundenen Einstellungen bei einer Mikrowellenleistung von 1 W/g, einem Kammerdruck von 7 mbar und einer maximalen Produkttemperatur von 30 °C getrocknet.

In Abb. 1 ist der typische Verlauf der Produktfeuchte und der Produkttemperatur über die Trocknungszeit dargestellt. Im ersten Trocknungsabschnitt beträgt die durchschnittliche Trocknungsrate 100 mg·min^{-1} bezogen auf 1 g Trockenmasse. Die Produkttemperatur liegt in dieser Phase leicht über dem Siedepunkt von 2,5 °C. Die Trocknungsgeschwindigkeit sinkt im zweiten Trocknungsabschnitt auf durchschnittlich 17 mg·g TM^{-1}·min^{-1} und im dritten Abschnitt erreicht die Trocknungsrate schließlich einen durchschnittlichen Wert von 1,4 mg·g TM^{-1}·min^{-1}. Zu Beginn der zweiten Trocknungsphase kommt es zu einem rapiden Temperaturanstieg, da nun dem Produkt bereits das freie Wasser entzogen wurde. Kühlungseffekte bleiben aus und mehr Energie wird benötigt, um das gebundene Restwasser zu entfernen. Nach Erreichen der vorgegebenen maximalen Produkttemperatur wird die Mikrowellenenergie im gepulsten Modus eingetragen, um die Temperatur konstant auf dem festgelegten Wert zu halten. Die niedrig gehaltene Trocknungstemperatur ist ein weiterer Grund für die sehr geringe Trocknungsrate im letzten Abschnitt.

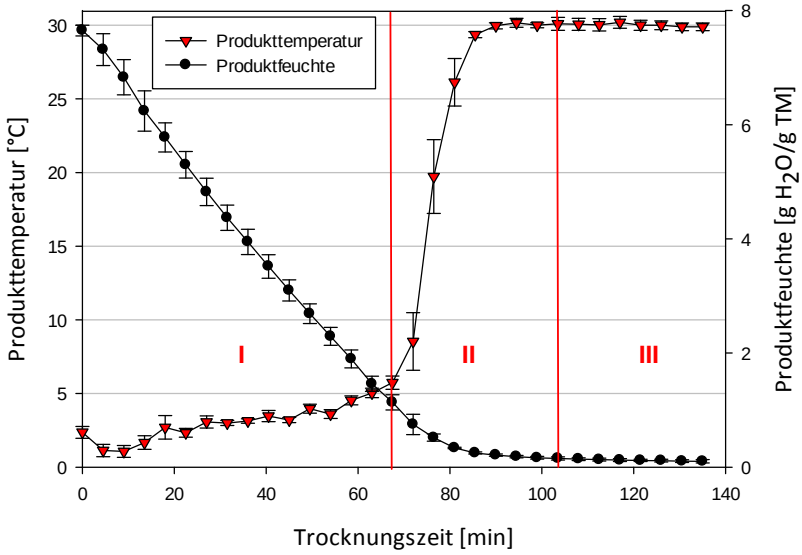


Abb. 1: Typischer Verlauf der Produktfeuchte und der -temperatur bei der Mikrowellen-Vakuumtrocknung von *Lb. Paracasei*

Zur Bestimmung der Inaktivierung der Kulturen wurde die Überlebensrate und die Membranintegrität von *Lb. paracasei* bestimmt. Aus Abb. 2 wird ersichtlich, dass zunächst der Abfall der Überlebensrate einhergeht mit abnehmendem Restwassergehalt.

Ein Verlust an lebenden Zellen ist somit wahrscheinlich auf Schäden durch Dehydrierung zurückzuführen, mit einem drastischen Abfall zwischen 70 und 80 min Trocknungszeit. Dieser Zusammenhang ist bis zu einem Restwassergehalt von 20 % zu beobachten. Dieser Wert gilt für Kulturen als sog. kritischer Restwassergehalt. Unterhalb dieses Wertes kommt es zu weiteren starken strukturellen Veränderungen der Kulturen, da das Strukturwasser, z.B. gebunden an die Phospholipide der Zellmembran, entfernt wird.

Über den a_w-Wert aufgetragen, ist dieser kritische Bereich ebenfalls gut sichtbar und stimmt mit der bereits für *Lb. paracasei* festgestellten a_w-Wert-abhängigen Inaktivierung überein (Först und Kulozik, 2012). Für eine Verbesserung des Trocknungsresultates besteht nun die Möglichkeit, den kritischen a_w-Wert-Bereich auf möglichst schonende Art und Weise oder aber möglichst schnell zu durchschreiten.

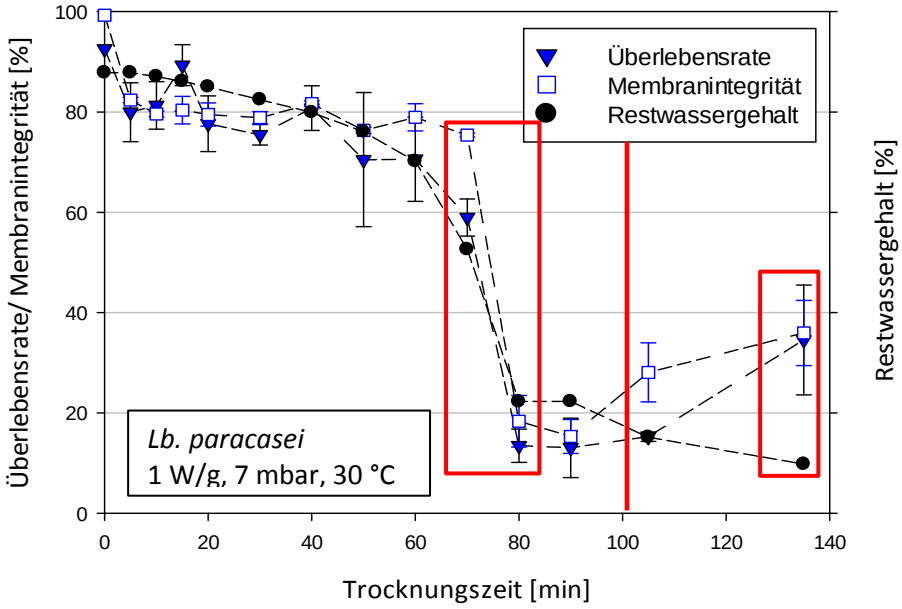


Abb. 2: Überlebensrate, Membranintegrität und Restwassergehalt von *Lb. paracasei* im Verlauf der Mikrowellen-Vakuumtrocknung bei 1 W/g, 7 mbar und 30 °C

Dies ist Gegenstand derzeitiger Untersuchungen. Eine weitere Möglichkeit ist, das Überleben der Kulturen durch Zugabe von Schutzstoffen zu verbessern. Für die Vakuumtrocknung haben sich Sorbitol und Maltose als sehr gut geeignet herausgestellt. In der Industrie wird häufig Magermilchpulver verwendet. Daher wurden für die Mikrowellen-Vakuumtrocknung Versuche mit diesen Schutzstoffen bei den oben erwähnten Einstellungen durchgeführt. Wie in Abb. 3 zu sehen ist, konnte im Vergleich zur Referenz keiner der Zucker bzw. das Magermilchpulver eine Schutzwirkung auf die Kulturen erzielen.

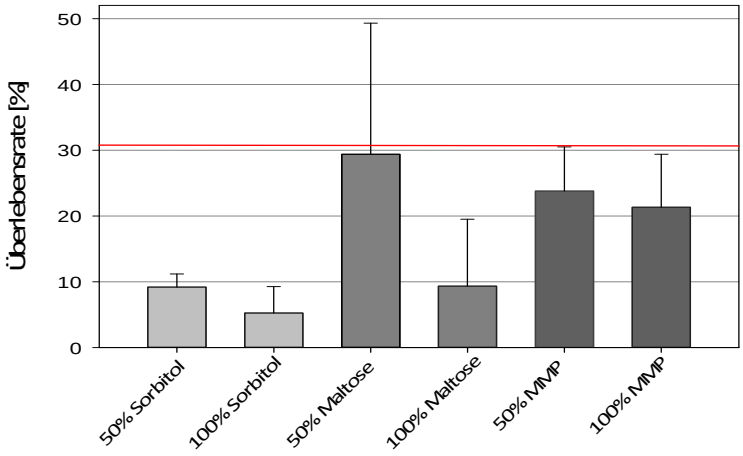


Abb. 3: Überlebensrate von *Lb. paracasei* nach Mikrowellen-Vakuumtrocknung mit Zugabe der Schutzstoffe Sorbitol, Maltose und Magermilchpulver (MMP) in 50 und 100 % bezogen auf die Biotrockenmasse. Die rote Linie stellt die Überlebensrate nach der Kultur ohne Schutzstoffzugabe dar.

Gründe dafür könnten in der Fähigkeit der polaren Zuckermoleküle liegen, im gelösten Zustand vermehrt Mikrowellenenergie aufzunehmen. Besonders Sorbitol lässt sich durch die offenkettige Struktur und das geringere Molekulargewicht im Vergleich zu den Disacchariden Maltose und der Laktose, die mit einem Anteil von 50 % einen wesentlichen Bestandteil des Magermilchpulvers darstellt, sehr leicht durch Mikrowellen anregen. Durch die starke Anre-

gung der Zucker könnte es zu einer Art *Hot Spot*-Bildung auf molekularer Ebene kommen. Aufgrund der starken Schwingungen dieser Moleküle, die sich zum Teil in der Nähe der Zellmembran befinden, könnten schließlich Löcher in die Membranen gerissen werden und es so zu einer verstärkten Schädigung der Kulturen kommen. Dies wird durch die besonders geringe Überlebensrate von weniger als 10 % für die mit 50 % Sorbitol getrockneten Kulturen und ca. 5 % für die Kulturen mit 100 % Sorbitol bestätigt. Die zunehmende Schädigung mit Erhöhung der Zuckerkonzentration ist auf die Erhöhung des dielektrischen Verlustfaktors zurückzuführen, wie auch in Abb. 4 deutlich wird: Je höher die Sorbitolkonzentration ist, desto höher ist die Fähigkeit, Mikrowellenenergie aufzunehmen, also der dielektrische Verlustfaktor ε'.

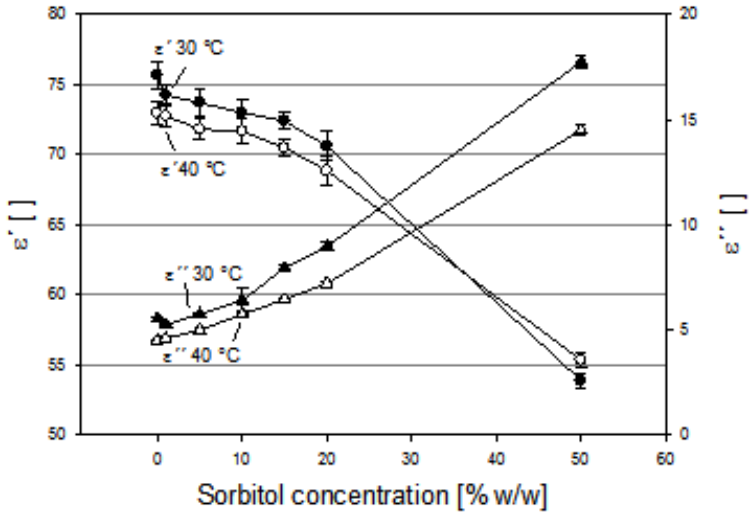


Abb. 4: Dielektrizitätskonstante ε‘ und dielektrischer Verlustfaktor ε‘‘in Abhängigkeit von der Sorbitolkonzentration

Aufgrund dieser Ergebnisse ist das Ziel zukünftiger Untersuchungen, Stoffe zu finden, die eine mikrowellen-geeignete Struktur besitzen, d.h. einen geringen dielektrischen Verlustfaktor besitzen und gleichzeitig eine Schutzwirkung auf die Mikroorganismen während des Trocknungsprozesses ausüben können.

Literatur:
Foerst, P. und Kulozik, U. (2012): Modelling the dynamic inactivation of the probiotic bacterium *Lb. paracasei* ssp. *paracasei* during a low-temperature drying process based on stationary data in concentrated systems. Food Bioprocess Technol 5: 2419-2427.

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 17477 N).

Trocknungskinetik von *L. paracasei* ssp. *paracasei* F19 Suspensionen bei der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung

Drying kinetics of L. paracasei ssp. paracasei F19 suspensions in the low-temperature vacuum drying

Simon A. W. Bauer

In der Lebensmittelindustrie ist die Verwendung von definierten Starterkulturen heute Stand der Technik und löst zunehmend traditionelle Verfahren ab. Darüber hinaus ist der Bedarf an aktiven, hochkonzentrierten Kulturen zum Einsatz als probiotischer Zusatz enorm gestiegen. Eine Vielzahl an Produkten und Anwendungsbereichen nimmt daher großen Einfluss auf die

zu produzierende Menge und vor allem auch auf die Formulierung der Kulturen. Dies wirkt insbesondere auf die Notwendigkeit der professionellen, industriellen Produktion und die damit verbundene Distributionsfähigkeit der Präparate. Darüber hinaus entstehen Anwendungsbereiche, bei denen es notwendig ist, trockene Produkte zum Einsatz zu bringen. Getrocknete Kulturen weisen auch eine erhöhte Lagerstabilität auf und können die bereits genannte Distribution erleichtern. Die Trocknung von biologischen, sensitiven Stoffen stellt eine große Herausforderung dar. Derzeit wird hierfür die Gefriertrocknung als Standardverfahren gewählt, da sie als besonders schonendes Verfahren gilt. Sie ist aber mit einem hohen Energieeinsatz verbunden und kann durch den notwendigen Einfrierschritt gefriersensible Bakterienstämme stark schädigen. Dies macht es notwendig und sinnvoll, alternative Trocknungsverfahren zu verwenden. Ein vielversprechendes Verfahren hierfür ist die Niedertemperatur-Vakuumtrocknung (NTVT), die einen geringeren Energieverbrauch hat und ohne den schädlichen Einfrierschritt auskommt [1]. Zur Etablierung des Verfahrens ist es notwendig, die Mechanismen der trocknungsbedingten Schädigung zu klären und die notwendige Prozesssicherheit hinsichtlich einer optimalen Prozessführung zu evaluieren. Dafür soll innerhalb der vorliegenden Arbeit der Einfluss verschiedener Prozessparameter auf die Trocknungskinetik von Zellsuspensionen des Teststammes *L. paracasei* ssp. *paracasei* F19 ermittelt und der Effekt unterschiedlicher Trocknungsgeschwindigkeiten evaluiert werden. Für die Untersuchungen wurde der Teststamm bei optimaler Wachstumstemperatur (37 °C) bis zum Erreichen der frühstationären Wachstumsphase in einer gerührten Flasche fermentiert. Die Zellen wurden mittels Zentrifugation aus dem Fermentationsmedium gewonnen und zweifach mit sterilem, destilliertem Wasser gewaschen und auf eine resultierende Zelldichte von ca. 10^{10} koloniebildenden Einheiten pro mL (KbE/mL) aufkonzentriert. Von diesem Zellkonzentrat wurde je 1 mL in sterile Glasvials (Ø=25 mm) überführt. Die so vorbereiteten Proben wurden im Anschluss mittels NTVT dehydriert.

Tabelle 1: Untersuchte Prozessbedingungen der NTVT

Stellflächentemperatur [° C]	**Kammerdruck [mbar]**
15	15
25	15
35	15
25	30
35	30

Die Prozessbedingungen wurden so gewählt, dass es nicht zum Gefrieren der Suspensionen kam. Als Obergrenze wurde die physiologische Temperatur der Mikroorganismen gesetzt.

Die aus diesen Vorgaben resultierenden Kombinationen aus Stellflächentemperatur- (SFT) und Kammerdruck (KD) sind in Tabelle 1 dargestellt.

Der Trocknungsprozess wurde zu bestimmten Zeiten gestoppt und die Proben wurden hinsichtlich mehrerer Eigenschaften (Wasseraktivität und -gehalt, Überlebensrate (mittels Bestimmung der KbE) und Membranintegrität (mittels Durchflusszytometrie)) untersucht. Die maximale Trocknungsdauer wurde auf 24 h festgelegt, da sich nach dieser Zeit für alle Bedingungen ein Feuchtegleichgewicht eingestellt hatte.

Aus Abb. 1 wird deutlich, dass zu Beginn des Prozesses die Trocknung schnell fortschreitet und dann verlangsamt wird. Die Reduzierung der Trocknungsgeschwindigkeit ist erklärbar durch den Eintritt in den zweiten Trocknungsabschnitt, bei dem kein ungebundenes Wasser, sondern strukturell gebundenes Wasser verdampft wird. Darüber hinaus wird deutlich, dass die verschiedenen Bedingungen zu unterschiedlich hohen Trocknungsgeschwindigkeiten führen.

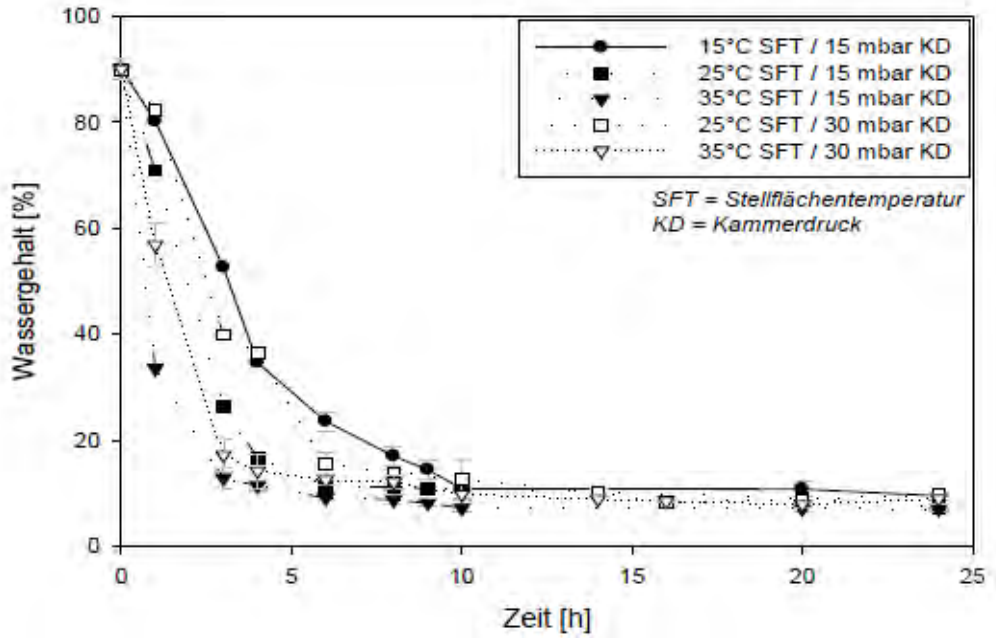


Abb. 1: Dehydrierungskinetik von *L. paracasei* F19 Suspensionen bei verschiedenen Prozessbedingungen

Trotz der anfänglichen Unterschiede ist allen Einstellungen gemein, dass eine Verlangsamung ab einem Restwassergehalt von 20 % auftritt. Ab diesem Wassergehalt kann davon ausgegangen werden, dass nur noch strukturell gebundenes Wasser vorliegt. Allerdings lässt die reine Betrachtung des Wassergehaltes keine Rückschlüsse auf die tatsächliche Bindungsenergie der Wassermoleküle zu. Die Wasseraktivität hingegen gibt Auskunft über die tatsächliche Verfügbarkeit der Wassermoleküle.

Trägt man nun die Wasseraktivität über den Wassergehalt auf, so kann auf den Bindungszustand des Wassers bei entsprechendem Wassergehalt geschlossen werden. Wie in Abb. 2 ersichtlich, ist für alle Bedingungen das gleiche Desorptionsverhalten feststellbar.

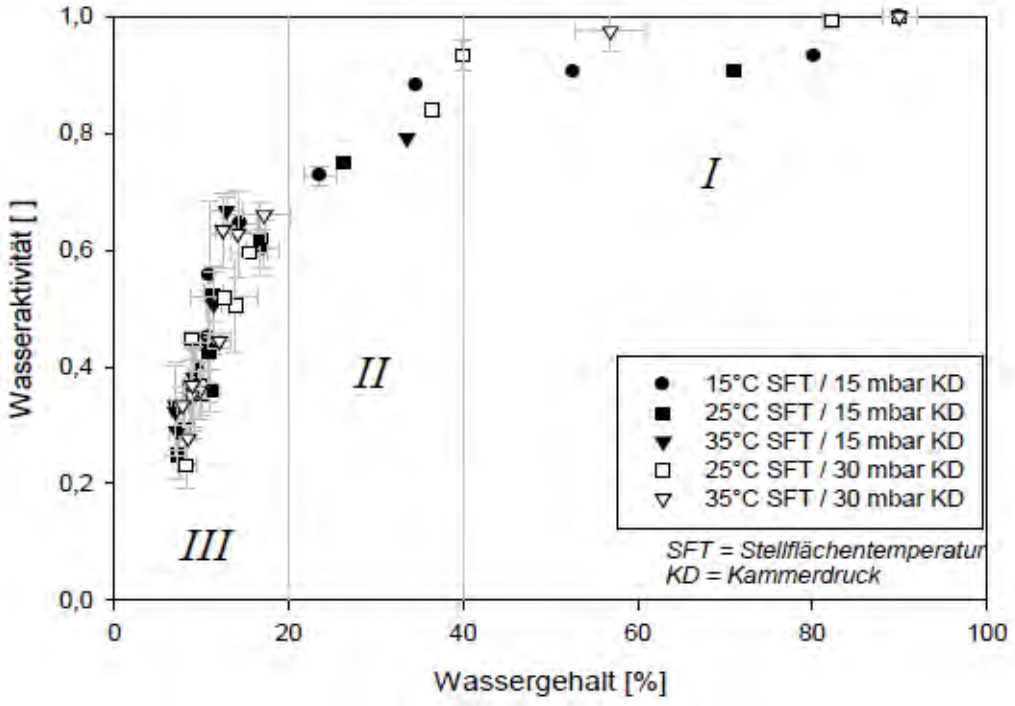


Abb. 2: Wasserdesorptions-Kurven für verschiedene Prozessbedingungen

Prinzipiell lässt sich erkennen, dass sich hinsichtlich des Wasserbindungszustandes drei Phasen unterscheiden lassen. Bei Wassergehalten über 40 % (Phase I) ist ausreichend freies Wasser vorhanden und die Dehydrierung führt kaum zu einer Reduzierung der Wasseraktivität. Beim Eintritt in Phase II (40 % - 20 %) nehmen die Bindungskräfte des Wassers an das Probenmaterial zu, d.h. die Wasseraktivität sinkt.

Noch deutlicher wird dies in Phase III (unter 20 %). Dies zeigt zum einen, dass es, wie für Abb. 1 vermutet, unter 20 % Wassergehalt zur Entfernung von strukturell sehr stark gebundenem Wasser kommt.

Zum anderen lässt sich annehmen, dass ab diesem Wassergehalt stark an die Zellen gebundenes Wasser entfernt wird, d.h. in diesem Bereich die Zellen vorwiegend durch die Dehydrierung geschädigt werden. Diese Annahme bestätigt sich bei Betrachtung der Überlebensrate in Abhängigkeit des Wassergehaltes (Abb. 3).

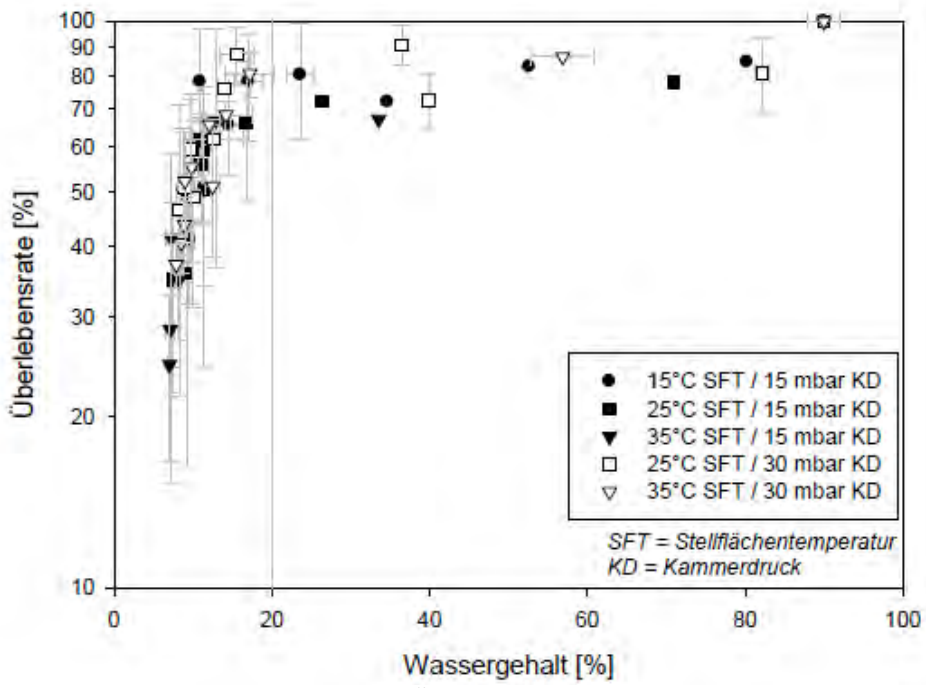


Abb. 3: Wassergehaltsabhängige Überlebensrate für verschiedene Prozessparamete

Allerdings lässt sich durch diese Ergebnisse kein Schädigungsmechanismus postulieren. Hierfür ist es notwendig, nicht nur die phenomenologischen Effekte der Trocknung zu betrachten, sondern auch zu eruieren, an welchem Ort die Schädigung der Zellen vonstatten geht. In der Literatur werden unterschiedliche Bereiche der Zelle als Schädigungsort diskutiert. Eine häufig genannte These ist die der Schädigung der Zellmembran. Daher wurde die Zellintegrität parallel zur Überlebensrate bestimmt. Hierbei fällt auf, dass bereits ab einem Wassergehalt von 40 % Membranschäden zu finden sind. Der Verlauf des Verlustes an Membranintegrität korreliert mit dem Verlauf der Wasseraktivität (r^2=0,96). Dies bedeutet, dass durch die Entfernung des Strukturwassers zwar prinzipiell die Membran geschädigt wird, dies aber nicht sofort zur Inaktivierung der Zellen führt. Die tatsächliche Inaktivierung der Zellen findet erst ab Wassergehalten von 20 % nennenswert statt. Eine membrangeschädigte Zelle ist nicht in der Lage, Energiestoffwechsel zu treiben oder sich zu vermehren. Sie würde dadurch in der Keimzahlbestimmung nicht erfasst werden. Allerdings ist bekannt, dass Zellen über Reparaturmechanismen für die Zellmembran verfügen [2,3].

An der Reparatur der Zellmembran sind Enzyme und die RNA/DNA beteiligt. Diese Zellkompartimente können aber bei niedrigen Wassergehalten ihre Funktion verlieren und somit den Reparaturmechanismus nicht mehr realisieren.

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. Journal of Biotechnology, 2012, 159, 351-357
[2] García, D.; Mañas, P.; Gómez, N.; Raso, J.; Pagán, R.: Biosynthetic requirements for the repair of sublethal membrane damage in *Escherichia coli* cells after pulsed electric fields. Journal of Applied Microbiology, 2006, 100 (3), 428–435
[3] Chilton, P.; Isaacs, N.S.; Mañas, P.; Mackey, B.M.: Biosynthetic requirements for the repair of membrane damage in pressure-treated *Escherichia coli*. International Journal of Food Microbiology, 2001, 71 (1), 101–104

Einfluss des Trockenmassegehaltes von Umkehrosmose-Magermilchkonzentraten auf funktionelle Qualitätskriterien

Influence of dry matter content by reverse osmosis skimmed milk concentrates on functional quality criteria

Joseph Dumpler

Die Konzentrierung von Milch und Molke und damit das Entfernen von Wasser zur Erhöhung der Trockenmasse bedingt Veränderungen in der Löslichkeit der Milchbestandteile, die zu teilweise erwünschten wie unerwünschten sensorischen und technologischen Veränderungen führen können. Meist werden Konzentrate, die mittels Eindampfung hergestellt werden, zur mikrobiellen Stabilisierung unter hohem Energiever-brauch sprühgetrocknet. Aus der Konzentrierung ergibt sich die gewollte Volumenreduktion, die in Abb. 1 für Molke und Magermilch in Abhängigkeit des erreichten Trockenmassegehaltes dargestellt ist.

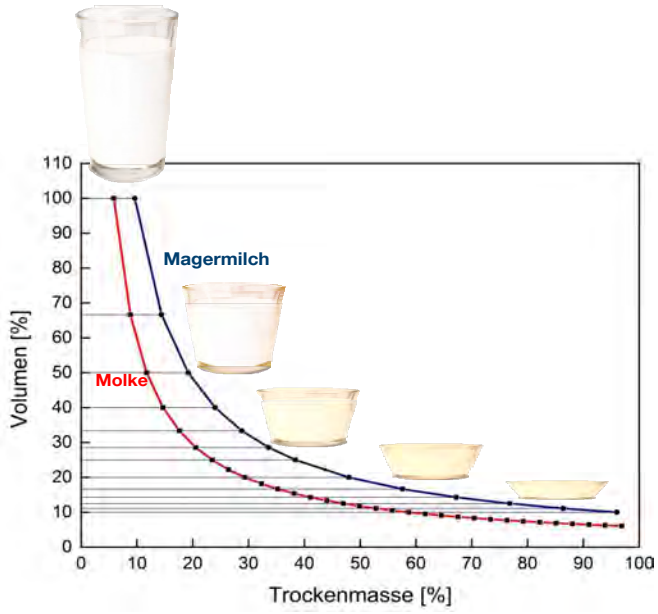


Abb. 1: Volumenreduktion durch Konzentrierung in Abhängigkeit von der Trockenmasse

Die energiesparende Herstellung von Konzentraten mittels Umkehrosmose bis zu Trockenmassen (TM) von 30-35 % reduziert das Transportvolumen bereits sehr stark. Durch eine schonende Ultrahocherhitzung können Magermilchkonzentrate bei Raumtemperatur mehrere Monate lagerstabil gemacht werden und damit Milch- und Molkepulver ersetzen und es können nicht nur Ressourcen eingespart werden, sondern sogar technologische Vorteile entstehen. Konzentrate aus Milch und Molke zeigen einen niedrigeren pH-Wert als die

Ausgangsmilch, die Farbe verändert sich ins Gelbliche, der Gehalt an vegetativen Mikroorganismen und Sporen nimmt zu, die Viskosität steigt an und Laktose und Milchsalze tendieren zur Kristallisation. Laktose, das Hauptkohlenhydrat in Milch, weist verglichen mit anderen Zuckern eine geringe Wasserlöslichkeit auf und neigt zur Kristallisation bei verringertem Wassergehalt in Magermilchkonzentraten. In Abb. 2 ist die maximal mögliche Volumenreduktion für Milch und Ultrafiltrationspermeat (UF-Permeat) bzw. Molke bis zur Kristallisation der Laktose dargestellt.

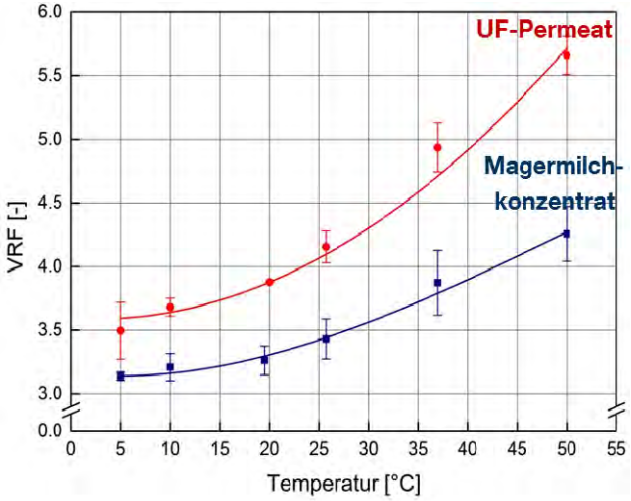


Abb. 2: Maximal erreichbarer Volumenreduktionsfaktor (VRF) in Abhängigkeit der Lagerungs-temperatur in Magermilchkonzentrat und Ultrafiltrationspermeat-Konzentrat aus Milch

Für die Kondensmilchherstellung wur-den bisher nur geringere Trockenmas-sen von 18-23 % realisiert ohne so das weitere Einsparpotential an Transport-volumen ohne Kristallisation von Lakto-se zu nutzen. Die größte Hürde ist die Hitzekoagulation der Caseine unter den Temperatur-Zeit-Bedingungen, die für die Inaktivierung bakterieller Sporen in Magermilch und Konzentraten daraus erforderlich sind. Die maximal mögliche Erhitzungstemperatur sinkt mit steigen-der Trockenmasse und bei sehr hohen und niedrigen pH-Werten wie Abb. 3 zeigt.

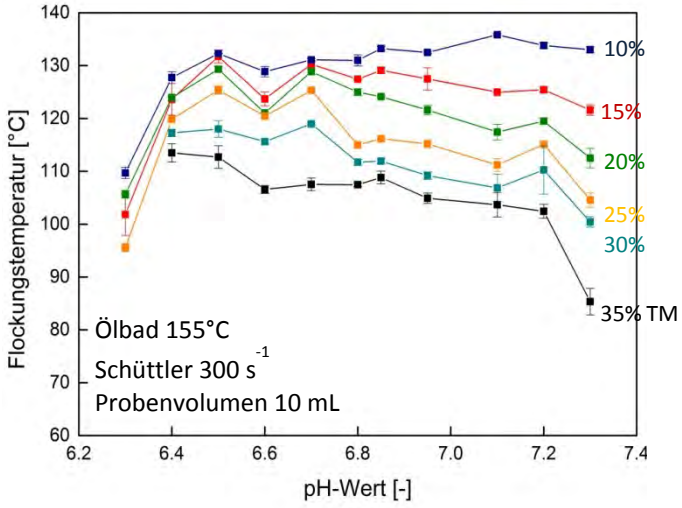


Abb. 3: Maximal mögliche Erhitzungstemperaturen für Magermilchkonzentrat im Labormaßstab in Abhängigkeit des pH-Wertes bei 20 °C und des Feststoffgehaltes (TS)

Die Hitzestabilität (Flockungstemperatur) nimmt mit steigender Trockenmasse ab. Erhitzungstemperaturen im UHT-Bereich über 130 °C für Magermilchkonzentrate über

25 % TM sind ohne weitere technologische Maßnahmen aufgrund der Eigenschaften des Konzentrates bisher nicht möglich. Die schonende ESL-Hocherhitzung, die eine Kühllagerung der Konzentrate bedingt, kann allerdings für die Haltbarkeitsverlängerung von Magermilchkonzentrat angewandt werden. Die Ursache für die Hitzeinstabilität von Magermilchkonzentraten zu identifizieren und UHT-Sterilisation von Magermilchkonzentraten durch Kombination technologischer Maßnahmen wie Membrantrenntechnik und thermischer Verfahren für Magermilchkonzentrate zu ermöglichen, wird zentraler Bestandteil des Forschungsprojektes „Energieeinsparung durch haltbare Milch- und Molkekonzentrate“ sein.

