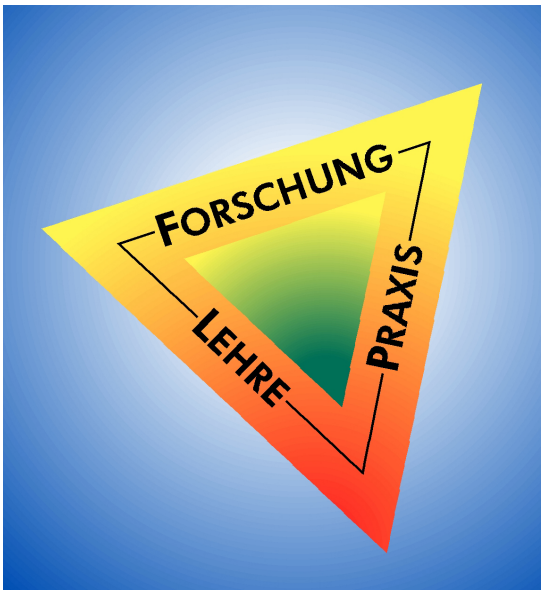
TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

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

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt Technische Universität München



Jahresbericht 2016

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am ZIEL

Milchwissenschaftliche Forschung am ZIEL Weihenstephan

Jahresbericht 2016
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 2016 bis 31. Dezember 2016

59. Band 2016
Weihenstephan, März 2017

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

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V.
Geschäftsführung, Weihenstephaner Berg 1, 85354 Freising

Fax: 08161-71 -4384
Tel: 08161-71 -4205
foerderverein.weihenstephan@t-online.de

Verantwortlich für den Inhalt:

Univ.-Prof. Dr.-Ing. U. Kulozik, Univ.-Prof. Dr. H.C. Langowski, Univ.-Prof. Dr. S. Scherer, Univ.-Prof. Dr. med. D. Zehn

Der Jahresbericht über die Milchwissenschaftliche Forschung am „Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung Weihenstephan (ZIEL)“ und am „Wissenschaftszentrum 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, 2017

ISBN 978-3-939182-93-1

© 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

Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie
ZIEL - Abteilung Physiologie 2
Personal 2
Forschung 3
I. Laktationsphysiologie 3
II. Reproduktionsbiologie 5
III. Wachstumsphysiologie 6
IV. Bioanalytik 8
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 9
Vorträge 10
Veröffentlichungen 11

Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie
ZIEL - Abteilung Mikrobiologie 13
Personal 13
Forschung 15
Arbeitsgruppe: Biodiversität mikrobieller Lebensgemeinschaften in industriellen Habitaten 15
Arbeitsgruppe: Neue Gene und ihre Regulation in pathogenen *Escherichia coli* 20
Arbeitsgruppe: Infektionsstrategien pathogener Darmbakterien 22
Habilitationen, Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 28
Veröffentlichungen 30

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik
Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik
und Verpackung – IVV 32
Personal 32
Forschung 32

Seite

Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik
ZIEL - Abteilung Technologie ... 38
Personal ... 38
Vorwort ... 39
Auszeichnungen ... 40
Forschung ... 40
Forschungsgebiet Bioprozesstechnik ... 40
Forschungsgebiet Strukturbildung und -charakterisierung ... 45
Forschungsgebiet Trenntechnik ... 63
Forschungsgebiet Analytik ... 81
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten ... 86
Vorträge ... 88
Posterpräsentationen ... 92
Veröffentlichungen ... 92
Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen ... 94
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen ... 96

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler,
Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ... 97
Struktur des Verbandes ... 97
Zielsetzungen des Verbandes ... 98
Bericht aus Weihenstephan und dem Verbandsleben ... 99
Versammlungen und geförderte Exkursionen ... 107
Verleihungsrichtlinien ... 108

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen
Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. ... 109
Vorstand ... 109
Zweck und Ziele der Fördervereinigung ... 109
Beitragsordnung ... 111
Informationstransfer – Mitgliederinformation ... 111
Beitrittserklärung ... 112

Technischer Teil ... 113

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 über alle beteiligten Disziplinen hinweg auszubauen.

Vor diesem Hintergrund sollen innovative Lösungen für neue Produkte und Verfahren, Produktsicherheit, Kosten- und Qualitätsoptimierung sowie für das Marketing erarbeitet werden. Die interdisziplinären Ansätze der Weihenstephaner Milchforschung bieten dafür eine gute Basis. Deshalb sind ein möglichst hoher Informationsstand über die aktuellen Forschungsansätze und die vorhandene Infrastruktur sowie ein enger Kontakt zwischen den Produktions- sowie Forschungs- und Entwicklungsabteilungen der Unternehmen und den milchwissenschaftlich forschenden Einrichtungen überaus wichtig. Der Jahresbericht über die milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan soll dazu einen Beitrag leisten.

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

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

Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie

Adresse

Weihenstephaner Berg 3
D-85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3508
Telefax: 08161-71-4204

Internet: http://physio.wzw.tum.de
e-mail: physio@wzw.tum.de

Personal

Leitung:	Univ.-Prof. Dr. med. Dietmar Zehn (ab 01.10.15)	71-3508
Wissenschaftler:	Prof. Dr. agr. Michael W. Pfaffl	71-3511
	Prof. Dr. med. vet. Dieter Schams, a.D.	71-3510
	Benjamin Motsch (seit 01.10.16)	71-3314
Lehrbeauftragter:	Prof. Dr. Bajram Berisha, Universität Prishtina	71-3510
Sekretariat:	Gertraud Mayer	71-3508
Mitarbeiter:	Judit Desztics, TA (seit 01.11.16)	71-3510
	Brigitte Dötterböck, TA	71-5556
	Herbinger Tobias, TA	71-5556
	Waltraud Schmid, TA	71-5544

Gäste: **Ee Lyn Lim**, Laboratory of Lymphocyte signaling and Development, The Babraham Ins. Cambridge: 01.02.2016

Jolie Cullen, Peter Doherty Institute, Department of Microbiology and Immunology, The University of Melbourne: 06.06.2016

Benjamin Youngblood, PhD, Immunology - St. Jude Children's Research Hospital, Memphis,: 26.06. – 28.06.2016

Stephen C. Jameson, PhD, University of Minnesota, Laboratory Medicine and Pathology: 29.06. – 30.06.2016

Martin Prlic, Fred Hutch & University of Washington: 23.09. – 30.09.2016

Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:

M.Sc. Biologie: Christine Kaufmann (seit 02.05.11); Benedikt Kirchner (seit 01.06.2011); Madlaina von Hößlin (seit 15.01.16); Stefanie Scherer (seit 01.01.2016)

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

M.Sc. Genetik: Anna Haberberger, geb. Henke (seit 01.03.13)

M.Sc. Molekulare Biotechnologie: Dominik Buschmann (seit 11.03.14); Francesca Alfei (seit 01.01.2016)

M.Sc. Biochemie: Maria Hillreiner (seit 15.04.13); Kristiyan Kanev (seit 01.09.15); Markus Flosbach (seit 01.01.2016)

M.Sc. Molecular Life Sciences, FG Bioinformatik: Patrick Rölli (seit 01.01.2016)

M.Sc. Biomedical Sciences: Martin Mattes (seit 01.08.16)

M.Sc. Nutrition and Biomedicine: Veronika Mussack (seit 01.07.16)

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Effekt des Ketonkörpers Beta-Hydroxybutyrat auf die innate Immunabwehr der primären bovinen Euterepithelzellen.
Effect of the Ketone Body Beta-Hydroxybutyrate on the Innate Defense Capability of Primary Bovine Mammary Epithelial Cells.
Maria Hillreiner, Claudia Flinspach, Michael W. Pfaffl and Heike Kliem (2016) Plos One 2016 11(6): e0157774

Negative Energiebilanz und Ketose werden als Grund für die Beeinträchtigung der Immunantwort und für ein erhöhtes Mastitis-Risiko bei Milchkühen gesehen. Die aktuelle *in vitro* Studie hatte zum Ziel den Effekt von erhöhten Konzentrationen des Ketonkörpers, Beta-Hydroxybutyrat (BHBA), auf die innate Immunantwort von primären bovinen Euterepithelzellen (pbMEC), die dem Mastitis-Erreger *Escherichia coli (E. coli)* ausgesetzt wurden, zu erforschen. Hierfür wurden pbMEC von gesunden Milchkühen, die sich im mittleren Laktationsstadium befanden, aus frischer Milch isoliert und *in vitro* mit 3 mM BHBA und *E. coli* stimuliert. pbMEC, die für 6 oder 30 Stunden mit *E. coli* stimuliert wurden, zeigten eine erhöhte Expression verschiedener Immun-Gene, wohingegen die Co-Stimulation von pbMEC mit 3 mM BHBA und *E. coli* zu einer verringerten Expression der Gene CCL2, SAA3, LF und C3, führte. Diese Ergebnisse wiesen darauf hin, dass erhöhte BHBA Konzentrationen, zumindest teilweise, für eine erhöhte Mastitis-Anfälligkeit von Milchkühen in der frühen Laktation verantwortlich sein könnten. Erhöhte Konzentration von

BHBA in Blut und Milch, während einer negativen Energiebilanz und Ketose, könnten somit die innate Immunfunktion des bovinen Euters, durch die Abschwächung der Expression verschiedener innater Immungene, beeinträchtigen.

Kommentar zu Melnik et al.
„Milch ein epigenetischer Inducer der FoxP3 expression."
Reply to Melnik et al -- Milk: an epigenetic inducer of FoxP3 expression.
Markus J. Ege[1] and Michael W. Pfaffl (2016)
Journal of Allergy and Clinical Immunology (Juli 2016)

Originalpublikation: miRNA in nativer und prozessierter Kuh-Milch und sein Einfluss auf den "Bauernhof Milch Effekt" für Asthma
miRNA in native and processed cow's milk and its implication for the farm milk effect on asthma.
B. Kirchner; MW Pfaffl; J Dumpler[2]; E von Mutius[1]; M Ege[1];
Journal of Allergy and Clinical Immunology (Oktober 2015)

Es ist lange bekannt, dass Kinder, die regelmäßig unverarbeitete Kuh-Milch direkt vom Bauernhof konsumieren ein geringeres Risiko haben an Asthma zu erkranken, als Kinder die industriell prozessierte Milch konsumieren. Kuh-Milch enthält enorme Mengen an microRNA, das sind kleine nicht kodierende RNAs mit immun-regulativen Eigenschaften, die schon in anderen Studien in Zusammenhang mit der Entwicklung von Asthma gebracht wurden. Wir hatten in einer experimentellen Studie 2015 (siehe Originalpublikation Kirchner et al., 2015) diese Idee aufgegriffen und unterschiedliche Kuhmilchproben auf die microRNA Gehalte hin untersucht. Es wurde der Einfluss der industriellen Prozessierung von Kuhmilch auf die microRNA Gehalte untersucht und ob diese microRNAs auch bekannte Asthma relevante Gene beeinflussen. Es zeigte sich, dass die microRNAs in ihrer Quantität abnahmen, vor allem in den Milchproben mit Hochtemperatur-Behandlungen (abgekochte Milch, UHT, und ESL) gegenüber nicht- oder leicht temperierter Milch. Hochtemperatur-Behandlungen beeinflussten hauptsächlich microRNAs, die in die Expression von STAT3, PTGS2, IL-6, IL-13, IFNG und IFNGR1 eingreifen. Ebenso reduzierte die Entfettung die Expression von miRNAs, die auf STAT3 wirken.

Zusammenfassend ist zu postulieren, dass die industriell prozessierte Milch, im Besonderen solche mit Hochtemperatur-Behandlungen, stark reduzierte Konzentrationen an microRNAs aufweisen, die vor allem „Asthma relevante Gene" beeinflussen. Dieser Mechanismus könnte am positiven Effekt von nicht prozessierter und nicht erhitzter Milch in Bezug auf Asthma beteiligt sein.

Herr Melnik et al. greift in seinem Kommentar (*Milk: An epigenetic inducer of FoxP3 expression.*) unsere Ergebnisse auf und überinterpretiert diese in seiner ganz eigenen Art in Bezug auf die Demethylierung von FoxP3 oder der Einfluss von TGF-beta auf die FoxP3 Expression! Wir finden seinen beschriebenen Ansatz ganz interessant, aber auch sehr

[1] Dr von Hauner Children's Hospital, LMU Munich, Germany, Member of the German Center for Lung Research (DZL)

[2] Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik, Technische Universität München, 85354 Freising, Germany

„exotisch“ und wissenschaftsfremd. Wir vertrauen lieber auf unabhängige wissenschaftliche Daten und vor allem auf die solide Validierung dieser Ergebnisse!

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die von Melnik et al. aufgestellten Theorien und Behauptungen weit hergeholt sind und auf den Menschen bezogen eine Überinterpretation von publizierten *in vitro* Experimenten und murinen Modellen darstellen. Wir warnen sehr vor diesem extrapolierenden Ansatz!

Um diese oder ähnliche Annahmen zu beweisen wäre ein populationsbasierter Ansatz ratsam. Wir arbeiten zurzeit an einer wissenschaftlichen Folgestudie um unsere Hypothese zu bestätigen. Die Querschnittschnittstudie mit Kindern soll zeigen ob die microRNA Expressionslevel in konsumierter Milch mit bekanntem Asthma- und Allergie-Status korrelieren. Wir hoffen, dass die generierten Daten und Ergebnisse uns helfen die zugrundeliegende Biologie besser zu verstehen, die molekularen Mechanismen zu entschlüsseln und versuchen im Fazit die positiven Wirkungen der Frischmilch zu belegen.

II. Reproduktionsbiologie

Expression und Lokalisation von Mitgliedern der Thrombospondin Familie während der finalen Follikelreifung und der Corpus luteum im bovinen Ovar

Expression and localization of members of the thrombospondin family during final follicle maturation and corpus luteum formation and function in the bovine ovary.

Berisha, B.; Schams, D.; Rodler, D.[3]; Sinowatz, F.[3]; Pfaffl, M.W.: J Reprod Dev. 2016 Oct 18;62(5):501-510.

Das Ziel dieser Studie war die Charakterisierung des Expressionsmusters und der Lokalisation der antiangiogenen Thrombospondin-Familienmitglieder (THBS1, THBS2) und ihre korrespondierenden Rezeptoren CD36 and CD47) im Ovar des Rindes. Die Einteilung der antralen Follikel erfolgte nach Follikelgröße und Östradiol-17beta Konzentration in der Follikelflüssigkeit. Die Granulosazellen und die Theka interna wurden separat untersucht. Die Corpora lutea wurden in verschiedene Stadien (nach Rückbildung des Corpus luteums, während des Zyklus und während verschiedener Trächtigkeitsmonate) eingeteilt. Für die induzierte Luteolyse wurde den Kühen am Tag 8-12 ein PGF-2alpha-Analog injiziert und die Corpora lutea wurden durch transvaginale Ovariektomie vor und nach PGF-2alpha Injektion gewonnen. Die Analyse der mRNA Expression zeigte, dass diese bei THBS1, THBS2 und ihren Rezeptoren CD36 and SD47 in den Granulosazellen und in der Theka interna der kleinen Follikel stark war, gefolgt von einer gleichmäßigen und signifikanten Herunter-regulierung in präovulatorischen Follikeln. Die mRNA Expression von THBS1, THBS2 und CD47 in den Corpora lutea war während des Zyklus hoch, gefolgt von einer signifikanten Abnahme. Dagegen war die mRNA des CD36 Rezeptors während der frühen Lutealphase sehr niedrig und nahm danach deutlich zu, Maximalwerte wurden während der Rückbildung des Corpus luteum gemessen. Nach der induzierten Luteolyse wurde ein deutlicher und gleichmäßiger Anstieg der mRNA von THBS1, THBS2 und CD36 mRNA gemessen, welcher

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

bei THBS1 ein Maximum 12h nach der Luteolyse aufwies, bei THBS2 nach 24h und bei CD36 nach 48h. Das zeitliche Expressionsmuster von Thrombospondin und dessen Rezeptoren, besonders CD36, in antralen Follikeln, in den Corpora lutea, bei Trächtigkeit und bei induzierter Luteolyse unterstützt die Hypothese, dass diese Faktoren bei der Hemmung der ovariellen Angiogenese eine wichtige Rolle spielen.