Dank:
Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV). Die Projektträgerschaft erfolgt über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung FKZ: 2817400511 BLE/GZ: 313-06.01-28-1-74.005-11

Beeinflussung der Oberflächenhydrophobizität von bakteriellen Sporen durch verschiedene Anzuchtbedingungen

Influence of various incubation parameters on the surface hydrophobicity of bacterial spores

Elisabeth Eschlbeck

Verdampftes Wasserstoffperoxid eignet sich sehr gut, um Verpackungsoberflächen zu entkeimen. Für dieses Inaktivierungsverfahren gibt es zwei verschiedene Einsatzmöglichkeiten: Einerseits kann eine Anwendung ohne Kondensation, andererseits eine Anwendung bei der Kondensation erwirkt wird, durchgeführt werden. Die Kondensationsbildung ist abhängig vom Taupunkt. Als Taupunkt wird die Temperatur bezeichnet, unterhalb der sich gerade Kondensat bildet. Wird das Verpackungsmaterial mit einer Temperatur unterhalb der Taupunkttemperatur in die Behandlungskammer gegeben, kondensiert Wasserstoffperoxid. Es wird kontrovers diskutiert, ob die Kondensatbildung bei der Entkeimung mit gasförmigem Wasserstoffperoxid von Vorteil für eine schnelle und vollständige Keiminaktivierung ist. Da der Siedepunkt des Wassers deutlich unterhalb des Siedepunktes von Wasserstoffperoxid liegt, kommt es bei der anschließenden Entfernung des Kondensats zur Konzentrierung von Wasserstoffperoxid. Es entstehen kurzzeitig H_2O_2-Konzentrationen von bis zu 70 %, welche eine stark keiminaktivierende Wirkung aufweisen. Das Kondensat hat eine korrosive Wirkung und muss in einem nachzuschaltenden Prozessschritt wieder entfernt werden.

Im vorangehenden Projekt wurden bakterielle Sporen, die Kontaktwinkel zwischen 10 und 20 ° aufwiesen, sowohl ohne Kondensation bei einer Konditionierung des Packstoffes auf 63 °C (Abb. 1, links) als auch mit Kondensation bei einer kühleren Packstofftemperatur von 22 °C (Abb. 1, rechts) inaktiviert. Abb. 1 zeigt die unterschiedlichen Inaktivierungsgeschwindig-keiten in Abhängigkeit von der ermittelten Oberflächenhydrophobizität, wobei die bakteriellen Sporen mit dem geringsten Kontaktwinkel den niedrigsten D-Wert aufwiesen.

Aufgrund dieser Ergebnisse existiert die Hypothese, dass die Inaktivierung von Mikroorganismen mit gasförmigem und gleichzeitig kondensierendem Wasserstoffperoxid stark von der Oberflächenhydrophobizität der Mikroorganismen beeinflusst wird. Das bedeutet, dass Mikroorganismen mit wasserabweisenden Oberflächeneigenschaften einen Schutzmechanismus gegenüber der Kondensatbildung aufweisen. Ziel dieses Forschungsprojektes ist es, diese Hypothese zu überprüfen und somit den Einfluss der Oberflächenhydrophobizität auf die Inaktivierung sowohl mit als auch ohne Kondensatbildung zu ermitteln.

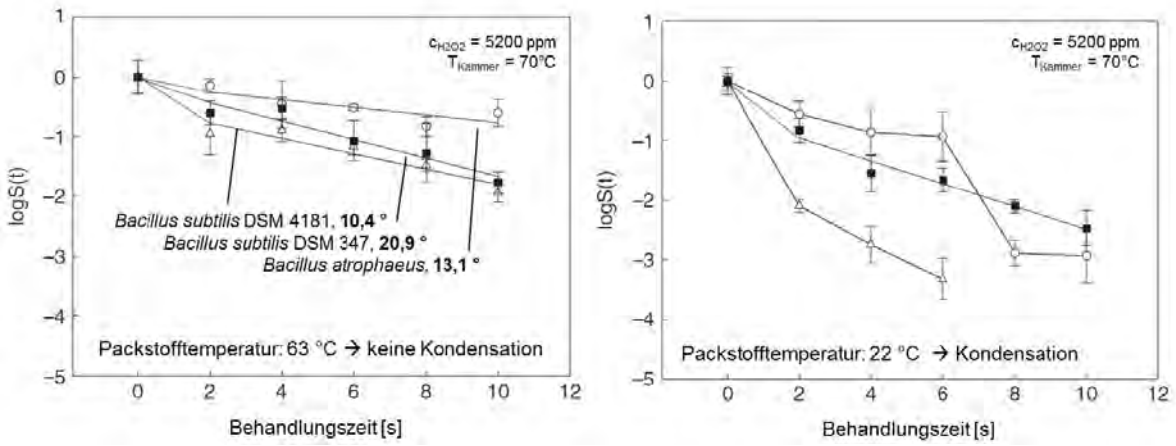


Abb. 1: Inaktivierung von bakteriellen Sporen mit und ohne Kondensatbildung in Abhängigkeit von der Oberflächenhydrophobizität (Pruss et al., 2012)

Hierfür werden Mikroorganismen mit verschiedenen Oberflächenhydrophobizitäten eingesetzt. Zur Charakterisierung hinsichtlich der wasserabweisenden Eigenschaften wurde der Kontaktwinkel auf einem abfiltrierten und definiert getrockneten Sporenrasen durch Auftragen eines Wassertropfens ermittelt.

Der Kontaktwinkel ist schematisch in Abb. 2 dargestellt und wurde nach der Gleichung von Young (Abb. 2, links oben) berechnet. Ein Kontaktwinkel größer als 90 ° gilt allgemein als hydrophob, bei Bakterien und deren Sporen bewegen sich die Werte des Wasserkontaktwinkels allerdings meist in einem Bereich zwischen 10 und 40 °.

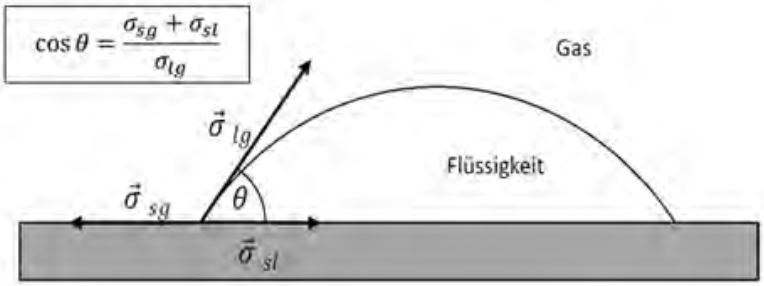


Abb. 2: Schematische Darstellung des Kontaktwinkels, Berechnung nach der Gleichung von Young

Um den Einfluss bereits bekannter Schutzfaktoren zu minimieren, wurde ein Mikroorganismenstamm ausgewählt, dessen Oberflächen-hydrophobizität durch variierende Anzuchtbedingungen gezielt beeinflusst werden kann. Zunächst wurde anhand des Sporenbildners *Bacillus subtilis* DSM 4181 der Einfluss von Temperatur sowie Anzuchtdauer untersucht. Die Anzucht erfolgte auf Agarplatten bei Temperaturen von 30 °C bzw. 37 °C für jeweils 2, 5 und 10 Tage. Zudem wurden Sporen von *Bacillus subtilis* im Submersverfahren für 2 Tage bei 37 °C angezüchtet, wobei die Besonderheit im konstant gehaltenen pH-Wert von 7,3, welcher ein pH-Optimum für diesen Mikroorganismus darstellt, liegt.

Abb. 3 stellt die Kontakt-winkel der verschieden in-kubierten bakteriellen Spo-ren dar. Der Kontaktwinkel der bei 30°C für 2 Tage angezüchteten Sporen be-trug 13,4 und stieg mit zunehmender Inkubations-zeit auf einen Wert von 17,9° bei 10 Tagen.

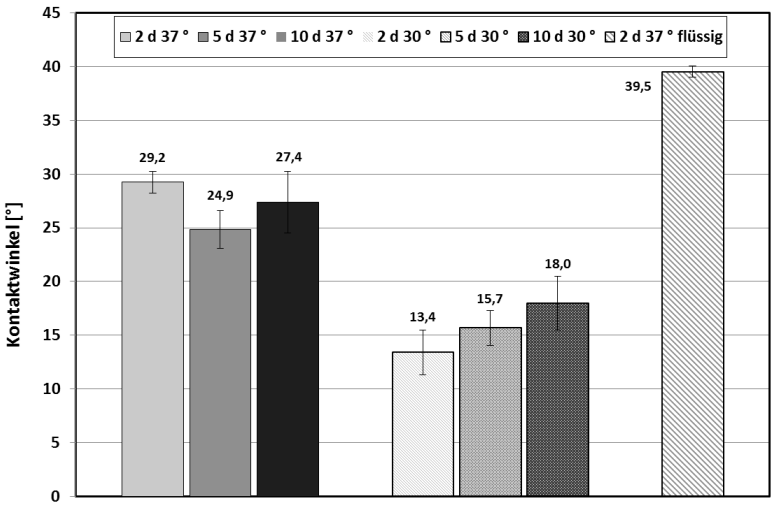


Abb. 3: Wasserkontaktwinkel von verschieden angezüchteten *Bacillus subtilis* Sporen

Eine ähnliche Tendenz war mit Ausnahme der 2-tägigen Anzucht auch bei einer Temperatur von 37 °C zu erkennen.

Die Kontaktwinkel bei der höheren Temperatur (37 °C) waren mit einem mittleren Kontaktwinkel von 27,2 im Vergleich zu den Werten bei 30 °C Anzuchttemperatur (mittlerer Kontaktwinkel 15,7) deutlich höher. Der Effekt der Anzuchtzeit ist vergleichsweise gering, hier kann zukünftig auf lange Anzuchtzeiten verzichtet werden.

Bei der Anzucht auf Agarplatten kann der vorherrschende pH-Wert nicht dauerhaft überprüft bzw. auf einen konstanten Wert eingestellt werden. Im Submersverfahren ist dies dagegen möglich. *Bacillus subtilis* Sporen, die für 2 Tage bei 37 °C bei einem konstanten pH-Wert von 7,3 fermentiert wurden, weisen einen Kontaktwinkel von 39,5 ° auf. Sie sind somit weitaus hydrophober als auf Agarplatten angezüchtete *Bacillus subtilis* Sporen. Somit konnte allein durch Variation der Inkubationsdauer und -temperatur eine Kontaktwinkelspanne von 13,4 ° bis 29,2 ° abgedeckt werden. Durch einen konstanten pH-Wert war es möglich, diese Spanne auf 39,5 ° zu erweitern. Somit kann eine Inaktivierung mit gasförmigem und kondensierendem Wasserstoffperoxid zur Untersuchung des Einflusses der Oberflächenhydrophobizität unter Verwendung eines einzigen Mikroorganismenstammes erfolgen.

Im weiteren Verlauf des Projektes soll der Einfluss des pH-Wertes untersucht werden. Das zeitlich naheliegende Forschungsziel ist eine genaue Kenntnis bezüglich der Inaktivierungskinetik dieser unterschiedlich hydrophoben Mikroorganismen mit gasförmigem und kondensierendem Wasserstoffperoxid.

Literatur:
Pruss, K.; Stirtzel, S.; Kulozik, U. (2012). Influence of the surface temperature of packaging specimens on the inactivation of Bacillus spores by means of gaseous H_2O_2. Journal of Applied Microbiology, 112 (3), 493 – 501.

Dank:
Das Forschungsvorhaben (AiF 17721 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.

Bestimmung der erforderlichen Schutzstoffkonzentration zur Trocknung von Starterkulturen mittels Fourier-Transform-Infrarot Spektroskopie

Measuring the required concentration of protectants for the drying of starter cultures by Fourier transform infrared spectroscopy

Malee Kallbach

Starterkulturen werden für den Transport und die Lagerung häufig getrocknet. Durch die Trocknung kommt es jedoch zu letalen strukturellen Veränderungen der Zellmembran. Um diese Änderungen zu vermeiden, werden Schutzstoffe eingesetzt. Bisher ist allerdings nur wenig über die Schutzmechanismen bekannt. In dieser Arbeit wurde eine neue Methode entwickelt, um die Interaktion von Schutzstoffen und den Biomolekülen in der Zellmembran zu untersuchen. Mittels der „Abgeschwächten Total Reflexion Fourier-Transform-Infrarot-(ATR-FT-IR)-Spektroskopie“ wird die Absorption von elektromagnetischer Strahlung im IR-Bereich durch eine Probe bestimmt. Dadurch können Rückschlüsse der Probenstruktur auf molekularer Ebene getroffen werden. Die ATR-FT-IR Spektros-kopie ist eine Oberflächen-messmethode und eignet sich daher besonders gut für feste bzw. getrocknete Proben.

Abb. 1 zeigt das Absorptionsspektrum einer getrockneten *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* Kultur.

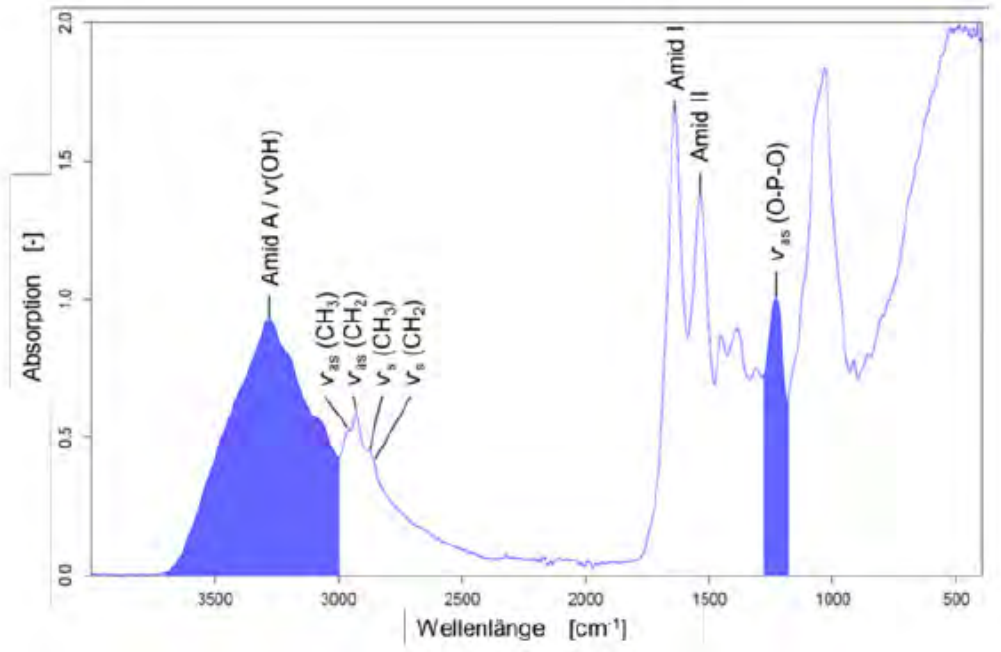


Abb. 1: ATR-FT-IR-Spektrum einer Vakuumgetrockneten *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* Kultur

Die entwickelte Methode beruht auf der Water Replacement Theorie. Um die Phospholipidköpfe der Zellmembran befindet sich eine Hydrathülle, die im Zuge der Trocknung entfernt wird. Die Theorie besagt, dass die Schutzstoffe nun an die Phospholipidköpfchen binden und dadurch strukturelle Änderungen der Zellmembran verhindern [1]. Mit der neu entwickelten ATR-FT-IR-Methode soll die Schutzstoffkonzentration ermittelt werden, die nötig ist, um alle Bindungsstellen an den Phospholipidköpfchen zu belegen.

Der Theorie nach binden die Schutzstoffe über Wasserstoffbrückenbindungen an die Phosphatgruppe der Phospholipide. Je mehr Moleküle an die Phospholipidköpfchen gebunden werden, desto geringer ist die Absorption der ν_{as}(O-P-O)-Schwingung, da diese im gebundenen Zustand nicht mehr frei schwingen kann.

Die Absorption der ν(OH)-Schwingung steigt hingegen, mit zunehmender Bildung von Wasserstoffbrückenbindung, an. Sind alle Bindungsstellen belegt, kann die Absorption der ν_{as}(O-P-O)-Bande durch die Erhöhung der Schutzstoffkonzentration nicht weiter gesenkt und die Absorption der ν (OH)-Bande nicht weiter gesteigert werden. Werden die Peakflächen ν_{as}(O-P-O) und ν (OH) zueinander ins Verhältnis gesetzt und über die Schutzstoffkonzentration aufgetragen, so kann für den sich ergebenden Plateaubereich die Schutzstoffmenge ermittelt werden, in der eine weitere Erhöhung keinen Effekt mehr auf die Membranstruktur hat. Dies ist die Konzentration, bei der alle Bindungsstellen an den Phospholipidköpfchen über Wasserstoffbrückenbindung mit Schutzstoff besetzt sind.

Abb. 2 zeigt den Einfluss der Sorbitolkonzentration auf das ν_{as}(O-P-O)/ ν(OH) Bandenverhältnis einer getrockneten *L. paracasei* ssp. *paracasei* Kultur, bei Stellflächentemperaturen (ϑ_{St}) von 15 und 35 °C in der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung.

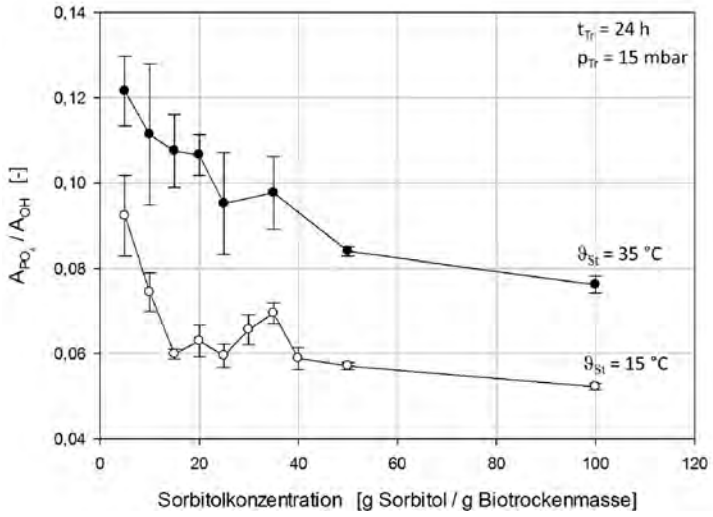


Abb. 2: Änderung des Bandenverhältnisses ν_{as} (P-O-P) zu ν(OH) mit Änderung der Stellflächentemperatur während der Trocknung

Die Messungen zeigen, dass mit Erhöhung der Stellflächentemperatur die einzusetzende Menge an Schutzstoff, die nötig ist, um ein möglichst geringes Bandenverhältnis von ν_{as}(O-P-O) zu ν (OH) zu erreichen, steigt.

Zur Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen werden Wassermoleküle benötigt. Bei einer niedrigen Stellflächentemperatur von 15 °C erfolgt der Wasserentzug lang-sam, dadurch stehen die Wassermoleküle für Reaktionen länger zur Verfügung und die Zeit, in der die Schutzstoffmoleküle mit den Phospholipidköpfchen reagieren können, verlängert sich.

Mit Erhöhung der Stellflächentemperatur von 15 auf 35 °C muss die Sorbitolkonzentration von ca. 15 auf über 50 $g_{Sorbitol}/g_{Biotrockenmasse}$ erhöht werden, um zu erreichen, dass alle Bindungsstellen der Phospholipidköpfchen besetzt sind. Dies ergibt sich aus dem schnelleren Wasserentzug und der damit verkürzten Reaktionszeit.

Die einzusetzenden Schutzstoffkonzentrationen wurden bisher meist mittels der Überlebensrate bestimmt. Dies ist jedoch ein zeitintensives Verfahren, weshalb die optimale Schutzstoffkonzentration für einen Keim bei einem Trocknungsverfahren nur einmal bestimmt und diese dann für verschiedene Trocknungsparameter immer gleich gehalten wird. Die Ergebnisse der ATR-FTIR-Messungen zeigen aber eindeutig, dass auch für eine Änderung der Prozessparameter eine Anpassung der Schutzstoffkonzentration unabdingbar ist. Mit dieser neuen Unter-

suchungsmethode kann mit geringem Zeitaufwand die Schutzstoffkonzentration für verschiedene Keime und Trocknungsparameter gefunden werden, die nötig ist, um alle freien Bindungsstellen mit dem Schutzstoff zu belegen. Der Einsatz an Schutzstoffen kann so minimiert und individuell an den Trocknungsprozess sowie den zu trocknenden Keim angepasst werden.

In weiterführenden Arbeiten soll geprüft werden, ob eine Erhöhung über die erforderliche Schutzstoffkonzentration weitere positive Effekte auf das Überleben der Kultur während der Trocknung hat. Zudem soll die Übertragbarkeit der Methode auf weitere Trocknungsverfahren untersucht werden.

Literatur:
[1] Santivarangkna, C.; Kulozik, U.; Foerst, P. (2008): Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. In: Journal of Applied Microbiology 105 (1), S. 1–13

Dank:
Dieses Projekt wird aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) gefördert. Die Projektträgerschaft erfolgt über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen zur Innovationsförderung; FKZ: 2817400111

Einfluss des Trockenmassegehaltes von Umkehrosmose-Molkenkonzentraten auf mikrobielle Qualitätskriterien

Influence of dry matter content by reverse osmosis whey concentrates on microbial quality criteria

Melanie Marx

Die Sprühtrocknung ist heutzutage noch immer die Methode der Wahl, um Molke in eine lagerfähige Form zu bringen. Allerdings ist diese Technologie aufgrund ihres hohen Energieverbrauchs sowohl aus ökonomischer als auch aus ökologischer Sicht kritisch zu betrachten. Deshalb werden Methoden zur Herstellung von haltbaren, flüssigen Molkenkonzentraten mit hohen Trockenmassen unter Verwendung energieeffizienter Technologien, wie der Membranfiltration, untersucht. Molkenkonzentrate können jedoch nur als sichere Lebensmittelinhaltsstoffe dienen, wenn eine hinreichende mikrobielle Stabilität während Transport und Lagerung gewährleistet ist. Es ist notwendig, Kenntnisse über den Einfluss des signifikant erhöhten Trockenmassegehaltes auf den Effekt der thermischen Behandlung, besonders einer UHT-Behandlung, von konzentrierter Molke zu erlangen.

Ziel der Untersuchung war es deshalb, den Einfluss des erhöhten Trockenmassegehaltes von Molkenkonzentraten auf den Effekt der thermischen Behandlung zu bestimmen.

Als Beurteilungskriterium diente hierbei die Inaktivierung von *Bacillus subtilis*-Sporen. Konzentrate mit definierten Trockenmassen (12 %, 18 %, 24 %) sowie Molke wurden hierfür mit *Bacillus subtilis*-Sporenkonzentrat gezielt auf eine Konzentration von 10^6 – 10^7 Sporen/mL verkeimt. Anschließend wurden die Molke bzw. die Molkenkonzentrate bei unterschiedlichen Temperaturen (75 °C, 90 °C, 125 °C, 140 °C) und Heißhaltezeiten (5 – 30 s) erhitzt.

In Abb. 1 ist zunächst die Sporeninaktivierung in Molke unter verschiedenen Erhitzungsbedingungen dargestellt.

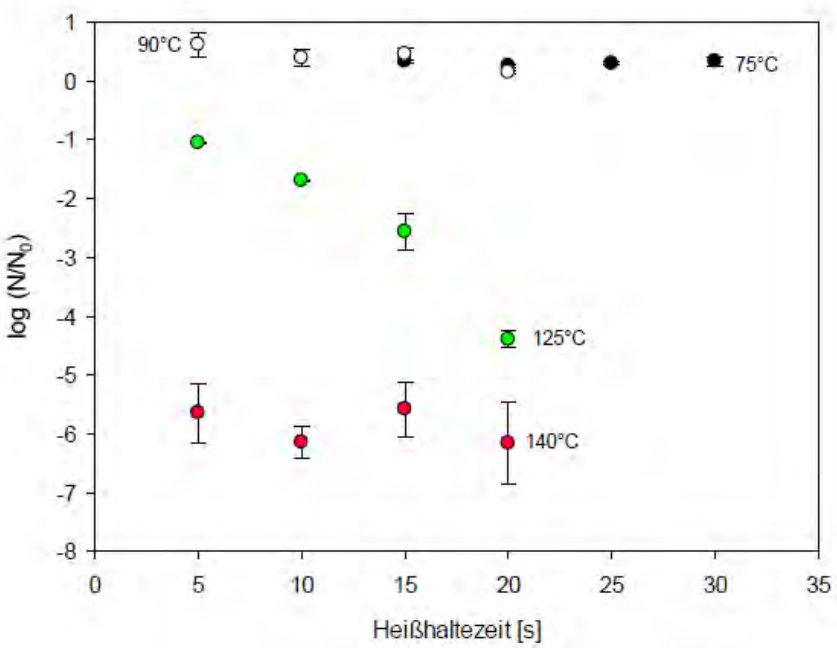


Abb. 1: Sporeninaktivierung in Molke bei unterschiedlichen Temperaturen (75°C, 90°C, 125°C, 140°C) und Heißhaltezeiten (5-30 s)

Anhand von Abb. 2 wird deutlich, dass die Inaktivierung der *Bacillus subtilis*-Sporen in Molke stark von der Erhitzungstemperatur abhängt. Bei Erhitzungstemperaturen von 75 °C bzw. 90 °C und Heißhaltezeiten von maximal 30 s kann noch keine Inaktivierung der Sporen festgestellt werden. Stattdessen werden die Sporen durch diese milden Erhitzungsbedingungen hitzeaktiviert und zeigen daher ein verstärktes Wachstum.

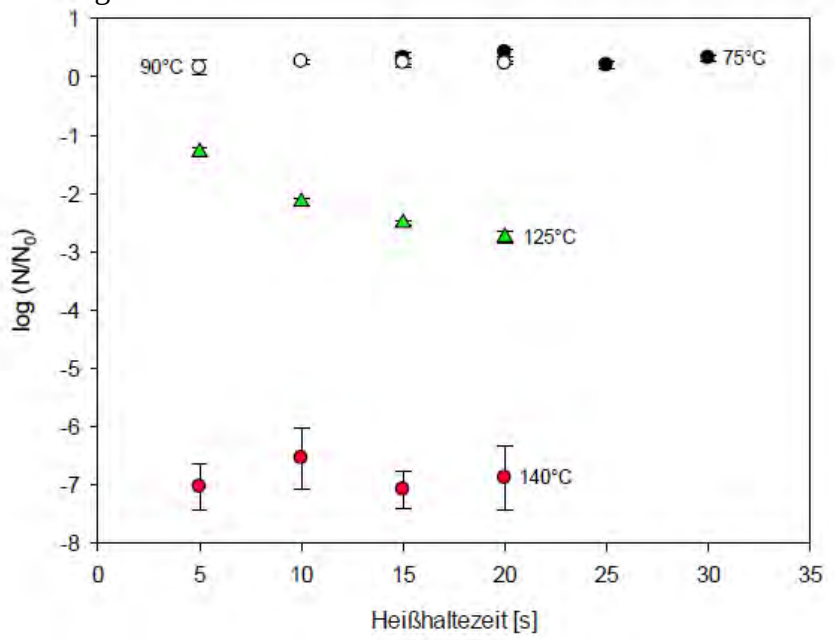


Abb. 2: Sporeninaktivierung in Molkenkonzentrat mit einem Trockenmassegehalt von 12 % bei unterschiedlichen Temperaturen (75 °C, 90 °C, 125 °C, 140 °C) und Heißhaltezeiten (5-30 s)

Unter Ultrahocherhitzungsbedingungen (140 °C, 5 -20 s) kann bereits nach einer Heißhaltezeit von 5 s eine nahezu vollständige Abtötung der Sporen um etwa 6 log-Einheiten erzielt werden. Bei einer Erhitzungstemperatur von 125 °C zeigt sich dagegen eine starke Abhängigkeit der Sporeninaktivierung von der Heißhaltezeit.

Die Reduzierung der Sporenzahl liegt nach 5 s Heiß-haltezeit bei einer Zehnerpotenz und steigt nach 20 s Heißhaltezeit auf 4,5 log-Einheiten an.

Somit führt eine Verlängerung der Heißhaltezeit bei 125 °C in Molke zu einer deutlichen Steigerung der Sporeninaktivierung. Die Abtötung der Sporen in mittels Umkehrosmose hergestelltem Molkenkonzentrat mit einem Trockenmassegehalt von 12 % stellt Abb. 3 dar.

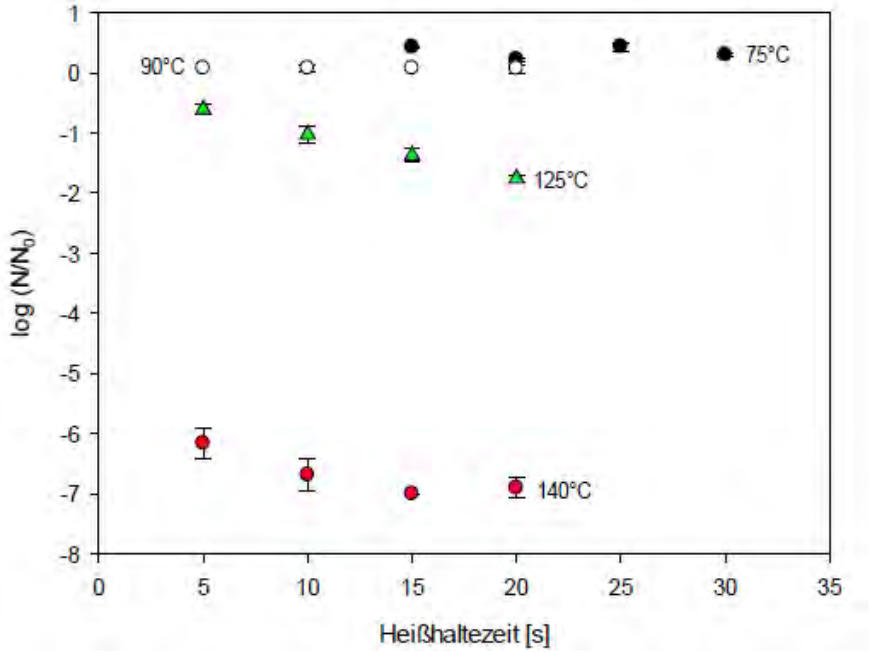


Abb. 3: Sporeninaktivierung in Molkenkonzentrat mit einem Trockenmassegehalt von 24 % bei unterschiedlichen Temperaturen (75 °C, 90 °C, 125 °C, 140 °C) und Heißhaltezeiten (5-30 s)

Es konnte gezeigt werden, dass der von 6 % auf 12 % erhöhte Trockenmassegehalt des Molkenkonzentrates einen Einfluss auf die Hitzeresistenz der Sporen ausübt. Deutlich wird dies vor allem bei der Erhitzungstemperatur von 125°C nach 20 s Heißhaltezeit. Hier liegt die Inaktivierung der Sporen bei knapp 3 log-Einheiten, was eine im Vergleich zur Molke um 2 log-Einheiten geringere Abtötung bedeutet.

Bei 75 °C, 90 °C sowie 140 °C sind dagegen keine signifikanten Veränderungen bezüglich der Hitzeresistenz der Sporen erkennbar.

Es konnte gezeigt werden, dass der von 6 % auf 12 % erhöhte Trockenmassegehalt des Molkenkonzentrates einen Einfluss auf die Hitzeresistenz der Sporen ausübt. Deutlich wird dies vor allem bei der Erhitzungstemperatur von 125°C nach 20 s Heißhaltezeit. Hier liegt die Inaktivierung der Sporen bei knapp 3 log-Einheiten, was eine im Vergleich zur Molke um 2 log-Einheiten geringere Abtötung bedeutet. Bei 75 °C, 90 °C sowie 140 °C sind dagegen keine signifikanten Veränderungen bezüglich der Hitzeresistenz der Sporen erkennbar.

Wie Abb. 3 verdeutlicht, nimmt die Hitzeresistenz der Sporen bei 125 °C in stärker konzentrierter Molke mit einem Trockenmassegehalt von 24 % noch weiter zu.

Hier liegt die Abtötung der Sporen nach 5 s Heißhaltezeit bei 125 °C bei knapp einer Zehnerpotenz und wird nach 20 s Heißhaltezeit auf lediglich 2 log-Einheiten gesteigert. Verglichen mit Molke sind bei der thermischen Behandlung von Molkenkonzentrat im Temperaturbereich der ESL-Erhitzung somit starke Einbußen bezüglich der Inaktivierung bakterieller Sporen zu verzeichnen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass konzentrierte Molke hinsichtlich des Absterbeverhaltens von Mikroorganismen während der Prozessierung nicht mit Molke vergleichbar ist. Auf Basis der erhaltenen Ergebnisse sollen Erhitzungsbedingungen definiert werden, die lagerfähige und sichere Produkte liefern.

Dank:
Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV). Die Projektträgerschaft erfolgt über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung FKZ: 2817400511 BLE/GZ: 313-06.01-28-1-74.005-11

Einfluss von Prozess- und Produktparametern auf die Überlebensrate von Probiotika bei der Mikroverkapselung mittels Sprühtrocknung im Pilotmaßstab

Influence of process- and product parameters on the viability of probiotics during spray drying in pilot scale

Rebecca Würth

Eine häufig diskutierte Strategie zum Schutz sensitiver Inhaltstoffe ist die Mikroverkapselung. Dabei erfolgt die Immobilisierung des sensitiven Stoffes, z. B. Probiotika in einer Kapsel oder Matrix. Als Verkapselungsmaterial werden für den Einsatz im Lebensmittel meist Biopolymere eingesetzt. Dabei ist die Sprühtrocknung eine Methode, bei der ein Scale-up leicht zu realisieren ist und die Ergebnisse in den unterschiedlichen Maßstäben sehr gut vergleichbar sind. Eine Schwäche dieses Verfahrens zur Verkapselung war jedoch bisher, dass meist wasserlösliche Kapseln durch die Sprühtrocknung erzeugt worden sind. Dieses Verfahren auf Basis der klassischen Labgelbildung ermöglicht hingegen die Herstellung wasserunlöslicher Milchproteinkapseln. Es wurde bereits bei Würth et al. (2012, 2013) eingehend beschrieben.

In der hier vorliegenden Arbeit war es Ziel, den Einfluss von Produkt- und Prozessparametern bei der Herstellung der Mikrokapseln im Pilotmaßstab (max. Verdampferleistung 20 kg H_2O/h) auf die Überlebensrate der probiotischen Bakterien zu charakterisieren. Für alle Versuche wurden die Trocknungstemperaturen 125 °C am Eingang und 60 °C am Ausgang gewählt, da sich diese Bedingungen aus den Vorversuchen im Labormaßstab (1 kg H_2O/h) als sehr schonend gezeigt haben. Außerdem kann gewährleistet werden, dass auch bei sehr niedriger Trockenmassekonzentration in der Feedlösung noch eine ausreichende Lagerstabilität erzeugt werden kann.

Die Ergebnisse zu den verschiedenen Feedtrockenmassekonzentrationen sind in Abb. 1 zusammen mit dem resultierenden Restwassergehalt der Pulver nach der Trocknung dargestellt. Es zeigte sich, dass die Überlebensrate mit steigender Trockenmasse von 12,5 auf 25,0 % von 12,3 auf 6,2 % sinkt.

Der Restwassergehalt sinkt ebenfalls von 6,3 auf 6,0 %. Dieses Verhalten lässt sich damit erklären, dass bei geringerer Trockenmasse mehr Wasser verfügbar ist und somit die Kühlgrenztemperatur länger aufrechterhalten wird. Daraus resultieren für die niedrigen Trockenmassen länger niedrigere Produkttemperaturen, was sich positiv auf die Überlebensrate auswirkt.

Die Unterschiede in der Überlebensrate in Abhängigkeit der Trockenmasse sind jedoch weniger stark ausgeprägt als im Labormaßstab (Würth et al., 2012), da die Verweilzeit im Pilotsprühtrockner höher ist und daher die thermische Beanspruchung auf die Mikroorganismen verstärkt wird. Dieses unterschiedliche Verweilzeitverhalten wurde von Schmitz et al. (2013) an den hier eingesetzten Trocknern bestimmt. Im kleinen Maßstab dauert es ca. 220 s bis alle Partikel den Turm verlassen haben, im Pilotmaßstab dagegen 20 min.

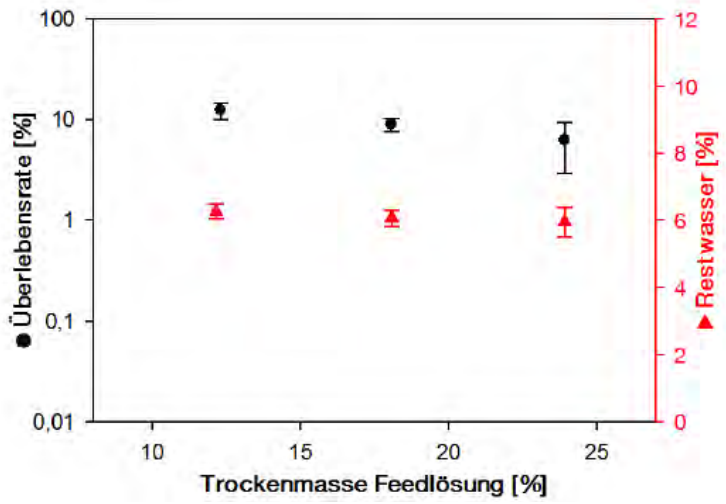


Abb. 1: Einfluss der Feed-Trockenmassekonzentration bei der Trocknung im Pilotmaßstab auf die Überlebensrate und den Restwasserge-halt bei Nutzung des Rotationszerstäubers (15 000 rpm)

Zusätzlich wurde der Einfluss der Düsengeometrie auf die Überlebensrate nach der Trocknung bei konstanter Feedtrockenmasse (18,8 % TM) untersucht. Es gab drei verschiedene Möglichkeiten, wie diese durch Einsatz unterschiedlicher Abstandshalter verändert werden konnte, was sich direkt auf das Tropfenaufbruchskriterium auswirkt. Beim Einsatz des dünnen Spacertyps erfolgte das Zusammentreffen von Druckluft und Feedvolumenstrom außerhalb der Düse, beim mittleren direkt am Düsenausgang und beim Einsatz des dicken innerhalb der Düse. Die zugehörigen Überlebensraten sind in der Abb. 2 dargestellt.

Es zeigte sich, dass bei einem Aufeinandertreffen von Zerstäubergas und Feed direkt am Düsenausgang die Überlebensrate signifikant am höchsten ist. In diesem Fall war zudem der Restwassergehalt am geringsten. Zwischen innerer und äußerer Mischung war kein signifikanter Unterschied sowohl in der Überlebensrate als auch im Restwassergehalt zu erkennen. Zusätzlich ist zu erwähnen, dass die Düsenkonfiguration keinen Einfluss auf die Partikelgröße des entstehenden Kapselpulvers hat (Ergebnisse nicht gezeigt), was somit als mögliche Erklärung für das unterschiedliche Verhalten ausgeschlossen werden kann.

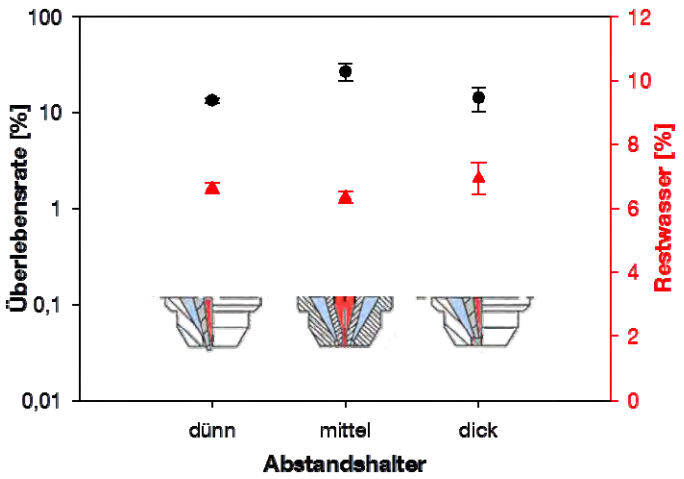
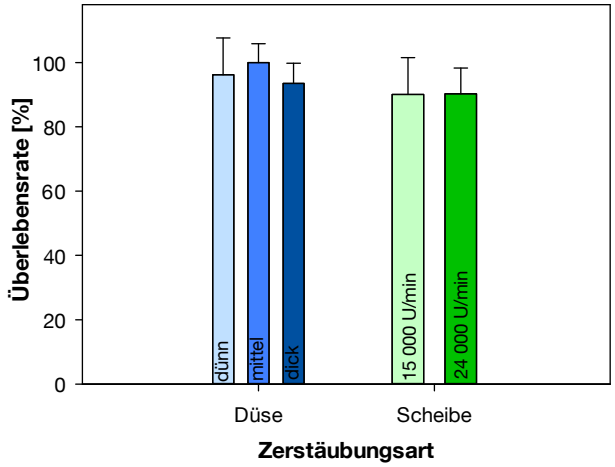


Abb. 2: Einfluss der Düsenkonfiguration bei der Trocknung im Pilotmaßstab auf die Überlebensrate und den Restwassergehalt

In der Literatur wird im Kontext der Sprühtrocknung häufig beschrieben, dass die reine Zerstäubung während der Sprühtrocknung den größten Einfluss auf die Reduktion der Überlebensrate von anaeroben Bakterien hat.

In Abb. 3 sind die Überlebensraten des *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* F19 nach der Zerstäubung für Rotations- und Düsenzerstäubung gezeigt. Für die Zerstäubung mit unterschiedlichen Einstellungen konn-te bei Raumtemperatur kein signifikanter Unterschied bei beiden Zerstäubungsarten in der Überlebensrate gefunden werden.



Insgesamt wurde ein maximaler Verlust von 10 % detektiert. Diese Ergebnisse zeigen, dass die thermische Beanspruchung beim Sprühtrocknungsprozess die Gesamtüberlebensrate dominiert.

Abb. 3: Einfluss der Zerstäubung auf die Überlebensrate ohne Temperatureinfluss

Literatur:
Würth, R.; Stier, S.; Först, P. (2012): Mikroverkapselung von Probiotika in Milchproteinmatrices mittels Sprühtrocknung. Jahresbericht zur Milchwissenschaftlichen Forschung am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Weihenstephan 2011, ISBN 973-3-939182-43-6
Würth, R.; Först, P. (2013): Mikroverkapselung von Probiotika mittels Sprühtrocknung. Jahresbericht zur Milchwissenschaftlichen Forschung am Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Weihenstephan 2012, ISBN 978-3-939182-52-8
Schmitz-Schug, I.; Foerst, P.; Kulozik, U. (2013): Impact of the spray drying conditions and residence time distribution on lysine loss in spray dried infant formula. Dairy Science and Technology. 93, S.443–462

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

Einfluss des pH-Werts auf die Struktur von mizellarem Kasein und dessen schaumbildende Eigenschaften

Impact of pH on the structure of casein micelles and implications on foam formation

Jannika Dombrowski, Johannes Dechau

Aufgrund ihrer ausgeprägten Grenzflächenaktivität werden Milchproteine häufig zur Strukturbildung und -stabilisierung in geschäumten Lebensmitteln eingesetzt. Bisher lag der Fokus vor allem auf der Charakterisierung des Verhaltens von Molkenproteinen. Allerdings sind auch Kaseinmizellen trotz ihrer Größe (d = 120 nm) in der Lage, zur Luft/Wasser-Grenzfläche zu diffundieren und dort zu adsorbieren. Aus der Literatur ist bekannt, dass es sich bei Kaseinmizellen um dynamische Strukturen mit einem hohen Wasseranteil handelt. Bezogen auf ihre Trockenmasse liegt der Proteingehalt bei etwa 94 % und verteilt sich auf vier verschiedene Monomere, die sich im Hinblick auf ihre Primärstruktur sowie die Art und den

Grad an posttranslationellen Modifikationen unterscheiden. Neben den einzelnen Proteinfraktionen (α_{S1}-, α_{S2}-, β- und κ-Kasein) spielt auch kolloidales Kalziumphosphat eine entscheidende Rolle bei der Bildung der mizellaren Struktur, welche vornehmlich über hydrophobe sowie elektrostatische Wechselwirkungen stabilisiert ist. Aus diesem Grund kann durch Variation des pH-Werts und/oder der Temperatur eine signifikante strukturelle Veränderung ausgelöst werden. Hieraus resultiert, dass sich bezüglich der Grenzflächenbesetzung Unterschiede ergeben, die sich in den gebildeten Schaumstrukturen widerspiegeln.

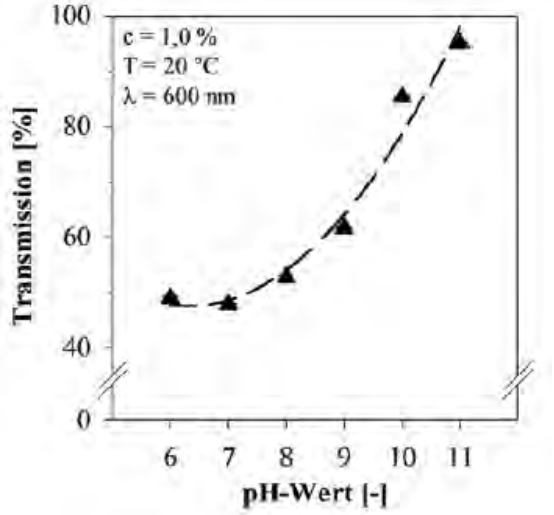


Abb. 1: Transmission von Kaseinlösungen in Abhängigkeit des pH-Werte

Da die Trübung einer Lösung einen ersten Hinweis auf strukturelle Modifikationen sowie veränderte Protein-Protein-Wechselwirkungen geben kann, wurden 1 %ige Kaseinlösungen mit pH-Werten zwischen 6,0 und 11,0 hergestellt und deren Transmission mittels Photometer bestimmt. Die Ergebnisse der Trübungsmessung, welche in Abb. 1 dargestellt sind, zeigten eine signifikante Änderung der Transmission in Abhängigkeit des pH-Wertes. Während die Lösungen im Bereich von pH 6 bis 8 weiß erschienen, nahm die Trübung mit steigendem pH-Wert stetig ab. Bei pH 11 wurde eine Transmission von nahezu 100 % erreicht. Die Abnahme der Trübung mit zunehmender Alkalisierung lässt eine wesentliche strukturelle Veränderung des Kaseins erkennen, da die Mizellen hauptverantwortlich für die Streuung des Lichts und somit die Farbe der Proteinlösung sind. Die Tatsache, dass die Proben bei pH 11 vollständig klar erschienen, deutet auf eine Dissoziation der Kaseinmizellen hin. Um den strukturellen Zustand der Kaseine als Funktion des pH-Wertes noch genauer zu charakterisieren, wurde zudem eine Ultrazentrifugation der Lösungen bei 70.000 g für 65 min (T = 20 °C) durchgeführt. Dadurch können intakte Kaseinmizellen, aufgrund ihrer Größe und ihres Molekulargewichts vom Serumkasein getrennt werden, welches im Überstand verbleibt. Anschließend wurde mittels RP-HPLC der Gehalt an Kasein im Pellet bestimmt und zum Gesamtkaseingehalt der Ausgangslösung ins Verhältnis gesetzt. Die Ergebnisse hierzu sind in Tab. 1 dargestellt. Es konnte gezeigt werden, dass der Anteil an sedimentiertem Kasein für pH 6 bis 9 relativ konstant bei etwa 90 % lag. Eine Erhöhung des pH auf Werte oberhalb von 9 resultierte in einer signifikanten Reduktion sowohl der Pelletgröße als auch der Kaseinkonzentration. Für pH 11 konnte der Kaseingehalt nicht bestimmt werden, da während der Ultrazentrifugation kein Sediment mehr gebildet wurde und demnach keine intakte Kaseinmizellstruktur, sondern ausschließlich freies Serumkasein vorhanden war.

Tabelle 1: Anteil an Kasein im Pellet im Verhältnis zum Gesamtkaseingehalt der Ausgangslösung vor der Ultrazentrifugation in Abhängigkeit des pH-Wertes (*n. b. = nicht bestimmbar)

pH-Wert	Anteil des Pellets am Gesamtkaseingehalt [%]
6,0	88,6
7,0	91,6
8,0	91,0
9,0	80,0
10,0	9,1
11,0	n. b.*

Insgesamt zeigen diese Ergebnisse, dass es in Abhängigkeit des pH-Wertes zu wesentlichen Veränderungen der mizellaren Struktur kommt. Vor allem in einem pH-Bereich oberhalb von 9 führt die steigende negative Nettoladung der Kaseine in Kombination mit einer Demineralisierung durch Änderung des Ionisierungszustandes des anorganischen Phosphats zur Dissoziation der Mizellstruktur. Aus diesen Beobachtungen resultierte die Frage, ob und welchen Einfluss solche strukturellen Veränderungen und speziell die Desintegration der Mizelle auf die Schäumungseigenschaften von Kasein haben. Zur Charakterisierung des Schäumungsverhaltens wurden die oben genannten Kaseinlösungen durch eine Glasfritte (Porosität 9-16 µm) für 30 s mit Druckluft beaufschlagt und anschließend der Zerfall der gebildeten Schäume für einen Zeitraum von 30 min beobachtet. Die Schaumbildung lässt sich anhand der Schäumbarkeit beschreiben. Dieser Parameter bezieht sich auf das gebildete Volumen an Schaum im Verhältnis zum Ausgangsvolumen an Proteinlösung innerhalb einer definierten Aufschäumzeit und ist damit ein Maß für die Geschwindigkeit der Grenzflächenbesetzung. Hierbei wird vermutet, dass je kleiner die Proteinstrukturen sind, desto schneller können sie eine neugebildete Grenzfläche besetzen. Wie Abb. 2 zeigt, kam es in Abhängigkeit des pH-Wertes, vor allem oberhalb von pH 8, zu einem signifikanten Anstieg der Schäumbarkeit. Für pH 6 bis 8 lag die Volumenzunahme relativ konstant bei etwa 100 %. Mit steigendem pH wurden Werte zwischen 120 % (pH 9) und 133 % (pH 11) erreicht.

Dieses Verhalten korreliert mit den Ergebnissen zur pH-abhängigen Strukturveränderung. Wie die Ultrazentrifugation gezeigt hat, stieg vor allem ab pH 9 der Anteil an freiem Serumkasein. Dies bedeutet, dass zunehmend mehr Kaseinfraktionen die Mizellstruktur verlassen und stattdessen in Form kleinerer Molekülverbände oder auch als Einzelmoleküle in der Lösung vorliegen. Aufgrund der höheren molekularen Beweglichkeit der Monomere wird die Schaumbildung begünstigt. Zusammen-fassend lässt sich festhalten, dass die Bildung von Kaseinschäumen vom strukturellen Zustand der Kaseine abhängt bzw. der Anteil an freiem Serumkasein im Hinblick auf die Grenzflächenbesetzung eine wichtige Rolle spielt.

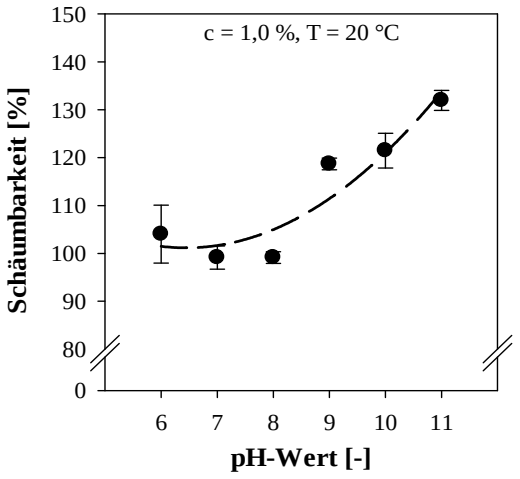


Abb. 2: Einfluss des pH-Werts auf die Schäumbarkeit von Kaseinlösungen

Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen die Aufklärung von Struktur-Funktions-Beziehungen ermöglichen, da die Kenntnis solcher Zusammenhänge einen wesentlichen Beitrag zu einer gezielten und reproduzierbaren Gestaltung von Schaumstrukturen liefert.

Dank:

Das Forschungsvorhaben (AiF 17124 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.

Fraktionierung von hoch- und niedermolekularen Milchproteinen mittels Membrantrenntechnik zur Gewinnung eines biologisch aktiven Molkenproteinkonzentrats

Fractionation of high- and low molecular milk proteins using membrane separation technique to obtain a bioactive whey protein concentrate

Hans-Jürgen Heidebrecht, José Toro-Sierra, Mirjana Stulac

Diverse aktuelle Studien belegen, dass die Verwendung von bovinen Immunglobulinen (Ig) eine vielversprechende Behandlungsalternative gegen bestimmte humane Krankheitserreger ist (van Dissel, 2005). Für einen solchen Einsatz ist es notwendig, die minore und sensitive Immunglobulinfraktion (ca. 0,06 w/w in Rohmilch) unter Erhalt der funktionellen Eigenschaften anzureichern. Die Kombination aus Mikrofiltration und Ultrafiltration (MF-UF) ist dabei eine aussichtsreiche Prozessvariante, die eine schonende und effektive Aufkonzentrierung der Igs bei Entfernung von Casein und Laktose ermöglicht. Durch eine zielgerichtete Immunisierung der Kühe wird der Gehalt an spezifischen Antikörpern bereits im Vorfeld soweit erhöht, dass eine weitere Aufreinigung des Molkenproteinkonzentrats nicht nötig ist. Bei dieser Betriebsweise stellt die Mikrofiltration den limitierenden Faktor bei der selektiven Gewinnung der Igs dar. Die Herausforderung besteht darin, eine möglichst vollständige Retention der Caseinfraktion bei gleichzeitig möglichst hohem Ig Massenstrom zu erreichen. Eine exakte Vorhersagbarkeit des Ig Massenstroms allein durch den Vergleich der Porengröße der Membran und der Molekülgröße ist (u.a. durch zeitabhängiges Fouling, unterschiedliche Prozessparametern und Modulkonzeptionen, dreidimensionale Molekülstruktur…) nicht gegeben.

Mit dem Ziel der Prozessoptimierung wurden deswegen keramische Membranen mit Porengrößen zwischen 0,14 – 0,8 µm hinsichtlich der Permeation von Casein und der dominanten Immunglobulinklasse G (IgG) für die Filtration von magerer Rohmilch (<0,1% Fett) untersucht. Die Versuche wurden mit einer Einkanal-Pilotanlage durchgeführt und Permeat- und Retentatproben mittels HPLC analysiert. Abb. 1 zeigt die Permeation von IgG, β-Lactoglobulin (β-Lg) und Casein sowie den Flux als Funktion der Porengröße. Die Membranen mit einer nominellen Trenngrenze von 0,45 und 0,8 µm weisen eine IgG Permeation von über 70% auf, sind aber aufgrund der Caseinpermeation von mehr als 60% ungeeignet.

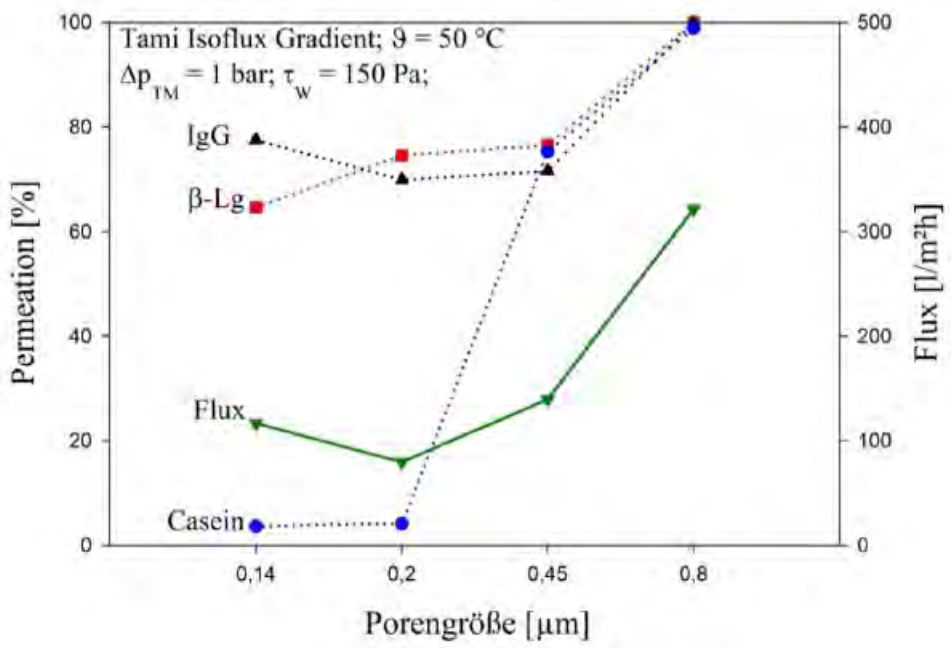


Abb. 1: Flux (−) sowie Immunglobulin-, β-Lactoglobulin- und Caseinperrmeation (···) als Funktion der Porengröße

Im Gegensatz dazu wurde bei den Membranen mit den Porengrößen 0,14 und 0,2 µm eine Caseinpermeation unter 1 % bei gleichzeitiger IgG Permeation > 60 % festgestellt. Beide Membranen sind also für die Fraktionierung von IgG und Casein einsetzbar, wobei die 0,14 µm Membran einen 30 % höheren Flux gegenüber der 0,2 µm aufweist. Das ist darauf zurückzuführen, dass es bei der 0,2 µm Membran vermehrt zu Porenverblockung durch die Caseinmicellen kommt. Der Partikeldurchmesser der Caseinmicelle variiert zwischen 50 nm und 400 nm mit einem Maximum der Partikelgrößenverteilung bei 200 nm. Das bedeutet, dass der Hauptteil des Caseins im Größenbereich der nominellen Trenngrenze der Membran liegt und so den Flux durch äußere Porenverblockung herabsetzt. Zukünftige Untersuchungen sollten darüber hinaus klären, warum IgG (ca. 160 kDa) eine ähnliche Permeation wie das Hauptmolkenprotein β-Lg (18 kDa) aufweist, obwohl es um ein Vielfaches größer ist.

Basierend auf diesen Ergebnissen wurden kontinuierliche MF-UF Diafiltrationsversuche im Pilotmaßstab (300 Liter) durchgeführt, um eine Molkenprotein- bzw. Immunoglobulinreiche Fraktion der Milch als MF-Permeat zu gewinnen und diese im Anschluss in der UF aufzukonzentrieren.

In Abb. 2 ist die Zunahme der Casein-, β-Lg- und IgG- Konzentration im UF-Retentat bezogen auf die Ausgangskonzentration bei der Diafiltration dargestellt. Nach fünf Diafiltrationsschritten ist über 70 % der IgG und β-Lg Fraktion im UF-Retentat während Casein vollständig im MF-Retentat zurückgehalten wird. Die Ergebnisse zeigen, dass die Kombination von MF und UF eine Möglichkeit eröffnet, Ig-reiche Molkenproteinkonzentrate im industriellen Maßstab herzustellen.

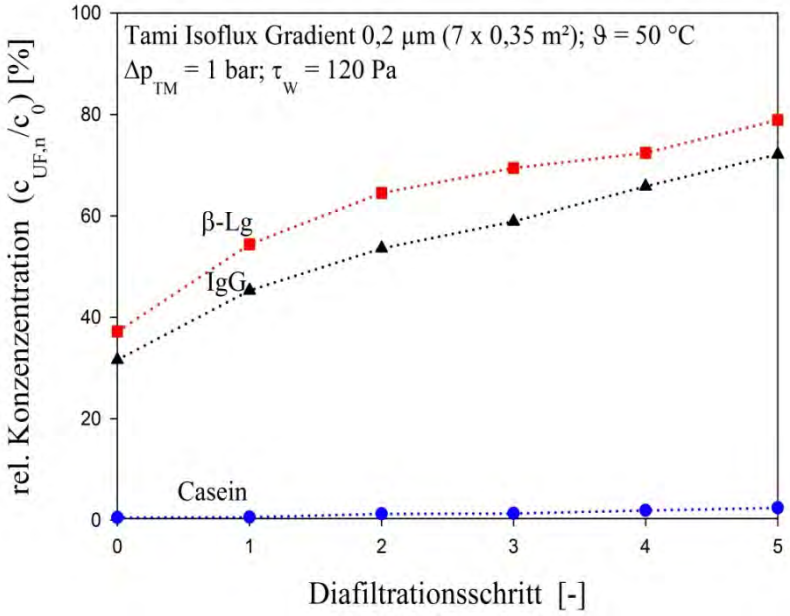


Abb. 2: Konzentration von Casein, IgG und β-Lg im UF-Retentat bezogen auf die Ausgangskonzentration als Funktion der Diafiltrationsschritte

Literatur:
van Dissel, J. T. (2005): Bovine antibody-enriched whey to aid in the prevention of a relapse of Clostridium difficile-associated diarrhoea: preclinical and preliminary clinical data. In: *Journal of Medical Microbiology* 54 (2), S. 197–205

Labinduzierte Gelbildung von Buttermilch als erster Schritt zur Isolierung von Milchfettkugelmembran-Material

Rennet induced gelation of buttermilk as a first step to isolate MFGM material

Wolfgang Holzmüller, Anna Griebel

Buttermilch fällt in großen Mengen bei der Butterherstellung an und ist reich an Milchfettkugelmembran-(MFKM-) Material. Die Hauptbestandteile der MFKM sind Phospholipide und Proteine (siehe Abb. 1), welche sowohl ein technofunktionelles als auch physiologisches Potential besitzen. Bezogen auf die Trockenmasse macht die MFKM aber nur 2-6 % in der Buttermilch aus, weshalb eine Isolierung der MFKM für nachfolgende, gezielte Anwendungen nötig ist. Mittels Diafiltration können Molkenproteine (3-6 nm) von den MFKM-Fragmenten (0,1-3 µm) in der Buttermilch abgetrennt werden. Der Größenbereich von Caseinmizellen (50-500 nm) überschneidet sich jedoch mit den MFKM-Bruchstücken, weshalb eine Vorbehandlung der Buttermilch notwendig ist.

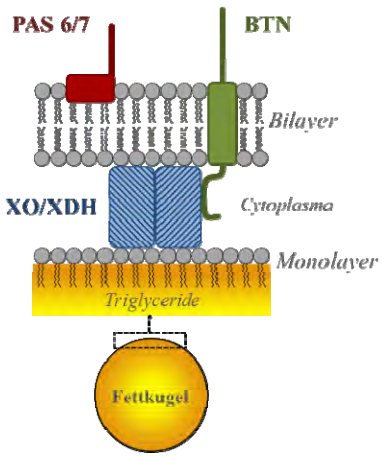
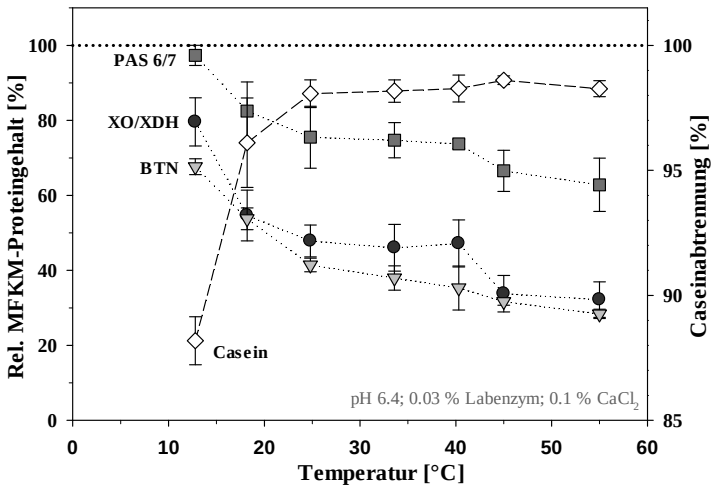


Abb.1: Schematische Darstellung einer MFKM

Durch eine labinduzierte Gelbildung können die Caseine vollständig aus der Buttermilch entfernt werden. Das MFKM-Material verbleibt neben den Molkenproteinen in einer sogenannten Buttermilch-Molke, welche anschließend abfiltriert werden können. Vorversuche bei Standardbedingungen einer klassischen Käseherstellung haben gezeigt, dass durch die Gelbildung relativ hohe Verluste an MFKM-Proteinen auftreten. Insbesondere das integrale Butyrophilin (BTN) und die Xanthinoxidase/-dehydrogenase (XO/XDH) sind davon verstärkt

betroffen. Da die Aggregation der Caseinmizellen und somit die resultierende Gelstruktur von der Temperatur und dem pH-Wert abhängig sind, galt es zu untersuchen, ob sich der Verlust an MFKM-Material bei gleichzeitig vollständiger Caseinabtrennung durch Variation dieser beiden Parameter minimieren lässt. Die Buttermilch wurde bei niedrigen Temperaturen (< 10 °C) über Nacht eingelabt, um eine vollständige Hydrolyse des κ-Caseins zu gewährleisten. Die Caseinaggregation erfolgte anschließend durch eine gezielte Temperaturerhöhung (bei unterschiedlichen pH-Werten), da durch die Abspaltung des CMP die sterische und elektrostatische Repulsion der Caseinmizellen soweit reduziert ist, dass hydrophobe Wechselwirkungen überwiegen und ein Gel ausgebildet wird.

In Abb. 2 ist der Einfluss der Temperatur auf den relativen MFKM-Proteingehalt in der Buttermilch-Molke (im Vergleich zur unbehandelten Buttermilch) sowie die Caseinabtrennung dargestellt. Bei Temperaturen über 20 °C ist eine Caseinabtrennung (> 95 %) nahezu vollständig möglich. Je höher allerdings die Temperatur ist, desto geringer wurde der Anteil an MFKM-Proteinen. Resultierende Molken bei niedrigen Gelbildungstemperaturen (< 20 °C) weisen zwar höhere MFKM-Proteingehalte auf, gleichzeitig sinkt aber die Caseinabtrennung unter 90 %.



Aufgrund reduzierter hydrophober Wechselwirkungen aggregieren nicht alle Caseinmizellen, wodurch die Struktur des Gelnetzwerks geschwächt ist. Höhere Temperaturen führen hingegen zu stärkeren hydrophoben Wechselwirkungen und es entstehen festere Gele. Folglich kann mehr MFKM-Material in den Caseinbruch eingeschlossen werden, wodurch die erhöhten Verluste an MFKM-Proteinen zu erklären sind.

Abb. 2: Relativer MFKM-Proteingehalt einer BM-Molke in Abhängigkeit der Temperatur bei der labinduzierten Gelbildung und die jeweils erreichte Caseinabtrennung

Neben der Temperaturabhängigkeit wurde auch der Einfluss des pH-Werts bei der Gelbildung untersucht und die Buttermilch-Molke hinsichtlich MFKM-Proteingewinnung und Caseinabtrennung analysiert (Abb. 3). Bis pH 7,5 konnte eine vollständige Caseinaggregation erzielt werden. Parallel resultierten zunehmende pH-Werte in einem erhöhten MFKM-Proteinanteil in der Molke. Neben der labinduzierten Gelbildung kommt es bei niedrigen pH-Werten zusätzlich zu einer säureinduzierten Gelbildung. Unter diesen Bedingungen werden Caseinmizellen destabilisiert und eine Aggregation gefördert und folglich mehr MFKM-Material bzw. -Proteine in das Gelnetzwerk eingebunden. Der relative Anteil peripherer Proteine (z.B. PAS 6/7) in der Molke ist erneut wesentlich höher als der von integralen und stärker an die MFKM gebundenen Proteinen (BTN; XO/XDH).

Eine Erhöhung des pH-Werts führt zwar zu höheren MFKM-Proteingehalten, gleichzeitig war aber die Caseinabtrennung über pH 7,5 deutlich schlechter. Eine zunehmende negative Nettoladung der Aminosäure-Seitenketten bei alkalischem pH-Wert resultiert in einer Lockerung der Caseinmizellstruktur bis hin zu einem Mizellzerfall ab pH 9,0.

Infolgedessen kann kein einheitliches Gelnetzwerk ausgebildet werden und weniger MFKM-Material geht mit dem Caseinbruch verloren.

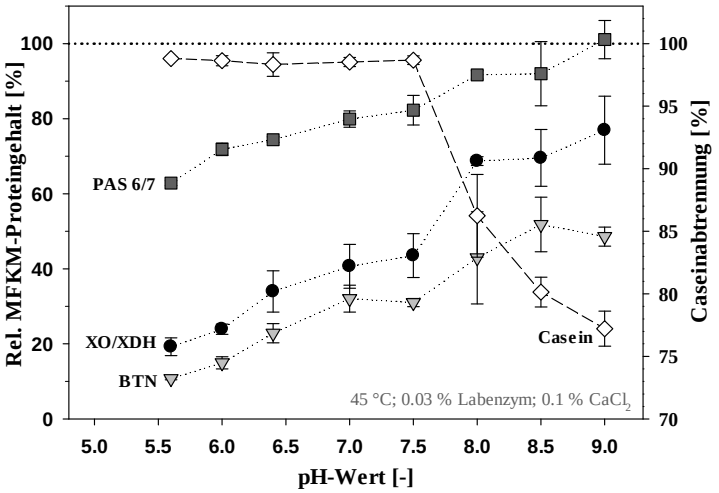


Abb. 3: Relativer MFKM-Proteingehalt einer BM-Molke in Abhängigkeit des pH-Werts bei der labinduzierten Gelbildung und die jeweils erreichte Caseinabtrennung

Diese Ergebnisse zeigen, dass zur Isolierung von funktionellem MFKM-Material die labinduzierte Gelbildung eingesetzt werden kann. Schwache Gelstrukturen bei Gelbildungsbedingungen von 25 °C und pH 7,5 erzielen relativ hohe Gehalte an MFKM-Proteinen in der gewonnenen Buttermilch-Molke. Gewisse MFKM-Verluste bei gleichzeitig maximaler Caseinabtrennung sind jedoch nicht zu vermeiden. Eine anschließende Abtrennung der in der Buttermilch-Molke verbleibenden Molkenproteine mittels Diafiltration ist aufgrund des Größenunterschieds zu den MFKM-Bruchstücken möglich. Das auf diesem Wege isolierte MFKM-Material kann nachfolgend spezifisch auf seine Funktionalität untersucht und gezielt in Lebensmitteln eingesetzt werden.

Dank:
Das Forschungsvorhaben (AiF 16226 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.

Einfluss von Hydrogel - Eigenschaften auf die Charakteristika der daraus hergestellten Aerogele

Influence of Hydrogel – properties on the characteristics of aerogels thereof

Christian Kleemann

Kennzeichnend für sogenannte Aerogele ist in erster Linie deren enorme spezifische Oberfläche (400 – 1000 m^2/g) und Porosität (90 – 99 %) (Smirnova et al. 2003). Häufig hergestellt auf Silicatbasis werden solche Aerogele bisher vor allem als Dämmstoffe zur Wärme- und Schallisolierung eingesetzt. Besonders vielversprechend ist aber auch die Nutzung von Aerogelen als Trägermaterial für unterschiedliche Stoffe, welche aufgrund der großen spezifischen Oberfläche in besonders großen Mengen absorbiert werden.