Angiogenese im Ovar – Die wichtigsten regulatorischen Vorgänge bei der Follikel- und Corpus luteum Entwicklung und Funktion des Rindes – Eine Übersicht
Angiogenesis in The Ovary - The Most Important Regulatory Event for Follicle and Corpus Luteum Development and Function in Cow - An Overview.
Berisha, B.; Schams, D.; Rodler, D.[3]; Pfaffl, M.W.: Anat Histol Embryol. 2016 Apr;45(2):124-30.

Angiogenese (Entwicklung neuer Gefäße aus bereits existierenden) ist ein komplexer Vorgang, der von zahlreichen lokalen Faktoren reguliert wird. Die Hauptregulatoren sind Mitglieder der Endothelial Growth Factor (VEGF), Fibroblast Growth Factor (FGF), Insulin-like Growth Factor (IGF), Angiopoietin (ANPT) und Hypoxia-Inducible Factor (HIF). Antrale Follikel wurden je nach Größe und Östradiol-17beta-Konzentration in der Follikelflüssigkeit in fünf Gruppen eingeteilt (<0.5, 0.5-5, 5-40, 40-180 and >180 ng/ml FF). Die Corpora lutea (CL) wurden in folgende Stadien eingeteilt: Tag 1-2, 3-4, 5-7, 8-12 13-16, >18 des Östrus und Monat 1-2, 3-4, 6-7, >8 der Trächtigkeit. Die Expression der mRNA wurde mittels RT-qPCR gemessen, die Hormonkonzentrationen mit ELISA und die Lokalisationen über Immunhistochemie festgestellt. Die höchste Expression für VEGF-A, FGF-2, IGF (1 and 2), ANPT2/ANPT1 and HIF-1alpha wurde in reifen Follikeln am Ende der Entwicklung gefunden und in CL während der frühen Lutealphase (Tag 1-4). Anschließend kam es wieder zur Abnahme der Expression. Die in vivo Applikation von Antikörpern gegen VEGF und FGF verursachte eine signifikante Reduktion der CL Funktion. Die Ergebnisse weisen auf die Wirkung dieser Faktoren für die Angiogenese und Aufrechterhaltung der Kapillarstruktur im Ovar hin. Damit haben sie auch Einfluss auf den Abschluss der Follikelreifung als auch auf die Entwicklung des frühen CL und seiner Funktion.

III. Wachstumsphysiologie

Rassebedingte Immunglobulin G und M Konzentrationsschwankungen im Kolostrum, Milch und Serum von Schweinen.
Race-related immunglobulin G and M concenration fluctations in colostrum, milk and serum of pigs.
Ines C. Ballweg, Kai Frölich[4], Heike Kliem, und Michael W. Pfaffl
Züchtungskunde 88 (4): 282-292

[4] Arche Warder, Zentrum für alte Haus- und Nutztierrassen e.V., 24646 Warder

Vergleich der Immunsysteme der Rassen und Kreuzungen (Turopolje, DL x Turopolje und DL x Pietrain) nach einer PRRSV Vakzinierung.

Comparison of the immune system of Turopolje, German Landrace x Turopolje and German Landrace x Pietrain pigs after PRRSV vaccination.

I.C. Ballweg, K. Frölich[4], E. Fandrey[5], M.W. Pfaffl, and H. Kliem (2016)

Veterinary Immunology and Immunopathology 174 (2016): 35-44

Es stand im Raum dass es rassebedingte Unterschiede in der Immunkompetenz von sog. „alten“ gegenüber „modernen“ Schweinerassen gibt. Zu diesem Zwecke wurde die „alte Schweinerasse“ Turopolje, die nicht auf Fleischleistung gezüchtet wurde, mit den „modernen Masthybriden“ (Deutsche Landrasse x Pietrain) sowie eine Kreuzung aus der gängigen Mutterlinie und der Rasse (Deutsche Landrasse x Turopolje) verglichen. Des Weiteren wurden Mastleistung und Fleischqualität dieser neuen Kreuzungsrasse evaluiert. Ziel der Studien war es die rassenindividuellen Immunsysteme der Tiere (Turopolje, DL x Turopolje und DL x Pietrain) vergleichend zu untersuchen.

Zur Untersuchung der Immunkompetenz wurden drei verschiedene Fragestellungen bearbeitet:

1) Gibt es rassebedingte Unterschiede in der Kolostrumqualität und der Aufnahme von Immunglobulinen bei neugeborenen Ferkeln?
2) Kommt es zu unterschiedlicher Stimulation der Immunabwehr bei den verschiedenen Rassen nach einer Immunisierung mit einem attenuierten Lebendimpfstoff gegen das Porzine Reproduktive und Respiratorische Syndrom Virus (PRRSV)?
3) Wie wirkt sich Stress (z.B. durch Umstallen) während eines Mastdurchganges auf das Immunsystem bei den verschiedenen Rassen aus?

Die Untersuchung der Immunkompetenz erfolgte mittels mRNA Genexpressionsstudien von immun-relevanten Genen, Nachweis von Immunglobulinen IgM und IgG mit ELISA, Lymphozytenproliferationstest sowie der Auswertung von Differentialblutbildern. Als wesentliche Ergebnisse der Arbeit sind zu nennen:

1) Es konnte bei der Untersuchung der Kolostrumqualität festgestellt werden, dass es keine großen Unterschiede zwischen den Rassen Turopolje und Deutscher Landrasse gab. Auch die Immunglobulinspiegel im Serum der Ferkel zeigten keine stark differierenden Unterschiede.
2) Unterschiedliche Reaktionen der verschiedenen Rassen auf eine Immunisierung gegen PRRSV konnten durch einen Virusnachweis im Plasma, Genexpressionstudien am Toll-like-Rezeptor Signalweges und verschiedener Zytokine aufgezeigt werden. Auch der Proteinnachweis von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen sowie spezifischen Antikörpern gegen PRRSV wiesen deutliche Unterschiede auf. Die reinrassigen Turopolje zeigten eine schnelle Elimination des Virus aus dem Serum über eine Typ-1 Antwort mit nur geringer Sekretion von spezifischen Antikörpern. Diese könnte auf eine verringerte

[5] Manhagen – Fuhlenau GbR, 24631 Langwedel, Germany

Expression von CD 163 als Rezeptor für PRRSV zurückzuführen sein. Die Kreuzungsrasse (Deutsche Landrasse x Turopolje) und Masthybriden benötigten länger um das Virus zu eliminieren, wobei bei beiden Rassen eine Typ-2 Antwort überwog, die bei der Kreuzungsrasse stärker als bei den Masthybriden ausfiel.

3) Wir konnten im Weiteren mittels Genexpressionsstudien zeigen, dass die Bestimmung von pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen, Immunglobulinen sowie Lymphozyten-proliferation während eines Mastdurchganges auf das Immunsystem der reinrassigen Turopolje deutlich weniger durch Stress beeinflusst wird, als bei den beiden anderen Rassen.

4) Die Kreuzungsrasse zeigte durch den höheren intramuskulären Fettanteil eine bessere Fleischqualität als die Masthybriden. Die Mastleistung in puncto Fleischansatz lag etwas zurück, dies könnte aber durch eine auf die speziellen Bedürfnisse dieser Rasse angepasste Fütterung ausgeglichen werden.

IV. Bioanalytik

Aussagekräftige Biomarkersignaturen im Zeitalter von „Liquid Biopsy“ – Wie man den Workflow für das small RNA Sequencing optimiert und standardisiert.
Towards reliable biomarker signatures in the age of liquid biopsies – how to standardize the small RNA-Seq workflow.
Buschmann Dominik; Haberberger Anna; Kirchner Benedikt; Spornraft Melanie; Riedmaier Irmgard; Schelling Gustav; Pfaffl Michael W. (2016)
Nucleic Acids Research 44(13): 5995-6018

Zuverlässige Biomarker aus Flüssigbiopsien – wie man NGS standardisiert.
Valid biomarker signatures from liquid biopsies - how to standardize next generation sequencing.
Dominik Buschmann, Benedikt Kirchner, Michael W. Pfaffl (2016)
European Drug Target Review 4 2016 (4): 40-44

Die Sequenzierung kleiner RNAs (small RNA-Seq) hat sich in den letzten Jahren zunehmend als wichtiges Werkzeug für Transkriptomstudien, Analysen der differentiellen Genexpression und für die Biomarkerentwicklung profiliert. Das Entschlüsseln zellfreier Nukleinsäuren, insbesondere microRNAs, aus Flüssigbiopsien (Liquid Biopsies v.a. aus Blut) bietet verlockende Möglichkeiten in der modernen Molekulardiagnostik, und ist eine vielversprechende Methode zur Entwicklung krankheitsspezifischer Biomarkersignaturen. Allerdings stellen die komplexen Arbeitsabläufe und die anspruchsvollen Datenauswertungen der Sequenzierdaten beträchtliche Hürden auf dem Weg zur aussagekräftigen Biomarkersignatur dar. Nur wenn der Wissenschaftler sich im Vorfeld über Schwierigkeiten und potentielle Störfaktoren im Klaren ist und diese bei der Projektplanung berücksichtigt, kann das Potential des small RNA-Seq voll ausgeschöpft werden. Rigorose Optimierung und Standardisierung des Laborgeschehens und die gründliche Validierung aller wissenschaftlichen Ergebnisse tragen zu Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit von Studienergebnisse im globalen Kontext bei. Nur wenn durch verlässliche Qualitätsstandards belastbare Daten generiert werden, können weitergehende biologische oder medizinische Hypothesen aufgestellt und verfolgt werden. Vergleichbar zu den weltweit etablierten MIQE Richtlinien (MIQE Guidelines) für qPCR-Experimente schlagen wir hier Richtlinien für

statistische Versuchsplanung und prä-analytische Probehandhabung, Standardisierung von Library Präparation und Sequenzierung, sowie die anschließende komplexe Datenanalyse im Kontext des small RNA-Seq vor. Wir beleuchten in diesem Review kritische Abschnitte im Workflow der Experimente, betonen die Bedeutung von routinemäßiger Qualitätskontrolle und Validierung der Ergebnisse, und bieten Anhaltspunkte für die differentielle Genexpressionsanalyse und Biomarkersuche. Die Einhaltung der vorgestellten Richtlinien kann zu besseren Sequenzierexperimenten, transparenterer Berichterstattung, und besserer Reproduzierbarkeit wissenschaftlicher Erkenntnisse führen. Nur so entstehen letztendlich valide und belastbare Biomarkersignaturen, die präzise und robuste Vorhersagen im klinischen Alltag ermöglichen.

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Meyer Swanhild Urda, Dr. rer.nat, Technische Universität München, 17.02.2016, *"Function of microRNAs in skeletal muscle cell differentiation"*

Altenhofer Christian, Dr. rer.nat., Technische Universität München, 09.05.2016, *"Influence of feeding supplementation and lactation cycle on milk cholesterol, fatty acid profile and milk fat globule size"*

Masterarbeiten

Marlene Auer, Molekulare Biotechnologie: *"Der Effekt wiederholter Immunisierung von Kühen mit Clostridium difficile und dessen Toxine A + B auf die Lymphozytenpopulationen im Euterlymphknoten und die somatischen Zellpopulationen in der Milch"*

Larissa Simone Murr, Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel: *„Monitoring of Transgenic Rapeseed along Transportation Routes in Bavaria"*

Alexandra Kosareva, Biochemie: *„Renilla Luciferase markiertes MFG-E8, ein neues Reagenz für die Analyse von Zelltod"*

Seidl Aileen, Biologie: *"Vergleichende Charakterisierung von Rinder Exosomen gewonnen mit verschiedenen Methoden der Dichtegradienten Ultrazentrifugation"*

Sandra Wißmiller, Biologie: *„Immunhistochemische Untersuchung verschiedener Lymphozyten im Euterparenchym von Kühen, die wiederholt mit Clostridium difficile immunisiert wurden"*

Bachelorarbeiten

Bianca Wegert-Raisig, Bioprozesstechnik: *„Analyse des Einflusses von Kandidatengenen auf die T-Zelldifferenzierung in Infektionen"*

Vorträge

Pfaffl, Michael W.:

Exosome isolation and holistic expression profiling of microRNAs using RNA-Seq and RT-qPCR.
6. April 2016, Academia Sinica (Academy of Science of the Republic of China), Institute of Biomedical Sciences, Taipei, Taiwan

Limitations and Challenges in MicroGenomics -- What we can learn from Single-Cell and Exosome Expression Profiling.
Exosomes and Liquid Biopsies Asia Conference 2016, 7. – 8. April 2016, Novotel Taipei International Airport Hotel; Taipei, Taiwan

MIQE Guidelines and their impact on single-cell quantification strategies.
EMBO Practical Course Single-Cell Gene Expression Analysis; 11. – 16. April 2016; EMBL Heidelberg, Germany

MIQE challenges and solutions – Exosome isolation and holistic expression profiling using small RNA-Seq and RT-qPCR.
Genomic Applications -- qPCR & dPCR & NGS Congress, 26. – 27. May 2016, Singapore

Limitations and Challenges in MicroGenomics - What we can learn from single-cell and exosome expression profiling.
MicroGenomics 2016, 2. - 3. June 2016, French National Library (Bibliothèque National de France François Mitterand), Paris, France

New surveillance concepts in food safety in meat producing animals - The use of –omic technologies.
International Symposium of "Future Beef Production in Asia", 17th AAAP meeting at Kyushu Sangyo University, 22-25 August 2016, Fukuoka, Japan

EV isolation and holistic expression profiling of microRNAs using RNA-Seq and RT-qPCR.
EMBL Course -- Extracellular Vesicles: from Biology to Biomedical Applications. 19. – 24. September 2016; EMBL Heidelberg, Germany

How the microbiome & food communicate with the host.
ISEV Workshop -- Cross-Organism Communication by Extracellular Vesicles: Hosts, Microbes, Parasites. November - 24th - 25th, Golden Tulip Paulista Plaza - Alameda Santos, Jardim Paulista, São Paulo, Brazil

Berisha, Bajram:

The contribution of the Albanian Diaspora researchers in the development of research activities in the Albanian speaking counties.
The XI Annual International Meeting of "Alb-Shkenca" Institute. 01.09 - 03 09.2016 in Tirana, Albanien.

Expression of HIF-1alpha and vasohibins during final follicle maturation in the bovine ovary.
The XI Annual International Meeting of "Alb-Shkenca" Institute. 01.03 - 03 09.2016 inTirana, Albanien.

The role of some VEGF and Angiopoietin family members in bovine follicles before and after induced LH surge.
The annual meeting of science "Week of Science 2016", Ministry of Education Science and Technology, 10.05-13.05.2016 in Prishtina, Kosovo.

Angiogenesis in the ovary- molecular mechanisms of regulation.
ALBNANO 2016 Workshop on Nanotechnology and Biosensors, 30.05.-31.05.2016 in Tirana, Albanien.

Exkursionen

Exkursion zum Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit am 16.03.2016 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr.Michael Pfaffl und Herrn Dr. Patrick Gürtler

Exkursion zur Besamungsstation CRV in Wasserburg am 07.12.2016 unter der Leitung von Frau Dr. Heike Kliem

Exkursion zum Milchprüfring Bayern, Wolnzach, am 04.05.2016 unter der Leitung von Frau Dr. Heike Kliem

Veröffentlichungen

Buschmann Dominik; Haberberger Anna; Kirchner Benedikt; Spornraft Melanie; Riedmaier Irmgard; Schelling Gustav; Pfaffl Michael W. (2016):
Towards reliable biomarker signatures in the age of liquid biopsies – how to standardize the small RNA-Seq workflow.
Nucleic Acids Research 44(13): 5995-6018

I.C. Ballweg[*], K. Frölich[§], E. Fandrey[+], M.W. Pfaffl[*], and H. Kliem[*] (2016):
Comparison of the immune system of Turopolje, German Landrace x Turopolje and German Landrace x Pietrain pigs after PRRSV vaccination.
Veterinary Immunology and Immunopathology 174 (2016): 35-44

Ines C. Ballweg, Kai Frölich, Heike Kliem, Michael W. Pfaffl (2016):
Rassebedingte Immunglobulin (Ig) G und Ig M Konzentrationsschwankungen im Kolostrum, Milch und Serum.
Züchtungskunde 88 (4): 282-292

Markus J. Ege and Michael W. Pfaffl (2016):
Reply to Melnik et al -- Milk: an epigenetic inducer of FoxP3 expression.
Journal of Allergy and Clinical Immunology (Juli 2016)

Christine Kaufmann, Thomas Letzel, Johanna Grassmann & Michael W. Pfaffl* (2016):
Effect of Perilla frutescens extracts on cell physiology in porcine jejunal epithelial cells.
Phytotherapy Research 2016 (online 13. December 2016)

Dominik Buschmann, Benedikt Kirchner, Michael W. Pfaffl (2016):
Valid biomarker signatures from liquid biopsies - how to standardize next generation sequencing.
European Drug Target Review 2016 (4): 40-44

Isabelle Serr, Rainer W. Fürst, Verena B. Ott, Peter Achenbach, Martin G. Scherm, Füsun Gökmen, Stefanie Kälin, Florian Haupt, Annette Knopff, Benno Weigmann, Nicole Kunschke, Brigitta Loretz, Claus-Michael Lehr, Benedikt Kirchner, Michael W. Pfaffl, Bettina Haase, Richard A. Willis, Anette-Gabriele Ziegler and Carolin Daniel (2016):
miRNA92a targets KLF2 and PTEN signaling to promote human T follicular helper precursors in T1D islet autoimmunity.
PNAS October 2016, 113(43): E6659 - E6668

Maria Hillreiner, Claudia Flinspach, Michael W. Pfaffl and Heike Kliem (2016):
Effect of the Ketone Body Beta-Hydroxybutyrate on the Innate Defense Capability of Primary Bovine Mammary Epithelial Cells.
Plos One 2016 11(6): e0157774

Berisha B, Schams D, Rodler D, Sinowatz F, Pfaffl MW. (2016):
Expression and localization of members of the thrombospondin family during final follicle maturation and corpus luteum formation and function in the bovine ovary.
J Reprod Dev. 2016 Oct 18;62(5):501-510.

Berisha B, Schams D, Rodler D, Pfaffl MW. (2016):
Angiogenesis in The Ovary - The Most Important Regulatory Event for Follicle and Corpus Luteum Development and Function in Cow - An Overview.
Anat Histol Embryol. 2016 Apr;45(2):124-30.

Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie
ZIEL - Abteilung Mikrobiologie

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:	Ardern Zachary *(ab 01.09.2016)*	-3945
	Prof. Dr. Thilo Fuchs *(ab 01.04.2016 Teilzeit)*	-3518
	Dr. Evi Lang Halter *(Teilzeit)*	-2257
	Dr. Genia Lücking *(Teilzeit)*	-5091
	Dr. Klaus Neuhaus	-3945
	Dr. Mareike Wenning	-2257
Doktoranden:	Dipl.Biol. Marlies Böhm *(bis 29.02.2016*	-5091
	M.Sc. Anna Dettling *(ab 15.06.16)*	-3859
	M.Sc. Etienne Doll	-5570
	M.Sc. Elena Ferrari *(bis 31.03.16)*	-3851
	M.Sc. Jessica Hellinckx *(bis 30.04.16)*	-5570
	M.Sc. Sarah Hücker	-3945
	M.Sc. Christopher Huptas	-5570
	M.Sc. Nicoletta Nolle *(bis 14.07.16)*	-3859
	M.Sc. Jakob Schardt	-3851
	M.Sc. Katharina Springer	-5091
	M.Sc. Julia Wuttke *(ab 01.07.16)*	-3859
	M.Sc. Sonja Vanderhaeghen	-3945

Technische Mitarbeiter	Angela Felsl	-2191
	Charon Fuhrmann	-5098
	Petra Hartberger *(Teilzeit bis 04.12.16)*	-5563
	Angela Kempe *(Teilzeit)*	-5566
	Lisa Rieder	-5098
	Patrick Schiwek	-5566
	Romy Wecko *(Teilzeit)*	-3504

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 befassten sich im Jahr 2016 mit *Listeria*, *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica* und pathogenen *Escherichia coli* - Stämmen.

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

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

Aus diesen Aktivitäten resultierte über die Jahre eine der größten Mikroorganismensammlungen für lebensmittelrelevante Hefen, Bazillen, coryneforme Bakterien und Listerien (insgesamt über 15.000 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 der Analyse der Mikrobiota unterschiedlicher Habitate, mit dem Schwerpunkt auf Rohmilch und Milchprodukten. Von Interesse sind insbesondere die Erfassung und Beschreibung der Biodiversität sowie die Analyse von Populationsveränderungen oder Stabilitäten innerhalb der Mikrobiota. Hier konzentrieren wir uns nicht nur auf die Bestimmung der Speziesebene, sondern Typisieren auch unterhalb der Artgrenze. Des Weiteren stehen Organismen mit hohem Verderbspotential wie Kältetoleranz oder großem Enzymbildungsvermögen im Zentrum der Arbeiten.

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

Mikrobielle Qualität von Roh- und Endprodukten der Milch- und Molkenpulverproduktion: Thermophile Sporenbildner

Microbial quality of raw and end products in milk and whey powder production: thermophilic sporeformers

Anna Dettling

Pulverförmige Milchprodukte bilden einen ertragreichen Sektor für den europäischen Milchexport, wobei die Nachfrage während der letzten Jahre stetig gewachsen ist. Allerdings kommt es aufgrund eines zu hohen Gehalts an thermophilen Sporenbildnern oft zur Produktzurückweisung oder Zurückstufung in der Qualitätsklasse. Insbesondere der sehr ertragreiche Export pulverförmiger Milchprodukte in den asiatischen Raum ist hier problematisch. Beispielsweise gelten in China sehr strikte Obergrenzen von max. 300 KbE/g, die nicht durchweg eingehalten werden können. Somit haben europäische Milchpulverproduzenten aktuell Schwierigkeiten ihr technisch aufwändig hergestelltes Milchpulver mit bestmöglichem Ertrag zu vermarken. Um dauerhaft ein Qualitätsprodukt hohen Standards zu produzieren, muss die thermophile Sporenbelastung im Endprodukt konstant reduziert werden. Allerdings finden thermophile Bakterien mit einem Wachstumsbereich von 40-60 °C in der Pulverherstellung optimale Nischen für die Vermehrung. Zudem können hitzeresistente, bakterielle Endosporen im Prozessverlauf nicht mehr abgetötet werden und finden sich daher im Produkt.

Ziel des AiF-FV 18356 N ist es, den gestiegenen mikrobiologischen Qualitätsanforderungen nachzukommen, indem Produktionsprozesse detailliert untersucht, Hauptkontaminationskeime charakterisiert und am Ende Pulver mit den Anforderungen entsprechendem thermophilen Sporengehalt produziert werden (<1000, bzw. <300 Sporen/g).

Mit einer optimierten Methode für die Quantifizierung thermophiler Sporenbildner (80 °C, 10 min) wurden für die Beurteilung des Status Quo sowohl die Roh- als auch die Endprodukte von Milch- und Molkenpulverproduktionen mikrobiologisch untersucht. Durch die Analyse

von Rohmilch und Molke kann der Eintrag über die Rohware abgeschätzt werden. Insgesamt wurden 23 Rohmilch- und 8 Molkeproben auf ihre thermophilen Sporenzahlen und die vorhandene Mikrobiota untersucht. Die Proben stammten hierbei von unterschiedlichen Unternehmen, dort jeweils von unterschiedlichen Zeitpunkten über mehrere Monate verteilt. Hierdurch wurde ein möglicherweise Unternehmens-spezifisch oder Jahreszeiten-spezifisch auftretender Trend ausgeschlossen und die Probendiversität gewahrt.

Die Sporengehalte der einzelnen Rohmilchproben schwankten in einem Bereich von 2 log-Stufen, wobei der Gehalt an mesophilen Sporen (23-260 KbE/mL) z.T. deutlich höher war als der der thermophilen (4-140 KbE/mL). In Molke lag der thermophile Sporengehalt für die Hälfte der Proben unterhalb des Detektionslimits (10 KbE/mL). Für die restlichen Proben war der Gehalt zwischen 30 und 270 KbE/mL. Die Ergebnisse der Biodiversitätsanalysen ergaben, dass ein Großteil der thermophilen Sporenbildner in Rohmilch *Bacillus licheniformis* (siehe Abb.1) zuzurechnen war.

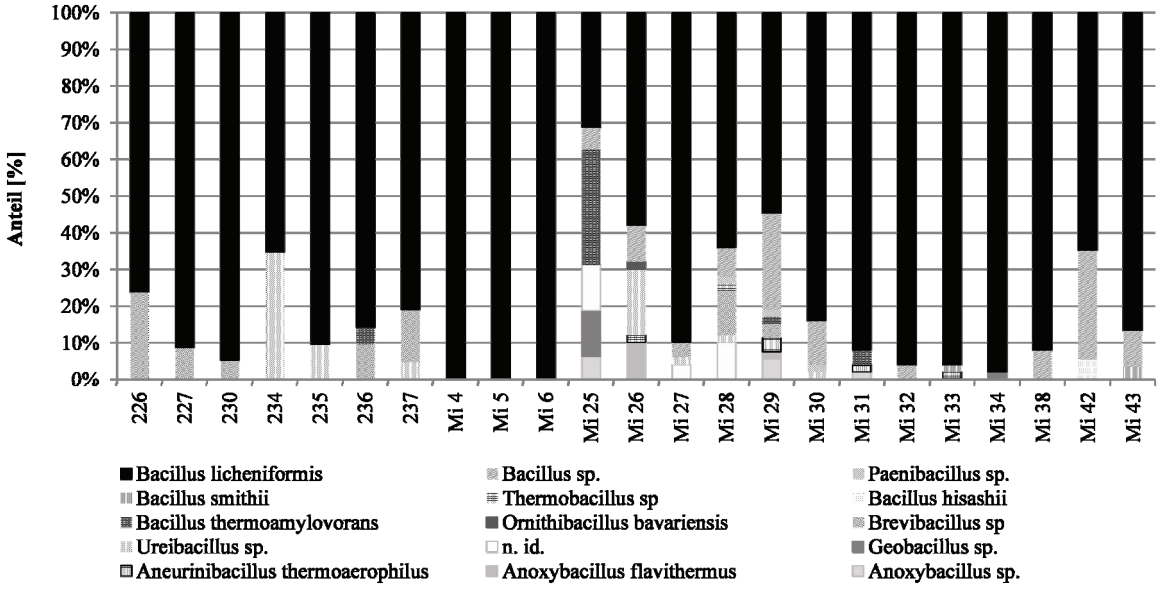


Abb. 1: Biodiversität thermophiler Sporenbildner in Rohmilch, Anzahl identifizierter Keime pro Probe n>15

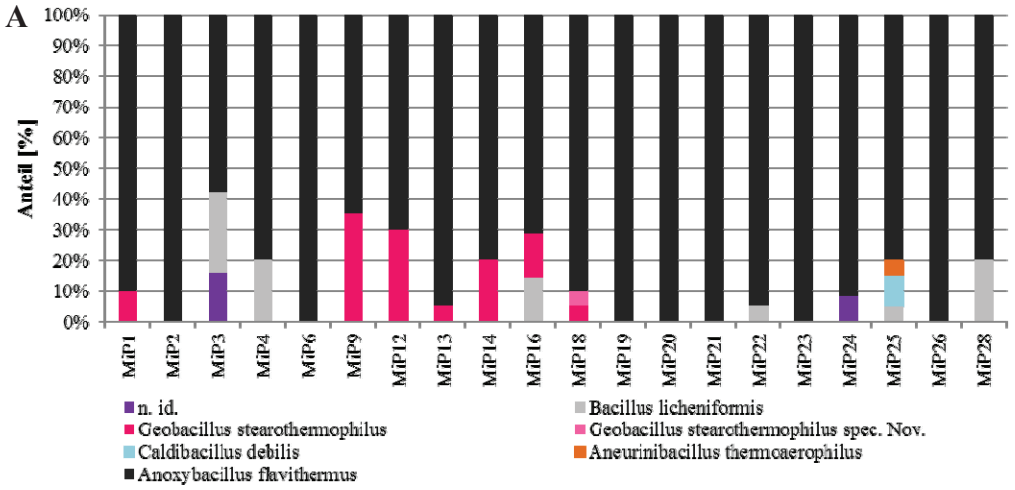
Dieser ist ein mesophiler Sporenbildner, der ein nach oben erweitertes Temperaturspektrum hat und auch bei 55 °C Wachstum zeigt. Generell ist die Biodiversität in Rohmilch überschaubar, da insgesamt nur 25 verschiedene Spezies identifiziert wurden (Abb.1). Zusätzlich zur Dominanz von *B. licheniformis* fällt auf, dass *Anoxybacillus flavithermus* und *Geobacillus stearothermophilus*, die beide als die häufigsten Organismen in Milchpulver beschrieben sind, eher selten gefunden wurden. Beide Spezies wurden in lediglich 2 Proben gefunden, spielen in Rohmilch also eine untergeordnete Rolle. Ähnlich häufig wurden *Bacillus thermoamylovorans*, *Paenibacillus* und *Bacillus smithii* gefunden. Etwas häufiger kommen Isolate der Gattungen *Brevibacillus* (v.a. *B. aydinogluens*), *Ureibacillus* (v.a. *U. thermosphaerivus*) und andere *Bacillus*-Spezies vor.

Im Vergleich zu Rohmilch war die Artenvielfalt in Molke deutlich reduziert. Wurden Kolonien identifiziert, so waren diese mit einer Ausnahme ausschließlich *A. flavithermus* zuzuordnen. Dies stellt einen eklatanten Unterschied zu den Rohmilchproben dar, denn *B. licheniformis* ist in Molke fast nicht mehr nachweisbar und auch andere Spezies wurden nicht gefunden. Daher kommt es schon bei der Prozessierung der Rohmilch zu Molke zu einer

massiven Verschiebung der Spezieszusammensetzung, deren Gründe noch unklar sind. Zudem ist *A. flavithermus* in Rohmilch in der Minorität vorhanden und der Eintrag somit vernachlässigbar klein. Zu beachten ist, dass sich die Analysen der Rohmilch und Molke sehr häufig am Rande des Detektionslimits bewegten und oftmals überhaupt nur wenige Kolonien isoliert werden konnten.

Für die Beurteilung der Keimbelastung im Endprodukt wurden 25 Milch- und 15 Molkenpulver untersucht. Der durchschnittliche Sporengehalt in Milchpulver betrug $2{,}4 \cdot 10^3$ KbE/g, allerdings waren die Unterschiede zwischen einzelnen Proben sehr groß. Schwankungen zwischen unterhalb des Detektionslimits und $> 10^5$ KbE/g waren zu beobachten, wobei etwa 80 % der Proben mehr als 10^3 KbE/g enthielten und somit den für den Export nach China geltenden Grenzwert überschritten. Bei Molkenpulver waren weniger Proben von hohen Sporenzahlen betroffen, bzw. alle Proben lagen unter 10^4 KbE/g und nur etwas mehr als ein Drittel über dem Grenzwert von 10^3 KbE/g.