Hieraus hat sich im Zuge der stetig steigenden Nachfrage nach Lebensmitteln, welche dem Verbraucher neben dem Nährwert einen Zusatznutzen bieten, ein Forschungsvorhaben entwickelt, bei dem die Eigenschaften der Aerogele genutzt werden sollen, um Lebensmittel mit

diesem Zusatznutzen auszustatten. Hierbei sollen Aerogele auf Proteinbasis hergestellt werden, welche im Vergleich zu den anorganischen Silica – Aerogelen biologisch abbaubar sind.

Charakteristisch für die Herstellung von Aerogelen ist die sogenannte überkritische Trocknung. In einem ersten Schritt wird eine Proteinlösung in den Hydrogelzustand überführt. Die Gelbildung kann, abhängig von der Art des Proteins, thermisch oder enzymatisch induziert werden. Nach abgeschlossener Gelbildung wird das Wasser im Hydrogel mittels mehrstufiger Solventextraktion gegen Ethanol ausgetauscht. Dieser Schritt ist notwendig, weil Ethanol im Vergleich zu Wasser CO_2-löslich ist. Das Ethanol wird im Anschluss mit überkritischem CO_2 extrahiert. Das Verfahren der überkritischen Trocknung ermöglicht die Herstellung einer trockenen Produktstruktur, wobei das Proteingerüst durch den Trocknungsvorgang kaum verändert wird. Die Porengrößen liegen im Bereich von wenigen Nanometern. Das Verfahren der überkritischen Trocknung kann im Vergleich zur Gefriertrocknung als noch schonender angesehen werden.

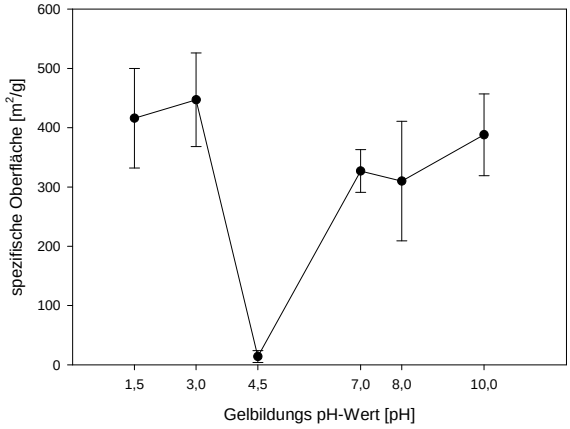


Abb. 1: Spezifische Oberfläche von WPI-Aerogelen mit unterschiedlichem Gelbildungs-pH-Wert (Betz et al., 2012)

Zum Erreichen der angestrebten hohen Beladungskapazität ist das Generieren einer entsprechend großen spezifischen Oberfläche erforderlich. Erste Versuche (Abb. 1) haben gezeigt, dass eine Veränderung des pH-Wertes der Ausgangslösung (20 %ige WPI-Lösung) bereits erheblichen Einfluss auf die Struktur und damit die spezifische Oberfläche des Aerogels hat. So konnten bei den untersuchten pH-Werten von 1,5, 3,0 und 7,0, 8,0, 10,0 spezifische Oberflächen erzeugt werden, welche typischen spezifischen Oberflächen von Aerogelen von bis zu 500 m^2/g entsprechen. Befindet sich der pH-Wert mit 4,5 allerdings in der Nähe des isoelektrischen Punktes der Proteine, ist die spezifische Oberfläche mit 14 m^2/g deutlich geringer. Die Variation der spezifischen Oberfläche könnte durch eine Verschiebung der Nettoladung der Proteine der unterschiedlichen Ausgangsstoffe bei unterschiedlichen pH-Werten erklärt werden. Ist die Nettoladung oberhalb oder unterhalb des isoelektrischen Punktes hoch, stoßen sich die Proteine gegenseitig ab. Sie streben dann möglichst wenige Berührungspunkte mit anderen Proteinen an. Es bilden sich sogenannte Stranggele aus, welche eine deutlich andere Gelfestigkeit und damit Struktur aufweisen, wie Partikelgele, welche in der Nähe des isoelektrischen Punktes bei einer geringen Nettoladung der Proteine entstehen. Hierbei bilden sich spontan Aggregate. Zudem waren die Aerogele, hergestellt aus Hydrogelen mit niedrigem pH-Wert spröde und brüchig, wohingegen Aerogele mit einem hohen pH-Wert in der Ausgangslösung kompakte und feste Strukturen aufwiesen (Betz et al., 2012). Entsprechend werden Aerogele, deren WPI-Ausgangslösung einen hohen pH-Wert hat, als besonders geeignet für weitere Untersuchungen betrachtet. Die Ergebnisse zeigen, dass die Charakteristika der Aerogele sehr leicht durch die Eigenschaften der Hydrogele beeinflusst werden können. Unter diesem Gesichtspunkt ist die Charakterisierung unterschiedlicher Hydrogele und deren Eignung zur Überführung in Aerogelzustand von großer Bedeutung.

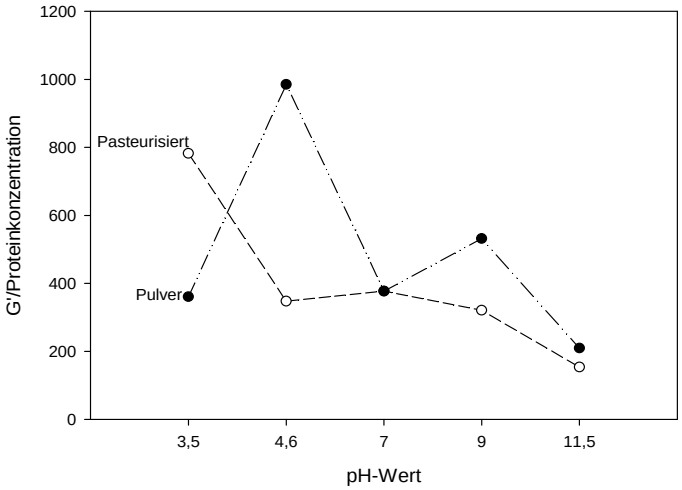


Abb. 2: Speichermodul beim Frequenztest bezogen auf die Proteinkonzentration von Eiklar-Hydrogelen mit unterschiedlichem Gelbildungs-pH-Wert

Erste Untersuchungen mit Eiklarprotein (Abb. 2) haben ergeben, dass auch hier der pH-Wert der Eiklarlösung einen erheblichen Einfluss auf die Gelfestigkeit der Hydrogele hat. Die Versuche wurden mit handelsüblichem pasteurisiertem Eiklar und Lösungen aus getrocknetem Eiklarpulver mit einem Proteingehalt von 10 % in der Lösung durchgeführt. Es ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den beiden Ausgangsstoffen. So konnte bei pasteurisiertem Eiklar die höchste Gelfestigkeit bei einem pH-Wert von 3,5 gemessen werden, bei der Lösung aus Eiklarpulver war die Struktur des Gels bei pH 4,6 deutlich fester als bei 3,5. In höheren pH-Bereichen war die Gelfestigkeit grundsätzlich nicht so hoch. Messungen zur Transparenz der Gele ergaben, dass nur bei dem extremen pH-Wert von 11,5 Gele hergestellt werden konnten, welche transparent für sichtbares Licht von einer Wellenlänge von 600 nm sind. Die Transparenz der Gele deutet auf Stranggele hin, welche das Licht deutlich weniger brechen als Aggregate in Partikelgelen. Dies lässt auch bei Eiklar eine Abhängigkeit der Gelstruktur vom isoelektrischen Punkt vermuten, der bei pasteurisiertem Eiklar anders positioniert sein könnte als bei Lösungen aus Eiklarpulver. Anhand dieser Untersuchungen kann angenommen werden, dass auch die daraus resultierenden Aerogele deutliche Unterschiede in ihrer spezifischen Oberfläche und Porosität aufweisen.

Weiterführend soll zu den Gelen aus Molkenproteinisolat und Eiklarprotein außerdem die Eignung von enzymatisch vernetzten Natriumcaseinatgelen zur Überführung in den Aerogelzustand untersucht werden. Die guten Eigenschaften von Natriumcaseinatgelen zur Mikroverkapselung sind bekannt und es wird erwartet, dass auch diese Gele wiederum andersartige Strukturen in Form eines Aerogels aufweisen, welche für bestimmte Applikationen von Vorteil sein können.

Literatur:
Smirnova, I.; Mamic, J.; Arlt, W.: Adsorption of Drugs on Silica Aerogels. Langmuir, 19 (20): 8521–8525, 2003
Betz, M.; García-González, C.; Subrahmanyam, R.; Smirnova, I.; Kulozik, U.: Preparation of novel whey protein-based aerogels as drug carriers for life science applications, The Journal of Supercritical Fluids, 72, 111–119, 2012

Dank:
Das Forschungsvorhaben (AiF 17485 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.

Fraktionierung funktioneller Peptide aus komplexen Hydrolysaten mittels Ionenaustauschbasierter Membranadsorptionschoromatographie

Fractionation of functional peptides out of complex hydrolysates by ion-exchange based membraneadsorption-chromatography

Elena Leeb

Die Gewinnung funktioneller Peptide kann durch enzymatische Hydrolyse von Milchproteinen realisiert werden. Beispielsweise sind in die Aminosäuresequenz des majoren Molkenproteins β-Lactoglobulin (β-Lg) die Peptide f(9-14) und f(142-148) eingebettet, die durch eine inhibitorische Wirkung auf das Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) mit einer Senkung des Blutdrucks assoziiert werden. Jedoch entsteht bei enzymatischen Hydrolysen, selbst unter Einsatz spezifischer Proteasen, stets ein komplexes Gemisch an unterschiedlichen Peptiden. Um nun die positiven Eigenschaften funktioneller Peptide gezielt nutzen zu können, sind Verfahren zur Fraktionierung und Konzentrierung der Peptide notwendig. Ein auch im großtechnischen Maßstab einsetzbares selektives Trennverfahren, das auf klassischer Chromatographie beruht, ist die Membranadsorptionschromatographie (MAC). Bei der MAC dient im Gegensatz zu konventionell gepackten Chromatographie Säulen eine Cellulose Membran als Trägermaterial für die funktionellen Gruppen. Dies erlaubt eine Fraktionierung der Peptide anhand ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften auch im technischen Maßstab.

Als Ausgangssubstrat für den Fraktionierungsprozess diente das Totalhydrolysat der tryptischen Hydrolyse von β-Lg, das neben den genannten ACE-inhibitorischen Peptiden 17 weitere Peptide enthält. Das optimierte Verfahren zur Fraktionierung des Hydrolysats mittels Ionenaustausch-basierter Membranadsorptionschromatographie (IE-MAC) beinhaltet im ersten Schritt den Einsatz eines Anionenaustauschers (AE). Durch die komplexe Zusammensetzung des Hydrolysats und die damit verbundene große Bandbreite der isoelektrischen Punkte binden nicht alle Peptide an den AE und werden als Flowthrough (AE FT) aufgefangen. Dagegen binden Peptide mit einer negativen Ladung an den AE und können durch einen Ionenstärkegradienten in insgesamt sieben Fraktionen (AE 1 – AE 7) getrennt werden. In einem zweiten Schritt wird der AE FT auf einen Kationenaustauscher (CE) aufgegeben und es werden wiederum unter Einsatz eines Ionenstärkegradienten fünf Fraktionen (CE 1 – CE 5) gewonnen. Zusätzlich wird in diesem Schritt ebenfalls eine Fraktion mit nicht-bindenden Peptiden im Flowthrough des Kationenaustauscher (CE FT) gewonnen. Somit wird unter Einsatz beider Ionenaustauscher eine Fraktionierung des Hydrolysats in 13 Fraktionen ermöglicht. Die Peptidzusammensetzung der einzelnen Fraktionen wurde mittels LC-ESI/MS identifiziert und die Ausbeute der ACE-inhibitorischen Peptide f(9-14) und f(142-148) als prozentualer Anteil berechnet. In Abb. 1 sind die ermittelten Chromatogramme der Chromatographie-Prozesse sowie der prozentuale Anteil der Zielpeptide in den einzelnen Fraktionen dargestellt.

Aus den Diagrammen erkennbar wird die erfolgreiche Anreicherung der ACE-inhibitorischen Peptide in den Fraktionen des Kationenaustauschers. Dabei wird das Peptidfragment f(9-14) vor allem im Flow Through (CE FT), d.h. in der Fraktion nicht bindender Peptide, und der ersten Fraktion (CE 1) angereichert, während das Peptid f(142-148) vor allem in der zweiten (CE 2) und dritten (CE 3) Fraktion des Kationenaustauschers wieder zu finden ist.

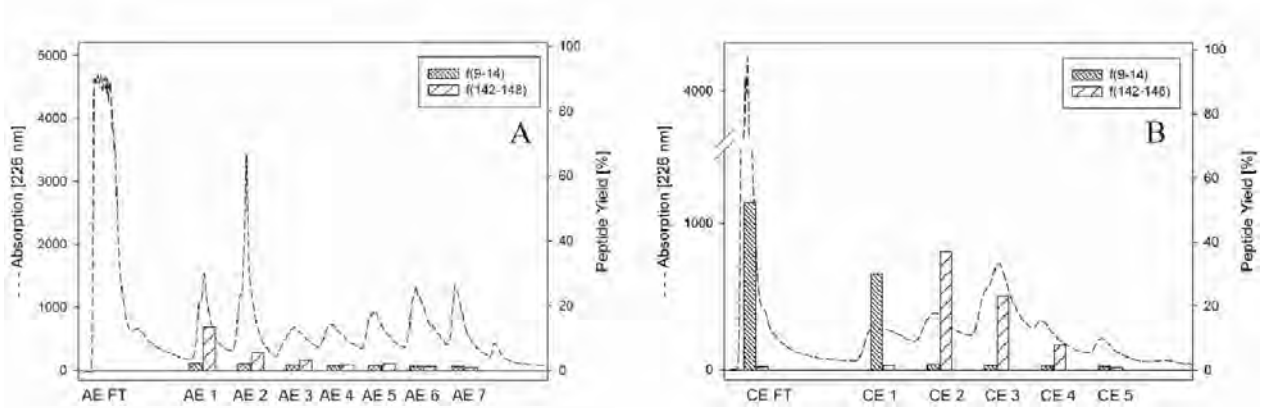


Abb. 1: Chromatogramme des entwickelten Fraktionierungsprozesses mittels gekoppelter Anionen- (A) und Kationenaustausch- (B) basierter Membranadsorptionschromatographie sowie die prozentuale Ausbeute der ACE-inhibitorischen Peptide f(9-14) und f(142-148) in den gewonnenen Fraktionen

Aus den Diagrammen erkennbar wird die erfolgreiche Anreicherung der ACE-inhibitorischen Peptide in den Fraktionen des Kationenaustauschers. Dabei wird das Peptidfragment f(9-14) vor allem im Flow Through (CE FT), d.h. in der Fraktion nicht bindender Peptide, und der ersten Fraktion (CE 1) angereichert, während das Peptid f(142-148) vor allem in der zweiten (CE 2) und dritten (CE 3) Fraktion des Kationenaustauschers wieder zu finden ist. Jedoch kann unter Einsatz der MAC keine selektive Trennung einzelner Peptide erreicht werden. Um antagonistische Effekte anderer in den Fraktionen enthaltener Peptide auf die ACE-inhibitorische Wirkung auszuschließen, wurde die ACE-inhibitorische Aktivität der Fraktionen *in vitro* untersucht. Dabei wurde die inhibitorische Wirkung des Hydrolysat selbst sowie der gewonnenen Fraktionen mit maximalem Gehalt an ACE-inhibitorischen Peptiden anhand der Ermittlung ihrer IC_{50}-Werte bestimmt. Der IC_{50} ist dabei die Konzentration, bei der eine halbmaximale Inhibierung des ACE erreicht wird. Mit sinkenden IC_{50}-Werten wird somit eine Steigerung der ACE-inhibitorischen Wirkung dargestellt. In Abb. 2 ist die Reduktion der IC_{50}-Werte der untersuchten Fraktionen mit maximalem Gehalt an f(9-14) und f(142-148) im Vergleich zum Totalhydrolysat angegeben.

Wie aus dem Diagramm ersichtlich wird, kann durch eine Fraktionierung des Hydrolysats mittels IE-MAC eine Steigerung der ACE-inhibitorischen Eigenschaften ermöglicht werden. So wird bspw. für die Fraktion CE 3 eine Reduktion des IC_{50}-Werts auf 30 % ermittelt.

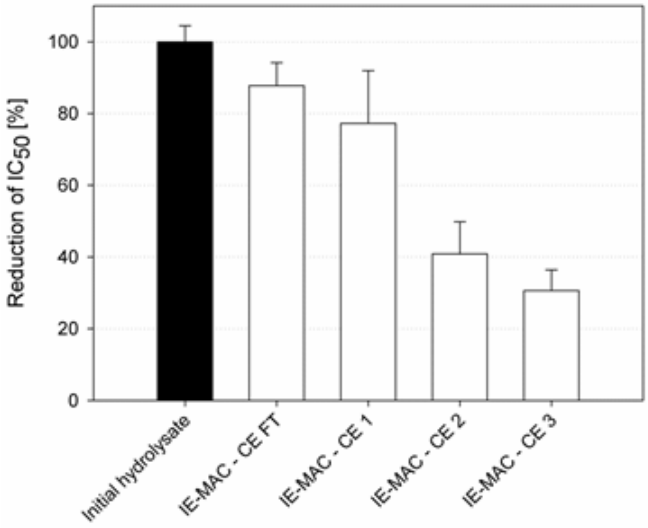


Abb. 2: Reduktion der IC50-Werte, der mittels Kationenaustauscher gewonnenen Fraktionen im Vergleich zum initial eingesetzten Hydrolysat

Die vorliegenden Ergebnisse machen deutlich, dass die IE-MAC erfolgreich zur Steigerung der funktionellen Eigenschaften eines komplexen Hydrolysats eingesetzt werden kann.

Dank:
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.

Einfluss der Proteinkonzentration auf das thermisch induzierte Denaturierungsverhalten von Molkenproteinen

Impact of protein concentration on the thermal denaturation of whey proteins

Magdalena Merkl

Molkenproteine werden auf Grund ihrer techno-funktionellen Eigenschaften zur Verbesserung der Produktqualität in Lebensmitteln eingesetzt. Ihre funktionellen Eigenschaften können durch eine thermische Behandlung verändert werden. So können beispielsweise durch thermisch-mechanische Behandlung der Molkenproteine Mikropartikulate hergestellt werden, welche zur Reduzierung des Fettgehaltes, zur Erhöhung der Produktausbeute sowie zur Verbesserung der Textur in Lebensmittel eingesetzt werden können. Der grundlegende Mechanismus der Mikropartikulierung ist die Denaturierung und Aggregation der Molkenproteine. Dabei ist vor allem der Reaktionsmechanismus des Hauptmolkenproteins β-Lactoglobulin entscheidend. Dieser verläuft in zwei Teilreaktionen. In der ersten Teilreaktion falten die nativen Molkenproteine bei Hitzeeinwirkung auf. Dadurch wird eine reaktive Thiolgruppe, die ansonsten im Inneren der Molekülstruktur verborgen ist, für weitere Reaktionen zugänglich. Im zweiten Schritt aggregieren die aufgefalteten Proteine unter Bildung von Disulfidbrücken.

Bisher sind die Denaturierungskinetiken der Molkenproteine nur für niedrige Proteinkonzentrationen bekannt. Hier wurde erstmals die thermische Reaktivität der Molkenproteine bei hohen Proteinkonzentrationen (bis 40 % Protein) untersucht. Die Versuche wurden unter ruhenden Bedingungen in kleinen Probemengen in einem Röhrchenerhitzer durchgeführt.

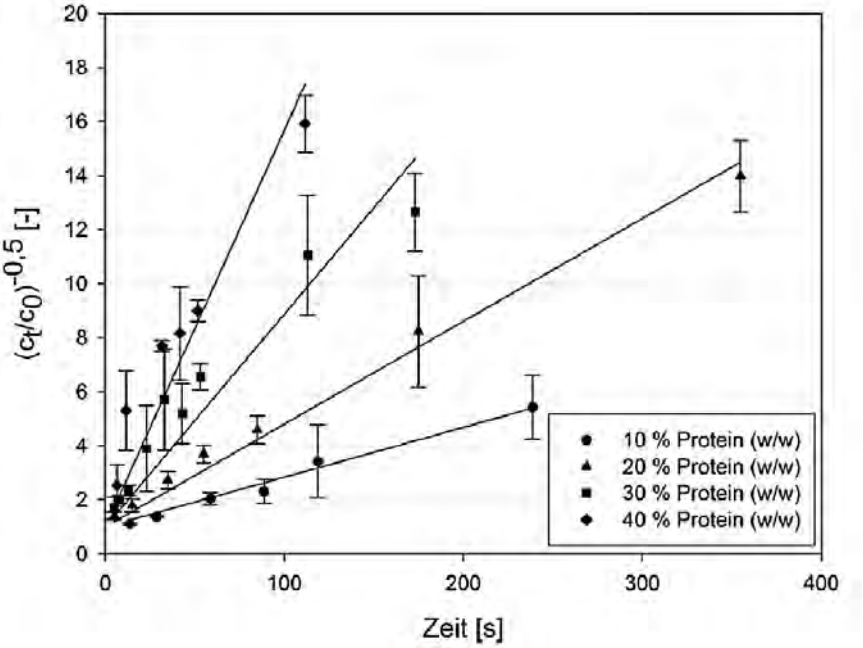


Abb. 1: Denaturierung von β-Lactoglobulin bei 80 °C, pH ≈ 6,8 und als Reaktion der Ordnung n = 1,5 bei unterschiedlichen Proteinkonzentrationen

In Abb. 1 ist das Denaturierungsverhalten von β-Lactoglobulin bei einer Temperatur von 80 °C mit einer Reaktionsordnung n = 1,5 dargestellt. Die thermische Reaktivität wurde für verschiedene Proteinkonzentrationen untersucht. Dabei wird deutlich, dass mit steigender Proteinkonzentration die Denaturierungsreaktion schneller abläuft. Bei hohen Proteinkonzentrationen ist die Denaturierungsreaktion schon nach wenigen Sekunden fast abgeschlossen.

Mit sinkendem Proteingehalt nimmt allerdings die Denaturierungsgeschwindigkeit ab und die Reaktion wird deutlich verlangsamt. Die Erklärung für diese beschleunigte thermisch induzierte Denaturierungsreaktion liefert der zugrundeliegende Reaktionsmechanismus (siehe Abb. 2).

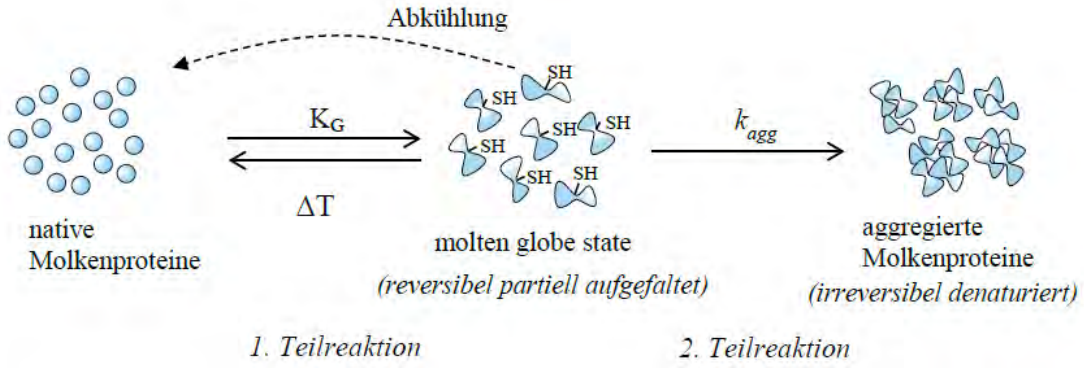


Abb. 2: Schematische Darstellung der thermisch induzierten Denaturierung von Molkenproteinen

Die starke Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit steigender Proteinkonzentration ist mit dem Mechanismus der Denaturierungsreaktion zu erklären. Bei der Erhitzung (ΔT) falten die Proteine erst auf und es stellt sich ein dynamisches Gleichgewicht mit der Gleichgewichtskonstanten (K_G) zwischen aufgefaltetem Protein und Protein in der nativen Konformation ein. Diese Auffaltung ist reversibel und die Molkenproteine können in ihre native Konformation zurückfalten, wenn die Temperatur wieder verringert wird. Treffen jedoch zwei aufgefaltete Proteine aufeinander, kommt es zur Aggregation der Moleküle. Dieser zweite Schritt ist irreversibel und die Proteine verbleiben auch bei Abkühlung in der denaturierten, aggregierten Form. Da sich zwischen nativer Form und der partiell aufgefalteten Form, dem molten globe state, immer ein Gleichgewicht einstellt, hat eine erhöhte Aggregation auch zur Folge, dass zunehmend Proteine aufgefaltet werden. Dies ist notwendig, damit das Gleichgewicht zwischen nativen Proteinen und aufgefalteten Proteinen bestehen bleibt, da bei der Aggregation dem molten globe state die Moleküle entzogen werden. Das bedeutet, dass bei einer hohen Aggregationsrate (k_{agg}) die gesamte Denaturierungsreaktion beschleunigt wird. Durch die Erhöhung der Molkenproteinkonzentration steigert sich die Gesamtanzahl an Proteinmolekülen und damit auch die Kollisionswahrscheinlichkeit der Moleküle. Dadurch steigert sich die Aggregationsrate und damit wird die thermische Denaturierung insgesamt beschleunigt.

Das heißt bei höheren Proteinkonzentrationen ist eine deutlich kürzere Heißhaltezeit notwendig, um hohe Denaturierungsgrade und damit eine hohe Ausbeute bei der Mikropartikulierung zu erzielen. Dies kann für die Partikulierung mittels Extrusionsverfahren genutzt werden, da dabei hohe Proteinkonzentrationen eingesetzt und gleichzeitig kleine Aggregate hergestellt werden können.

Literatur:
Tolkach, A. (2008): Thermisches Denaturierungsverhalten von Molkenproteinfraktionen. Dissertation, TU München, Verlag Dr. Hut, München

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 17140 N)

Kontinuierliche zentrifugale Trennung von Eigelb im industriellen Maßstab

An industrially viable continuous centrifugal separation process of liquid egg yolk

Thomas Strixner

Hühnereier sind ein Grundnahrungsmittel, das im Direktverzehr, mehr aber noch als natürliche strukturbildende Komponente in sehr vielen Lebensmitteln Einsatz findet. Das Einsatzspektrum umfasst dabei nicht nur klassische Feinkostprodukte wie Mayonnaisen oder Salatsoßen, sondern auch Milchmischprodukte wie Sauce Béarnaise, Fleisch-, Wurst- und Backwaren in vielen Variationen. Bei der Applikation von Eigelb lassen sich zwar zufriedenstellend stabile Emulsionen erzeugen, allerdings waren bisher wenige Möglichkeiten bekannt, die emulgierenden Eigenschaften von Eigelb im Hinblick auf sensorische Eigenschaften wie Geschmack, Farbe oder Strukturbildung spezifisch ausgerichtet auf die sehr unterschiedlichen Anwendungen zu nutzen bzw. zu beeinflussen. Natürliches Eigelb mit ca. 52 % Trockenmasse ist überaus komplex zusammengesetzt. Es besteht zu 80 % aus einer leichteren Plasma- und zu 20 % aus einer schwereren Granula-Fraktion (Abb. 1).

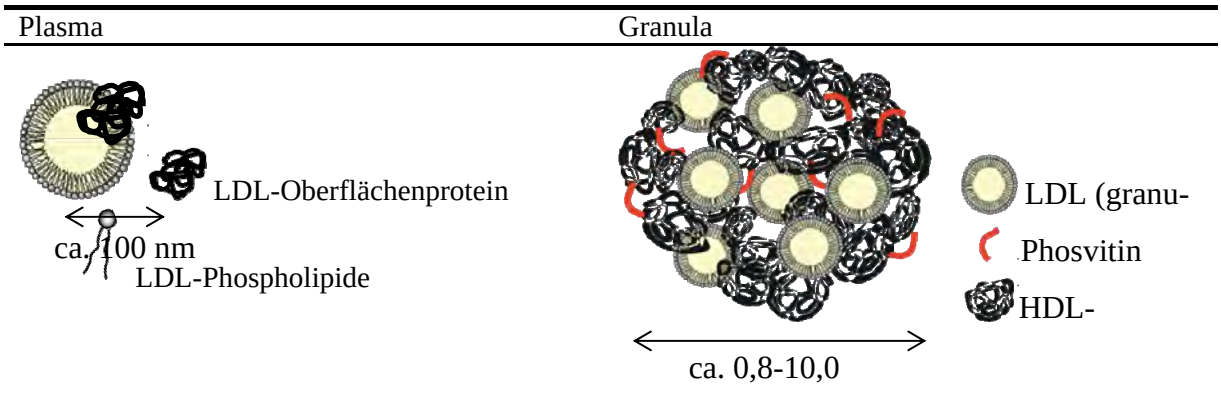


Abb. 1: Schematischer Überblick zu den strukturellen Details der Plasma- und Granula-Fraktion

Das Plasma repräsentiert die wasserlösliche, lipidreiche Fraktion des Eigelbs. Sie besteht zu 85 % aus Low-Density-Lipoproteinen (LDL). Die emulgierenden Eigenschaften von Eigelb werden vornehmlich auf die hohe Grenzflächenaktivität dieser Fraktion bei der Stabilisierung von Öl-Wasser-Systemen zurückgeführt. Die Granulapartikel weisen eine mizellare Struktur auf. Sie sind zusammengesetzt aus High-Density-Lipoproteinen (HDL) und Phosvitin, die bei normaler Ionenstärke durch Calcium-Phosphat-Brücken stabilisiert sind. Zusätzlich befinden sich im nativen Milieu des Eigelbs ca. 12 % LDL-Bestandteile in der granulären Matrix. Im Gesamteigelb wirken sich milieubedingte Änderungen wie Salzzugabe und/oder Säuerung in einer komplexen, wenig zielgerichtet beeinflussbaren Weise aus. Liegen jedoch beide Eigelbhauptfraktionen getrennt vor, so lassen sich deren jeweilige Eigenschaften wesentlich spezifischer und im breiteren Anwendungsrahmen nutzen. Selbst bei geringem Energieeintrag beim Emulgieren können mit dem neuen Verfahren Öltropfengrößen kleiner als 2 µm erzeugt

werden. Ferner wurde festgestellt, dass die Öltropfengröße in Emulsionen unabhängig von destabilisierenden Milieubedingungen wird. Damit führen produktionsbedingte Schwankungen in pH-Wert und Salzgehalt oder produktspezifische kompositorische Bedingungen zu keinen Stabilitätseinbußen. Emulsionen werden somit flexibler herstellbar und länger lager- bzw. transportfähig. Mit den spezifischen Eigenschaften der Plasma-Fraktion werden neue Freiheitsgrade beim Produktdesign möglich, die bis dato mit Gesamteigelb nicht realisierbar waren. Durch den Einsatz einer sprühgetrockneten, enzymatisch behandelten und im Salzgehalt angepassten Granula-Fraktion wird die Struktur/Textur im Produkt erheblich gesteigert. Es lassen sich so bereits bei geringen Fettgehalten Emulsionen gleicher sensorischer Textur herstellen [1,2]. Damit sind im Vergleich zu Gesamteigelb für die Granula-Fraktion ideale Voraussetzungen gegeben, um als texturgebender Inhaltsstoff in einem deutlich weiteren Produktspektrum Verwendung zu finden. Für diesen innovativen Einsatz der beiden Eigelbhauptfraktionen galt es im Forschungsvorhaben AiF/FEI 16009 N ein Trennverfahren zu etablieren, welches auch im industriellen Maßstab eine vollständige Trennung beider Eigelbkomponenten realisierbar macht.

Die kompositorische Vielfalt von Eigelb, verbunden mit einer hohen Trockenmasse, stellt äußerst komplexe Anforderungen für die zentrifugale Trennung dar. Zunächst war es daher notwendig, im Labormaßstab ein grundlegendes und weitreichendes Verständnis zur Trennung von Eigelb zu erarbeiten. Es war zu bestimmen, inwieweit eine vollständige Trennung der Komponenten überhaupt zu erreichen sein würde. Fragestellungen um das Sedimentationsverhalten der Granula als Einzelpartikel bzw. im Zuge von Schwarm- bzw. Zonensedimentation waren zu beantworten. Maßgebliche stoffliche und technische Variable waren zu bestimmen und es musste festgestellt werden, wie das Trennergebnis durch produktspezifisch beeinflussbare Faktoren (Trockenmasse, pH-Wert, Ionenstärke, Calciumgehalt) sowie prozessseitige Einflussgrößen (Zentrifugalbeschleunigung/g-Zahl, Verweilzeit, Temperatur) gesteigert bzw. spezifisch angepasst werden kann. Es zeigte sich, dass eine Verdünnung des Eigelbs vor der Trennung der Schlüssel ist, um sedimentationsbehindernde Effekte zu umgehen. Die kritische Eigelb-Trockenstoffkonzentration liegt bei 22 %, wenn pasteurisiertes Eigelb mit einer 1 % igen physiologischen NaCl-Lösung verdünnt wird, was neu und essentiell für den Erhalt der strukturellen Integrität der Granula ist. In einem an die Verdünnung anschließenden Schritt erfolgte zusätzlich eine Temperierung des Eigelbs auf 50 °C. Durch diesen Schritt kann die Viskosität der Eigelbsuspension weiter gesenkt werden. Die viskositätsbedingten, sedimentations-limitierenden Effekte werden deutlich reduziert und dadurch optimale fluiddynamische Voraussetzungen für die Trennung geschaffen [3].

Eine Möglichkeit, komplexe Stoffgemische mit hohem Feststoffgehalt im industriellen Maßstab zu trennen, bieten Dekantierzentrifugen. Diese arbeiten ohne enge Fließwege und sind durch einen aktiven Sedimenttransport über eine innen liegende Schnecke zur Trennung von Suspensionen mit hoher Trockenmasse und pastösen Sedimenten sehr gut geeignet. Eine Limitation in der Sedimentfracht ist bauartbedingt nicht gegeben. Jedoch sind Dekanterzentrifugen durch die limitierte Festigkeit des Trommelwerkstoffs sowie aus konstruktiven Gründen in ihrer maximalen zentrifugalen Beschleunigung begrenzt. Selbst bei hochlegierten Stählen liegt die Grenze je nach Baugröße bei einem g-Zahl-Vielfachen von max. 3.000g bis 5.000g. Um dennoch eine Trennung des Eigelbs im Produktionsmaßstab zu realisieren, musste ein innovatives Konzept gefunden werden, welches die positiven Eigenschaften einer möglichst hohen Sedimentfracht und eines aktiven Sedimenttransport mit denen sehr hoher g-Zahlen vereint.