Die mikrobielle Diversität in Pulvern ist sehr begrenzt, da jeweils nur maximal vier unterschiedliche Arten in einer Probe nachgewiesen wurden (Abb. 2). Insgesamt war *A. flavithermus* die mit Abstand dominierende Spezies (92 und 77 % in Milch- und Molkenpulver). Als weitere Arten wurden mit abnehmender Häufigkeit nur *G. stearothermophilus* sowie *B. licheniformis* und weitere einzeln vertretene Arten nachgewiesen.



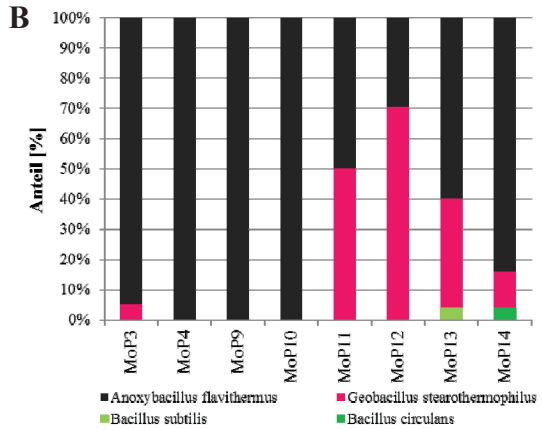


Abb. 2: Biodiversität thermophiler Sporenbildner in Milchpulver (A) und Molkenpulver (B). Das Detektionslimit lag bei 100 KbE/g. Anzahl identifizierter Keime pro Probe n>15

Im Vergleich zur Rohmilch kommt es bei Pulvern also zu einer starken Verschiebung der Artzusammensetzung. Die Dominanz von *B. lichenifomis* wird aufgebrochen und er wird von anderen Arten überwachsen. *A. flavithermus* hingegen, der bislang in lediglich zwei Milchproben gefunden wurde, repräsentiert im Milchpulver 90 % aller Isolate und wurde in allen Milch- und Molkenpulverproben detektiert.

Als zweite Hauptspezies wurde *G. stearothermophilus* identifiziert, allerdings nicht in allen Proben. Im Fall des Molkenpulvers zeigte sich die Florenverschiebung bereits auf der Stufe der Molke, bei der fast ausschließlich *A. flavithermus* nachgewiesen wurde.

Im weiteren Verlauf des Projektes sollen Prozessanalysen Aufschluss darüber geben, wann und in welchen Prozessschritten es zu der beobachteten Artenverschiebung und dem Keimzahlanstieg kommt. Daraus sollen Maßnahmen zur Reduktion der Sporenzahlen abgeleitet werden.

Das Forschungsvorhaben (AiF 18356 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.

Bildung hitzestabiler Peptidasen durch *Pseudomonas* in Rohmilch

Production of heat stable peptidases by Pseudomonas in raw milk

Genia Lücking

Bakterielle Enzyme wie Peptidasen und Lipasen in Rohmilch sind häufig am vorzeitigen Verderb von Milchprodukten beteiligt und stellen aufgrund ihrer potentiellen Hitzeresistenz ein großes Problem für die Qualität länger haltbarer Produkte wie z. B. H-Milch dar. Bereits geringe Mengen von *Pseudomonas*-Peptidasen können zu Produktveränderungen bei UHT-Milch führen. Bei der Untersuchung von 20 Rohmilchproben hinsichtlich der Mikrobiota und deren Enzymaktivität wurde *Pseudomonas* als häufigste Gattung sowie stärkster Peptidaseproduzent in Rohmilch detektiert. Isolate mit hoher Peptidaseaktivität konnten vorwiegend den Arten *P. proteolytica*, *P. gessardii, P. lundensis, Pseudomonas* sp. nov. (1), *P. meridiana* und *P. protegens* zugeordnet werden.

Laut Genomanalysen produziert *Pseudomonas* nur eine sekretierte Peptidase, welche eine alkalische Metallopeptidase (AprA) darstellt. Das *aprA*-Gen ist in einem Operon lokalisiert, das je nach Spezies weitere Gene enthält, z.B. Gene für einen Proteaseinhibitor *(inh* bzw. *aprI*), ein Typ I Sekretionssystem (*aprDEF*), zwei putative Autotransporter (*prtAB*) und eine Lipase (*lipA*). Abbildung 1 zeigt schematisch den genetischen Aufbau dieses Genclusters für die Spezies *P. fluorescens*, bei der das Operon erstmalig beschrieben wurde (siehe Abb. 1).

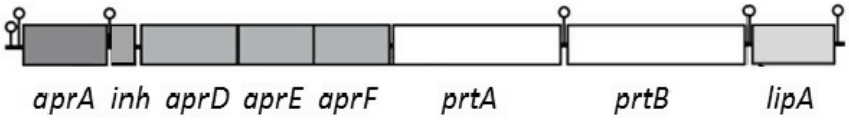


Abb. 1: Struktur des *aprA*-Operons in *P. fluorescens.*

Um die *aprA*-Operonstruktur verschiedener Milch-relevanter *Pseudomonas*-Arten aufzuklären, wurden die kompletten Genomsequenzen von 45 Isolaten, die neun Spezies angehören, mittels Next-Generation-Sequencing ermittelt und auf das Vorhandensein und die Reihenfolge der Peptidasegene überprüft. Für das ausgewählte Stammset ergaben sich im Wesentlichen vier Strukturen, die charakteristisch für die jeweiligen Arten und z.T. Isolate waren (Tabelle 1). Die Anwesenheit aller Gene in der für *P. fluorescens* beschriebenen Reihenfolge *(aprAIDEF prtAB lipA2;* TypA) konnte für alle Isolate der Spezies *P. proteolytica, P. gessardii, P. meridiana* und *Pseudomonas* sp. nov. *(1)* festgestellt werden. Bei *P. protegens* und einigen Isolaten von *Pseudomonas* sp. nov. *(1)* wurde als Besonderheit ein zusätzliches Lipase-Gen (*lipA1*) innerhalb bzw. am Ende des Operons entdeckt. Die zweite charakteristische

aprA- Operonstruktur (TypB) zeichnete sich auch durch das Vorhandensein aller genannten Gene aus, allerdings waren die beiden putativen Autotransportergene *prtAB* nicht innerhalb des Operons, sondern an anderer Stelle im Genom lokalisiert. Dieser Aufbau konnte für Isolate der Spezies *P. lundensis* beobachtet werden. Für drei der elf *P. lundensis*-Isolate wurde dabei kein *lipA2* Gen detektiert (Typ D). Bei einer weiteren Operonvariante (Typ C), die für *P. fragi* gefunden wurde, fehlten die Autotransportergene *prtAB* komplett, während das Lipasegen *lipA2* vorhanden war. Im Vergleich zu den bisher genannten Strukturen weist die Spezies *P. aeruginosa,* die beim Milchverderb eine untergeordnete Rolle spielt, einen völlig anderen *aprA*-Operonaufbau auf und sowohl *prtAB* als auch *lipA2/A1* sind nicht im Gencluster vorhanden.

Tabelle 1: Struktur des *aprA*-Operons einzelner *Pseudomonas* spp.

Spezies	*aprA*-Operonstrukturen	Operontyp	Peptidaseaktivität*
Pseudomonas proteolytica	*aprAIDEF prtAB lipA2*	A	hoch bis sehr hoch
Pseudomonas fluorescens	*aprAIDEF prtAB lipA2*	A	hoch bis sehr hoch
Pseudomonas gessardii	*aprAIDEF prtAB lipA2*	A	hoch bis sehr hoch
Pseudomonas meridiana	*aprAIDEF prtAB lipA2*	A	hoch
Pseudomonas sp. nov. (1)	*aprAIDEF prtAB lipA2*	A	hoch
	aprAIDEF prtAB lipA2 lipA1	A+	sehr hoch
Pseudomonas protegens	*aprAIDEF lipA1 prtAB lipA2*	A++	hoch bis sehr hoch
Pseudomonas lundensis	*aprAIDEF lipA2 - (prtAB)*	B	gering bis hoch
	aprAIDEF - (prtAB)	D	gering bis hoch
Pseudomonas fragi	*aprAIDEF lipA2*	C	gering
Pseudomonas aeruginosa	*aprDEFAI*		

* gemessen in beimpfter H-Milch nach 8-tägiger Inkubation bei 6 °C

Das Vorhandensein, die Struktur und die Regulation dieses Operons könnten wichtige Faktoren für die Stärke der Peptidaseproduktion von *Pseudomonas* sein. Daher wurde für 23 Stämme neun verschiedener Arten die Enzymaktivität nach Anzucht in H-Milch bestimmt. Zur Quantifizierung der Peptidaseaktivität wurde ein photometrischer Enzymnachweis mit Azocasein als Modellsubstrat verwendet. Während das Wachstum der Stämme in Milch einen sehr ähnlichen Verlauf aufwies, unterschied sich die Peptidaseproduktion der getesteten Isolate stark. Dabei korrelierte die Höhe der Peptidaseaktivität z.T. mit der jeweiligen *Pseudomonas*-Spezies bzw. deren *aprA*-Operonstruktur: Während alle Isolate vom Operontyp A hohe bis sehr hohe Peptidaseaktivitäten aufwiesen, waren sechs der neun Isolate vom Operontyp B, C oder D gar nicht bis schwach proteolytisch. Die Anwesenheit aller Gene in der „klassischen“ Operonstruktur *aprAIDEF prtAB lipA2* scheint somit einen positiven Einfluss auf die Peptidaseproduktion zu haben, wobei die z.T. starken, stammspezifischen Unterschiede in der Höhe der Aktivität andere regulatorische Ursachen haben müssen. Weitere Versuche mit beimpften H-Milch- als auch Rohmilchproben sollen folgen, um die Peptidaseproduktion auch nach kürzeren Inkubationszeiten (1-3 Tagen) im Zusammenhang mit der *Pseudomonas*-Keimzahl sowie der Expression des *aprA*-Operons zu untersuchen.

Das Forschungsvorhaben (AiF 18326 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: Neue Gene und ihre Regulation in pathogenen *Escherichia coli*

Gruppenleiter: Klaus Neuhaus

Unsere Arbeiten konzentrieren sich auf einen enterohämorrhagischen *E. coli* (EHEC) Stamm, der blutigen Durchfall und unter Umständen Nierenversagen mit tödlichem Ausgang verursachen kann. Bei diesem Bakterium weiß man zudem wenig über die Ökologie und der in natürlichen Habitaten notwendigen Gene.

DNA kann, aufgrund des Triplett-Codes, an einem gegebenen Ort mehr als einem offenen Leseraster tragen. Diese überlappenden offenen Leseraster scheinen eine Kodierungsreserve für Bakterien darzustellen. Trotzdem sind beschriebene überlappende Gene aus Bakterien vergleichsweise rar. Ein Projekt widmet sich überlappenden und neuen Genen, die für EHEC und weitere Pathogene wichtig sind, um sich an verschiedene Umwelten anpassen zu können.

Genomische Merkmale und Evolution von überlappenden Genen in Bakterien

Genomic characters and evolution of overlapping genes in bacteria

Zachary Ardern

In diesem Projekt untersuchen wir die Eigenschaften von Genomen und des Genetischen Codes, welche überlappende Gene erst ermöglichen. In Kooperation mit Wissenschaftlern der Universität Konstanz entwickeln wir eine umfassende Datenbank zur den Eigenschaften bekannter und neuer Gene, um Vergleiche auf umfassender Basis anstellen zu können. Die Datenbank enthält Daten über die Sequenzeigenschaften der Gene und Proteine, Faltung der letzteren, Ähnlichkeiten zu bekannten Genen usw.

Die Stopp-Kodons und deren Häufigkeit in verschiedenen Leserahmen wird untersucht. Im Zusammenhang mit der Modellierung alternativer Genetischer Codes konnte gezeigt werden, dass der bestehende Genetische Code lange überlappende Gene in alternativen Leserahmen erlaubt. Weiterhin ist der bestehende Code in der Lage, die Eigenschaften von überlappenden Genen in bestimmten Leserahmen trotz möglicher Mutationen besser zu bewahren als die meisten möglichen Alternativen des Codes.

Nachweis und experimentelle Charakterisierung nicht-annotierter Gene in EHEC

Detection and experimental characterization of non-annotated genes in EHEC

Sarah Hücker

Der experimentelle Nachweis, dass ein offener (überlappender) Leserahmen ein funktionales Protein kodiert, stellt nach wie vor eine große Herausforderung dar. Zunächst muss bewiesen werden, dass das potentielle neue Gen in RNA transkribiert wird. Allerdings könnte es sich in diesem Fall auch um eine nicht-kodierende RNA handeln, daher muss auch die Translation oder im Idealfall das Protein nachgewiesen werden. Im nächsten Schritt muss die Funktion des Gens charakterisiert werden, was nur über die Detektion eines Phänotyps möglich ist.

Es wurden strang-spezifische Transkriptome (Nachweis von mRNA) und Translatome (*Ribosomal Footprints*, Nachweis von Translation in Protein) von EHEC unter drei verschiedenen Wachstumsbedingungen in zwei biologischen Replikaten erstellt. So konnten im Hochdurchsatz viele Kandidaten für nicht-annotierte, intergenische, translatierte offene Leserahmen und

antiparallel überlappende Gene, identifiziert werden. Viele potentielle neue Gene haben annotierte Homologe in anderen Spezies. Außerdem besitzen sie für Gene typische regulatorische Elemente, wie Promotor, Terminator und Shine-Dalgarno Sequenz. Ein Algorithmus, der mit annotierten Genen aus EHEC trainiert wurde, prädiktiert viele der offenen Leserahmen als reale Gene.

Die interessantesten Kandidaten antiparallel überlappender Gene wurden für eine funktionale Charakterisierung ausgewählt. Von diesen wurden strang-spezifische knock-out Mutanten erstellt, sodass die Translation eines Leserahmens durch ein Stopp-Kodon vorzeitig abbricht, während die Aminosäure-Sequenz des überlappenden Leserahmens unbeeinflusst bleibt. In kompetitiven Wachstumsversuchen, bei denen Wildtyp und Mutante miteinander konkurrieren, wurden verschiedene Stressbedingungen untersucht. Insgesamt weisen vier Mutanten einen Phänotyp auf. Außerdem zeigte die Promotorregion vieler überlappender Gene bei einer transkriptionellen GFP-Fusion Promotoraktivität. Das kodierte Protein konnte mittels Überexpression eines GFP-Fusionsproteins nachgewiesen werden.

Diese Daten deuten darauf hin, dass das EHEC-Genom in der Tat eine Vielzahl proteinkodierender, nicht-annotierter Gene enthält, deren Funktionen bisher noch größtenteils unbekannt sind.

Die Evolution überlappender Gene
The evolution of overlapping genes
Sonja Vanderhaeghen

Das relative Alter von überlappenden Genen des pathogenen Bakteriums *Escherichia coli* O157:H7 EDL933 lässt sich mit Hilfe der Phylostratigraphie bestimmen. Bisher gibt es nur wenige Informationen über die Funktionalität dieser vorwiegend jungen Gene, ebenso wie von bekannten Proteinen in der Datenbank, die eine Sequenzhomologie zu den überlappenden Genen in EHEC aufweisen. Daher wurde nach weiteren Hinweisen auf Funktionalität und Intaktheit von überlappenden Genen mit computergestützten Analysen untersucht. Hinweise auf Funktionalität geben zum Beispiel die vollständige Alignierung mit bekannten Genen oder das Vorhandensein von konservierten Domänen. Funktionsverlust wird durch interne Stopp-Kodons oder Insertionen, die die Sequenz unterbrechen, angegeben. Die evolutionäre Bedeutsamkeit von überlappenden Genen wird durch die Konservierung von überlappenden Genpaaren in vielen Organismen bestimmt. Auch hier wurde herausgefunden, dass die vorwiegend jungen überlappenden Gene mit hoch konservierten Genen überlappen und daher entweder erst in jüngerer Zeit entstanden sein oder im Laufe der Evolution verloren gegangen sein müssen. Experimentelle phänotypische Charakterisierungen von überlappenden Genen, ihren homologen Sequenzen und Vorläufersequenzen, die durch Sequenzrekonstruktion von Vorfahren-Sequenzen bestimmt wurden, geben Aufschluss über die Evolution überlappender Gene.

Funktionale Charakterisierung von überlappenden Genen in EHEC

Functional characterization of overlapping genes in EHEC

Barbara Zehentner

Obwohl nur in Viren das Phänomen der überlappenden Gene akzeptiert ist, sind auch in Bakterien derartige Genpaare identifiziert worden. Die Existenz vieler überlappender offener Leserahmen in EHEC ist bioinformatisch belegt, deren Funktionalität muss allerdings noch bewiesen werden.

Experimentell konnte bereits mittels RNA-Seq und Ribo-Seq die Transkription sowie die Translation von über 200 überlappenden offenen Leserahmen nachgewiesen werden. Diese Kandidaten wurden in einem Hochdurchsatz Phänotyp-Screening getestet, um deren Auswirkung nach Überexpression auf das bakterielle Wachstum unter verschiedenen Stressbedingungen zu ermitteln. Es konnten 59 überlappende offene Leserahmen identifiziert werden, die einen Wachstumsphänotyp unter einer oder mehreren Stressbedingungen auslösen. Diese Phänotypen wurden in anschließenden kompetitiven Wachstumsexperimenten näher untersucht. Dabei sollten einerseits die gefundenen Phänotypen reproduziert werden, und andererseits die molekulare Ebene identifiziert werden, auf der die Sequenz aktiv ist (ncRNA, Protein). Bisher konnten mit dieser Methode von 19 untersuchten Sequenzen sieben Phänotypen reproduziert werden und für einen Kandidaten wurde zudem mittels GFP-Fusion das zugehörige Genprodukt nachgewiesen.

Arbeitsgruppe: Infektionsstrategien pathogener Darmbakterien

Gruppenleiter: Thilo M. Fuchs

Stoffwechsel von Enteropathogenen bei der Besiedelung von Darmnischen

Microbial metabolism relevant for gut niche occupation

Nicoletta Nolle

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

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

Aktuell beschäftigen wir uns mit der Aufnahme und Verwertung von Zuckeralkoholen *in vitro* und *in vivo*, wodurch Salmonellen bei der Besetzung von Darmnischen einen weiteren metabolischen Selektionsvorteil erreichen können. Im Fokus der Analysen lag eine genomische

Insel, die für den Abbau von Galaktitol verantwortlich ist (Abb. 1). Das Besondere an dieser Determinante ist die Tatsache, dass der Knockout einzelner Gene der Genominsel zu einer Attenuation der Salmonellen in verschiedenen Tierarten führte. Außerdem konnten wir zeigen, dass Teile der Insel in Gegenwart verschiedener Diäten bei einer Salmonellen-Infektion der Maus differentiell reguliert werden. Die Galaktitol-Insel kodiert für ein spezifisches Phosphotransferase-System (PTS), für einen Regulator sowie eine Reihe von Enzymen, die zur Verstoffwechslung von Galaktitol und D-Tagatose beitragen. In Salmonellen konnten zwei verschiedene Haupttypen von Galaktitol-Inseln identifiziert werden, was auf deren partiell unterschiedliche Aufgaben hindeutet. Der Regulator GatR konnte mittels Luziferase-Reporterassays als Repressor der beiden Hauptpromotoren der Insel sowie seines eigenen Promoters identifiziert werden; als weiteres regulatorisches Element wurde das cAMP-Rezeptorprotein CRP erkannt. Die Interaktion beider Regulatoren mit ihrer Ziel-DNA wurde mittels Bandshift-Assays und Biacore-Analysen quantitativ und qualitativ aufgeklärt, wodurch sich ein Modell des Galaktitol-Stoffwechsels ableiten ließ.

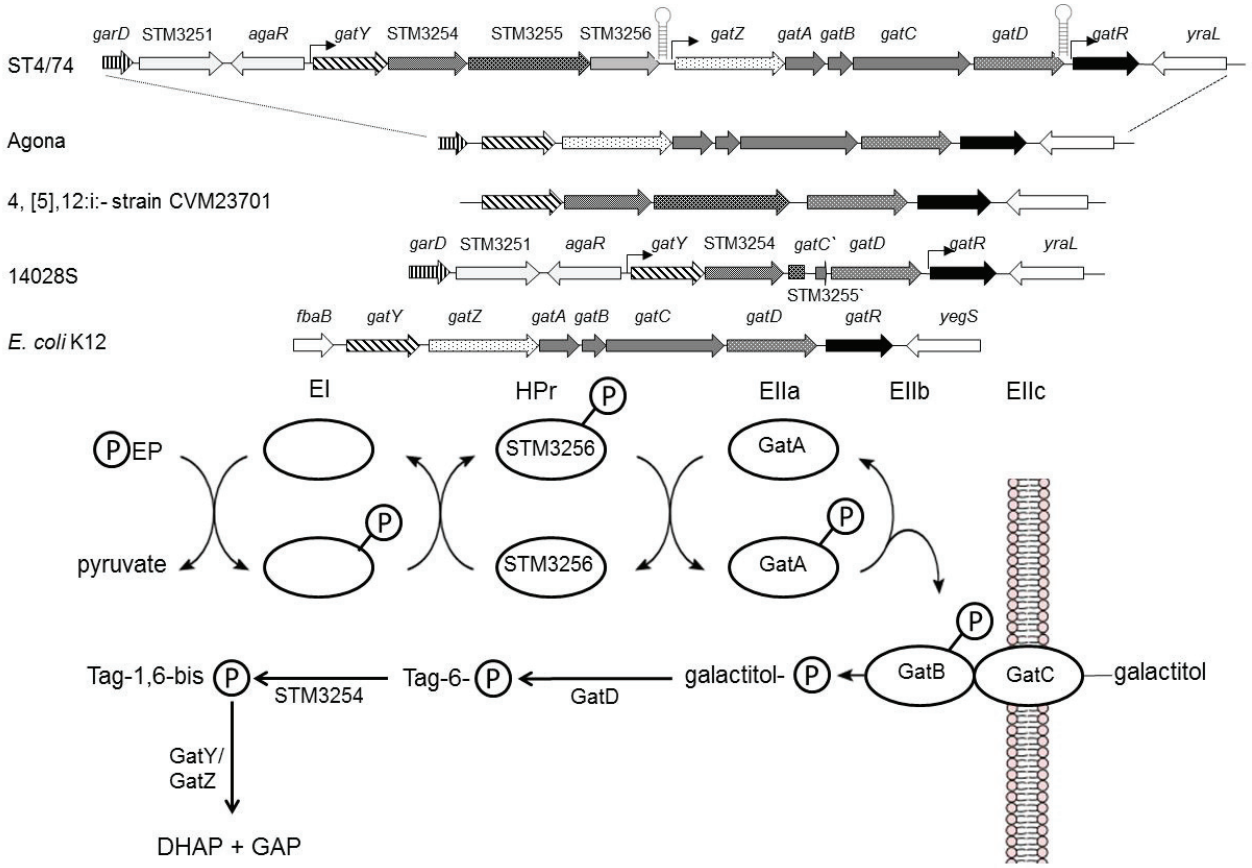


Abb. 1: Die Galaktitol-Abbauinsel von *Salmonella enterica*-Serovaren. A) Architektur der in Salmonellen vorgefundenen Inseln; die beiden Stämme CVM23701 und 14028S zeigten kein Wachstum in Minimalmedium mit Galaktitol als einziger Kohlenhydratquelle. Die Pfeile zeigen die Hauptpromotoren der Insel an. B) Schema des beteiligten PTS sowie der involvierten Enzyme (Nolle & Fuchs, 2016).

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

Myo-*inositol metabolism of* Salmonella enterica *serovar Typhimurium*

Jessica Hellinckx/Angela Felsl

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

Ein Beispiel hierfür ist die Nutzung von *myo*-Inositol als Kohlenstoff- und Energiequelle durch *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S.* Typhimurium). Die „metabolische Insel" GEI4417/4436 trägt die für den Abbau benötigten *iol*-Gene. In den letzten Jahren konnten wir die komplexe Regulation der *iol*-Gene entschlüsseln, indem wir die Transkriptionsaktivität einzelner Promotoren mittels des Luziferase-Reporters charakterisierten. Über Protein-DNA-Bindungsexperimente konnten der zentrale Repressor dieses Abbauweges, IolR, sowie ein neuer Aktivator, ReiD, charakterisiert werden (Kröger & Fuchs, J. Bacteriol. 2009, 191:545-554; Rothhardt *et al*., Mol. Microbiol. 2014, 94: 700-712). Außerdem gelang in Zusammenarbeit mit Jürgen Stolz (ZIEL, Abteilung Biochemie) die Charakterisierung des hauptsächlichen Transporters von *myo*-Inositol (Kröger *et al*., Microbiology 2010, 156:128-138).

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. Hintergrund dieser Eigenschaft ist der bistabile 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. Zuletzt konnten wir zeigen, dass die Fähigkeit zum Inositolabbau der Hysterese unterliegt (Abb. 2).

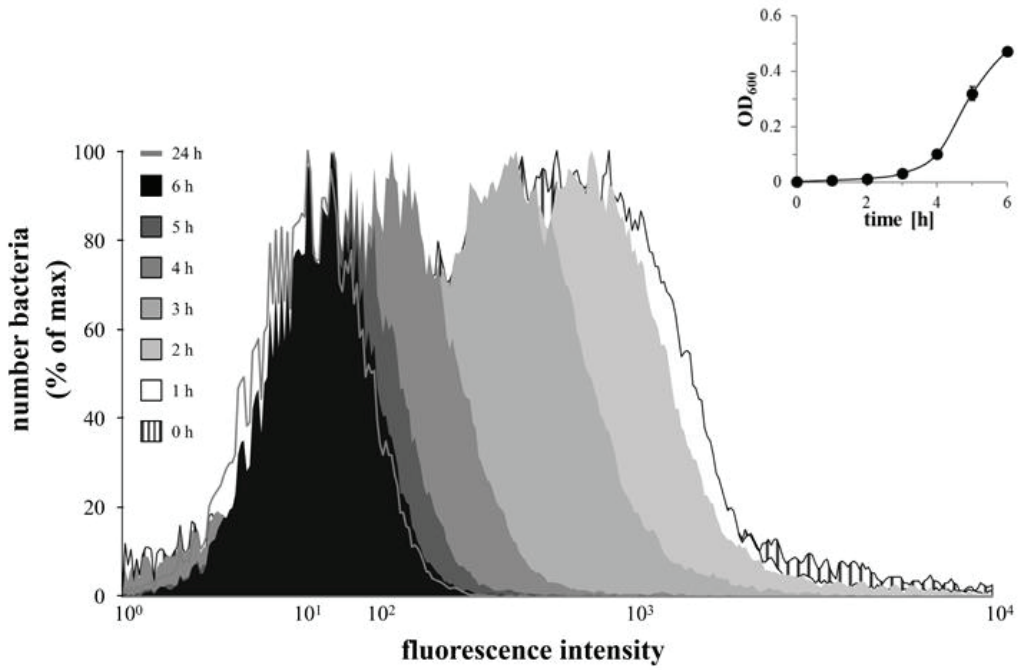


Abb. 2: FACS-Analyse des *iolE*-Promoters nach einem Wechsel von Salmonellen aus einem Minimalmedium mit *myo*-Inositol gegen ein Vollmedium. (Hellinckx *et al*., Microbiol. Open 2016, mbo3.431 Epub ahead of print).

Das bedeutet, dass Salmonellen-Zellen auch nach einem Wechsel von inositolhaltigen zu inositolfreiem Medium noch einige Stunden zu einem schnellen Hochfahren des Inositol-Metabolismus in der Lage sind, sofern sich die Kulturbedingungen entsprechend verändern. Etwa nach 8 Stunden in inositolfreiem Medium jedoch verlieren die Salmonellen ihre „Erinnerung“ an dieses Substrat und benötigen dann wieder die oben beschriebene lange Inkubationszeit für ein Wachstum mit Inositol.

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**

Jakob Schardt

Die meisten bekannten *Listeria*-Arten sind harmlos, jedoch können *Listeria monocytogenes* und *Listeria ivanovii* bei Mensch und Tier gastrointestinale Beschwerden hervorrufen. In seltenen Fällen, insbesondere bei immunsupprimierten und älteren Menschen, kann es aber auch zu schweren invasiven Verläufen mit eitrigen Entzündungen von Hirnhaut und Gehirn (Enzephalomeningitis) oder Totgeburten bei Schwangeren kommen. *L. monocytogenes* ist vor allem in der Lebensmittelindustrie gefürchtet, weil es sich in Obst, Gemüse, Fisch und vor allem Milch- und Fleischprodukten auch bei niedrigen Temperaturen vermehren kann und damit die Schutzfunktion der Kühlung umgeht. Mit der verunreinigten Nahrung gelangen die Keime in den Darm und von dort aus in zahlreiche Organe des Körpers. *L. monocytogenes* ist ein fakultativ intrazelluläres Bakterium und kann sich sowohl extrazellulär als auch intrazellulär in Wirtszellen vermehren. Als Wirtszellen können entweder professionell phagozytische Zellen wie Makrophagen, aber auch nicht professionell phagozytische Zellen wie z.B. Epithelzellen, Hepatocyten, Fibroplasten oder Endothelzellen fungieren. Die Fähigkeit, die Vakuolen zu verlassen und frei im Zytoplasma der Wirtszelle zu replizieren, unterscheidet *L. monocytogenes* von dem Großteil der intrazellulären Pathogene. Eine erfolgreiche intrazytoplasmatische

Lebensweise ist die Folge von einer Reihe metabolischer Anpassungen des Pathogens, die von uns charakterisiert wurden (Schauer *et al*., BMC Genomics 2010, 11:573; Fuchs *et al*., FEMS Microbiol. Rev. 2012, 36:435-462). Insbesondere wurden hierbei Gene identifiziert, die für die intrazelluläre Lebensphase von *L. monocytogenes* von entscheidender Bedeutung sind. Dazu zählen Spezies-spezifische Transportproteine und für an spezifischen Stoffwechselwegen beteiligte Enzyme. Ein Beispiel ist die Verwertung des im Zytosol durch den Abbau von Phospholipiden oder Triglyceriden freigesetzten Glycerins, das während des intrazellulären Wachstums alternativ zu Glukose als C-Quelle dient (Joseph *et al*., J. Bacteriol. 2006, 188:556-568; Schauer *et al*., J. Bacteriol. 2009, 191:2218-2227).

In Zusammenarbeit mit Wolfgang Eisenreich (Lehrstuhl für Biochemie der Technischen Universität München, Garching) wurden zuletzt umfangreiche Untersuchungen zum Stickstoff-Metabolismus von *L. monocytogenes* durchgeführt. Hierbei wurden die metabolischen Flüsse *in vitro* und während der Infektion von Nematoden mittels der ^{15}N-Isotopologen-Analyse gemessen und analysiert (Kern *et al*., 2016; Kutzner *et al*., 2016). Inder Pilotstudie mit Nematoden konnten wir zeigen, dass sich Listerien während der Replikation im Modellorganismus *Caenorhabditis elegans* nicht nur von Darmmetaboliten, sondern überraschenderweise auch von Stickstoffverbindungen, die von den Epithelzellen des Wurmes stammen müssen, ernähren. Um erstmals das Repertoire an listeriellen Stickstoffquellen systematisch zu erschließen, wurde eine Reihe von ^{15}N-markierten Verbindungen einem listeriellen Minimalmedium zugesetzt. Es konnte erstmals gezeigt werden, dass der Stickstoffpool von Listerien außer durch Ammonium und Glutamin durch Methionin und die verzweigtkettigen Aminosäuren, aber auch durch den Abbau von Glucosamin oder Ethanolamin aufgefüllt werden kann, was Implikationen für deren Nutzung während einer Infektion hat (Abb. 3). Derzeit beschäftigen wir uns mit dem Verhalten pathogener und nicht-pathogener Listerien während der Replikation im Darmlumen.