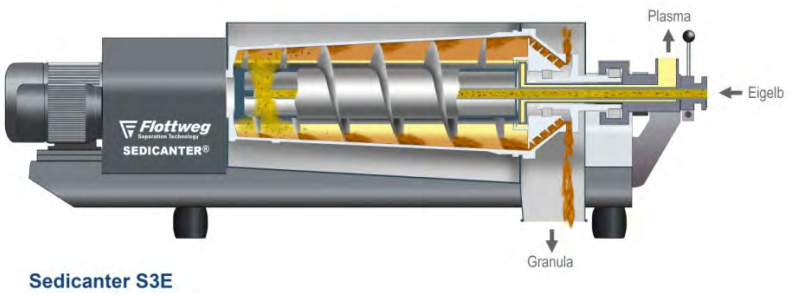


Abb. 2**:** Schematische Darstellung der Eigelbfraktionierung mittels *Sedicanter* Dekantier Zentrifuge (mit Genehmigung durch Fa. Flottweg, 2013)

Für eine Zusammenarbeit in diesem Projekt konnte die Firma Flottweg AG, Vilsbiburg gewonnen werden. Es konnte eine besondere Dekantierzentrifu-genbauform, der *Sedicanter*, für die Trennung von Eigelb weiter entwickelt und für das Projekt als Funktionsmuster nutzbar gemacht werden. Der *Sedicanter* weist die Besonderheit auf, Partikel abscheiden zu können, welche für einen herkömmlichen Dekanter zu feinkörnig sind, sich jedoch wegen der stark pastösen Konsistenz des Sediments nicht aus einer Tellerzentrifuge austragen lassen. Außerdem können extrem schwer sedimentierbare Feststoffe durch die eigentlich für Dekanter untypisch hohe Beschleunigung von bis zu 10.000g abgetrennt werden. Aufbau und Funktion des *Sedicanters* von Flottweg sind in Abb. 2 dargestellt. Der konventionelle zylindrische Trommelteil wurde hierbei als leichter Konus ausgeführt, dem sich ein steiler zweiter Konus anschließt. Sowohl die Vollmanteltrommel mit konischem Teil als auch die darin gelagerten Schneckenkörper laufen mit einer hohen Drehzahl um, wobei die Schnecke eine vergleichsweise geringe Differenzdrehzahl zur Trommel aufweist. Die Differenzbewegung wird durch ein umlaufendes koaxiales Getriebe erzeugt. Sie dient dem Transport des sedimentierten Feststoffs aus der Vollmanteltrommel.

Angestoßen bzw. ausgelöst durch die großtechnischen Versuche wurden als entscheidender Schritt in der technischen Weiterentwicklung des *Sedicanters* von den Technikern der Fa. Flottweg im Austrag Resuspendierungsringdüsen für die Granula-Fraktion integriert, welche einen problemlosen Austrag aus dem *Sedicanter* und eine gute Fließfähigkeit der Granula-Fraktion zur Weiterverarbeitung ermöglichen. Im Ergebnis konnte auf Grundlage der vorangegangenen Optimierung des Parametersets für die stoffliche und prozesstechnische Trennung der Eigelbkomponenten durch Adaption des *Sedicanters* erstmalig ein industrieller zentrifugaler Trennprozess für Eigelb etabliert werden, bei dem mit vorangeschalteter Verdünnung, Temperierung auf 50 °C und zentrifugaler Beschleunigung von 10.000g hochreine Plasma- und Granula-Fraktionen mit einem Durchsatz bis zu 2,5 t pro Stunde erzeugt werden konnten.

Literatur:
[1] Strixner, T., Kulozik, U. (2012). Fraktionierung und getrennte Ausnutzung des technologisch funktionellen Potentials der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma. Abschlussbericht zu AiF/FEI 16009 N, TU-München.
[2] Strixner, T., Würth, R., Kulozik, U. (2013). Combined Effects of Spray Drying and Enzymatic Treatment on the Techno-Functional Properties of Dried Egg Yolk Main Fractions Granules and Plasma. Drying Technology, 31, 1–12
[3] Strixner, T., Kulozik, U. (2013). Continuous centrifugal fractionation of egg yolk granules and plasma constituents influenced by process conditions and product characteristics. Journal of Food Engineering, 117, 89–98

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).

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

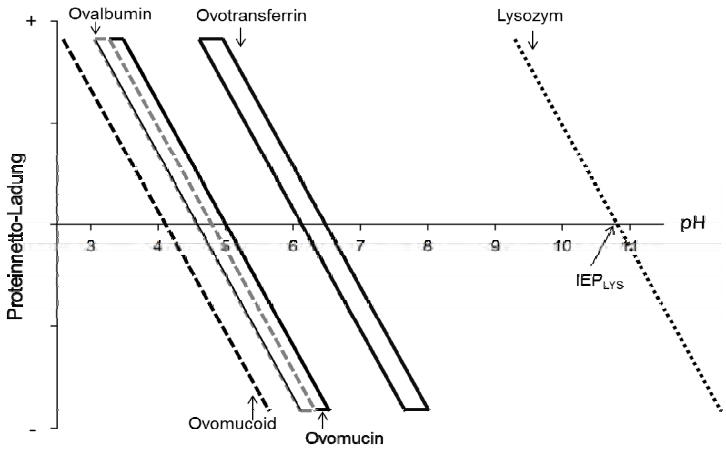
Lysozymfraktionierung mittels Membran-Adsorptions-Chromatographie im Labormaßstab

Lysozyme fractionation with membrane adsorption chromatography in lab scale

Janina Brand

Eiklar enthält neben seinen techno-funktionellen Eigenschaften auch Proteine mit biofunktionellem Potential. Das Eiklarprotein Lysozym ist ein Enzym, welches die Fähigkeit besitzt, die β-1,4-gykosidischen Bindungen der Bakterienzellwände zu spalten, wodurch es eine antimikrobielle Wirkung aufweist. Aufgrund dessen wird es in der Lebensmittelindustrie als Konservierungsstoff oder auch bei der Käseherstellung zur Vermeidung der Spätblähung eingesetzt. Weitere Einsatzgebiete liegen im Bereich der Verpackungsindustrie oder der Kosmetik- und Pharmaindustrie (Mundwasser etc.) (Huopalathi, 2007). Um einen breiten Einsatz dieses Zusatznutzens zu ermöglichen, ist es jedoch notwendig, eine Methode zu entwickeln, mit welcher Lysozym kostengünstig, in großen Mengen und mit hoher Reinheit gewonnen werden kann.

Bei Betrachtung der isoelektrischen Punkte (IEP) der Eiklarproteine wird deutlich, dass Lysozym im Vergleich zu den anderen Proteinen einen sehr hohen IEP besitzt (Abb. 1) und daher über einen weiten pH-Bereich als einziges Eiklarprotein eine positive Nettoladung aufweist.



Folglich wird zur Fraktionierung des Proteins Lysozym die Ionenaustauschchromatographie (IEX) verwendet. In diesem Projekt wird der Membranadsorber Sartobind® S nano zur Trennung einsetzt. Wegen des konvektiven Produktflusses durch die Membranporen (Ø = 3-5 µm) hindurch, muss das Substrat zuvor mit einer Porengröße von 0,45 µm filtriert werden, um das Verblocken der Poren zu vermeiden.

Abb. 1: Proteinnetto-Ladungen der majoren Eiklarproteine

Diese Vorfiltration wird bei dem hier verwendeten Substrat Eiklar nur durch eine gezielte Vorbehandlung ermöglicht. Hierfür wurde das Eiklar, wie bei Brand (2013) beschrieben, dreimalig bei 25 MPa im Hochdruckhomogenisator homogenisiert und zusätzlich mit dem gleichen Volumen einer 75 mM Natriumchloridlösung verdünnt. Anschließend kann das Eiklar für die Fraktionierung verwendet werden. Hierbei wurde eine hohe Reinheit der resultierenden Lysozym-Fraktion angestrebt. Für die Bestimmung der optimalen Fraktionierungsbedingungen wurden die milieuabhängigen Variablen pH-Wert oder Leitfähigkeit der Probe verändert. Zusätzlich wurden die Flussrate und der verwendete Elutionsgradient variiert.

Tab. 1: Reinheiten der Lysozym-Frakionen in Abhängigkeit des pH-Wertes (RP-HPLC)

pH-Wert	Reinheit$_{LYS}$
7,4	56 %
9,2	74 %
9,8	87 %
10,2	75 %

Aus Tab. 1 wird deutlich, dass aus einem Proben- und Puffer-pH-Wert von 9,8 die höchsten Reinheitswerte resultierten. Durch weitere Prozessveränderungen (verlängerter Waschschritt nach dem Beladen, gestufter Elutionsgradient) konnte eine Reinheit der Lysozym-Fraktion von 95 % erzielt werden. Die hieraus resultierenden RP-HPLC-Chromatogramme sind in Abb. 2 dargestellt. In dieser Arbeit wurde gezeigt, dass die Membran-Adsorptions-Chromatographie eine geeignete Methode darstellt, um Lysozym mit hoher Reinheit (95 %) zu gewinnen. Durch die deutlich höheren Flussraten, im Vergleich zur klassischen IEX, ist bei diesem Prozess ein höherer Durchsatz möglich.

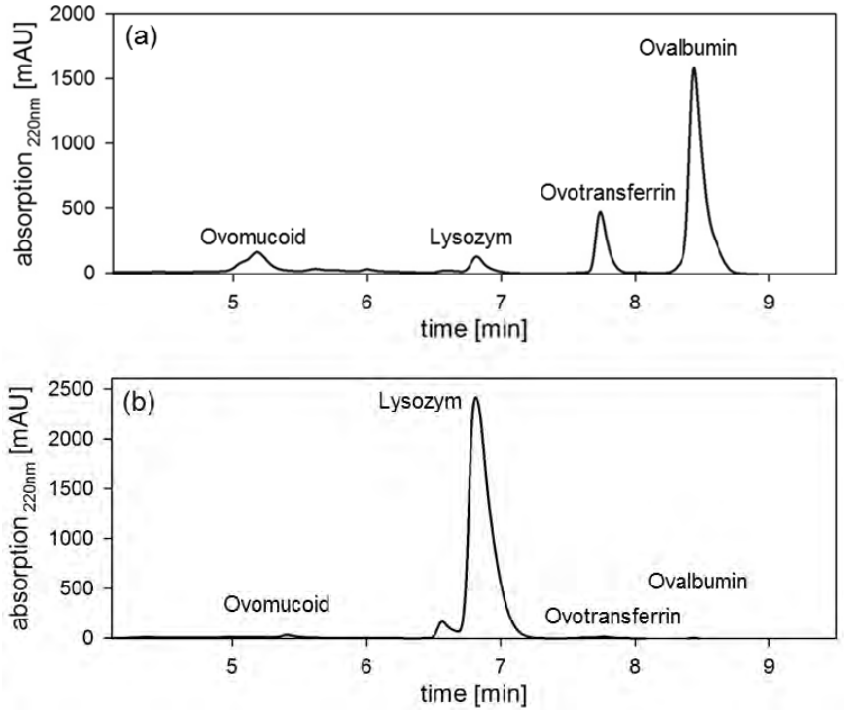


Abb. 2: RP-HPLC-Chronogramme (a) des Ausgangssubstrates und (b) des Eluats

Literatur:
Brand, J. (2013): Jahresbericht 2012. Gotha, Thür: d/m/z Druckmedienzentrum Gotha
Huopalathi, R. (2007): Bioactive Egg Compounds. Springer-Verlag Berlin Heidelberg

Dank:
Das Forschungsvorhaben (AiF 17479 N) wurde im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschafts-forschung (IGF)" vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.

Influence of the transmembrane pressure and the protein concentration on the threshold flux during whey ultrafiltration

Einfluss des transmembranen Drucks und der Protein Konzentration auf den „threshold flux" bei der Molke Ultrafiltraion

Sabine Husby

Ultrafiltration (UF) is used to concentrate and separate proteins from the lactose and mineral components in the whey. The obtained whey protein concentrate can be used as a product by itself or it can be further processed for the production of whey powder. The concentration process is limited by the accumulation of whey components, mainly proteins, on the mem-

brane surface leading to the formation of a gel-like cake layer. This deposit layer acts as a second membrane, increasing the total hydraulic resistance and, hence, decreasing the permeation. Another limitation is the viscosity of the whey which increases during the concentration process. In this study, a 20 kDa UF ceramic membrane was used for analyzing the impact of the transmembrane pressure (TMP) on the permeate flux and the influence of the protein concentration on the threshold flux. Batch experiments were performed at 10°C with clarified sweet whey (0,7% protein corresponding to concentration factor 1, CF 1) and whey concentrates containing different protein concentrations (e.g. CF 4=2,8% protein).

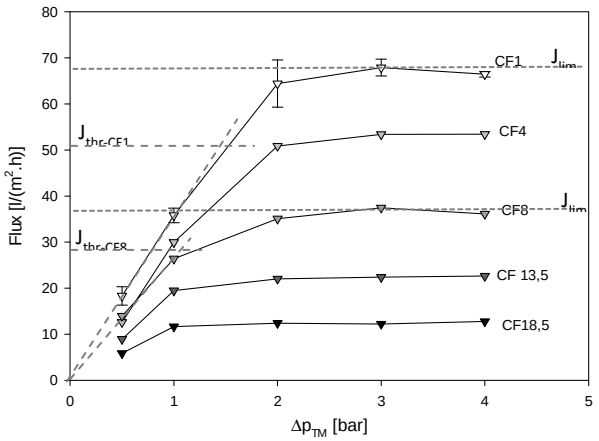


Fig 1: Flux as a function of transmembrane pressure for different concentration factors

Fig. 1 shows the influence of the transmembrane pressure on the permeate flux for different protein concentration factors. For all CF, the increase in pressure leads to higher flux levels, however, only up to a certain pressure. For CF 1, up to 1,5 bar, there is a linear correlation between flux and pressure, i.e. there is a strong increase in flux with enhanced pressure. Above 2 bar, the curve flattens out such that raising the pressure does not give any further raise in flux. This is due to an increased and denser deposit layer, since more components are transported convectively towards the membrane at higher pressures. A flux "plateau" is reached and the limiting flux (Bacchin, 2006) can be determined, corresponding to roughly 68 (l/m^2.h) for CF1 (see J_{lim} in Fig. 1). Fig. 2 shows the fouling resistance as a function of the transmembrane pressure for different protein concentration factors. The fouling increases with the pressure and with the protein concentration. An important concept for filtration processes often found in the literature is the critical flux. Field et al. (1995) defines the critical flux as the point above which fouling occurs corresponding to the maximum flux without fouling. As can be seen in Fig. 2, when filtrating whey at the studied pressures, fouling occurs even at the low TMP due to concentration polarization and deposit layer formation; therefore the critical flux cannot be determined. However, a more recent concept namely the "threshold flux" can in this case be used. It corresponds to the transition region between the linear dependency of the flux on the pressure and the limiting flux where an increase in pressure does not influence the flux (Luo et al., 2013). Field et al. (2011) defines the threshold flux as the point under which the fouling is almost constant, independent of the applied pressure and above which a raise in pressure results in an accentuated increased fouling.

In Fig. 1, for CF 1, the threshold flux is close to 1,5 bar with a corresponding flux of 51 (l/m^2.h) (see J_{thr} in Fig. 1). These pressures are in accordance with the pressures, above which the fouling distinctly rises, as observed in Fig. 2. The influence of the protein concen-tration on the flux is clear; the higher the protein concentration, the lower the flux levels.

This is on the one hand due to the increased viscosity of the concentrated whey. Moreover, the higher the protein concentration, the greater the interaction between proteins, which in turn causes a thicker and compacter deposit layer.

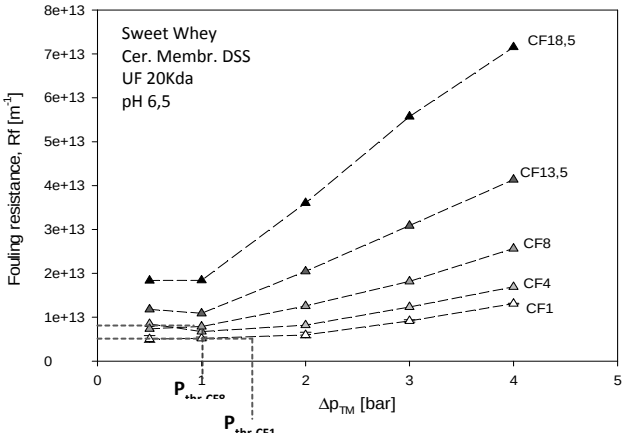


Fig. 2: Fouling as a function of transmembrane pressure for different concentration factors

As for CF 1, higher CF also reach a threshold flux, however this flux is moving towards lower pressure regions with increasing CF, decreasing from around 1,5 bar for CF1 to 1 bar for all CF above CF 8 (see Pthr-CF1/CF8 in Fig. 2). At the end of a concentration process, i.e. at high whey protein concentrations, running the filtration at pressures above 1 bar is energetically not profitable, it does namely not improve the flux as the fouling increases strongly (see Fig. 2).

To avoid a too high deposit layer formation and therefore also preventing a decrease of the steady state flux over filtration time, the filtration process of whey should be run at pressures around the threshold flux and under the limiting flux. The higher the protein concentration of the whey, both the limiting and the threshold flux are moved towards lower operating pressures (see Fig. 1). This means that during a concentration process the pressure has to be lowered to keep the filtration process profitable. Moreover, for the industry, a third key concept is the sustainable flux, which also takes into consideration operation and investment costs (e.g. energy input, cleaning cost etc.) (Bacchin et al., 2006). Concepts such as threshold, limiting and sustainable fluxes have to be taken into consideration to have a profitable filtration during the whole process of concentrating whey proteins.

Literature:
Bacchin P, Aimar P, Field RW (2006): Critical and sustainable fluxes: Theory, experiments and applications, Journal of Membrane Science 281, 42-69
Field RW, Wu D, Howell JA, Gupta BB (1995): Critical flux concept for microfiltration fouling, Journal of Membrane Science 100, 259-272
Field RW, Pearce GK (2011): Critical, sustainable and threshold fluxes for membrane filtration with water industry applications, Advances in Colloid and Interface Science 164, 38-44
Luo J, Zhu Z, Ding L, Bals O, Wan Y, Jaffrin MY, Vorobiev E (2013): Flux behavior in clarification of chicory juice by high-shear membrane filtration: Evidence for threshold flux, Journal of Membrane Science 435, 120-129

Acknowledgement: This research project was supported by the German Ministry of Economics and Technology (via AiF) and the FEI (Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V., Bonn). Project AiF 16836 N

Steigerung der Nanofiltrationsleistung bei der Konzentrierung von Milch und Molke durch vorgeschaltete Ultrafiltration

Increase in nanofiltration flux during the concentration of milk and whey by a previous ultrafiltration step

Patricia Meyer

Bei der Herstellung von Milch- und Molkepulvern erfolgt häufig ein Vorkonzentrieren mittels Umkehrosmose (UO), bevor der Trockenmassegehalt mittels energieintensiver Verfahren wie Eindampfung und Sprühtrocknung weiter erhöht wird. Aufgrund des Anstiegs des osmoti-

schen Druckes bzw. der Konzentrationspolarisation von Gelöststoffen und der Deckschichtbildung durch Proteine ist der mittels UO erreichbare Konzentrierungsfaktor (CF) limitiert. Ein möglicher Ansatz zum Erreichen höherer Konzentrierungsgrade ist eine Kaskadenschaltung mehrerer Membrantrennverfahren. Hierbei wird der UO eine Ultrafiltration (UF) vorgeschaltet. Die Anreicherung der Proteinfraktion wird damit auf ein geringeres Druckniveau verlagert und kann ohne Limitierung durch den osmotischen Druck erfolgen. Im nächsten Schritt kann das Permeat der UF in der UO deckschichtfrei konzentriert werden. Durch ein Rückverschneiden der Konzentrate könnten so höhere Konzentrierungsgrade erreicht werden als durch eine alleinige UO. Eine Alternative zum Aufkonzentrieren des Permeates durch UO stellt der Einsatz der Nanofiltration (NF) dar. Nanofiltrationsmembranen besitzen eine offenporigere Struktur und weisen deshalb eine höhere Permeabilität für einwertige Ionen auf. Somit spielt der osmotische Druck bei der NF eine geringere Rolle und es kann im Vergleich zur UO bei geringeren transmembranen Druckdifferenzen gearbeitet bzw. ein höherer Konzentrierungsgrad erreicht werden.

Zur Untersuchung des Einflusses einer Abtrennung der Proteinfraktion auf die Nanofiltrationsleistung wurde Süßmolke, Magermilch sowie mittels Ultrafiltration gewonnenes proteinfreies Serum (UF-Permeat) mittels NF bei einer Temperatur von 10 °C und einem Transmembrandruck von 20 bar konzentriert. Abb.1 ist der Flux als Funktion des Konzentrierungsfaktors der drei Filtrationsfluide zu entnehmen.

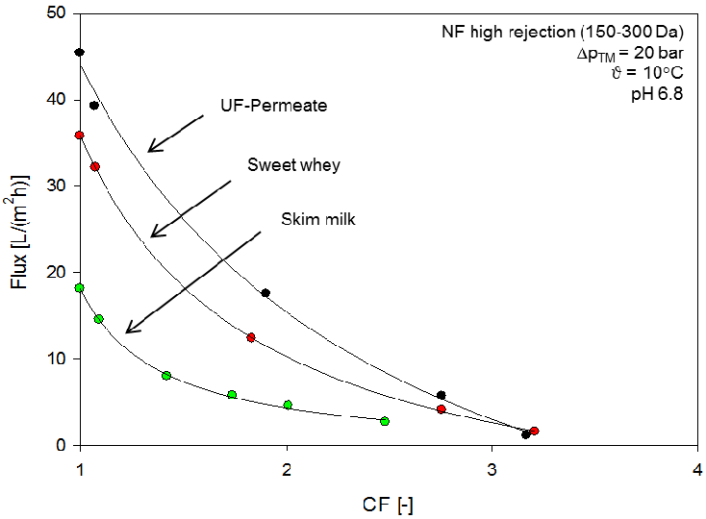
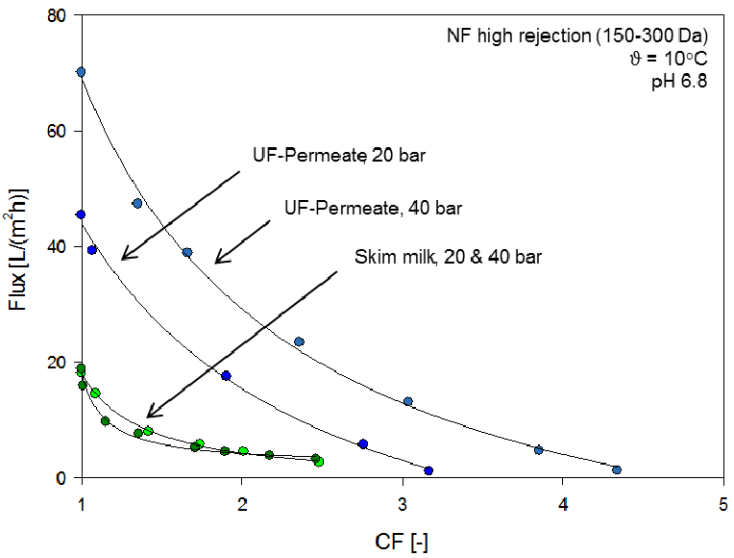


Abb. 1: Flux als Funktion des Konzentrierungsgrad für Magermilch, Molke und UF-Permeat bei einem Druck von 20 bar

Es wird deutlich, dass der Flux mit zunehmendem Konzentrierungsgrad stark abfällt und nach Abtrennung der Proteine auf einem höheren Niveau verläuft. So nimmt der Flux des proteinfreien Serums im Vergleich zur Süßmolke ca. 30 % höhere Werte an und bei Magermilch kann der Flux durch die Eliminierung der Proteine sogar um 200 bis 300 % gesteigert werden.

Bei der Konzentrierung von Milch bzw. Molke kommt es neben dem Anstieg des osmotischen Druckes außerdem zur Ablagerung der Proteine auf der Membran. Diese Ablagerungsschicht stellt einen zusätzlichen Filtrationswiderstand dar, wodurch die effektiv wirksame Druckdifferenz und damit auch der Flux vermindert werden.

Bei der Filtration von Magermilch sind neben Molkenproteinen außerdem Caseine an der Deckschichtbildung beteiligt. Es entsteht also eine Ablagerungsschicht mit einem größeren Widerstand als bei der Konzentrierung von Molke, bei welcher sich ausschließlich Molkenproteine auf der Membran ablagern. Dies erklärt, warum durch die Abtrennung der Proteinfraktion bei Magermilch ein deutlich stärkerer Effekt auf den Flux zu verzeichnen ist als bei Molke.



Der maximale Konzentrierungsgrad kann durch die Abtrennung der Molkenproteine nicht und durch eine zusätzliche Eliminierung der Caseinfraktion nur leicht gesteigert werden. Zum Erreichen höherer Konzentrierungsgrade wäre der Einsatz höherer Drücke denkbar. Aus diesem Grund wurden zusätzlich zu den Versuchen bei 20 bar Konzentrierungen bei einem Transmembrandruck von 40 bar durchgeführt.

Abb. 2: Flux als Funktion des Konzentrierungsgrad für Magermilch, Molke und UF-Permeat bei inem Druck von 20 und 40 bar

Die Ergebnisse der Filtrationen von Magermilch und UF-Permeat sind in Abb. 2 dargestellt. Es wird deutlich, dass durch eine Drucksteigerung von 20 auf 40 bar der NF-Flux von Milch nicht erhöht werden kann, wohingegen die Filtration von UF-Permeat auf einem deutlich höheren Fluxniveau verläuft. So kann durch die Abtrennung der Proteinfraktion bei einem Druck von 40 bar eine Fluxsteigerung um bis zu 600 % beobachtet werden.

Des Weiteren kann der maximal erreichbare Konzentrierungsgrad von 2,5 auf einen CF > 4 gesteigert werden. Das Verhalten von Magermilch ist darauf zurückzuführen, dass eine Druckerhöhung einen verstärkten konvektiven Transport von Fluidbestandteilen in Richtung Membran induziert, was in einer vermehrten Ablagerung und Kompression der Proteine auf der Membran resultiert. Die Steigerung des Druckes wird durch eine ausgeprägtere Deckschichtbildung und/oder -kompaktierung kompensiert und der Flux kann nicht mehr gesteigert werden. Im Gegensatz dazu ist die Konzentrierung des UF-Permeates ausschließlich durch den Anstieg des osmotischen Druckes sowie die auftretende Konzentrationspolarisation limitiert, wodurch hier eine Erhöhung des Druckes zu einer deutlichen Fluxsteigerung führt.

Es kann also festgehalten werden, dass durch die Eliminierung der Proteinfraktion durch eine vorgeschaltete UF der NF-Flux von Milch- bzw. Molkeserum deutlich gesteigert werden kann. Des Weiteren kann bei Applikation hoher Drücke einer höherer maximaler Konzentrierungsgrad erreicht werden.

Dank:
Das Forschungsvorhaben (AiF 16836 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.

Struktureigenschaften von Kaseindeckschichten
Structural properties of casein micelle deposits
Tim Steinhauer und Jonas Lonfat

Bei der Filtration von Milch sind das Auftreten von Membranfouling und die Ausbildung einer Deckschicht auch in Querstromsystemen unvermeidbar. Die Filtrationsleistung als Produkt aus dem Permeatvolumenstrom und der Stofftransmission wird durch diese Sekundärmembran reduziert. Um prozesstechnische Wege zu entwickeln, die es erlauben, die Deckschichtbildung zu reduzieren, ist ein grundlegendes Verständnis der Deckschichtbildungskinetik und -struktur notwendig. Dazu reichen allein die Kenntnis von Filtrationskennzahlen wie dem Flux und dem Filtrationswiderstand zur Charakterisierung der Fouling- und Deckschichteigenschaften nicht aus. Es muss deshalb eine Kopplung der Stofftransmission mit molekularen bzw. kolloidalen Deckschichtstrukturinformationen vorgenommen werden. Dies ist insbesondere für Milch bisher noch nicht systematisch geschehen und molekularmechanistisch beschrieben. In einer vorangegangenen Studie [Steinhauer et al., 2011] an reinen Kaseinmizellsuspensionen konnte abgeleitet werden, dass Kaseindeckschichten, wie sie bei der Mikro- und Ultrafiltration von kaseinhaltigen Fluiden wie Milch entstehen, als Funktion des Transmembran-druckes stark kompressibel sind. Der Filtrationswiderstand nimmt dabei überproportional mit dem Transmembrandruck zu. Auf Basis eines Modells für kompressible Deckschichten von Tiller et al. (1998) wurde in diesem Zusammenhang auch von Kühnl (2010) angenommen, dass sich Kaseinmizellen in Deckschichten nicht oder nur geringfügig deformieren und dass die Mizellen vereinzelt und nicht zu einem Gelnetzwerk aggregiert vorliegen. Darauf aufbauende Untersuchungen von Gebhardt et al. (2012) zeigten mittels Kleinwinkelröntgenstreuung unter streifendem Einfall, dass Kaseinmizellen in Deckschichten zu höheren Transmembrandrücken hin zunehmend stark deformieren, jedoch noch als vereinzelte Mizellen vorliegen. Qu et al. (2012) weisen ebenso wie Steinhauer et al. (2011) die Kompressibilität der Deckschichten nach. Sie folgern jedoch ohne Bezugnahme auf die Erkenntnisse von Gebhardt et al. (2012), dass Kaseindeckschichten eine schwammartige Gelstruktur aufweisen. Weiterhin beobachten sie einen irreversiblen Deckschichtwiderstand, der sich ab einem Transmembrandruck von 35 kPa ausbildet und mit zunehmendem Druck steigt. Dieser kann nicht konvektiv durch Rühren resuspendiert werden.

Aufgrund dieser uneinheitlichen Meinung in der aktuellen wissenschaftlichen Literatur wurde untersucht, welcher Anteil der Deckschichten diffusiv reversibel ist und damit als Haufwerk auf der Membran vorliegt. Dazu wurden standardisiert Kaseindeckschichten während Frontalfiltrationen bei einem Transmembrandruck von $\Delta p_{TM} = 4$ bar erzeugt. Anschließend wurden diese Deckschichten in einer definierten Menge proteinfreiem Milchserum diffusiv resuspendiert und die Kaseinkonzentration zeitabhängig bestimmt.

Wie aus Abb. 1 hervorgeht, nimmt die Kaseinkonzentration im proteinfreien Milchserum als Funktion der Zeit zunächst stark zu und erreicht nach 24 h ein Plateau bei ca. 8.2 mg/mL. Die allein durch Diffusion erreichte Resuspendierung deutet darauf hin, dass die Kaseinmizellen nur lose abgelagert, aber nicht fest gebunden waren. Würe die Deckschicht wieder vollständig resuspendiert, entspräche dies einer Konzentration von ca. 10.3 mg/mL. Somit können 20 % der Kaseinmizellen in der Deckschicht diffusiv nicht resuspendiert werden, sind also im Deckschichtverband fixiert (irreversibel adsorbierte Deckschicht). s kann somit eine Differenzierung in einen diffusiv reversiblen Deckschichtanteil und einen diffusiv irreversiblen Deckschichtanteil vorgenommen werden.

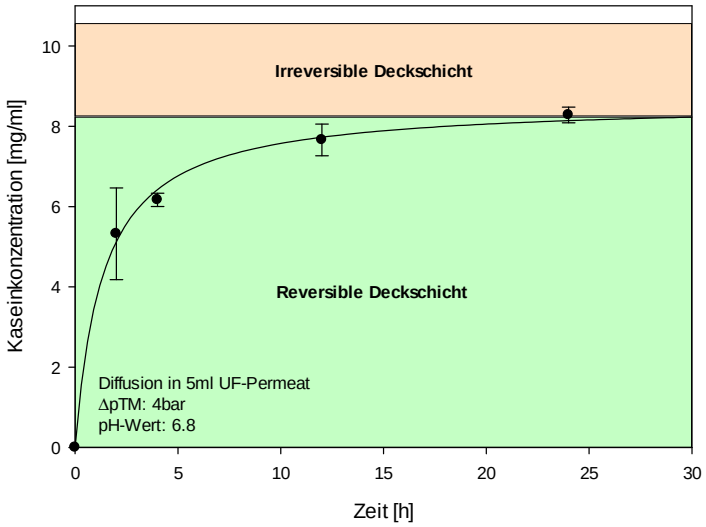


Abb. 1: Reversibilität einer Kaseindeckschicht durch Diffusion in 5 mL proteinfreiem Serum

Insbesondere durch den initial starken diffusiven Transport von Kaseinmizellen aus dem Deckschichtverband heraus anzunehmen, dass der reversible Deckschichtanteil als loses Haufwerk und nicht in Form eines Geles vorliegt. Zusammen mit Ergebnissen von Qu et al. (2012), die einen konvektiv irreversiblen Deckschichtanteil bestimmen konnten, kann somit von einem dreiphasigen Deckschichtmodell (Abb. 2) ausgegangen werden. So kann festgestellt werden, welcher Anteil an Protein rein diffusiv und welcher Anteil durch Strömungskräfte erodiert werden kann.

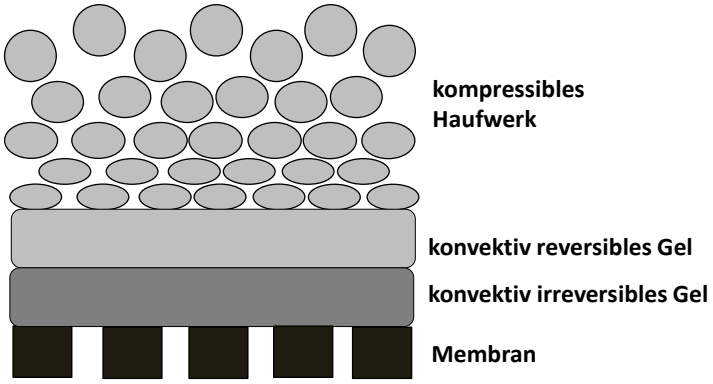


Abb. 2: Deckschichtmodell für die Filtration von Kaseinsuspensionen wie Milch

Nachdem die Kompressibilität und Dichte der Deckschichten abhängig von der Stärke der Partikel-Partikel-Wechselwirkungen zwischen den deckschichtbildenden Kaseinmizellen ist (Kühnl, 2010; Steinhauer, 2011), wurde die Reversibilität der Kaseindeckschichten auch als Funktion des pH-Wertes untersucht.

Der pH-Wert wurde dazu in einem Bereich konstanter Kaseinmizellgröße (pH 5.5-6.8) variiert und der diffusiv reversible Deckschichtanteil bestimmt. Die experimentell ermittelten Kaseinkonzentrationen im proteinfreien Milchserum sind in Abb. 3 dargestellt.

Der diffusiv reversible Deckschichtanteil nimmt vom sauren zum neutralen pH-Bereich zu. Grund für diesen Verlauf sind die Partikel-Partikel-Wechselwirkungen der Kaseinmizellen innerhalb der Deckschicht. Der isoelektrische Punkt, also der Zustand geringster Partikel-Abstoßung, von Kaseinmizellen liegt bei pH 4.6. Vom sauren pH-Bereich (pH 5.5) zum nativen pH-Wert der Milch (pH 6.8) nimmt die Partikelabstoßung demnach zu. Dies resultiert in einer höheren Reversibilität der Deckschicht, der Haufwerkanteil der Deckschicht nimmt infolge der höheren Abstoßungskräfte zwischen den deckschichtbildenden Partikeln von 60 % auf 80 % zu.