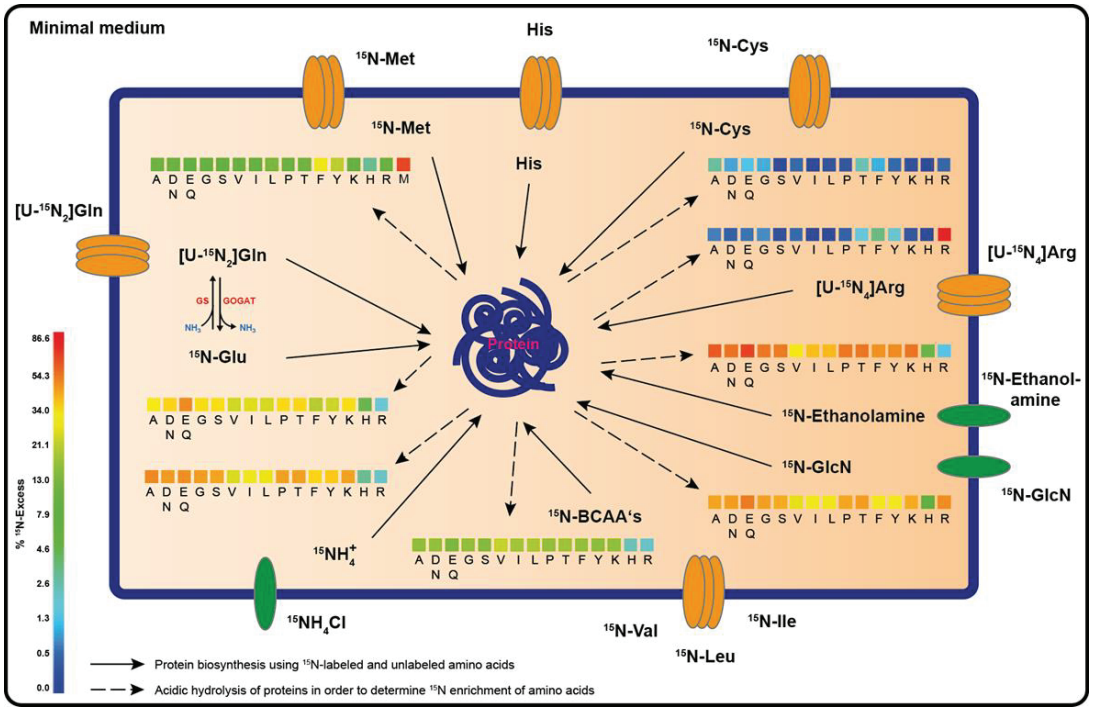


Abb. 3: Stickstoffquellen von *L. monocytogenes* EGD-e unter *in vitro*-Bedingungen. Die Abbildung zeigt einen Überblick über Substrate, die laut Isotopologen-Analyse von Listerien als Stickstoffquelle genutzt werden können. Die Farbkodierung weist auf die Einbaurate eines markierten Stickstoffatoms in die jeweilige listerielle Aminosäure hin (Kutzner *et al*., 2016).

Insektizide Aktivität von *Yersinia enterocolitica*

***Insecticidal activity of* Yersinia enterocolitica**

Katharina Springer

Die Gruppe der Yersinien umfasst mindestens 15 verschiedene Arten, darunter die drei humanpathogenen Arten *Yersinia pestis*, den Erreger der Pest, sowie *Yersinia pseudotuberculosis* und *Yersinia enterocolitica*, zwei Keime, die gastrointestinale Erkrankungen in Säugetieren hervorrufen können. Bis auf *Y. pestis*, ein Bakterium, das auf einen komplexen Lebenszyklus mit Nagetieren als Reservoir und Flöhen als Überträger angewiesen ist, sind die Vertreter der Gattung *Yersinia* in der Natur weit verbreitet. Während die für den Menschen krankheitsauslösenden Faktoren des Pathogens mittlerweile gut untersucht sind, ist über die Molekularbiologie der Vermehrung von Yersinien außerhalb des Menschen noch vergleichsweise wenig bekannt. Zwar wurde kürzlich gezeigt, dass *Y. pestis* sowie *Y. pseudotuberculosis* auch den Nematoden *Caenorhabditis elegans* infizieren können, die Assoziation von *Y. enterocolitica* mit Invertebraten hingegen war bislang unerforscht. Als notwendige Grundlage für eine solche Untersuchung wurde von uns das komplette Genom des Stammes *Y. enterocolitica* W22703 sequenziert, annotiert und analysiert (Fuchs *et al*., BMC Microbiology 2011, 12:168). Besonders bemerkenswerte Ergebnisse waren die Identifikation eines neuen Typ 3-Sekretionssystems sowie die Charakterisierung einer artspezifischen Zone hoher genomischer Flexibilität.

Der Stamm *Y. enterocolitica* Stamm W22703 trägt außerdem eine temperaturregulierte Pathogenitätsinsel, die so genannte TC-PAI$_{Ye}$ (*toxin complex pathogenicity island of Y. enterocolitica*), deren Gene für insektizide Toxinkomplexe (Tc) kodieren (Abb. 4).

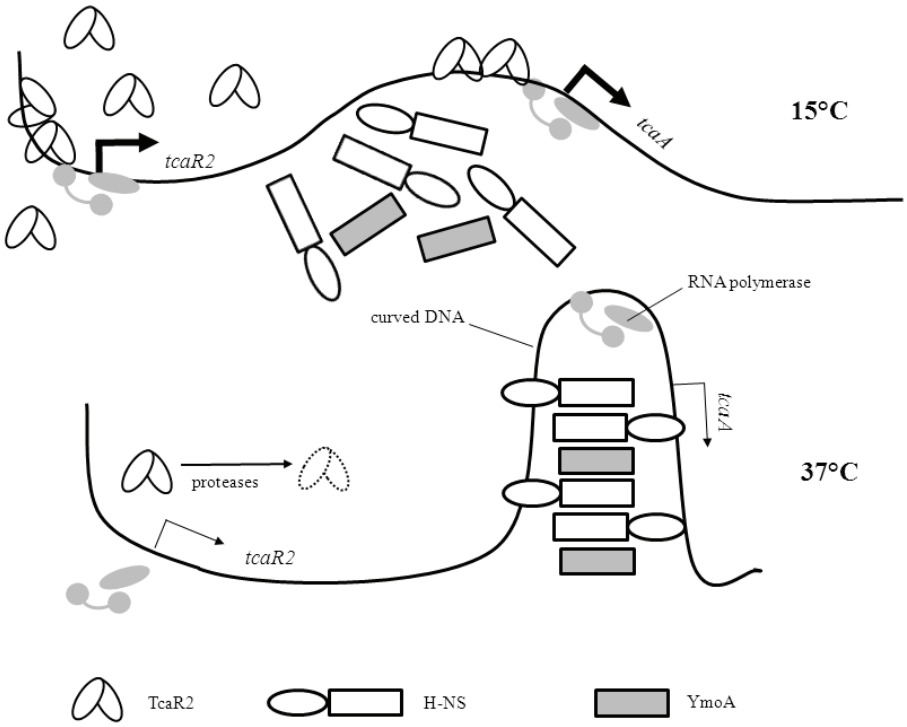


Abb. 4: Modell der temperaturabhängigen Regulation der insektiziden Aktivität von *Y. enterocolitica*. Bei 15°C aktiviert TcaR2 als Dimer die Transkription des Genes *tcaA*. Die Tetramerisierungsrate des Repressors H-NS ist bei dieser Temperatur stark reduziert, und der Aktivator kann TcaR2 verdrängen. Bei 37°C jedoch wird weniger *tcaR2* transkribiert, und TcaR2 unterliegt dem proteolytischen Abbau, während die Menge an funktionalem YmoA ansteigt. YmoA wiederum verstärkt die Bindung von H-NS an die Promotoren der Pathogenitätsinsel und reprimiert so bei Körpertemperatur die insektizide Aktivität (Starke & Fuchs, 2014).

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). Um einen tieferen Einblick in die Interaktion von *Yersinia* spp. mit Invertebraten zu gewinnen wurde, zusätzlich der Nematode *C. elegans* als Modellorganismus etabliert. In Zusammenarbeit mit Britta Spanier (ZIEL, Abteilung Biochemie) konnten die Kolonisierung und die Proliferation von *Y. enterocolitica* W22703 in *C. elegans* sowie die Expression des insektiziden Toxins *tcaA* im Nematoden nachgewiesen werden (Spanier *et al*., Appl. Environ. Microbiol. 2010, 76:6277-6285).

Mit Hilfe des Luziferase-Reportersystems sowie durch den Knockout verschiedener globaler *Yersinia* Transkriptionsregulatoren haben wir jüngst die molekularen Mechanismen, die der kälteinduzierten Expression der *tc*-Gene sowie der Freisetzung bzw. dem Transport der Tc-Proteine aus der Zelle zugrunde liegen, aufgeklärt (Starke *et al.*, 2013; Starke & Fuchs, 2014). Hierbei wurde ein neuartiger, LysR-artiger Transkriptionsfaktor als Schlüsselfaktor für die Aktivierung der *tc*-Gene bei niedrigen Temperaturen identifiziert. TcaR2 ist autoreguliert, bindet an verschiedene Promotoren der Pathogenitätsinsel und ist bei 37°C instabil. Gleichzeitig wirkt ein Komplex aus dem DNA-bindenden Faktor H-NS und dem sog. „*Yersinia* modulator of virulence“, YmoA, repressorisch auf die Expression der *tc*-Gene. Mit abnehmender Temperatur hingegen stabilisiert sich TcaR2, dessen Produktion dadurch gesteigert wird, während der H-NS/YmoA-Komplex zunehmend an Funktionalität. Ein aus diesen Daten abgeleitetes Regulationsmodell der insektiziden Aktivität ist in Abb. 4 gezeigt. Derzeit beschäftigen wir uns mit dem Freisetzungsmechanismus des Toxins.

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.

Habilitationen, Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Habilitationen

Neuhaus, Klaus: PD Dr. rer.nat. Technische Universität München, 20.07.2016
“Molecular ecology of food-borne bacteria in the environment and food chain – Bacterial interpenetration of trophic levels”

Dissertationen

Böhm, Maria-Elisabeth, Dr. rer. nat., 09.06.2016, Technische Universität München
„Comparative phylogenetic and transcriptional analysis of the *Bacillus cereus* sensu lato enterotoxin genes *nhe, hbl* and *cytK*"

Kern, Tanja, Dr. rer. nat., 22.07.2016, Technische Universität München
„Stickstoffmetabolismus von *Listeria monocytogenes*: Identifizierung von Substraten und Ihre Verwendung für die Proteinsynthese"

Ferrari, Elena, Dr. rer. nat., 13.10.2016, Technische Universität München
„Adaptation of *Listeria weihenstephanensis* and *Listeria monocytogenes* to anaerobiosis"

Staib, Lena, Dr. rer. nat., 21.11.2016, Technische Universität München
„Investigation of propanediol and fucose degradation by *Salmonella* Typhimurium"

Masterarbeiten

Zachary, Maria: „Charakterisierung essentieller Komponenten des Typ IV-Sekretionssystems von *Helicobacter pylori*"

Carquevielle, Sarah: „Peptidasenbildung durch *Pseudomonas:* Einfluss der Spezieszugehörigkeit und unterschiedlicher Wachstumsfaktoren auf Genexpression und Enzymaktivität"

Wolf, Daniel: „Phänotypische Charakterisierung des überlappenden Leserahmens zu *rpoC* in *Escherichia coli* O157:H7 EDL933

Georg, Steffen: „Charakterisierung von Null valentem Eisen oxidierenden Mikroorganismen und kontinuierlichen Reaktoren zur Mikrobiellen Elektrosynthese"

Hemberger, Jacqueline: „Phänotypen nach Ausschalten von überlappenden Genen in EHEC"

Kreitmeier, Michaela: „Analyse der AprA-Peptidaseproduktion in Pseudomonas - Zusammenhang zwischen Peptidaseaktivität und Transkription des aprA-lipA-Operons"

Bachelorarbeiten

Fritschle, Katja: „Die Regulierung des Galaktitol-Abbaus in *Salmonella* Typhimurium"

Hurler, Lisa: „Konstruktion eines Vektors zur Ttransformation von Pichia pastoris und Charakterisierung der Proteinexpression"

Korfmann, Kevin: „Weiterführende Charakterisierung von Genen in *Listeria monocytogenes* zur Kolonisierung des Darmtraktes"

Schild Kerstin: „Verderbsrelevante Mikroorganismen in baktofugierter ESL-Milch - Analyse der Spezieszugehörigkeit und Charakterisierung des enzymatischen Potentials"

Ismayer, Melanie: „Thermophile Sporenbildner in Milch und Milchpulver - Bestimmung der Sporenzahl, Biodiversität und Wachstumsgrenzen"

Schlemmer, Lisa: „Technische Möglichkeiten der Reduktion von pathogenen Keimen auf der Schale von rohen Hühnereiern"

Veröffentlichungen

Böhm M-E, Krey VM, Jeßberger N, Frenzel E, Scherer S (2016) Comparative Bioinformatics and Experimental Analysis of the Intergenic Regulatory Regions of *Bacillus cereus hbl* and *nhe* Enterotoxin Operons and the Impact of CodY on Virulence Heterogeneity. Frontiers in Microbiology 7, Article 768

Fellner L, Huptas C, Simon S, Mühlig A, Scherer S, and Neuhaus K (2016) Draft genome sequences of three European laboratory derivatives from enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL933, including two plasmids. Genome Announcements 4(2):e01331-15

Glück C, Rentschler E, Krewinkel M, Merz M, von Neubeck M, Wenning M, Scherer S, Stoeckel M, Hinrichs J, Stressler T and Fischer L (2016) Thermostability of peptidases secreted by raw milk associated microorganisms. Int Dairy J 56: 186-197

Hellinckx, J. and T. M. Fuchs (2016) Hysteresis in *myo*-inositol utilization by *Salmonella* Typhimurium. Microbiology Open, 00: 00:1-6. Doi: 10.1002/mbo3.431

Huptas C, Scherer S and Wenning M (2016) Optimized Illumina PCR-free Library Preparation for bacterial whole genome sequencing and analysis of factors influencing de novo assembly, BMC Research Notes 9: 269

Hücker SM, Simon S, Scherer S, Neuhaus K (2016) Transcriptional and trans-lational regulation by RNA thermometers, riboswitches and the sRNA DsrA in *Escherichia coli* O157:H7 Sakai under combined cold and osmotic stress adaptation. FEMS Microbiology Letter DOI 10.1093/femsle/fnw/262

Kabisch J, Erl-Höning C, Wenning M, Böhnlein C, Gareis M, Pichner R (2016) Spoilage of vacuum-packed beef by the yeast Kazachstania psychrophila. Food Microbiol 53:15-23

Kern T, Kutzner E, Eisenreich W, Fuchs TM (2016) Pathogen – nematode interaction: Nitrogen supply of *Listeria monocytogenes* during growth in *Caenorhabditis elegans*. Environmental Microbiology Reports 8(1):20-29

Krewinkel M, Baur C, Kranz B, von Neubeck M, Wenning M, Scherer S, Stoeckel M, Hinrichs J, and Fischer L (2016) A sensitive and robust method for direct determination of lipolytic activity in natural milk environment. Food Anal Methods, Vol. 9, 3:646-655

Kutzner, E., Kern, T., Felsl, A., Eisenreich, W., and T. M. Fuchs (2016) Isotopologue profiling of the listerial N-metabolism. Molecular Microbiology 100(2):315-327