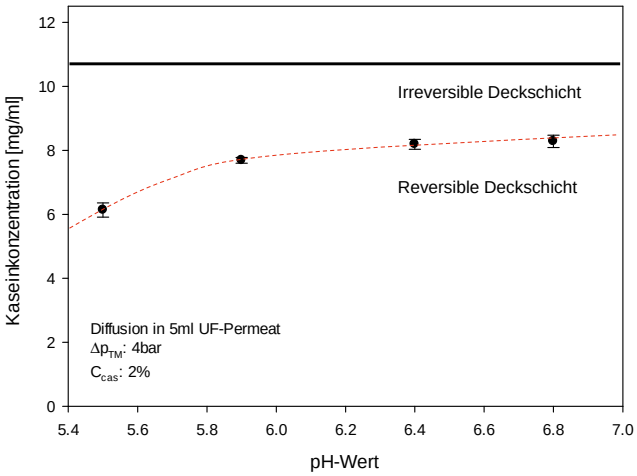


Abb. 3: Reversibilität einer Kaseindeckschicht durch Diffusion für 24 h in 5 mL proteinfreiem Milchserum als Funktion des pH-Wertes

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass ausgehend von einem Dreiphasen-Deckschichtmodell durch eine Erhöhung des Transmembrandruckes oder einer Verringerung der Partikel-Partikel-Abstoßung zwischen den Kaseinmizellen sowohl diffusiv als auch konvektiv reversible Deckschichtbereiche in eine irreversible Deckschicht überführt werden können. Für die Prozessführung bei industriellen Anwendungen bedeutet dies, dass aufgrund der Kompressibilität ein möglichst geringer Transmembrandruck gewählt und auch eine nur geringfügige Säuerung der Milch vermieden werden sollten. So kann die Erzeugung irreversibler Deckschichtareale, die nicht abspülbar und damit schlecht reinig bar sind, minimiert werden.

Literatur:
Steinhauer, T., Kühnl, W., Kulozik, U. (2011). Impact of protein interactions and transmembrane pressure on physical properties of filter cakes formed during filtrations of skim milk. Procedia Food Sc. 1, S. 886 – 892.
Gebhardt, R.; Steinhauer, T.; Meyer, P.; Sterr, J.; Perlich, J.; Kulozik, U. (2012): Structural changes of deposited casein micelles induced by membrane filtration. Faraday Discuss. 158, S. 77.
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, München.
Tiller, F.M; Lu, R.; Kwon, J.H; Lee, D.J (1998): Variable flow rate in compactible filter cakes. Water Research 33 (1), S. 15–22.
Qu, P.; Gésan-Guiziou G.; Bouchoux A. (2012): Dead-end filtration of sponge-like colloids: The case of casein micelle. In: Journal of Membrane Science 417-418, S. 10–19.

Temperaturabhängige Adsorption von β-Lactoglobulin an Anionentauschermembranen

Temperature dependent adsorption behaviour of β-Lactoglobulin to anion exchange membranes

Linda Voswinkel

Die Isolierung von β-Lactoglobulin (β-Lg) aus Molke mit Membranadsorptionschromatographie (MAC) ist eine vielversprechende Methode, um die Verträglichkeit von Molkenprodukten zu steigern. Im Rahmen eines Forschungsprojekts (AiF 16540 N) wurde ein Prozess entwickelt, um mittels MAC sämtliche Molkenproteine aus Süß- und Sauermolke zu isolieren. Der Prozess wurde vom Labor- auf den Pilotmaßstab übertragen. Um ein mikrobielles Risiko bei der Verarbeitung von Molke zu verringern, sollte bei niedrigen oder hohen Temperaturen (10 °C oder 50 °C) gearbeitet werden.

Die Prozessentwicklung im Labormaßstab hat jedoch bei Raumtemperatur stattgefunden, da das Labor-Flüssigchromatographie-system nicht temperierbar ist. Bei der Übertragung des Prozesses auf den Pilotmaßstab hat sich gezeigt, dass die Bindungskapazität von β-Lg sehr stark temperaturabhängig ist. Eine mögliche Erklärung dieses Effekts ist die abnehmende Löslichkeit von Calcium, welches sich dann bei höheren Temperaturen an die negativ geladenen Gruppen des β-Lg legen könnte. Eine andere Hypothese ist, dass der Effekt durch eine zeit- und temperaturbedingte Auffaltung des β-Lg verursacht wird, wodurch die vom Molekül eingenommene Adsorptionsfläche mit der Temperatur steigt. Somit würden mehr funktionelle Gruppen pro Molekül besetzt und die Bindungskapazität pro cm² sinkt.

Zur systematischen Untersuchung der Bindungskapazität bei verschiedenen Temperaturen wurden Durchbruchskurven (engl.: breakthrough curves, BTC) im Labormaßstab aufgenommen. Dabei wird die Säule mit einer Proteinlösung gesättigt, wobei die Flussrate, das Verhältnis von Volumen:Membranfläche und die Proteinkonzentration in allen Versuchen konstant ist. Das Volumen muss so groß sein, dass die Bindungskapazität der Säule überstiegen wird und somit die Ausnutzung der maximalen Bindungskapazität (q_{max}) sichergestellt ist. q_{max} wird aus der Differenz des Zielproteins in der Lösung vor und nach der Beladung berechnet.

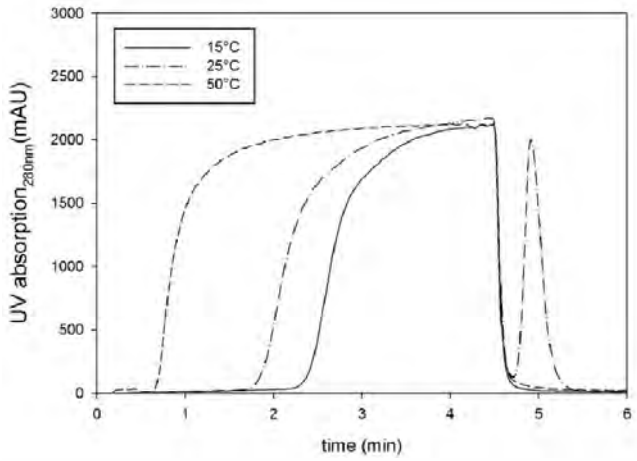


Abb. 1: Durchbruchskurven von β-Lg in Phosphatpuffer, pH 7, bei 15, 25 und 50 °C

In Abb. 1 sind die Durchbruchskurven von β-Lg in Phosphatpuffer bei 15, 25 und 50 °C dargestellt. Die Form der Kurven ist bei allen Temperaturen sehr ähnlich. Der steile Anstieg lässt auf überwiegend konvektiven Transport schließen, was bei der eingesetzten Säule zu erwarten war. Der frühe Anstieg der Kurve bei 50 °C zeigt, dass die Liganden sehr schnell gesättigt sind. Mit sinkender Temperatur steigt die Dauer bis zur Sättigung deutlich an, was eine erhöhte Proteinadsorption impliziert.

Als Substrat diente technische Molke (mikrofiltrierte Magermilch ohne Caseine), β-Lg in SMUF (proteinfreies Molkenserum aus der Ultrafiltration von Molke) und β-Lg in Phosphatpuffer, pH 7.

Durch den Vergleich von SMUF und Molke sollte festgestellt werden, ob sich andere Molkenproteine auf die Adsorption von β-Lg auswirken oder ob tatsächlich das Calcium bzw. das Milieu der Molke ausschlaggebend ist. Ein Modellsystem aus Phosphatpuffer und β-Lg dient zum Vergleich der Bindungskapazitäten, wenn keine störenden Begleitstoffe gelöst sind. Die maximalen Bindungskapazitäten für die drei Proteinlösungen als Resultat einer Dreifachbestimmung sind in Abb. 2 dargestellt. Bei Puffer ist q_{max} größer als in Molke und SMUF, was bedeutet, dass Begleitstoffe des Molkenmilieus die Bindungskapazität *unabhängig von der Temperatur* beeinflussen. Da die Werte von SMUF und Molke sehr ähnlich sind, v.a. bei 25 °C und 50 °C nicht signifikant voneinander abweichen, kann eine Besetzung der Liganden durch andere Molkenproteine ausgeschlossen werden.

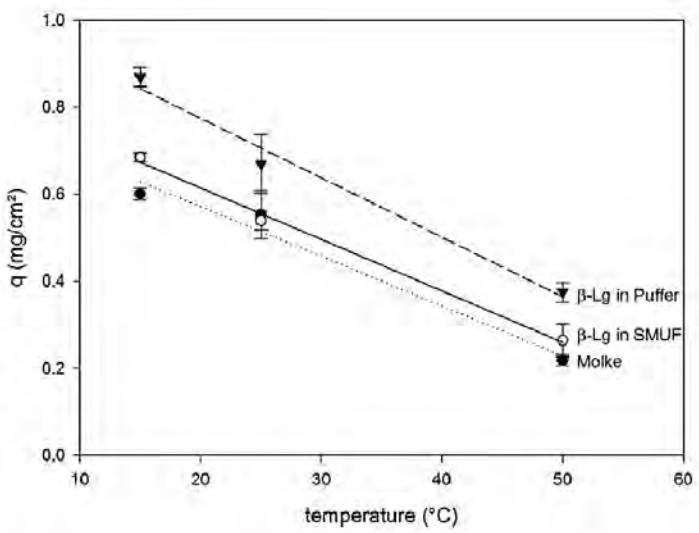


Abb. 2: Temperaturabhängige Bindungskapazität von β-Lg in Puffer, Molke und SMUF im Sartobind® nano-System

Auch die HPLC-Analytik des gebundenen Proteins zeigte, dass ausschließlich β-Lg adsorbierte.

Die Temperaturabhängigkeit folgt in allen Substraten einem linearen Zusammenhang (R^2 = 0.97-0.99) mit der gleichen Steigung. Es ist also unwahrscheinlich, dass Calcium die Bindungskapazität temperaturabhängig beeinflusst. Wäre dies der Fall, müsste q_{max} bei Puffer unabhängig von der Temperatur sein und nur SMUF und Molke die beobachtete Steigung aufweisen. Der Effekt muss also doch im β-Lg-Molekül selber liegen.

Die Konformation von β-Lg ist sehr sensibel gegenüber pH-Wert und Temperatur. Es ist bekannt, dass bei pH 7 das Molekül bis 50 °C als Dimer vorliegt und ab 50 °C als Monomer [1]. Dieser Zusammenhang könnte erklären, warum bei hoher Temperatur die Bindungskapazität um ca. die Hälfte abnimmt. Bei gleicher besetzter Membranoberfläche entspräche die Schichtdicke des gebundenen Proteins bei niedrigen Temperaturen dem zweifachen Moleküldurchmesser und bei 50 °C einem Moleküldurchmesser. Die Abnahme in q_{max} von 15 °C auf 25 °C hat vermutlich ausschließlich einen thermodynamischen Grund. Bei der Adsorption von länglichen Molekülen, wie dem β-Lg-Dimer, werden Adsorptionsmechanismen beschrieben, nach denen mit zunehmender Ligandensättigung ein Umlagerungsvorgang auf der Membran stattfindet [2,3]. Dieser Vorgang wird als ‚Spreading' bezeichnet und die Adsorptionskurven zeichnen sich im oberen Bereich durch ein verzögertes Erreichen des Maximums aus. Grund dafür ist, dass durch Umlagerung des Proteins von horizontaler auf vertikaler Ausrichtung freie Bindungsplätze geschaffen werden. Dieser Vorgang ist abhängig vom thermodynamisch günstigeren Zustand, ob die Proteinseiten einander zugekehrt sind oder mehr Oberfläche zum Lösungsmittel hin exponiert wird. Dabei kann ein Unterschied von 10 °C bereits ausschlaggebend sein. Weitere Untersuchungen zu dem Adsorptionsmechanismus sollen mikroskopisch und anhand von Modellbeschreibungen durchgeführt werden.

Literatur:
[1] Wit, J. de (2009): Thermal behaviour of bovine β-lactoglobulin at temperatures up to 150°C. a review. Trends in Food Science & Technology. 20 (1): 27–34
[2] Rabe, M.; Verdes, D.; Seeger, S. (2011): Understanding protein adsorption phenomena at solid surfaces. Advances in Colloid and Interface Science. 162 (1–2): 87–106
[3] Ghosh, P.; Vahedipour, K.; Lin, M.; Vogel, J.H.; Haynes, C.A.; Lieres, E. von (2013): Zonal rate model for axial and radial flow membrane chromatography. Part I: Knowledge transfer across operating conditions and scales. Biotechnology and Bioengineering. 110 (4): 1129–1141

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 16540 N)

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

Spiralförmige Brüche als Werkzeug zur Erforschung intermolekularer Wechselwirkungen in β-Lactoglobulin-Filmen

Spiral cracks as a tool to study intermolecular interactions in β-lactoglobulin films

Ronald Gebhardt und Ieva Petkeviciute

Molkenproteine sind Ausgangsmaterial für essbare, biologisch abbaubare Folien, die eine Alternative zu synthetischen Kunststofffolien darstellen [1]. Ohne Einsatz von Weichmachern neigen Molkenproteinfilme dazu vielfältige Bruchmuster auszubilden (Abb. 1A). Besonders markant sind spiralförmige Brüche, die sich mittels einer logarithmischen Spiralgleichung analysieren lassen:

$$r(\theta) = r_0 e^{k \cdot \theta} \quad (1)$$

In der Polarkoordinatenschreibweise stehen r für den radialen Abstand vom Ursprung, θ für den Drehwinkel und k für die Steigung der Spirale. In Molkenproteinfilmen haben wir k-Werte zwischen 0.034 – 0.046 bestimmt. Verglichen mit Spiralen in Filmen aus anorganischen Präzipitaten (k = 0.058 – 0.086) sind die Spiralen damit deutlich dichter (siehe Vergleich in Abb. 1b).

$$k(v_1, v_2) = \frac{v_1}{\sqrt{v_2^2 - v_1^2}} \quad (2)$$

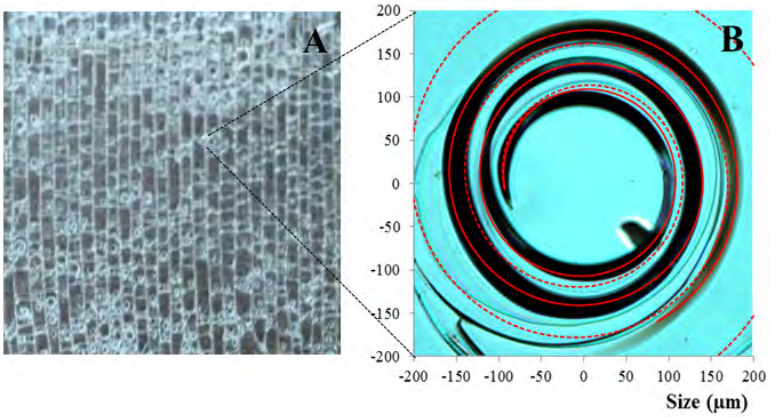


Abb. 1: Spiralförmige Brüche in β-Lactoglobulin-Filmen, präpariert auf Glasobjektträgern, (A) Typisches Bruchmuster mit Längsbrüchen, Kompartimenten und darin lokalisierten Spiralbrüchen (B) Logarithmischer Spiralbruch wie die Anpassung von Formel 1 an die Bruchform (durchgezogene, rote Linie) zeigt. Die offenere Spiralform (gestrichelte Linie), die in anorganischen Präzipitaten gefunden wird [2], ist zum Vergleich ebenfalls dargestellt

Mithilfe von Formel 2 lassen sich Informationen über die Geschwindigkeiten des Trocknungs- und Bruchausbreitungsprozesses gewinnen. Diese können z.B. verwendet werden, um den Einfluss von Weichmachern auf die kohäsiven und adhäsiven Wechselwirkungskräfte in Filmen zu untersuchen. Dies haben wir kürzlich am Beispiel der Weichmacher Glycerin, Wasser, Sorbitol und Saccharose in β-Lactoglobulin-Filmen demonstriert [3]. Aus unseren Ergebnissen lassen sich allerdings derzeit nur relative Änderungen der Bruchausbreitungsgeschwindigkeit mit zunehmender Weichmacherkonzentration und damit lediglich Trends für entsprechende Veränderungen der Wechselwirkungen ableiten.

Deshalb planen wir in Zukunft den Bruchbildungsprozess mit einer Hochgeschwindigkeitskamera abzubilden, um die Geschwindigkeit der Bruchausbreitung direkt auf einer Absolutskala zu bestimmen.

Literatur:
[1] Sothornvit, R., Hong, S. -I., An, D. J., Rhim, J. W. (2010). *LWT-Food Science and Technology*, 43, 279–284
[2] Néda, Z., Leung, K., Józsa, L., Ravasz, M. (2002). Spiral Cracks in Drying Precipitates *Phys. Rev. Lett*, 88(9), 95502
[3] Gebhardt, R., Petkeviciute, I. (2013) β-Lactoglobulin films with spiral cracks. *Food Structure*, accepted

Analyse von Struktur und intermolekulare Wechselwirkungen in β-Lactoglobulin-Lösungen

Analysis of structure and intermolecular interactions in β-lactoglobulin solutions

Ikuko Ueda und Ronald Gebhardt

Im zweiten Halbjahr haben wir ein ALV / CGS-3 Kompakt Goniometer System zur Charakterisierung kolloidaler Lösungen mittels winkelabhängiger statischer und dynamischer Lichtstreumessungen in Betrieb genommen. Abb. 1 zeigt eine schematische Skizze des Goniometers sowie ein Foto der Anlage im neu eingerichteten physikalischen Labor.

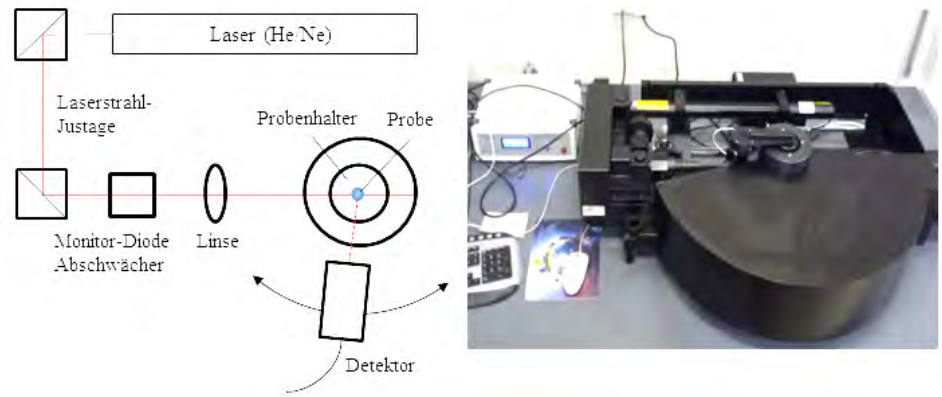


Abb. 1: Schematische Darstellung der wichtigsten Komponenten des ALV / CGS-3 Kompakt Goniometer Systems sowie ein photographisches Abbild der Apparatur

Die wichtigsten Komponenten sind ein 22 mW He/Ne-Laser, eine Laserstrahl-Umlenkung-Einheit zur Strahljustage, ein Laserstrahlabschwächer und eine Monitordiode zur Messung der ungestreuten Laserintensität, I_0 sowie die Goniometereinheit mit Küvettenhalter, faseroptischer Detektionseinheit und Lichtstreuelektronik [1]. In der Regel werden Lichtstreumessungen in Abhängigkeit der Massenkonzentration c_m der streuenden Teilchen durchgeführt. Die Auswertung der winkelabhängigen, statischen Lichtstreuintensität erfolgt über:

$$\frac{Kc_m}{R_\theta} = \left(1 + \frac{16\pi^2 R_G^2}{3\lambda} sin^2\frac{\theta}{2}\right)\left(\frac{1}{M} + 2Bc_m\right) \quad (1)$$

wobei K alle optischen Konstanten wie das Brechungsindexinkrement, die Wellenlänge des Laserlichts und die Avogadro-Zahl enthält und R_θ die auf I_0 bezogene Streulichtintensität I_S beinhaltet [2]. Anhand von Formel 1 lassen sich durch winkel- und konzentrationsabhängige Lichtstreumessungen das Molekulargewicht M und der Gyrationsradius Rg der streuenden Teilchen bestimmen sowie deren Wechselwirkungen untereinander mithilfe des zweiten Virialkoeffizienten B charakterisieren. Derartige Messungen haben wir an β-lactoglobulin Lösungen durchgeführt. Die obengenannten Parameter gewinnt man typischerweise aus der als Zimm-Plot bekannten Auftragung (Abb. 2) nach Anpassung von Formel 1 an die Daten und Extrapolation auf Streuwinkel $\theta = 0°$ und Konzentration $c_m = 0$ mg/mL. Die Werte der

Fitparameter M_W = 47 KDa und B = $1.017 \cdot 10^{-7}$ mol·dm^3/g^2 zeigen, dass sich in Übereinstimmung mit der Literatur [3] die überwiegende Mehrzahl der β-Lactoglobuline unter den gegebenen pH-Bedingungen im dimeren Zustand befinden und dass leicht abstoßende Wechselwirkungen zwischen den Molekülen vorherrschen.

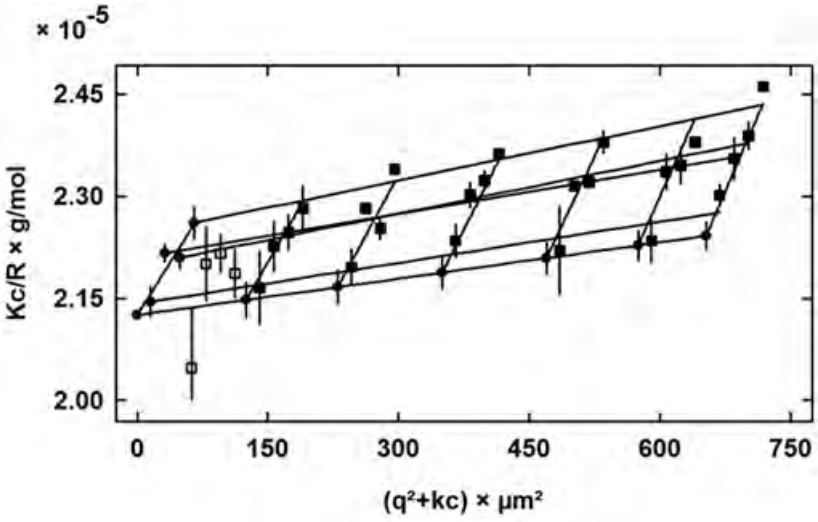


Abb. 2: Zimm-Plot Darstellung (k = 9.951) konzentrations- und winkelabhängiger statischer Lichtstreudaten von β-Lactoglobulin bei pH 7.

Ziel laufender Forschungs-vorhaben ist es, die aus proteintechnologischen Verfahren hervorgegangenen neuartigen Strukturen mit dieser Methode hinsichtlich ihrer molaren Masse, Ausdehnung und Wechselwir-kung genau zu untersuchen.

Literatur:

[1] Peters, R., ALV-Technical Documentation (2009) ALV-Laser Vertriebsgesellschaft mbH, Langen / Germany
[2] Schmidt, W. (1994) Optische Spektroskopie, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim / Germany
[3] Baussay, K., Le Bon, C., Nicolai, T. , Durand, D., Busnel, J. (2004) International Journal of Biological Macromolecules, 34, 21-28

Influence of plasticizers on the volumetric properties of β-Lactoglobulin in concentrated solutions

Einfluss von Weichmachern auf die volumetrischen Eigenschaften von β-Lactoglobulin in konzentrierten Lösungen

Namrata Pathak und Ronald Gebhardt

The analysis of spiral crack patterns has shown that addition of plasticizers influence adhesive and cohesive interactions in β-lactoglobulin films [1]. The appearance of cracks strongly depends on the rigidity of the film forming particles [2]. A volumetric characterization of β-lactoglobulin and its solvation layer in concentrated solution could provide useful information about the molecular conformation of the protein in the films state and new molecular knowledge about the impact of plasticizers. Propagation of sound is sensitive to the compressibility and the connectivity of structures in solutions [3]. Ultrasonic techniques for instance probe physical properties in the frequency range between 1-30 MHz. The Gelling and unfolding mechanism of milk-relevant systems have been investigated on the basis of divergences in sound speeds and attenuation and their temporal derivatives [4]. A more extended analysis taking both ultrasound velocity and density measurements of cosolvent solutions in the presence and absence of β-lactoglobulin into account provide important information about chang-

es in the volume and compressibility of the protein [5]. Thereby sound velocity is related to the density ρ and the adiabatic compressibility κ_S via

$$v = \frac{1}{\sqrt{\varrho \cdot \kappa_S}} \quad (1)$$

where κ_S is given by

$$\kappa_S = -\frac{1}{V}\left(\frac{\partial V}{\partial p}\right)_S \quad (2)$$

Here V is the volume of the protein solution and p the pressure. We carried out ultrasound velocity and density measurements in aqueous β-Lactoglobulin with varying concentration of glycerol in order to study its effect on protein compressibility. The data are shown in Fig. 1. Ultrasound velocity and density increase with glycerol concentration. This trend is consistent with data from literature [5] – differences are due to the use of a higher concentration of protein in our experiments.

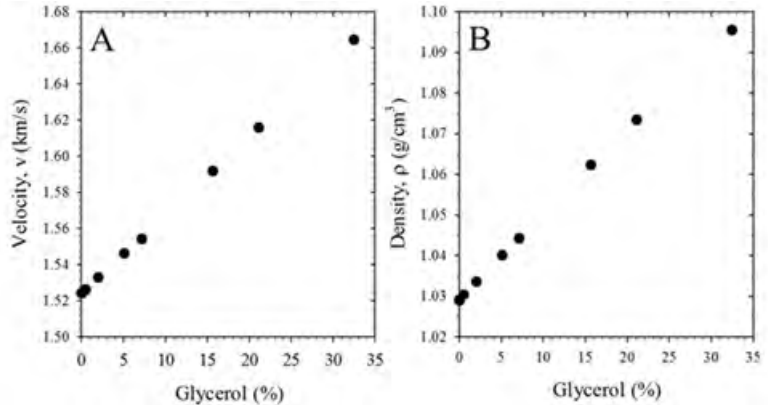


Fig. 1: Experimental results for β-lactoglobulin, (A) velocity versus cosolvent solution (B) density versus cosolvent solution

We calculated adiabatic compressibility from the measured velocities and densities. The preliminary results are compared with literature data [5] in Fig. 2. The higher protein concentration in our experiments results in a smaller adiabatic compressibility because proteins are known to be more rigid than cosolvent solution [3].

However, the difference in adiabatic compressibility becomes smaller with increasing glycerol concentration. Further investigation need to be carried out to study this effect in more detail. In addition, we plan light scattering experiments which probe osmotic instead of adiabatic compressibility. Such experiments will provide information about intermolecular interactions of β-lactoglobulin in the presence of different cosolvent concentrations and hence complement the ultrasonic experiments.

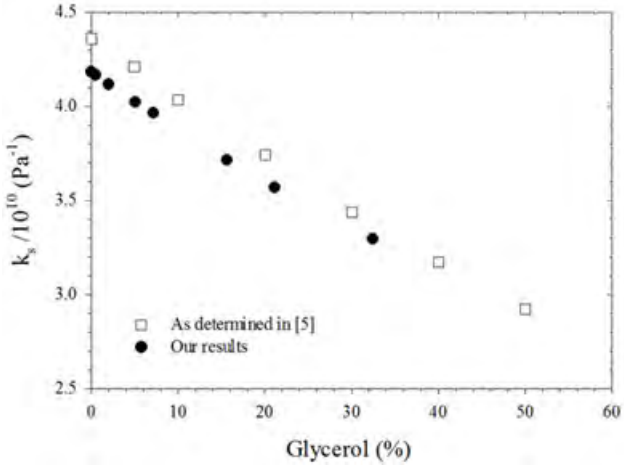


Fig. 2: Calculated compressibility according to Eq. 1 compared with data from literature [5]

Literatur:
[1] Ye, L., Liu, J., Sheng, P., Huang, J.S., Weitz, D.A. (1993) Journal de physique IV, 3, 183-196
[2] Tirumkudulu, M., S., Russel, W. B. (2004) Langmuir, 20, 2947-2961
[3] Gavish, B., Gratton, E., Hardy, C.J. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 750-754
[4] Wang, Q. (2008) Verlag Dr. Hut, München
[5] Chanasattru, W., Decker, E. A., McClements, D.J. (2008) Food Hydrocolloids, 22, 1475–1484

Änderung der Form und inneren Struktur von Kaseinmizellen, ausgelöst durch Filtrationskräfte

Changes in the shape and internal structure of casein micelles induced by filtration forces

Ronald Gebhardt

Im Rahmen eines DFG-Projekts und genehmigter Messzeitanträge an den Synchrotronstrahlungsquellen ESRF/Grenoble und DESY/Hamburg [1] haben wir Röntgenstreuexperimente in Reflektion (unter streifendem Einfall) sowie in Transmission an Membrandeckschichten durchgeführt und darüber berichtet [2]. Die detaillierte Auswertung der Streudatensätze hat neue Erkenntnisse über molekulare Strukturänderungen der Kasein-Mizellen als Folge wirkender Filtrationskräfte hervorgebracht. Aus der charakteristischen Abhängigkeit der Röntgenstreuung vom Streuvektor resp. Streuwinkel lassen sich Aussagen über die Form und Größe der Partikel gewinnen. So zeigen Streuexperimente in Reflektion, dass sich die ursprünglich kugeligen Kasein-Mizellen in der Deckschicht während der Filtration verformen. Abb. 1 zeigt eine eindimensionale Röntgenstreukurve von einer Kaseindeckschicht, die während der Filtration auf einem Siliziumnitrid-Mikrosieb abgetragen wurde. Wir haben die winkelabhängigen Streuintensitäten mit einfachen geometrischen Modellen analysiert. Es ist deutlich zu erkennen, dass sich ein Kugelmodell (durchgezogene Linie) nur unzureichend an die Streudaten anpassen lässt. Dagegen lassen sich die Streudaten sehr gut mit einem ellipsoiden Formfaktor

$$P(q_y) = 2\pi R^2 H \frac{J_1(q_{||}R)}{q_{||}R} sinc\left(q_z \frac{H}{2}\right) e^{iq_z\frac{H}{2}} \qquad (1)$$

beschreiben (Abb. 1, gestrichelte Line). Aus Formel 1 lassen sich sowohl Radius, R und Höhe, H der ellipsoiden Kasein-Mizellen bestimmen. Die Auswertung unserer Daten hat ergeben, dass Kaseinmizellen über den porösen Bereichen der Mikrosiebe zu prolaten Ellipsoiden verformt werden [3] (Dehnung senkrecht zur Membranoberfläche; schematisch gezeigt im Jahresbericht 2012) während sie in nichtporösen Bereichen zu Oblaten zusammengedrückt werden [4]. Neben Formänderungen kommt es während der Filtration auch zu Umwandlungen in der inneren Struktur von Kasein-Mizellen.

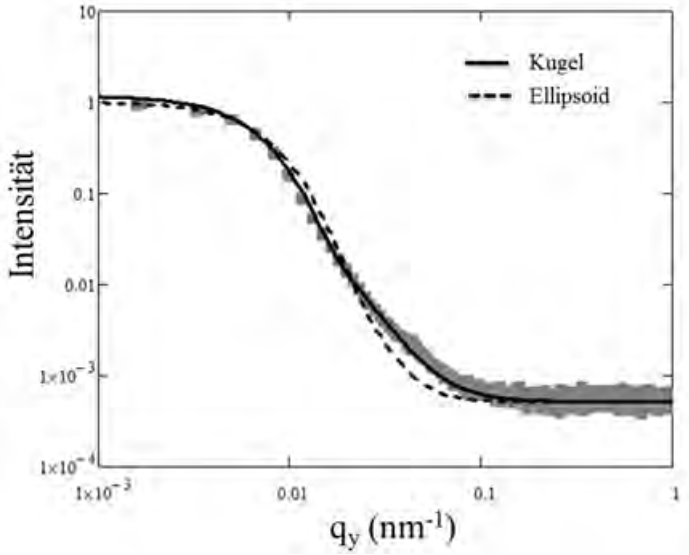


Abb. 1: Röntgenstreuintensitäten als Funktion der lateralen Komponente des Streuvektors q (offene Symbole) sowie Anpassungen der Daten mit Form faktormodellen für Kugel (durchgezogene Linie) und Ellipsoid (gestrichelte Linie)

Das haben Kleinwinkelstreuexperimente in Transmission, die wir an Kaseinablagerungen in einzelnen Membranporen durchgeführt haben, gezeigt. Den resultierenden Streukur-ven fehlt die typische Schulter in der Nähe des Streuvektor q = 1 nm^{-1}, die aufgrund von Kalzium-phosphat-Nanopartikeln innerhalb der Kasein-Mizelle existiert. Vielmehr ist eine Abnahme des Streukontrasts für die Nanopartikel wahrscheinlicher, die aufgrund der Verdichtung der Kasein-Matrix infolge der ellipsoiden Verformung resultieren könnte.

Aufgrund ihrer hohen Auflösung, Sensitivität und Einsetzbarkeit unter Prozessbedingungen sind Röntgenstreuexperimente die Methode der Wahl um Informationen über molekulare Größen- und Formänderungen von Biomaterialien in Ablagerungsschichten und Filmen zu erhalten.

Aus den experimentellen Resultaten lassen sich realistischere Deckschichtstrukturen rekonstruieren und entsprechende Filtrationswiderstände errechnen, die mit starren Kugelmodellen nicht erklärt werden können.

Für weiterführende Untersuchungen sind für das Jahr 2014 Röntgenstreuexperimente am SSRF in Shanghai beantragt und genehmigt worden.

Literatur:
[1] DFG-Projekt GE 2375/1-1; Proposal: II-20100144 (HASYLAB@DESY); Proposal: SC-3315 (ESRF)
[2] Jahresbericht 2011 ZIEL - Abteilung Technologie und Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie
[3] Gebhardt, R., Steinhauer, T., Meyer, P., Sterr, J., Kulozik, U. (2012) Faraday Discuss., 158, 77-88
[4] Gebhardt, R. (2014), Journal of Applied Crystallography, ISSN 1600-5767

Der Einfluss von pH-Wert und Salzkonzentration auf die Aggregation von Beta-Lactoglobulin während der Hochdruckbehandlung

Aggregation of beta-lactoglobulin under the influence of pH and salt concentration during high pressure processing

Daniel Saalfeld und Ronald Gebhardt

In den vergangenen Jahren ist das Milchprotein Beta-Lactoglobulin (blg) zu einem wichtigen Nahrungsmittelzusatzstoff geworden. Zurückzuführen ist dies unter anderem auf Studien zur Funktionalisierung von blg, die Zusammenhänge zwischen dem umgebenden Milieu und den Prozessparametern wie Temperatur, Scherung und hohem hydrostatischem Druck (HHP) untersuchten. Dabei zeigte sich in den HHP Untersuchungen, dass sowohl die Konformation als auch die Aggregation von blg beeinflusst werden [1] und somit neue Möglichkeiten der Funktionalisierung resultieren könnten. HHP stellt somit eine gute Alternative zu den bereits bekannten thermischen Verfahren dar, welche zur Erzeugung von Molkenproteinaggregaten bekannt sind. Neben den funktionalisierenden Aspekten von HHP, wie dem Erzeugen von Aggregaten in denen bioaktive Substanzen eingeschlossen werden können [2], ist es möglich Informationen über die Reaktionskinetiken/ -mechanismen sowie thermodynamischer Parameter von Proteinen zu bekommen. Im Kontext dazu ist der Einfluss von pH-Wert und Salzkonzentration von besonderer Bedeutung.

Aus diesem Grund erfolgten Untersuchungen der hochdruckinduzierten Aggregation einer 5%igen (w/w) blg-Lösung unter Variation der Milieubedingungen und des Drucks. Die Proben wurden anschließend an die Behandlung mit Hilfe des Texture Analyzers auf die Gelstärke bzw. mittels des Zetasizers auf die Partikelgröße untersucht. Zudem wurde der Einfluss auf die native Struktur des blg durch HPLC-Messungen untersucht.

Abb. 1 zeigt den Einfluss der Salzkonzentration und der Ionenart auf die Gelstärke bei verschiedenen Drücken. Es ist ersichtlich, dass sowohl mit steigender Salzkonzentration ($CaCl_2$) als auch mit der Art der Ionen (einwertige/zweiwertige) die Gelstärke der blg-Lösung zunimmt.

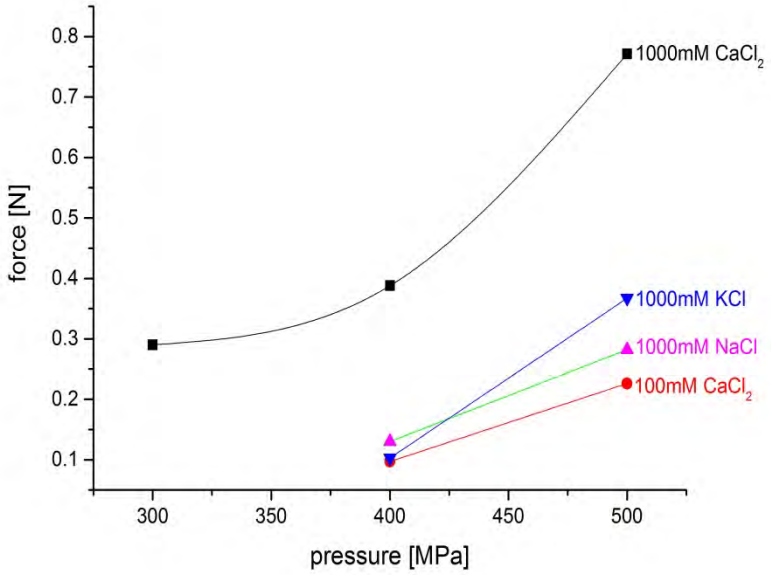


Abb. 1: Einfluss des Drucks und Salzkonzentration auf die Gelstärke einer behandelten % (w/w) blg-Lösung

Des Weiteren wird deutlich, dass durch Erhöhung des Drucks ein festeres Gel erhalten werden kann. Ein ähnliches Verhalten von blg wird auch bei Variation des pH-Wertes (4,7; 6; 8) beobachtet, wobei nur bei pH 4,7 eine Gelbildung bei allen drei beobachteten Drücken erreicht werden konnte. Im Gegensatz dazu konnte bei pH 6 sowie pH 8 keine Gelbildung induziert werden.

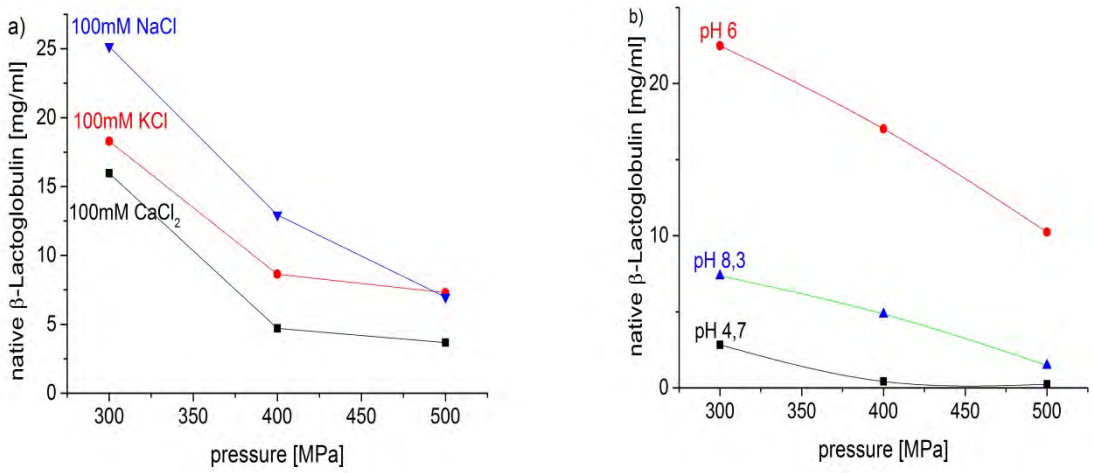


Abb. 2: Einfluss des Drucks sowie a) der Salzkonzentration und b) des pH-Wertes auf die Nativität einer behandelten 5 % (w/w) blg-Lösung

Der Einfluss kombinierter Parameter auf die Nativität des blg ist in Abb. 2 gezeigt. Es konnte beobachtet werden, dass sowohl der Druck als auch das umgebende Milieu einen Einfluss auf die native Struktur des Proteins haben. Zu einer signifikanten Abnahme der Nativität von bis zu 75 % führt dabei die Erhöhung des Drucks von 300 auf 400 MPa. Im Vergleich der Milieubedingungen wird ersichtlich, dass der pH-Wert einen größeren Einfluss auf die Struktur des blg ausübt als die Konzentration der Ionen bzw. Ionenart.

Literatur
[1] R. Gebhardt et al. (2012), Soft Matter**,** 8**,** 11654-11660
[2] A. Mensi et al. (2013), Food Chemistry, 139, 253-260

Effects of high-methyoxyl pectin on casein micelles
Einfluss hochmethylierter Pektine auf Kasein-Mizellen
Yu Zhuang und Ronald Gebhardt

Proteins and polysaccharides play an important role on the structural properties of food products. Study of their interactions has raised many interests in the recent years. Among the protein materials, casein micelle (CM), the abundant protein in milk, receives an increasing attention by the food, cosmetics and pharmaceutical industries. Pectin is an anionic polysaccharide, which consists of a partially methylesterified galacturonic acid backbone with branches of arabinose, galactose and xylose. It is commonly utilized as a stabilizer, gel former and/or viscosity enhancer in protein rich dairy products. High-methoxyl pectin (HMP) has a high degree of methylesterification, and is shown to be efficient in textural modification and stabilization of acidified milk dairy products. The mechanism of the complex formation between CMs and HMP at various pHs has been widely discussed. At neutral (i.e. pH 6.8), individual molecules are mostly negatively charged and separated from each other because of strong electrostatic repulsion. At this point, pectin molecules are expelled from the overlapping areas with a lowered effective osmotic pressure of the polymers. This is the so-called volume exclusion depletion. When pH decreases, the electrostatic repulsion between the molecules becomes weak, while the hydrophobic interaction among polymers is enhanced. It has been shown that pectin interacts with the positive patches of protein particles and form complexes. Under acidified condition, the pectin molecules adhere onto the surface, penetrate into and replace the collapsed layer of κ-casein of the CMs. This results in the formation of an additional charged layer. The new layer prevents CMs from forming aggregation by the effects of electrostatic and steric stabilization. De Kruif and his co-worker reported that both high- and low-methoxyl pectin, at the pectin/casein ratio of 1/30 w/w, contribute to the increased apparent particle sizes at pH 5.3 (1). They attributed this phenomenon to the interconnection or bridging by pectin molecules between CMs. Whereas a large amount of information is available on the interaction between CMs and HMP in acidified dairy products (2), very little is known about the effect of HMP on casein-based thin films. Study on edible films can lead to development of novel packaging materials to be used as alternatives to polymeric non-biodegradable films. McHugh and his co-workers casted a milk-protein-based film by pouring aqueous solutions of the protein onto a flat hard surface, and found that the films were good barriers to water vapor and oxidation. However, coating method, relative humidity, drying temperature and/or applied plasticizer can all affect the performance and functionality of the thin films.

First set of experimentation was aimed to characterize the compositions of the upper and lower phase formed after segregative phase separation of CMs/HMP mixture at pH 5.3 and 7. The separation of the two phases was enhanced using centrifugation. Figure 1 shows a digital photograph of the phase-separated phases rich in different biopolymers. A red pectin dye (Ruthenium red) incorporated into the mixed biopolymer system showed that there was a higher pectin concentration in the upper than the lower phase. With increased pectin concentrations, the upper layer was enlarged at both pH 5.3 and 7. As shown in Figure 1, the boundary between pectin (pink) and CMs (white) at pH 5.3 was not as obvious as shown in pH 7. Interestingly, at pH 5.3, the dye was more homogenous dispersed in the system. This might relate to a good incompatibility between pectin and CMs at low pHs. These observations were in good agreement with those of others who examined a similar phase-separated system.

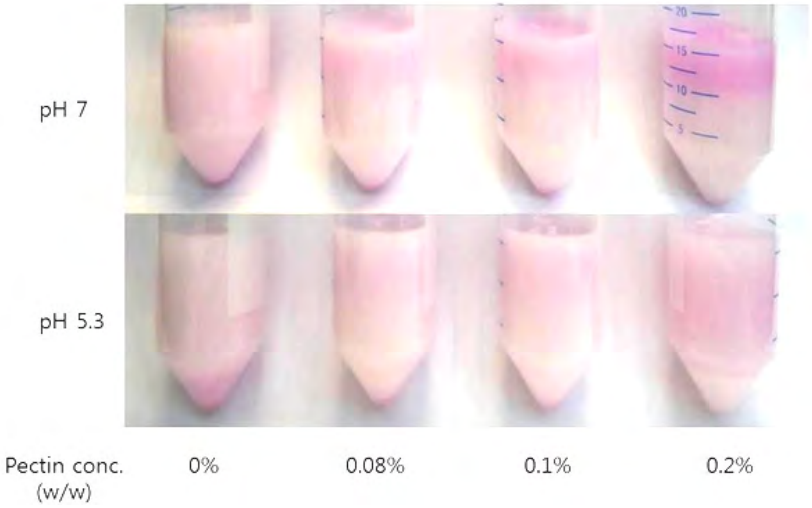


Fig. 1: Pic Pictures of phase separated CMs/HMP mixtures at pH 5.3 (below) and 7 (above) with pectin-rich phase dyed in pink with Ruthenium red

Film formation and char-acterization by optical analysis

The experiments were designed to determine the effect of HMP on CM-based film, especially its effect on crack formation. Figure 2 presents pictures of CMs/HMP films pre-pared by solution casting. Added pectin showed strong effect on the surface properties of the films. In the control group at pH 7, large cracks developed from the edge toward the center of the slice. With addition of pectin, the size of the cracks decreased, but the number increased significantly. The smooth surface structure might be attributed to the high water binding capacity of the pectin molecules. Apparently, the morphology was characterized due to the presence of CMs/HMP matrix that developed in the dispersion and moved to the surface in the course of water evaporation. In addition, the film elasticity seems to increase when pectin was added. That also indicated the energy, which induced the crack formation, was affected by pectin. However, further investigation will be needed to understand the behaviors on solid substrates.

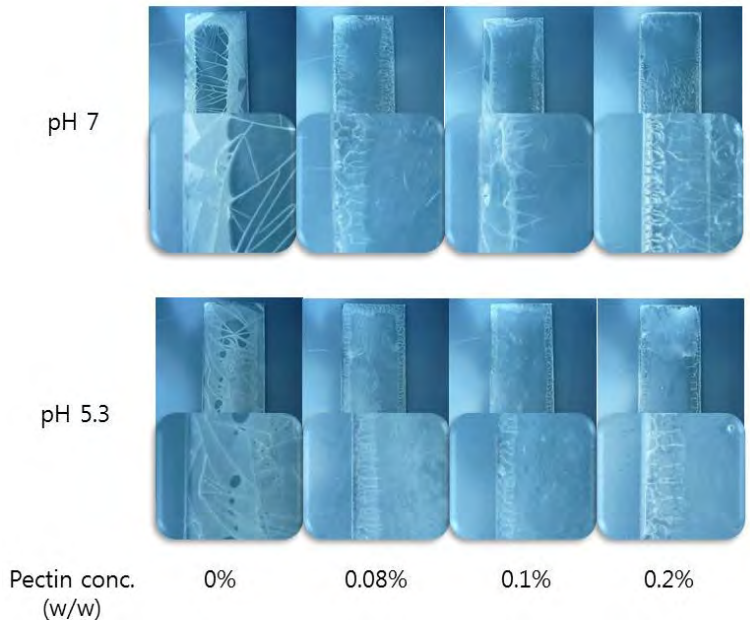


Fig. 2: Optical pictures of CMs/HMP film dried on glass slides (at 20°C and 30% RH) for 72 hours. Above: 0%, 0.08%, 0.1% and 0.2% HMP (from left to the right) mixed with CMs at pH 7. Below: 0%, 0.08%, 0.1% and 0.2% HMP (from left to the right) mixed with CMs at pH 5.3

In summary, a series of CMs/HMP matrix was examined by investigation of solution and thin films on solid substrates. CMs are compatible with HMPs well in solutions at low pHs. On the other hand, blending pectin with CMs was found to produce cracks on the thin films.Further investigation is needed for structural information on thin blend films as well as their mechanical properties, water content.

Literature:
De Kruif CG, Zhulina EB, Kruif CG de (1996) K-casein as a polyelectrolyte brush on the surface of casein micelles. *Colloids and Surfaces* 117:151–159
De Kruif C. (1999) Casein micelle interactions. *Int Dairy J* 9:183–188

Habilitationen, Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten

Habilitationen

Cheison, Seronei Chelulei: Towards Controlled Hydrolysis of Proteins: Impact of the Hydrolysis Environment on Hydrolysis Patterns and Kinetics in Whey Proteins, April 2013

Dissertationen

Karasch, Sebastian: Homogenisierung von Milch-Emulsionen - Dispergieren mit Lochblenden - Einflussfaktoren und Auswirkungen - Aggregationsverhalten der Milchfettkugeln, 11.01.2013

Guyot, Christopher: Transglutaminase-induzierte und Transglutaminase-unterstützte Gele aus Milchproteinen, 28.01.2013

Betz, Michael: Encapsulation related characterisation and applicatrions of thermal whey protein, 01.02.2013

Pruß, Katherina Ada: Inaktivierung von Mikroorganismen auf Packstoffoberflächen mit gasförmigem und kondensierendem Wasserstoffperoxid, 18.09.2013

Bachelorarbeiten

Barbu, Benjamin: Stabilisierung von Emulsionen mit nativem und hydrolysiertem ß-Lactoglobulin

Bauer, Sabrina: Mikrowellenvakuumtrocknung von Früchten und Vergleich zur Gefrier- und Konvetionstrocknung

Birle, Daniel: Einfluss kolloidaler Partikelinteraktionen zwischen Molkenproteinen im Foulingprozess

Brodbeck, Theodora: Einfluss des Trockenmassegehaltes von Umkehrosmose-Molkekonzentraten auf die hitzeinduzierte Molkenproteindenaturierung sowie Sporeninaktivierung

Budach, Katharina: Proteinfraktionierung aus Bierwürze

Gerg, Sebastian: Einfluss verschiedener Faktoren auf die Struktur und die Schäumungseigenschaften von Natriumcaseinat

Gintenreiter, Eva: Einflussfaktoren auf die Hitzestabilität von Milch und Milchkonzentraten

Glotzbach, Alexander: Einfluss der Mikrowellen-Vakuumtrocknung auf die Inaktivierung von Lactobacillus paracasei ssp. paracasei

Graber, Michael: Einfluss der Hefeextraktkonzentration im Fermentationsmedium auf das Überleben von Lactobacillus paracasei ssp. paracasei während der Niedertemperatur-Vacuumtrocknung

Griebel, Anna: Untersuchung der labinduzierten Gelbildung von Buttermilch zur Gewinnung von MFKM-Proteinen

Haag, Nicolas: Downstream fractionation of a whey protein isolate depleted in ß-Lactoglobulin by trypsinoysis

Hanély, Sabrina: Einfluss von Temperatur und pH-Wert auf die Permeationsvorgänge bei der Filtration von Molke

Harbauer, Verena: Reinigung, Desinfektion und Sterilisation dargestellt anhand moderner Reinigungstechniken in der Lebensmittelindustrie, Schwerpunkt Desinfektion mit aktiviertem Wasser

Himbert, David: Untersuchung des Rahmwaschens hinsichtlich des Einflusses auf die Stabilität von Milchfettkugeln

Högg, Elisabeth Maria: Gewinnung reiner Peptidfraktionen des tryptischen Hydrolysats von ß-Lactoglobulin

Horn, Stefanie: Einfluss von unterschiedlichen Erhitzungstemperaturen auf das Überleben des Lactobacillus paracasei ssp. F 19 in Magermilch oder Labgelmatrix unterschiedlicher Trockenmassenkonzentrationen unter Verwendung der Schutzstoffe Trehalose und Sorbitol

Iraki, Tair: Thermische Denaturierung von Molkenproteinlösungen im Wasserbad

Jaud, Marina: Fraktionierung von Milchfettkugelmembran-Proteinen mittels Membranadsorptionschromatographie

Jones, Louisa: Macroprous adsorption resin and ethanol extraction-aided membrane purification of a-lactalbumin from selective whey protein chymotrypsin hydrolysates

Krauß, Sandra: Ultra- und Mikrofiltration von Sauermolke

Krischke, Maria: Charakterisierung der Gelbildungseigenschaften von frischem und pasteurisiertem Eiklar sowie Eiklarpulver

Kurz, Franziska: Einfluss des Trockenmassegehaltes von Umkehrosmosekonzentraten auf die hitzeinduzierte Molkenproteindenaturierung und Sporenaktivierung

Lang, Céline: Einfluss der Prozess- und Lagerbedingungen auf hocherhitzte ESL-Magermilchkonzentrate

Lonfat, Jonas: Untersuchung der Deckschichtstruktur bei der Filtration von Milchproteinen

Lotz, Silke Maike: Optimierung der Lysozym-Fraktionierungsmethode mittels Membran-Adsorptions-Chromatographie im Labormaßstab

Maier, Christina Alena: Einfluss von Schichtdicke, Produktlast und Energieeintrag bei der Mikrowellen-Vakuumtrocknung auf den Trocknungsverlauf und die Produktqualität von Lactobacillus paracasei ssp. paracasei

Miehle, Elisabeth: Einfluss von Scherrate und Temperatur auf die Aggregation von Molkenproteinen bei hohen Proteinkonzentrationen

Neuhauser, Michaela: Beeinflussung der Resistenz von Bacillus subtilis Sporen gegenüber flüssigem Wasserstoffperoxid durch verschiedene Kultivierungsverfahren

Prusko, Veronika: Einfluss von Kapselgröße und pH-Wert auf die Überlebensrate von mikroverkapselten Probioika im simulierten Magensaft

Rauch, Christin: Untersuchung der Gelbildungseigenschaft von Molkenproteinfraktionen im nicht gescherten System - Einfluss von Calcium

Rechenmacher, Magdalena: Einfluss der Partikelgröße auf die Struktur von Kaseindeckschichten

Reiner, Alexandra Veronika: Einfluss verschiedener Prozessparameter auf die Schaumbildungseigenschaften von ß-Latoglobulin

Scheibenzuber, Teresa: Untersuchung der Schutzwirkung verschiedener Zucker bei der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung

Scholz, Christoph: Untersuchungen zur Größenfraktionierung von Caseinmicellen mittels Mikrofiltration

Waldschütz, Laura: Einfluss verschiedener Vorbehandlungen und Faktoren auf die Struktur und die Schäumungseigenschaften von Eiklar

Zehe, Anja: Charakterisierung der Struktur von Schäumen aus Molkenprotein und Casein in Abhängigkeit von der Proteinkonzentration, dem pH-Wert und der Aufschäummethode im Vergleich zu Magermilch

Diplom- und Masterarbeiten

Beltran Lobato, Jorge U.: Titrimetric Determination of Micellar Calcium during the Ripening of Natural Cheese and its Relevance for Process Cheese Production

Böttger, Daphne: Development of a microwave vacuum process for gentle preservation of Lactobacillus paracasei subsp. paracasei F19 embedded in a protective foam structure

Dechau, Johannes: Einfluss verschiedener Faktoren auf die Struktur und Schäumungseigenschaften von mizellarem Casein

Mörgenthaler, Miriam: Einfluss von Trocknungstemperatur und Dehydrierung bei der Sprühtrocknung auf die Überlebensrate von freien und verkapselten Probiotika mit und ohne Schutzstoff

Schenkel, Sebastian: Methodenentwicklung zur chromatographischen Molkenproteinfraktionierung mit tangential überströmten Membranadsorbern im Pilotmaßstab

Schnierda, Tillmann: Optimization of carbon and nitrogen medium components for the biomass production of selected non-Saccharomyces wine yeasts

Skowronek, Annemarie: Isolierung von Milchfettkugelmembran-Material unter Einsatz von Filtrationstechniken

Voigt, Katharina: Methodenentwicklung zur chromatographischen Lysizymfraktionierung mit tangential überströmten Membranadsorbern im Pilotmaßstab

Wiesner, Sven Peter: Charakterisierung des Gelbildungsprozesses während der Sprühtrocknung von Labgelmikrokapseln

Vorträge

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Quakenbrück, 25.-27.02.2013

Ambros, S., Först, P., Kulozik, U.: Minimierung der Vitalitätsverluste von mikrobiellen Kulturen bei der Mikrowellen-Vakuumtrocknung durch gepulsten Energieeintrag

Dombrowski, J., Kulozik, U.: Einfluss von pH-Wert und Temperatur auf die Grenzflächenaktivität und das Schäumungsverhalten von Caseinmizellen

Holzmüller, W., Kulozik, U.: Beurteilung alternativer Methoden zur Gewinnung und Isolierung von Milchfettkugelmembran-Material

Merkl, M., Kulozik, U.: Thermische Aggregation von Molkenproteinen unter Scherung

Würth, R., Först, P., Kulozik, U.: Schonende Verkapselung sensitiver Inhaltsstoffe durch Sprühtrocknung im Pilotmaßstab am Beispiel von Probiotika

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Trocknungstechnik, Magdeburg, 10.-12. 03.2013

Bauer, S. A. W., Kienberger, H., Kulozik, U., Först, P.: Auswirkung verschiedener Fermentations-pH-Werte auf die Zellmembran probiotischer Bakterien und deren Stabilität in der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung

Workshop on Emulsions and Emulsification, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, 26.03.2013

Strixner, T., Kulozik, U.: Fractionation and separate utilization of the techno-functional potential of egg yolk's main fractions plasma and granules

12. FEI Kooperationsforum, Bonn, 16.04.2013

Kulozik, U.: Energieeffiziente Kaskandenschaltung zum Hochkonzentrieren von Lebensmitteln

7th European PhD Workshop on Food Engineering and Technology, Parma, Italien, 07.-08.05.2013

Schmitz-Schug, I.: Modelling lysine losses during spray drying of dairy powders

EuroFoodChem XVII, Istanbul, Türkei, 07.-10.05.2013

Brand, J., Kulozik, U.: New mechanical method for increasing the processability of egg white combined with an improvement of functionality

Merkl, M., Kulozik, U.: Microparticulation of whey proteins by extrusion cooking

Meyer, P., Kulozik, U.: Dynamic ultrafiltration with rotating membranes – a new method to produce highly enriched milk protein concentrates

Steinhauer, T., Kulozik, U.: Molecular fouling model for the membrane filtration of whey: A recombination study from single proteins to complex protein mixtures

6th Nordic Drying Conference NDC, Kopenhagen, Dänemark, 05.-07.06.2013

Ambros, S., Först, P., Kulozik, U.: Temperature controlled microwave vacuum drying as innovative drying technique: Influence of process and product parameters on the product quality of probiotics

GDL – Symposium „Sicherung der Lebensmittelqualität – kinetische Aspekte", Potsdam, 24.-25.06.2013

Kleemann, C., Kulozik, U.: Grundlagen der Reaktionskinetik – Stand und Entwicklung.

Internationale Konferenz Trenn- und Trocknungsverfahren für Milch und Molke, Kempten, 25.-26.06.2013

Steinhauer, T.; Kulozik, U.: Optimierung der UF Leistung bei der Herstellung von Molkenproteinkonzentraten durch vorgeschaltete Mikrofiltration

ADSA – ASAS Joint Annual Meeting, Indianapolis, USA, 08.-12.7.2013

Kulozik, U.: Utilization of enzymes to influence the functionality of milk proteins

Leeb, E., Cheison, S. C., Kulozik, U.: Production of Dairy based Functional Peptides and their Fractionation by Membrane Adsorption Chromatography

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Direct capture membrane adsorption chromatography with crude whey at pilot scale

26th PREP International Symposium on Preparative and Process Chromatography, Boston, USA, 14.-17.7.2013

Brand, J., Kulozik, U.: Egg white protein fractionation with membrane ion exchange chromatography

Leeb, E., Cheison, S. C., Kulozik, U.: Fractionation of Peptides by High-Throughput Ion-Exchange Chromatography – Unspecific Interactions of the Peptides with the Stationary Phase

62th Annual Conference on Applications of X-ray Analysis, Westminster, CO, USA, 05.-09.08.2013

Gebhardt, R.: X-ray scattering on casein micelles and high density lipoproteins (HDL) Granules during processing

4th International Conference on Biofoams, Toronto, Kanada, 27.-29.08.2013

Ambros, S.; Dombrowski, J; Kulozik, U.: Application of protein-stabilized foam structures as protective carrier systems during drying of probiotics

Dombrowski, J., Eggert, A., Hanke, R., Kulozik, U.: From Microscale to Macroscale: Understanding the Role of Single Proteins in Complex Food Systems.

51st European High Pressure Research Group: EHPRG, 1.-6.09.2013, London, UK

Aggregation of β-Lactoglobulin under the influence of pH and salt concentration during high pressure processing

Dairy Conference 2013, Stuttgart-Hohenheim, 16.-17.09.2013

Dombrowski, J., Eggert, A., Hanke, R., Kulozik, U.: Impact of pH and temperature on the surface activity and foaming properties of casein micelles

Dumpler, J., Kulozik, U.: Heat stability of concentrated skim milk as a function of pH

Heidebrecht, H., Toro-Sierra, J., Kulozik, U.: Specific enrichment of bovine Immunoglobulins with membrane filtration technology

Holzmüller, W., Kulozik, U.: Different methods for the isolation of milk fat globule membrane to reduce the loss on milk fat globule membrane proteins

Gebhardt R., Kulozik, U.: Deposit Structure of Casein Micelles explored by X-ray scattering

Kulozik, U.: Trends and Emerging Technologies in Dairy Processing

Marx, M., Kulozik, U.: Influence of the dry matter content of reverse osmosis whey concentrates on microbial and functional quality criteria

Steinhauer, T., Lonfat, J., Kulozik, U.: A recombination study from single proteins to complex protein mixtures for the determination of a molecular fouling model at the membrane filtration of whey

Würth, R., Först, P., Kulozik, U.: Protecting effect for probiotics in spray dried milk protein microcapsules

15th European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Bergamo, Italien, 15.-19.09.2013

Brand, J., Strixner, T., Kulozik, U.: Egg white pre-treatment by high-pressure homogenization to improve the processability

Strixner, T., Brand, J., Kulozik, U.: An industrially viable continuous centrifugal separation process of liquid egg yolk

5th International Symposium on Delivery of Functionality in Complex Food Systems, Haifa, Israel, 30.09.-03.10.2013

Gebhardt, R., Strixner, T., Kulozik, U.: Nano- and microscale structural changes of casein micelles and HDL-granules during processing

Kulozik, U.: Enzymes as tools to convert milk proteins into innovative structures and bioactive delivery systems

Würth, R., Först, P., Kulozik, U.: A novel encapsulation technology for probiotics in milk protein matrices by spray drying

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising-Weihenstephan, 10.-11.10.2013

Gebhardt, R., Kulozik, U.: Neue Methoden zur Strukturaufklärung und –charakterisierung von Lebensmitteln und Grenzschichtfilmen im mikroskopischen und molekularen Bereich

Dumpler, J., Marx, M.; Kulozik, U.: Neue Erkenntnisse zur Erhitzung und Stabilität von Milch- und Molkenkonzentraten – 1

Marx, M., Dumpler, J., Kulozik, U.: Neue Erkenntnisse zur Erhitzung und Stabilität von Milch- und Molkenkonzentraten – 2

Merkl, M., Kulozik, U.: Erzeugung von mikropartikulierten Molkenproteinen mittels Extrusionsverfahren

Technologie-Seminar „Neue Ansätze für industrielle Trenntechniken in der Lebensmittel- und Biotechnologie“, Freising-Weihenstephan, 23.-25.10.2013

Brand, J., Kulozik, U.: Vorbehandlung hochviskoser Ausgangssubstrate zur Effizienzsteigerung bei der Membranadsorptions-Chromatographie am Beispiel von Eiklar

Holzmüller, W.: Trennverfahren zur Gewinnung von Phospholipiden und Proteinen aus komplexen Zellwandstrukturen der Fettphase in Milch

Kulozik, U.: Membrantrennverfahren: Grundlagen, Trennprinzipien und neuere Verfahren

Kulozik, U.: Bewertung von Modulkonzepten für die Proteinfraktionierung: Casein-Molkenprotein-Trennung im UTP- und Crossflow-Modus mittels Gradienten- und Spiralwickelmembranen

Leeb, E., Kulozik, U.: Trennung bioaktiver und grenzflächenaktiver Peptide aus Proteinhydrolysaten mittels Membranadsorber

Meyer, P., Husby, S., Kulozik, U.: Energieoptimierte Hochkonzentrierverfahren für Milch und Molke mittels UF-UO/NF-Kaskadenschaltung und dynamischen Membranen

Steinhauer T., Kulozik U.: Herstellung von länger haltbaren, mikrobiologisch stabilen UF-Molkenkonzentraten durch vorgeschaltete Mikrofiltration

Strixner, T., Kulozik, U.: Zentrifugale Trenntechnik - Grundlagen, Trennprinzipien und neuere Anwendungen

Strixner, T., Kulozik, U : Neues Verfahren zur zentrifugalen Fraktionierung von Eigelb in neuartige, hochfunktionelle Komponenten

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Grundlagen zur chromatographischen Fraktionierung

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Molkenproteinfraktionierung mittels konvektiv unterstütztem Stoffaustausch in chromatographischen Membranadsorbern und Monolithen

8th International Membrane Science and Technology Conference, Melbourne, Australien, 25.-29.11.2013

Gebhardt, R., Steinhauer, T., Kulozik, U.: Mass-fractal structure reduces the mean specific resistances of milk protein deposits

Meyer, P., Kulozik, U.: An innovative approach to produce highly enriched milk protein concentrates with reduced energy demand by means of dynamic ultrafiltration

IDF World Dairy Summit, Yokohama, Japan, 28.10.-01.11.2013

Kulozik, U., Voswinkel, L., Leeb, E.: High throughput whey protein separation and whey peptide separation at pilot scale using novel membrane adsorption and monolithic chromatographic systems

Würth, R.; Först, P., Kulozik, U.: Spray drying for gentle microencapsulation of probiotics

Sitzungen der Projektbegleitenden Ausschüsse der AIF/FEI und BLE – Forschungsvorhaben

Ambros, S., Först, P., Kulozik, U.: Entwicklung eines energieeffizienten, mikrowellenunterstützen Vakuumtrocknungsverfahrens zur schonenden Herstellung von mikrobiellen Kulturen. AiF-FV 17124 N, Karlsruhe, 13.11.2013

Brand, J., Kulozik, U.: Eiklarproteinfraktionierung zur Verbesserung der Verschäumungseigenschaften und Pasteurisierbarkeit der entstandenen Fraktionen, AiF-FV 17479 N, Bundesverband der deutschen Eiproduktenindustrie, Dinklage, 16.05.2013

Brand, J., Kulozik, U.: Eiklarproteinfraktionierung zur Verbesserung der Verschäumungseigenschaften und Pasteurisierbarkeit der entstandenen Fraktionen, AiF-FV 17479 N, Weihenstephan, 12.11.2013

Dombrowski, J., Kulozik, U.: Charakterisierung der Struktur und Dynamik von proteinstabilisierten Schäumen (Proteinschäume in der Lebensmittelproduktion: Mechanismenaufklärung, Modellierung und Simulation), AiF-FV 17124 N (DFG/AiF-FV Cluster 5), Weihenstephan, 29.10.2013

Dombrowski, J., Kulozik, U.: Charakterisierung der Struktur und Dynamik von proteinstabilisierten Schäumen (Proteinschäume in der Lebensmittelproduktion: Mechanismenaufklärung, Modellierung und Simulation), AiF-FV 17124 N (DFG/AiF-FV Cluster 5), Quakenbrück, 27. 02.2013

Eschlbeck, E., Kulozik, U.: Einflussfaktoren auf die Inaktivierung von Mikroorganismen auf Packstoffoberflächen mittels gasförmigem H_2O_2, AiF-FV 17721 N, Freising, 7.11.2013

Holzmüller, W., Kulozik, U.: Prozessentwicklung zur Fraktionierung der Milchfettkugelmembran, AiF 16226 N, Freising, 21.11.2013

Husby, S., Meyer, P., Kulozik, U.: Hochkonzentrieren von Milch und Molke durch Membrantrenntechnik mit reduziertem Energieverbrauch, AiF 16836 N, Weihenstephan, 25.06.2013

Leeb, E., Cheison, S., Kulozik, U.: Technologische Potenziale zur Fraktionierung von Milchproteinhydrolysaten mittels Ionenaustausch – Membranadsorptionschromatographie, Abschlusstreffen AiF 16541 N, Weihenstephan, 13.05.2013

Marx, M., Dumpler, J., Kulozik, U.: Neue ressourcen- und energiesparende Prozesse zur Herstellung, Vertrieb/Logistik und Einsatz von Molkenkonzentraten als Ersatz für Molkenpulver, BLE 313.06.01-28-174.005-11, Weihenstephan, 02.12.2013

Merkl, M., Kulozik, U.: Mikropartikulierung von Molkenproteinen mittels Heißextrusion, AiF 17140 N, Weihenstephan, 05.11.2013

Meyer, P., Kulozik, U.: Hochkonzentrieren von Milch und Molke durch Membrantrenntechnik mit reduziertem Energieverbrauch, AiF 16836 N, Weihenstephan, 25.06.2013

Posterpräsentationen

DESY Photon Science Users' Meeting, Hamburg, 25.01.2013

Steinhauer, T., Gebhardt R., Meyer, P., Perlich J., Kulozik, U.: Milk proteins on smooth and porous surfaces

Gebhardt, R., Steinhauer, T., Meyer, P., Perlich, J., Kulozik, U.: Cross-flow Filtration Cell for X-ray Studies on Proteins in Deposit Layers

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Quakenbrück, 25.-27. 02. 2013

Brand, J., Kulozik, U.: Neue mechanische Methoden zur Viskositätssenkung von Eiklar ohne unerwünschte Konzentrations- oder Proteinverluste

Bauer, S. A. W., Kienberger, H., Kulozik, U., Först,, P.: Auswirkung verschiedener Fermentations-pH-Werte auf die Zellmembran probiotischer Bakterien und deren Stabilität in der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung

Meyer, P., Kulozik, U.: Dynamische Ultrafiltration von Milch und Milchproteinkonzentraten

20. Innovationstag Mittelstand des BMWi, Berlin, 16.05.2013

Strixner, T., Kulozik, U.: Für das Gelbe im Ei ideal! Neue Trennmethode ermöglicht die Herstellung innovativer eigelbhaltiger Produkt ohne Zusatzstoffe

26th PREP International Symposium on Preparative and Process Chromatography, Boston, USA, 14.-17.7.2013

Voswinkel, L., Kulozik, U.: High throughput whey protein separation at pilot scale with CIM® monolithic columns

42. Deutschen Lebensmittelchemikertag, Braunschweig, 16.-18.09.2013

Mueller, D., Jung, K., Rogoll, D., Melcher, R., Kulozik, U., Schwarz, K., Richling, E.: Which influence has the encapsulation of anthocyanins on the intestinal availability?

IDF World Dairy Summit, Yokohama, Japan, 28.10.-01.11.2013

Dombrowski, J., Dechau, J., Holzmüller, W., Kulozik, U.: Impact of pH and temperature on the structure and foaming properties of casein micelles.