Lagkouvardos I, Pukall R, Abt B, Foesel BU, Meier-Kolthoff JP, Kumar N, Bresciani A, Martínez I, Just S, Ziegler C, Brugiroux S, Garzetti D, Wenning M, Bui TPN, Wang J, Hugenholtz F, Plugge CM, Peterson DA, Hornef MW, Baines JF, Smidt H, Walter J, Kristiansen K, Nielsen HB, Haller D, Overmann J, Stecher B and Clavel T (2016) The Mouse Intestinal Bacterial Collection (miBC) provides host-specific insight into cultured diversity and functional potential of the gut microbiota. Nature Microbiology Vol.1, 16131:1-15

Loscar ME, Schmid J, Huptas C, Wenning M and Sieber V (2016) Draft genome sequence of Lysinibacillus xylanilyticus SR-86. Genome Announc 16: 01317-16

Mandl, F. A., Kirsch, V. C., Ugur, I., Kunold, E., Vomacka, J., Fetzer, C., Schneider, S., Richter, K., Fuchs, T. M., Antes, I., and S. A. Sieber (2016) Natural product inspired amino-epoxybenzoquinones kill members of the Gram-negative pathogen *Salmonella* by attenuating cellular stress response. Angew. Chem Int. Ed. Engl. 55: 14852-14857

Müller-Herbst St, Wüstner S, Kabisch J, Pichner R, Scherer S (2016) Acidified nitrite inhibits proliferation of *Listeria monocytogenes* – Transcriptional analysis of a preservation method. Intern. Journal of Food Microbiology 226:33-41

Neuhaus K, Landstorfer R, Fellner L, Simon S, Schafferhans A, Goldberg T, Marx H, Ozoline ON, Rost B, Kuster B, Keim DA and Scherer S (2016) Translatomics combined with transcriptomics and proteomics reveals novel functional, recently evolved orphan genes in *Escherichia coli* O157:H7 (EHEC). BMC Genomics 17:133

Neuhaus, K, Lamparter MC, Zölch B, Landstorfer R, Simon S, Spanier B, Ehrmann MA, Vogel RF (2016) Probiotic *Enterococcus faecalis* Symbioflor® down regulates virulence genes of EHEC in vitro and decrease pathogenicity in a *Caenorhabditis elegans* model. Arch Microbiol DOI 10.1007/s00203-016-1291-8

Nolle, N., Felsl, A., Heermann, R., and T. M. Fuchs (2016) Genetic characterization of the galactitol utilization pathway of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J. Bacteriol.* 199:e00595-16

von Neubeck M, Huptas C, Glück C, Krewinkel M, Stoeckel M, Stressler T, Fischer L, Hinrichs J, Scherer S and Wenning M (2016) *Pseudomonas helleri* sp. nov. and *Pseudomonas weihenstephanensis* sp. nov., isolated from raw cow's milk. Int J Syst Evol Microbiol, 66: 1163–1173

Schmid J, Huptas C and Wenning M (2016) Draft genome of the xanthan producer *Xanthomonas campestris* LMG 8031. Genome Announc 16: e00456-15

Stoeckel M, Friedl N, Achberger V, Lidolt M, Glück C, Krewinkel M, Stressler T, von Neubeck M, Wenning M, Scherer S, Fischer L and Hinrichs J (2016) Growth of *Pseudomonas weihenstephanensis*, *Pseudomonas proteolytica* and *Pseudomonas* sp. in raw milk: Impact of residual heat-stable enzyme activity on stability of UHT milk during shelf-life. Int Dairy J 59: 20-28

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

Dynamische Untersuchungen flüchtiger Photooxidationsprodukte aus Milch

Doris Gibis[1,2], Dr. Jonathan Beauchamp[2], Prof. Dr. Horst-Christian Langowski[1,2]
[1]Technische Universität München, Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik
[2] Fraunhofer IVV, Freising

Einleitung

Milch ist ein sehr empfindliches Lebensmittel, das für den mikrobiellen Verderb besonders anfällig ist. Auch Lichteinstrahlung hat eine starke Auswirkung auf die Milchqualität, da durch Licht begünstigte Oxidationsprozesse ein Fehlaroma hervorrufen können, das als „Lichtgeschmack“ bezeichnet wird. Dieses Fehlaroma wird typischerweise mit den Attributen *nach verbranntem Eiweiß, oxidiert, kohlartig* und/oder *pilzartig* beschrieben [1, 2].

Mit zunehmender Belichtungsdauer nimmt die Intensität des Lichtgeschmacks zunächst ab, wobei sich im Anschluss daran neue Fehlgerüche bilden. Diese werden als *kartonartig, metallisch* oder *ranzig* beschrieben und dominieren das Milcharoma mit zunehmender Beleuchtungsdauer [1, 3, 4]. Naturgemäß ist Milch in farblosen Glasbehältern für diese Prozesse besonders anfällig.

Die Fehlaromen, welche sich zu Beginn der Lagerung von Milch unter Lichteinfluss ausbilden, sind bislang nur wenig erforscht. Sie werden jedoch licht-induzierten Oxidationsreaktionen von Proteinen und Aminosäuren (wie z.B. Methionin) zugeschrieben. Diese führen zur Bildung flüchtiger organischer Verbindungen (VOCs) wie Methional, Methanthiol, Schwefelwasserstoff, Dimethylsulfid (DMS) und Dimethyldisulfid (DMDS) [5]. Allerdings widersprechen sich die Studien dazu bislang hinsichtlich der relativen Mengen der gebildeten Geruchsstoffe, weshalb die genauen Bildungswege nach wie vor unklar sind. Dies lässt sich auf Unterschiede in den Studienbedingungen, wie Belichtung (Lichtintensität, Wellenlängen des Lichts, Belichtungsdauer), Zusammensetzung der Milch (Fettgehalt, Fettsäurezusammensetzung), Konzentration von Photosensibilisatoren (Riboflavin, Protoporphyrin, Chlorophyll), Konzentration von Quenchern/Antioxidantien (Ascorbinsäure, beta-Carotin, Tocopherole), Reaktionstyp der Photooxidation (Typ I oder II), Verpackungsmaterial, sowie Genauigkeit der Analysenmethoden zurückführen [6, 7, 4, 8]. Im Gegensatz dazu ist die Entstehung von Fehlaromen bei Belichtungsdauern über mehr als 12 Stunden (*kartonartig, metallisch, ranzig*) sehr gut erforscht und wird sekundären Fettoxidationsprodukten wie Carbonylverbindungen (Aldehyde, Ketone), Alkoholen und Kohlenwasserstoffen zugeschrieben [4]. Zudem kann eine Zunahme an flüchtigen, schwefelhaltigen Verbindungen wie DMS zum Fehlaroma beitragen [3].

In einer Kooperationsstudie zwischen dem Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik, dem Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV und dem Department of Food Science an der University of Otago, Dunedin, Neuseeeland, wurde die Bildung von VOCs in belichtet gelagerter ESL-Milch über 48 Stunden mittels Protonentauschreaktions-Massenspektrometrie (PTR-MS) unter gekühlten Bedingungen (4 °C) untersucht. Das Profil der VOCs aus den PTR-MS-Messungen wurde mit Ergebnissen aus sensorischen Untersuchungen verglichen. Hierzu wurden die Proben durch ein geschultes Sensorikpanel zu definierten Zeitpunkten (0; 0,25; 1; 6 und 24 Stunden) hinsichtlich Veränderungen im Geruchsprofil bewertet.

Material und Methoden

Um Milch mit einem definierten Abfülldatum ohne vorherige Lichteinwirkung einsetzen zu können, wurde ESL-Milch (verlängerte Haltbarkeit; Originalverpackung im 500 mL Tetrapak™) mit zwei Fettgehalten (3,8 % und 1,5 %) von der Molkerei Weihenstephan GmbH, Freising bezogen. Zur Simulation einer Glasverpackung wurden jeweils 400 mL Milch in 500 mL-Glasflaschen (Schott AG, Mainz) umgefüllt (Gas-Kopfraumvolumen ca. 150 mL). Zum Schutz der Proben vor Lichteinfluss während der Probenvorbereitung wurden sie im abgedunkelten Raum abgefüllt und die Flaschen bis zur Auslagerung mit Aluminiumfolie umwickelt. Zur Belichtung der Proben wurden vier Leuchtstoffröhren (TL-D 15W/840, Philips; Gesamtbestrahlungsstärke 10,6 W/m^2) verwendet, mit einen Abstand von 20 cm zur Probe. Die spektrale Emission der Leuchtstoffröhre umfasste Wellenlängen zwischen 405 und 640 nm, mit Intensitätsmaxima bei 430, 405 und 610 nm.

Die Kopfraumatmosphäre der Milchproben mit den gebildeten VOCs wurde online mittels PTR-MS (IONICON Analytik GmbH, Innsbruck) analysiert. Die Identifizierung der VOCs erfolgte auf Basis von Veröffentlichungen zu Verbindungen in photooxidierter Milch und ihren typischen massenspektrometrischen Fragmentierungsmustern im PTR-MS [9].

Sensorische Untersuchungen an Vollmilchproben (3,8 % Fett) wurden bei Raumtemperatur (21±1 °C) durch ein geschultes Panel (5 männlich, 3 weiblich, Alter: 25-50 Jahre) durchgeführt. Die orthonasale sowie retronasale Bewertung der Proben erfolgte mittels Aromaprofilanalyse (APA). Für die sensorische Bewertung wurden aus logistischen Gründen neue Milchproben verwendet. Die Proben (0; 0,25; 1; 6 und 24 Stunden belichtet) wurden dem Panel in abgedeckten Gläsern (Volumen: 140 mL) in einer zufälligen Reihenfolge dargeboten. Die Auswertung der sensorischen Bewertungen erfolgte mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA; Unscrambler Software).

Ergebnisse und Diskussion

Die gemessenen Freisetzungskurven der VOCs in Abbildung 1 zeigen, dass Methanthiol nach Einschaltung der Belichtung in beiden Milchsorten sehr schnell gebildet und anschließend wieder abgebaut wird. Methanthiol kann als Abbauprodukt von Methional entstehen oder direkt aus Methionin gebildet werden und trägt zu einem *verbrannten, oxidierten, kohlartigen Fehlaroma* in photooxidierter Milch bei kurzer Lagerzeit bei. Die Abnahme des Methanthiol-Signals lässt sich dadurch erklären, dass Methanthiol zu DMDS oxidiert wird, welches weiter zu der geruchlosen, nicht-flüchtigen Methansulfonsäure oxidiert werden kann [10].

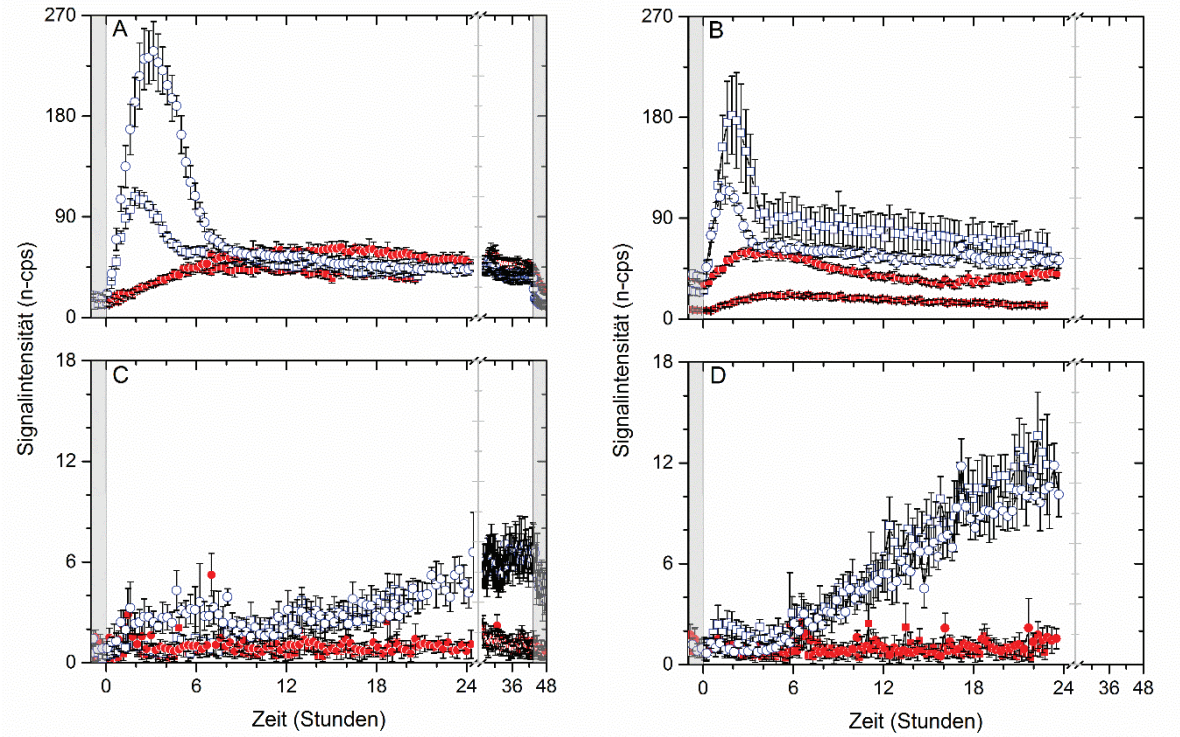


Abb. 1: Freisetzung von Methanthiol (A und B) und Dimethyldisulfid (C und D) aus Vollmilch mit 3,8 % Fettgehalt (A und C) und fettarmer Milch mit 1,5 % Fettgehalt (B und D) während dunkler (rote Symbole) sowie belichteter Lagerung (blaue Symbole). Doppelbestimmungen sind durch quadratische und kreisförmige Symbole dargestellt. Grau schattierte Bereiche zu Lagerbeginn und -ende geben Zeiträume mit dunkler Lagerung an. Einzelne Datenpunkte sind das Ergebnis aus fünf PTR-MS-Messzyklen mit Angabe der Standardabweichung. Die Signalintensität ist proportional zur Konzentration (n-cps = normalised counts per second).

Die Ergebnisse lassen nicht nur Aussagen über die Reaktionsgeschwindigkeiten zu, sondern auch über die Schwankungen innerhalb der Doppelbestimmungen. Bei der Probe mit höherer Methanthiolintensität (s. Abb. 1) kann zum Zeitpunkt der Abnahme der Methanthiol-Konzentration ein Zwischenmaximum der DMDS-Konzentration beobachtet werden. Bei einer zweiten Probe mit einer geringeren Methanthiolintensität wurde dieses Zwischenmaximum dagegen nicht beobachtet. Dieses Ergebnis stützt die Hypothese, dass die Freisetzung dieser beiden VOCs miteinander in Verbindung steht. Bei allen anderen flüchtigen Verbindungen konnte dagegen eine gute Reproduzierbarkeit innerhalb der Doppelbestimmungen erreicht werden. Dies lässt folgern, dass die beobachteten Unterschiede in der Methanthiolbildungsrate nicht durch Messungenauigkeiten verursacht wurden, sondern durch zufällige Schwankungen der Probenbeschaffenheit, die auf die Geschwindigkeit der Bildungs- und Abbaureaktionen des Methanthiols offenbar einen sehr starken Einfluss haben.

Abbildung 2 zeigt eine stetige Zunahme in der Konzentration der Aldehyde Formaldehyd, Acetaldehyd, Pentanal sowie Hexanal. Als Hauptprodukt der Oxidation von ω-6 mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie Linolsäure ist Hexanal mit Pentanal und DMDS für die Ausbildung eines *kartonartigen, metallischen* Fehlgeruchs bei längerer Belichtungsdauer verantwortlich.