Holzmüller, W. Kulozik U.: Alternative methods for the isolation of milk fat globule membrane to reduce the loss on milk fat globule membrane proteins

Leeb, E., Cheison, S.C., Kulozik, U.: Substrate Pre-treatment to Increase the Production of Dairy based Functional Peptides by Enzymatic

Merkl, M., Kulozik, U.: Whey protein functionalization by extrusion cooking

Meyer, P., Husby, S., Kulozik, U.: High concentration of milk and whey by means of novel membrane techniques with reduced energy demand

Steinhauer, T., Würth, R., Kulozik, U.: Upstream microfiltration of whey: Improvement of the hygienic quality of whey protein concentrates and optimization of ultrafiltration-performance

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Direct Capture Membrane Adsorption Chromatography for Crude Cheese Whey at Technical Scale

21. Oranienburger Milchforum, Oranienburg, 14.-15.11.2013

Först, P., Bauer, S. A. W., Würth R., Ambros, S.: Trocknung und Mikroverkapselung von Probiotika und Starterkulturen

Veröffentlichungen

Peer reviewed

Aschenbrenner, M., Gramüller, E., Kulozik, U., Först, P.: The contribution of the inherent restricted mobility of glassy sugar matrices the the overall stability of freeze-dried bacteria determined by low resolution solid state 1H-NMR, Food Bioprocess Technology 6,(4), DOI 10.1007/s11947-013-1095-7, 2013

Bauer, S. A. W., Kulozik, U., Först, P.: Drying kinetics and survival of bacteria suspensions of *L. paracasei* F19 in low-temperature vacuum drying, Drying Technology, Vol. 31, Issue 13-14, 1497-1503, 2013

Cheison, S.C., Josten, E., Kulozik, U.: Impact of milieu conditions on the α-Lactalbumin glycosylation in the dry state. Journal of Food Engineering, 116, 176-183, 2013

Gebhardt, R., Petkeviciute, I.: ß-Lactoglobulin films with spiral cracks, Food Structure, DOI 10.1016/j.foostr.2013.11.003, online 8.12.2013

Holder, A, Scholz, S, Kulozik, U, Hinrichs, J.: Cross-flow Elektromembran-Filtration: Theorie und Anwendung in der Milchindustrie, Chemie-Ingenieur-Technik, 85 (8) 1193–1200, 2013

Schmitz-Schug, I., Först, P., Kulozik, U.: Impact of the spray drying conditions and residence time distribution on lysine loss in spray dried infant formula, Dairy Sci. & Technol. 93, (4-5), 443–462, 2013

Schmitz-Schug, I., Gianfrancesco, A., Först, P., Kulozik, U.: Impact of Dehydration on Lysine Loss in a Model Dairy Formulation, Drying Technology 31 (13-14), 1477–1484, 2013

Schmitz-Schug, I., Gianfrancesco, A., Kulozik, U., Först, P.: Physical state, molecular mobility and chemical stability of powdered dairy formulations, Food Research International 53 (1), 268–277, 2013

Strixner, T., Würth, R., Kulozik, U.: Combined Effects of Enzymatic Treatment and Spray Drying on the Functional Properties of Egg Yolk Main Fractions Granules and Plasma, Drying Technol, 31, 13-14, 1485-1496, 2013

Strixner, T., Kulozik, U.: Continuous centrifugal fractionation of egg yolk granules and plasma constituents influenced by process conditions and product characteristics. J. Food Engineering, 117, 89–98, 2013

Toro-Sierra, J., Schumann, J., Kulozik, U.: Impact of spray-drying conditions on the particle size of microparticulated whey protein fractions, Dairy Sci. & Technology (93), 487–503, 2013

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 Bioprocess Technol 6, (4), 1032–1043, 2013

Bereits online verfügbar:

Hausmann, A., Sanciolo, P., Vasiljevic, T., Kulozik, U., Duke, M.: Performance assessment of membrane distillation for skim milk and whey processing, Journal of Dairy Science, DOI 10.3168/jds.2013-7044, November 2013

Schmitz-Schug, I., Kulozik, U., Först, P.: Reaction Kinetics of Lysine Loss in a Model Dairy Formulation as Related to the Physical State, Food Bioprocess Technology, DOI 10.1007/s1947-013-1119-3, Mai 2013

Congress Proceedings/Praxisorientierte Publikationen

Ambros, S., Först, P., Kulozik, U.: Temperature controlled microwave vacuum drying as innovative drying technique: Influence of process and product parameters on the product quality of probiotics, Proceedings, 6th Nordic Drying Conference, 2013

Ambros, S., Dombrowski, J., Kulozik, U.: Application of protein-stabilized foam structures as protective carrier systems during drying of probiotics, Proceedings, 4th International Conference on Biofoams, 221-224, 2013

Brand, J., Strixner, T., Kulozik, U.: Egg white pre-treatment by high-pressure homogenization to improve the processability, XV European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Bergamo, Italien, Book of Proceedings, EISSN: 1743-4777, 2013

Dombrowski, J., Eggert, A., Hanke, R., Kulozik, U.: From Microscale to Macroscale: Understanding the Role of Single Proteins in Complex Food Systems, Proceedings, 4th International Conference on Biofoams, 218-220, 2013

Gebhardt, R., Steinhauer, T., Meyer, P., Perlich J., Kulozik, U.: Casein micelles as soft, deformable spheres verified by combined GISAXS and filtration experiments. Annual Report, Photon Science, DESY/HASYLAB, 2013

Holder, A., Leeb, E., Stressler, T., Fischer, L., Hinrichs, J., Kulozik, U.: Technologische Potenziale zur Fraktionierung von Milchproteinhydrolysaten, DMW – Die Milchwirtschaft, 4(22), 789-793, 2013

Husby S., Steinhauer T., Meyer P., Kulozik U.: Reduced energy consumption through high yield concentration, DMZ – Deutsche Molkerei Zeitung, 133(17) Special Edition, 6-11, 2013

Schantz, M., Berg, S., Betz, M., Kulozik, U., Leick, S., Rehage, H., Schwarz, K., Baum, M., Richling, E.: Triggered gastrointestinal release of anthocyanins from bilberries (Vaccinium myrtillus L, Intern. Soc. of Horticultural Sci. (ISHS), Proceedings Vaccinium Conference 2013

Strixner, T., Brand, J., Kulozik, U.: An industrial viable centrifugal separation process of liquid egg yolk, XV European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Bergamo, Italien, Book of Proceedings, EISSN: 1743-4777, 2013

Steinhauer, T., Schwing, J., Kulozik, U.: Besser konzentrierbare Molke – Länger haltbare flüssige Molkenkonzentrate, Molkereiindustrie, 6, 36-39,2013

Steinhauer, T., Kulozik, U.: Molecular fouling model for the membrane filtration of whey: A recombination study from single proteins to complex protein mixtures, Köksel, H. Euro-FoodChem XVII, Book of Abstracts, 212, 2013

Strixner, T., Kulozik, U.: Innovatives Fraktionierungsverfahren: Für das Gelbe vom Ei! Kurzbericht zum Otto-von-Guericke Preis der AiF, 2013

Strixner, T., Kulozik, U.: Die Milch zum Vorbild! Neue Substratfunktionalitäten durch Fraktionierung und Modifizierung in der Eigelbtechnologie. Deutsche Molkerei Zeitung, DMZ, Vol. 2, 28-31, 2013

Strixner, T.: Forschung für den Mittelstand, Lebensmitteltechnik, 3, 21, 2013

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Membranbasierte Chromatographie zur Wertsteigerung von Süßmolke, DMW – Die Milchwirtschaft 4 (7) 225-227, 2013

Voswinkel, L., Kulozik, U.: Membrane based Chromatography creates Added Value in Sweet Whey, EDM – European Dairy Magazine 25 (2) 4–6, 2013

Patente

Dumpler, J, Ederer, C, Kulozik, U: Injektor und Verfahren zum Einleiten eines dampfförmigen Wärmeträgers in ein flüssiges Produkt. Erfindungsmeldung TU München, August 2013

Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen (im Berichtszeitraum aktive Forschungsvorhaben)

AIF-FV 17124 N Clustervorhaben: Proteinschäume in der Lebensmittelproduktion: Mechanismenaufklärung, Modellierung und Simulation, 01.05.2011 – 30.04.2014

AIF-FV 16226 N Prozessentwicklung zur Fraktionierung der Milchfettkugelmembran, 01.03.2011 – 31.12.2013

AIF-FV 16537 N In-Vivo Untersuchungen der probiotischen Effekte von in Milchproteinen mikroverkapselter probiotischer Keime, 01.05.2011 – 28.02.2013

AIF-FV 16541 N Technologische Potenziale zur Fraktionierung von Milchproteinhydrolysaten, Laufzeit 01.06.2011 – 31.05.2013

AIF-FV 16836 N Integrierte Kaskadenschaltung von dynamischen und Cross-flow-Membranverfahren zum Hochkonzentrieren von Magermilch und Molke, Laufzeit 01.12.2011 – 30.06.2014

AIF-FV 17037 N Clustervorhaben: Präparative Proteinfraktionierung zur Analyse und Technologieoptimierung bezüglich der Vollmundigkeit und Trübungsstabilität in Bier, Laufzeit 01.03.2011 – 31.11.2013

AIF-FV 17479 N Eiklarproteinfraktionierung zur Verbesserung der Verschäumungseigenschaften und Pasteurisierbarkeit der entstandenen Fraktionen, Laufzeit 01.04.2012 – 30.09.2014

AIF-FV 17477 N Entwicklung eines mirowellenunterstützten Vakuumtrocknungsverfahren zur schonenden und effizienten Herstellung von mikrobiellen Kulturen, Laufzeit 01.04.2012 – 30.09.2014

AIF 17140 N Mikropartikulierung von Molkenproteinen mittels Heißextrusion. Laufzeit 01.01.2013 – 30.06.2015

AIF-FV Einflussfaktoren auf die Inaktivierung von Mikroorganismen auf Packstoffoberflächen mittels gasförmigem H2O2 01.04.2013 – 30.09.2015

AIF 17485 N Hochporöse Aerogelpartikel aus Protein als Trägermatrix für sensitive und sensorisch störende Stoffe in Lebensmitteln 01.09.2013 – 29.02.2016

AIF-ZIM/KF:2271412AK2: Hochfrequenz-Resonanz-Messsystem zur Bestimmung von Flüssigkeitskonzentrationen 01.10.2013 – 31.12.2014

BLE Vorhaben: Neue ressourcen- und energiesparende Prozesse zur Herstellung, Vertrieb/Logistik und Einsatz von Milch- und Molkekonzentraten als Ersatz für Milch und Molkepulver, Laufzeit 15.07.2012 – 14.09.2015

DFG 2375/1-1: Struktur und Bildung von Kasein-Mizellen-Ablagerungen auf porösen Oberflächen während der Mikrofiltration, Laufzeit 01.10.2012 – 30.09.2014

BLE Verbundprojekt RESOCULT: Ressourcenschonende Produktion und Anwendung mikrobieller Kulturen für Milcherzeugnisse, Laufzeit 01.02.2013 – 31.03.2016

sowie 1 weiteres bilateral finanziertes Forschungsprojekt

Typprüfungen

Fa. Plevnik, d.o.o., Podsmreka 56, 1356 Dobrova pri Ljubljani, SI, Typprüfung Pasteurisator PS50-100, Februar 2013

Exkursionen

01.02.2013	Fachexkursion mit 25 Studenten im Rahmen der Vorlesung Bioprozesstechnik zur Fa. Roche, Penzberg/Fa. Sandoz, Kundl
20.05. – 24.05.2013	Fachexkursion mit 36 Studenten des Studiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben (Raum Lübeck, Hamburg)
21.05. – 24.05.2013	Fachexkursion mit 36 Studenten des Studiengangs Bioprozesstechnik/Molekulare Biotechnologie zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben (Raum Laupheim, Uetikon, Basel)
19.08. – 20.08.2013	Fachexkursion mit 18 Studenten im Rahmen der Vorlesung Technologie der Milch- und Milchprodukte nach Mertingen, Kempten, Aretsried

Partnerschaft Technische Universität München in bayerischen Gymnasien

Im Rahmen des TUM–Programms „Partnerschaft Schule“ werden betreut:

Dom-Gymnasium, Freising (OStD Manfred Röder)

Staatliches Gymnasium, München-Moosach (StD René Horak)

Katharinen-Gymnasium, Ingolstadt (OStD Dr. Reinhard Kammermayer)

Gnadenthal-Gymnasium, Ingolstadt (OStD Kurt Müller)

Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen bzw. Mitarbeit in Hochschulgremien

Kulozik, U.

- Mitglied im Editorial Board von Int. Dairy Journal (IDJ) und Food Science and Technology (LWT)
- 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 (bis 30.09.2013

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V.

Adresse

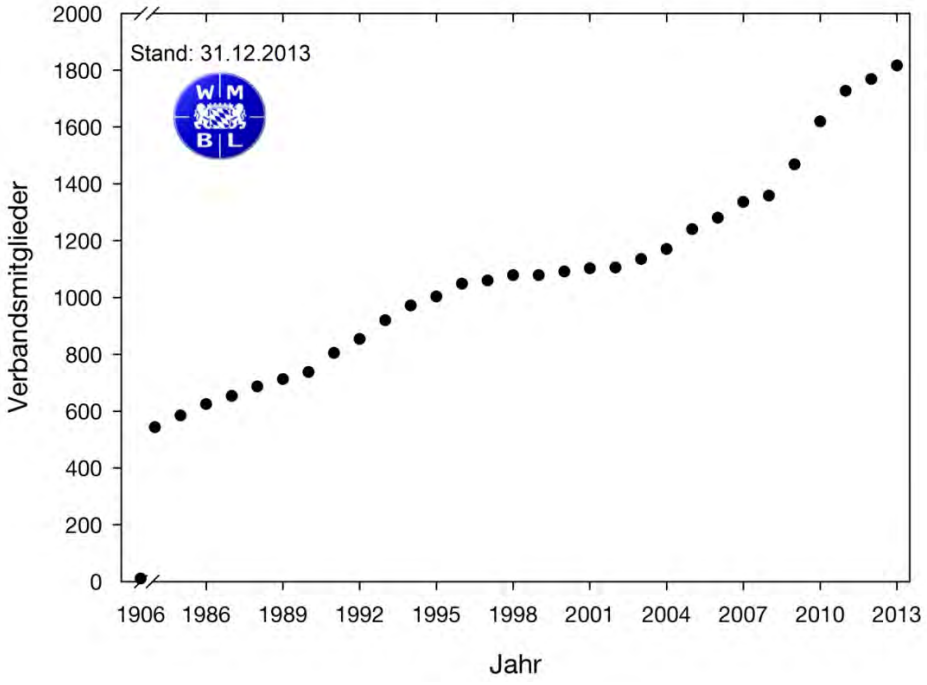
Geschäftsführung:
Melanie Marx, Christian Kleemann
Vorstand:
Prof. H.C. Langowski

Weihenstephaner Berg 1
D – 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-2507
Telefax: 08161-71-4384
Email: wmbl@wzw.tum.de
Internet: www.verband-weihenstephan.de

Struktur des Verbandes

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ist ein seit über 100 Jahren stetig wachsender unabhängiger Berufsverband für die Lebensmittel- und Bioprozesstechnikbranche mit derzeit 1816 Mitgliedern (Stand 31.12.2013). Im Geschäftsjahr 2013 ist die Mitgliederzahl des Verbandes um 69 Mitglieder gestiegen.



Entwicklung der Mitgliederzahl des Verbandes in den letzten 25 Jahren

Der Der Verband setzt sich im Wesentlichen zur Hälfte aus studentischen Mitgliedern verschiedener Fachrichtungen (Lebensmittel- und Biotechnologie, Bioprozesstechnik, Brauwesen, Ernährungswissenschaft, etc.) und Mitgliedern unterschiedlicher Industriezweige der Nahrungsmittel- und Pharmaindustrie zusammen. Der Mitgliedsbeitrag umfasst € 20,- pro Jahr.

Zielsetzungen des Verbandes

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. dient der Förderung und Unterstützung seiner studentischen Mitglieder und versteht sich als Netzwerk- und Kontaktplattform zum Informationsaustausch zwischen Universität und Industrie.

Der Verband bietet seinen Mitgliedern:

1. Finanzielle Unterstützung bei Fachexkursionen
- a. Bezuschussung privat organisierter Exkursionen zu Messen, Tagungen o.ä.
- b. Bezuschussung universitärer Exkursionen

2. Hilfe bei der Suche nach Praktika und Arbeitsstellen
- a. z.B. studienbegleitende Industriepraktika
- b. Vermittlung von Stellenangeboten und -gesuchen

3. Preise für herausragende wissenschaftliche Arbeiten
- a. Bachelor: € 500,-
- b. Master: € 1000,-
- c. Doktorarbeiten: € 2000,-

4. Eine Netzwerk-Plattform
- a. Über 1800 Mitglieder (studiengangübergreifend)
- b. Ein jährlich erscheinendes Mitgliederverzeichnis
- c. Jährliches Ehemaligentreffen

5. Informationsaustausch zwischen Industrie und Universität
- a. Wissenschaftlicher Jahresbericht über aktuelle Forschungsthemen
- b. Regelmäßig erscheinende Email-Nachrichten zum Campus Weihenstephan
- c. Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung mit Fachvorträgen, Mitgliederversammlung und Käsebuffet (Ehemaligentreffen)
- d. Einladung zu Weihenstephaner Tagungen, Veranstaltungen und Messen

Versammlungen und geförderte Exkursionen

Versammlungen:

Vorstandssitzung am	14.03.2013
Vorstandssitzung am	09.10.2013
Mitgliederversammlung am	10.10.2013

Lehrstuhlexkursionen:
20.05.-25.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 37 (34 WMBL) Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Lübeck - Hamburg.

21.05.-24.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 27 (21 WMBL) Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Allgäu – nördliche Schweiz.

21.05.-24.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Verfahrenstechnik disperser Systeme (komm. Ltg. Prof. Dr. Petra Först) der TUM mit 31 (4 WMBL) Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Deutschland - Schweiz.

21.05.-24.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr. H.-C. Langowski) der TUM mit 36 (7 WMBL) Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Großraum München.

10.06.-13.06. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 33 (10 WMBL) Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Baden-Württemberg.

10.06.-13.06. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 33 (6 WMBL) Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Bayern.

19.08.-20.08. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Ulrich Kulozik) der TUM mit 23 (19 WMBL) Studenten ins Allgäu.

23.09.-26.09. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 13 (6 WMBL) Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in die Schweiz.

Privatexkursionen:
Neben den universitär organisierten Fachexkursionen wurden im Jahr 2013 auch 5 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 sechsten 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 Alexander Götz, B.Sc.** aus Stuttgart für seine mit der Note 1,0 bewertete Semesterarbeit zum Thema *„Einfluss des pH-Wertes bei der thermischen Substratvorbehandlung auf die Denaturate von β-Lactoglobulin und deren tryptische Hydrolyse“* verliehen.

Der zum 17. Mal in Folge ausgeschriebene Preis des Verbands Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. für die beste Diplom-/Masterarbeit, der mit € 1000,- dotiert ist, wurde anlässlich der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung am 10. Oktober 2013 an **Frau Maria Springer, M.Sc.** aus Reinbek verliehen. In ihrer Arbeit (Note 1,0) beschäftigte sie sich mit der *„Evaluierung der Lyomikroskopie als Hilfsmittel zur Ermittlung des Einflusses der Problemformulierung auf die Kollapstemperatur und für die individuelle Anpassung von Gefriertrocknungsprozessen“*.

Den Preis für herausragende Doktorarbeiten (€ 2000,-) erhielt **Herr Dr.-Ing. Christopher Guyot** aus Freising. Er schloss seine Dissertation mit dem Titel *„Transglutaminase-induzierte und Transglutaminase-unterstützte Gele aus Milchproteinen“* am Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie mit magna cum laude ab.

Der Verband gratuliert allen Preisträgern sehr herzlich und freut sich auch zukünftig über Studenten und Wissenschaftler die sich in der milchwirtschaftlichen, bio- und lebensmitteltechnologischen Forschung in Weihenstephan engagieren.

Ehrung langjähriger Verbandsmitglieder

Neben den studentischen Preisträgern werden bereits seit vielen Jahren langjährige Mitglieder des Verbandes im Rahmen der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung geehrt.

In diesem Jahr konnte Herrn Peter Furtner und Gabriel Hengge zu ihrer 40-jährigen Mitgliedschaft sowie Herrn Peter Hauder, Dr. Gerhard Hoppe und Dirk Pitzel zu ihrer 50-jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden. Herrn Dr. Herbert Köhler konnte zu seiner 60-jährigen Mitgliedschaft gratuliert werden.

Durch die langjährige Treue haben die Jubilare Vorbildfunktion erworben. Den anwesenden Jubilaren wurde ein Milchkrug mit dem Emblem des Verbandes überreicht.

Verleihungsrichtlinien zum Preis für Semester-, Bachelor-, Diplom-, Master sowie Doktorarbeiten von Verbandsmitgliedern

Präambel

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ist einer der traditionsreichsten Hochschulverbände mit über 1800 Mitgliedern. Das stetige Wachsen des Verbands ist eng mit den Erfolgen der Absolventen der Lebensmittelforschung in Weihenstephan verbunden. Der Verband möchte durch die Vergabe eines Preises für herausragende Studien-/Forschungsleistungen die Verbundenheit zu den Forschungsinstituten noch stärker zum Ausdruck bringen und die studentischen Mitglieder dazu ermutigen, sich an den Einrichtungen der Lebensmittelforschung weiter zu engagieren.

Dotierung

Die Preise werden je nach Kategorie mit folgenden Beträgen honoriert:

- Semester- oder Bachelorarbeit: 500 €
- Diplom- oder Masterarbeit: 1000 €
- Doktorarbeit: 2000 €

In jeder Kategorie wird jährlich jeweils ein Preis verliehen.

Auswahlkriterien

- 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 BWL – Marketing und Konsumforschung

- *Life Transitions and Their Impact on the Consumption of Dairy Products – Analysis of Senior Consumers*

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik

- *Ermittlung des Einflusses eines eisenbasierten Sauerstoff-Scavenger-Systems auf die Qualität von Joghurt*

Abteilung Mikrobiologie

- *Einfluss der Hoflagerung auf die Rohmilch-Mikrobiota*

Abteilung Physiologie

- *Entwicklung eines Proximity Ligation Assay für die sensitive Früherkennung von Clostridium difficile Toxinen*

Abteilung Technologie

- *Teilfinanzierung einer Ultra- und Mikrofiltrationsanlage*

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
IBAN: DE68 7005 1003 0000 1718 76
SWIFT-BIC: BYLADEM1FSI

B E I T R I T T S E R K L Ä R U N G

Ich (wir) erkläre(n) meinen (unseren) Beitritt zur Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München in Freising-Weihenstephan e.V. ab ..... und werde(n) gemäß Satzung/Beitragsordnung einen jährlichen Förderungsbeitrag von € .....…….... leisten. Die Bedingungen der Mitgliedschaft sind mir (uns) aus den mir (uns) übermittelten Satzungen der Vereinigung bekannt.

Name: .....

bzw. Firma: .....

Anschrift: .....

....., den ..... …….....…….....

(Unterschrift)

Technischer Teil

Hinweise auf neue Techniken und Produkte

Der technische Teil des wissenschaftlichen Jahresberichtes will den Leserkreis auch in diesem Jahr über Neuigkeiten in der milchwirtschaftlichen Technologie informieren und auf neue Produkte und Angebote von Milch verarbeitenden Unternehmen hinweisen. Die Herausgeber danken den im Folgenden aufgeführten Firmen, die zu diesem Zweck eine Anzeige zur Verfügung gestellt haben und den Druck des Jahresberichtes unterstützten.

Verzeichnis der Fachfirmen

		Seite
1.	ALPMA Alpenland Maschinenbau GmbH, Rott am Inn	165
2.	Bauer GmbH & Co. KG, Wasserburg/Inn	159
3.	Bayerische Milchindustrie eG, Landshut	163
4.	Bücker-Fachverlag GmbH & Co. KG, Bad Breisig	158
5.	Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH , Cham	164
6.	Hofmeister Champignon Unternehmensgruppe / Käserei Champignon Hofmeister GmbH & Co. KG, Lauben im Allgäu	166
7.	Milchindustrie-Verband e.V., Berlin	162
8.	Molkerei Gropper GmbH & Co., Bissingen	160
9.	GQM mbH, Landshut	167
10.	Zentis GmbH & Co. KG, Aachen	168
11.	Zott GmbH & Co. KG, Mertingen	161

Bücker-Fachverlag
GmbH & Co. KG

Unser Fach- und Kundenzeitschriften begleiten den gesamteten Weg der Milch: von der Verarbeitung über die Vermarktung, an den POS und direkt bis zum Verbraucher.

Bücker Fachverlag GmbH & Co. KG • Rheintalstr. 6 • 53498 Bad Breisig
Postfach 1363 Telefon: 0 26 33/45 40-0 • Fax: 0 26 33/9 74 15
info@bueckermedien.de • www.moproweb.de

Die Privatmolkerei
Bauer
Die Bauers, die können's einfach!
Die Privatmolkerei
Bauer
DER
GROSSE
BAUER
250 g
Erdbeere
Die Privatmolkerei Bauer gibt es jetzt schon in der fünften Generation. Und mit der Zeit hat es sich wohl herumgesprochen, dass wir aus frischer Milch und feinen Früchten einfach einen wunderbaren Joghurt machen.
Der gute Bauer, der große Geschmack.
www.bauer-milch.de

DE BY 77723 EG:
Das markenübergreifende Zeichen
für beste Milchprodukte
Die **Molkerei Gropper** ist Full-Service-Dienstleister des
Handels und Spezialist für die Herstellung von Eigenmarken.
Erfahren Sie mehr dazu unter **www.gropper.de**
DE
BY 77723
EG
GROPPER
QUALITÄT & IDEEN SEIT 1929

Zott
Jogolé
FRUCHTIG & CREAMIG
NEW
Monte Cherry
Zottarella
Classic
OHNE GENTECHNIK
Sahne Joghurt mild
Erdbeer
Bayern
Das Original
LEIDENSCHAFT FÜR GENUSS!
WIR KREIEREN FÜR UNSERE VERBRAUCHER GENUSSVOLLE
JOGHURT-, DESSERT- UND KÄSESPEZIALITÄTEN.
Die Genuss-Molkerei
www.zott.de

Der Milchindustrie-Verband e.V. (MIV) ist der Spitzenverband der deutschen Milchindustrie

- Er vertritt über 100 Unternehmen.
- 95 % der deutschen Milchanlieferung oder 28,5 Mio. t Milch und 100 % des Exportvolumens werden von MIV-Mitgliedern erbracht.
- Mit rund 23 Milliarden Euro Jahresumsatz ist die Milchindustrie der größte Bereich der deutschen Ernährungsbranche.
- Er ist Interessenvertreter und Dienstleister auf regionaler, nationaler, europäischer und internationaler Ebene.

Tätigkeitsfelder sind u.a. neben Agrarpolitik, Marktordnung und Wirtschaft, rechtliche Fragestellungen, Wissenschaft, Forschung und Qualität, auch Sozial- und Tarifpolitik sowie Außenhandel, Umwelt oder Logistik.

Der MIV fördert Forschung und Wissenschaft:

- **MIV-Kompetenznetzwerk-Milch:** Milchindustrie und Wissenschaft als Partner
- **Wissenschaftlicher Beirat des MIV** mit Experten der Natur-, Rechts- und Wirtschaftswissenschaft
- **MIV-Ideenbörse Forschung:** Generierung praxisnaher Forschungsideen
- **MIV-Arbeitsgruppe Forschung:** Initiierung, Prüfung und Koordinierung von milchspezifischen Projekten der Gemeinschaftsforschung, die Milchindustrie ist die forschungsintensivste Lebensmittelbranche
- Jährliche Vergabe des **Milch-Wissenschaftlichen Innovationspreises**

Milchwissenschaft und –forschung: eine Chance für Milchindustrie und Wissenschaft

Milchindustrie-Verband e.V. | Jägerstraße 51 | 10117 Berlin
Ansprechpartnerin Wissenschaft: Dr. Gisela Runge
Tel.: +49 30 4030445-19 | Fax: +49 30 4030445-57 | E-Mail: runge@milchindustrie.de
www.milchindustrie.de & www.meine-milch.de

BMi
Beste Milch Ideen

Wir machen mehr aus Milch –
und das gelingt mit qualifizierten
Mitarbeitern.

Erfahren Sie mehr über die
Bayerische Milchindustrie eG
auf unserer Homepage:
www.bmi-eg.com

Bayerische Milchindustrie eG
E-Mail: bmi@bmi-eg.com
Internet: www.bmi-eg.com

Frankenland paladin Bayolan

Verantwortung für Mensch & Natur
Ohne Gentechnik
GOLDSTEIG
www.goldsteig.de
Echt bayerischer Genuss vom grünen Dach Europas - ohne Gentechnik.
Genießen Sie jetzt noch mehr Aroma-Entfaltung mit den GOLDSTEIG Käsespezialitäten garantiert ohne Gentechnik.
Mozzarella
Classic
125g
Bambini Mozzarella
Emmentaler hauchdünn
Der nussig Feine aus Bayern
Almdammer hauchdünn
Der Milde aus Bayern
hauchdünne Scheiben
www.signalwerk.com
Natürlich aus Bauernhand
GOLDSTEIG Käsereien Bayerwald GmbH • Siechen 11, D-93413 Cham • Tel. 09971/844-0 • Fax 09971/844-1090 • E-Mail: info@goldsteig.de • www.goldsteig.de

Wir gehen einen Schritt voraus.
Kommen Sie mit!

ALPMA

ALPMA ist ein weltweit führendes Unternehmen des Maschinen- und Anlagenbaus für die Käserei- und Lebensmittelindustrie.

Mit den Geschäftsbereichen

- Prozesstechnik
- Käsereitechnik
- Schneidetechnik und
- Verpackungstechnik

bieten wir unseren Kunden und Geschäftspartnern eine einzigartige Angebotspalette aus einer Hand:
Von technisch und technologisch führenden Maschinen zur Verarbeitung und Verpackung von Lebensmitteln bis hin zu kompletten Systemlösungen für Käsereien.

Jahrzehntelange Erfahrung und Partnerschaft mit unseren Kunden sowie ca. 500 hochqualifizierte und motivierte Mitarbeiter sichern auch weiterhin unseren Vorsprung.

Wir gehen einen Schritt voraus. Kommen Sie mit!

www.alpma.de/karriere

Käserei Champignon

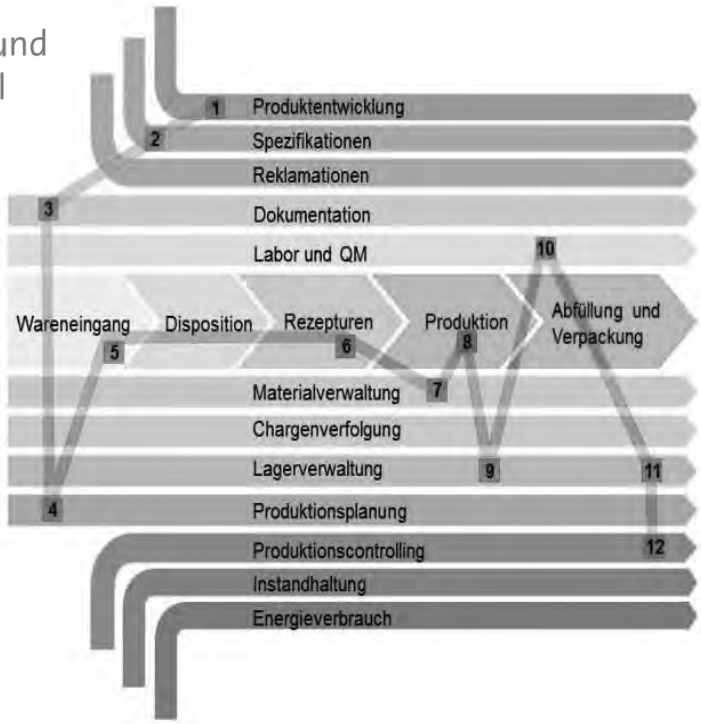
KÄSEREI CHAMPIGNON
Hofmeister GmbH & Co. KG • Kemptener Straße 17-24 • D-87493 Lauben / Allgäu
Telefon: +49 / 83 74 / 92-0 • Telefax: +49 / 83 74 / 92-169 • info@champignon.de • www.champignon.de

GQM Software Organisation Managementsysteme

Die Welt der Produktionsdatenverarbeitung ist sehr komplex, oftmals komplexer als die Welt der ERP-Systeme. Das resultiert daraus, dass, gerade in der Produktion, jedes Unternehmen spezielle Informationsstrukturen besitzt, die sehr individuell gestaltet sind. Die permanente Aufgabe der GQM ist es seit jeher Standards aus einer Vielzahl von Anwendungen herauszubilden, die zum einen für den Anwender erprobte Grundstrukturen zur Verfügung stellen und zum anderen doch optimale Flexibilität gewährleisten können. Diese Herausforderung für die GQM immer wieder aufs Neue zu bestehen, kann nur unter Anwendung exzellenter Branchenkenntnisse funktionieren. Ziele dabei sind:

■ Permanente Information zur Erschließung von Verbesserungspotentialen ■ Identifikation und Eliminierung von Verschwendungen und Mängeln ■ Aktuellste Informationen zur unmittelbaren Produktionsdurchführung mit Ressourcenverfügbarkeiten incl. Qualitätsanforderungen und Zusatzdokumenten ■ Erfüllung von Kundenanforderungen für Liefertermine incl. Auftragsfortschritts- und Lagerbestandsüberwachung ■ Hohes Maß an Flexibilität für kurze Reaktionszeiten und Beherrschung von Störungen ■ Organisationshilfe für die Planungsdurchführung ■ Voraussetzung für einen hohen Automatisierungs- und damit Rationalisierungsgrad ■ Mehr Sicherheit zur Erfüllung der Produkthaftungsvorschriften

GQM Module und Prozessbeispiel



Auf dieser Grundlage entstanden die in einem Prozessbeispiel oben abgebildeten bewährten *QUALIFAX®* Module, die permanent weiterentwickelt werden. Alle Erkenntnisse fließen auch in die dot.net basierten *GQM MES* Module (MES = Manufacturing Execution System) mit erweiterten Möglichkeiten ein. Diese sind auch in Kombination mit den *QUALIFAX®* Modulen einsetzbar. Daneben sind Migrationen oder komplette *GQM MES* (Modul)Applikationen möglich.

GQM mbH
GQM System und Service GmbH
Innere Münchener Str. 10
84036 Landshut

Tel.: 0871/924 00-0
Fax: 0871/ 924 00-11
info@gqm.de
www.GQM.de

Köstliche Innovationen
an fermentierter Milch
Setzen Sie Ihren Joghurt-, Milch- und Eiskreationen die Krone auf – mit den vielfältigen Fruchtzubereitungen von Zentis. Ob bewährte Standards oder individuelle Rezepturen: Jedes Produkt wird auf die speziellen Bedürfnisse unserer Kunden und auf die Vorlieben der Verbraucher abgestimmt. Und täglich kommen neue Innovationen hinzu. Schonende Herstellverfahren sorgen dabei für dauerhafte Qualität und Frische.
Erfolgsrezepte von Zentis – dem innovativen Partner der Milchindustrie.
ZENTIS
VIEL FRUCHT. FEEL GOOD.
Zentis GmbH & Co. KG ■ Postfach 10 16 37 ■ 52016 Aachen ■ Deutschland
Tel. +49 (0) 2 41/47 60-0 ■ Fax +49 (0) 2 41/47 60-3 69 ■ www.zentis.de ■ info@zentis.de