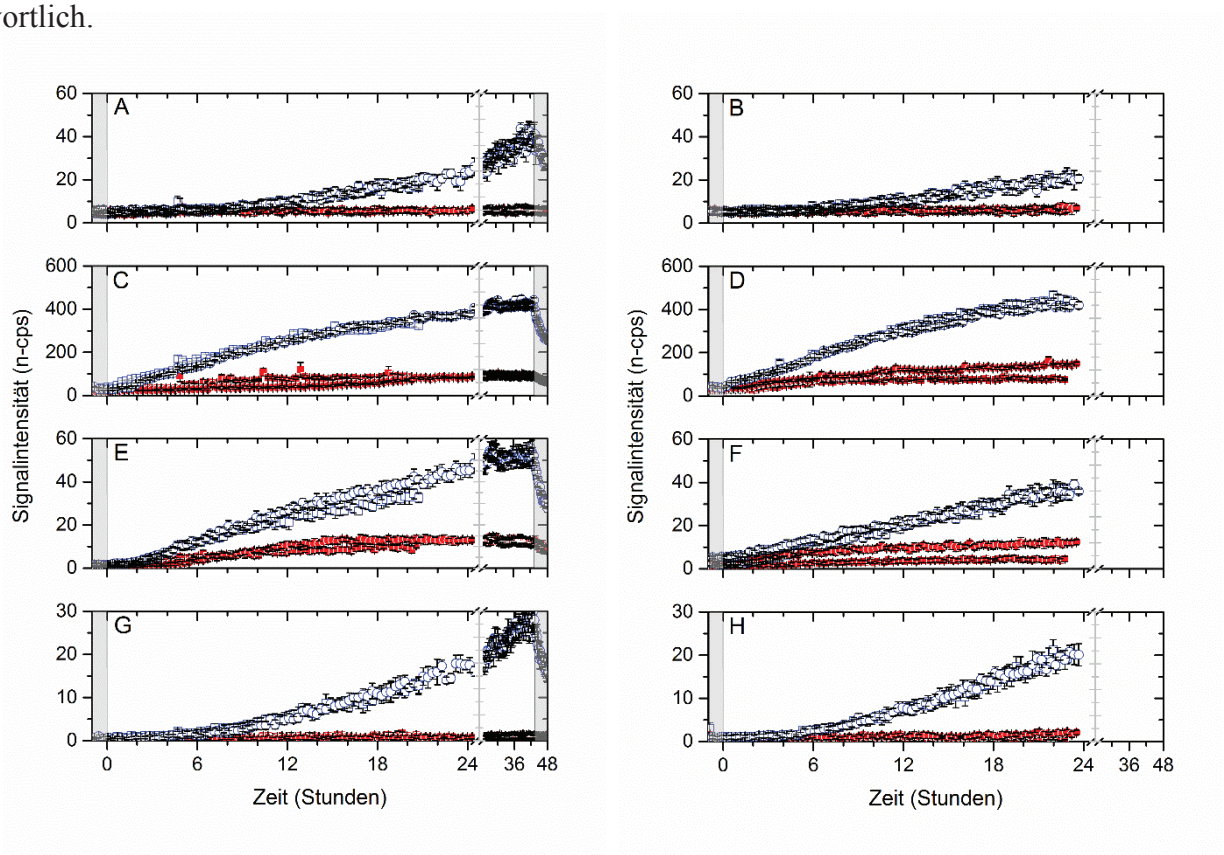


Abb. 2: Profile der Freisetzung von Formaldehyd (A und B), Acetaldehyd (C und D), Pentanal (E und F) und Hexanal (G und H) aus Vollmilch (A, C, E, G) und fettarmer Milch (B, D, F, H). Datenreihen bzw. Symbole sind wie in Abbildung 1 dargestellt.

Neben analytischen Untersuchungen wurden die Proben zudem zu definierten Zeitpunkten (0; 0,25; 1; 6; 24 Stunden) mittels einer Aromaprofilanalyse bewertet und im Anschluss daran eine Hauptkomponentenanalyse (PCA) durchgeführt. Abbildung 3 zeigt die Verteilung zweier belichtet gelagerter Vollmilchproben auf den zwei Hauptkomponenten. Frische Proben (0 Stunden) dienten dabei als Referenz. Die Abbildung zeigt zum einen, dass sich die sensorischen Eigenschaften der Proben insgesamt signifikant voneinander unterscheiden.

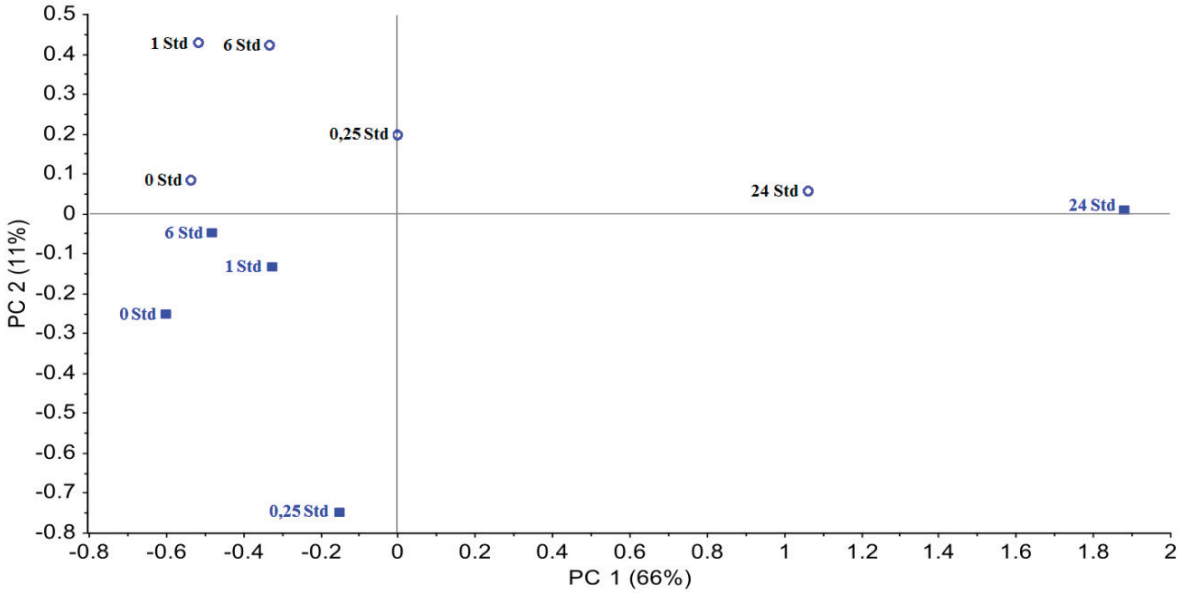


Abb. 3: Hauptkomponentenanalyse (PCA) aus 18 sensorischen Attributen zweier Vollmilchproben (blaue bzw. schwarze Schrift) nach belichteter Lagerung (0; 0,25; 1; 6 und 24 Stunden (Std)).

Zudem kann beobachtet werden, dass sich die Proben nach 0,25 Stunden zunächst stärker von der Referenz unterscheiden als nach 1 und 6 Stunden Belichtung, um sich nach 24 Stunden wiederum von der Referenz in eine andere Richtung zu entfernen. Außerdem unterscheidet sich eine Probe stärker als die andere von der jeweiligen Referenzprobe. Verglichen mit der Referenzprobe wurden die Proben nach 0,25 Stunden als stärker *fettig* und *kartonartig* beschrieben sowie stärker *nach gekochtem Kohl* riechend. Die Tatsache, dass die Unterschiede zur Referenz nach 1 und 6 Stunden kleiner sind als nach 0,25 Stunden, zeigt, dass die sensorischen Veränderungen zu Beginn der Lagerung kurzlebig sind; dies lässt sich auf unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeiten konkurrierender Reaktionen zurückführen. Die 24 Stunden gelagerten Proben zeigten hingegen eine deutliche Abweichung zur Referenz. Bei Betrachtung des Aromaprofils äußerte sich dies in einer deutlich ausgeprägten *oxidierten, ranzigen, heuartigen* Note, welche typische Attribute der Fettoxidation sind.

Zusammenfassung

Trotz intensiver Forschung im Bereich oxidativer Veränderungen bei belichtet gelagerter Milch gibt es noch kein umfassendes Verständnis darüber, welche Zwischenprodukte in der frühen Phase gebildet werden und wie diese zur Aromabildung beitragen. Dies liegt an deren zeitlich begrenzter Bildung sowie Unterschieden in der Milchzusammensetzung und den experimentellen Bedingungen bisheriger Studien. Durch die Entwicklung schneller, zerstörungsfreier online-Messungen wie PTR-MS ist es nun möglich, die chemischen Reaktionen in

dynamischen Systemen in Echtzeit zu verfolgen. Dabei zeigt sich, dass einige sensorisch aktive Verbindungen, die mit dem sog. Lichtgeschmack assoziiert sind, bei dauerhafte Belichtung nur vorübergehend auftreten, während andere, mit der Fettoxidation assoziierte Verbindungen später gebildet und nicht mehr abgebaut werden. In zukünftigen Arbeiten könnten Modellsysteme eingesetzt werden, um an ihnen chemische und sensorische Veränderungen an einzelnen Verbindungen, z.B. Methional, mit der gleichen hohen Zeitauflösung noch genauer zu untersuchen.

Danksagung

Die Forschungszusammenarbeit mit Partnern aus Neuseeland wurde durch eine bilaterale Förderinitiative der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) und der Royal Society of New Zealand ermöglicht (Projektnummern: 09/11-12 NZL bzw. FRG 1128). Die Originalarbeit wurde im International Dairy Journal veröffentlicht: *Zardin E, Silcock P, Siefarth C, Bremer P J and Beauchamp J 2016 Dynamic changes in the volatiles and sensory properties of chilled milk during exposure to light. Int. Dairy J. 62 35-8.*

Referenzen

[1] Stull J W 1953 The Effect of Light on Activated Flavor Development and on the Constituents of Milk and Its Products - a Review *J. Dairy Sci.* 36 1153-64
[2] Duncan S E and Webster J B 2010 *Oxidation in Foods and Beverages and Antioxidant Applications: Management in Different Industry Sectors* ed E Decker*, et al.*: Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition) pp 121-55
[3] Jung M Y, Yoon S H, Lee H O and Min D B 1998 Singlet Oxygen and Ascorbic Acid Effects on Dimethyl Disulfide and Off-Flavor in Skim Milk Exposed to Light *J. Food Sci.* 63 408-12
[4] Hedegaard R V, Kristensen D, Nielsen J H, Frøst M B, Østdal H, Hermansen J E, Kröger-Ohlsen M and Skibsted L H 2006 Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk *J. Dairy Sci.* 89 495-504
[5] Samuelsson E-G 1962 Experiments on sunlight flavour in milk - S^{35} - labelled milk *Milchwissenschaft* 17 401-4-5
[6] Min D B and Boff J M 2002 Chemistry and reaction of singlet oxygen in foods *Compr. Rev. Food Sci. F.* 1 58-72
[7] Whited L J, Hammond B H, Chapman K W and Boor K J 2002 Vitamin A Degradation and Light-Oxidized Flavor Defects in Milk *J. Dairy Sci.* 85 351-4
[8] Wold J P, Skaret J and Dalsgaard T K 2015 Assessment of the action spectrum for photooxidation in full fat bovine milk *Food Chem.* 179 68-75
[9] Beauchamp J, Zardin E, Silcock P and Bremer P J 2014 Monitoring photooxidation-induced dynamic changes in the volatile composition of extended shelf life bovine milk by PTR-MS *J. Mass Spectrom.* 49 952-8
[10] Barnes I, Becker K H and Mihalopoulos N 1994 An FTIR Product Study of the Photooxidation of Dimethyl Disulfide *J. Atmos. Chem.* 18 267-89

Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik / ZIEL – Abteilung Technologie

Adresse

Weihenstephaner Berg 1
85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3535 und -4205
Telefax: 08161-71-4384

Internet: http://www.lebensmittelverfahrenstechnik.de
E-Mail: Vorname.Name(at)tum.de

Personal

Leitung:	Univ.-Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik	-3535
Sekretariat:	Sabine Becker	-4205
	Friederike Schöpflin	-4205
Mitarbeiter:	Sabine Ambros, M.Sc.	-3536
	Annette Brümmer-Rolf	-3937
	Evelyn Dachmann, Dipl.-Ing. (FH)	-5317
	Jannika Dombrowski, Dipl.-Ing.	-3534
	Joseph Dumpler, Dipl.-Ing.	-3939
	Rosemarie Eberhard	-3942
	Christian Ederer	-3537
	Elisabeth Eschlbeck, Dipl.-Ing.	-3939
	Franz Fraunhofer	-3537
	Oliver Gmach, M.Sc.	-5317
	Christian Gottwald (bis 31.03.2016)	-3856
	Sabine Grabbe, Dipl.-Ing. (FH)	-3534
	Sabine Günzkofer	-3939
	Regina Haindl, M.Sc. (ab 01.06.2016)	-3534
	Ilona Hager	-2474
	Nicole Haller, M.Sc.	-3534
	Martin Hartinger, M.Sc.	-3719
	Hans-Jürgen Heidebrecht, Dipl.-Ing./M.Sc.	-3481
	Claudia Hengst	-3937
	Alexander Herzum (ab 01.06.2016)	-2474
	Martin Hilz	-3937
	Ingrun Kieferle, M.Sc.	-5032
	Christian Kleemann, Dipl.-Ing.	-2507
	Peter Kubbutat, M.Sc. (ab 15.04.2016)	-5317
	Franziska Kurz, M.Sc.	-3939
	Jonas Lonfat, M.Sc. (bis 12.08.2016)	-3856
	Yuhong Mao, M.Sc. (Chin. Stipendiatin)	-3855
	Melanie Marx, M.Sc.	-3855
	Mine Özçelik Kocak, M.Sc. (ab 17.08.2016)	-5056
	Michael Reitmaier, Dipl.-Ing. (FH)	-3942
	Eva Rehklau (ab 01.06.2016)	-3855

Hermine Roßgoderer	-3937
Daniel Saalfeld, Dipl.-Chem.	-3856
Iris Schmitz-Schug, Dr.-Ing. (ab 01.11.2016)	-3534
Stefanie Sedlmeier, LM-Chemikerin (ab 01.06.2016)	-3719
Erich Schneider	-3537
Anne-Martha Schwarz, B.Sc.	-5031
Philipp Stier, M.Sc. (ab 01.10.2016)	-3856
Mirjana Stulac	-5056
Günther Unterbuchberger	-3942
Maria Weinberger, M.Sc. (ab 01.06.2016)	-3856
Heidi Wohlschläger	-3941
Magdalena Wolz, Dipl.-Ing.	-5032
Yu Zhuang, M.Sc. (bis 30.06.2016)	-5056

Gäste

12.05.2016 – Group of 22 PhD candidates (Prof. Remko Boom), Food Process Engineering Group, University of Wageningen, Niederlande

14.-16.09.2016 - Dr. Marko Vincekovic, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Kroatien

05.-07.10.2016 - Prof. Dr. Atilla Yetismeyen, Universität Ankara, Landwirtschaftliche Fakultät, Abteilung Milchtechnologie, Diskapi – Ankara, Türkei

10.-14.10.2016 - Irena Barukčić, PhD, Laboratory for Technology of Milk and Dairy Products, Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kroatien

Vorwort

Ein außerordentlich erfolgreiches Jahr 2016 liegt hinter uns. Fünf Auszeichnungen für Angehörige bzw. Absolventen des Lehrstuhls und fünf abgeschlossene Dissertationen stehen zu Buche. Dr. Ronald Gebhardt, der am Lehrstuhl seine Habilitation erarbeitet hat, wurde auf den Lehrstuhl (W3) für Soft Matter Process Engineering an der RWTH Aachen berufen.

28 Publikationen im sog. „peer-review“ Verfahren und 5 weitere in Praxisjournals sind ein Beleg dafür, dass nicht nur erfolgreich Forschungsmittel eingeworben werden konnten, sondern dass dem auch ein hochwertiger wissenschaftlicher Output entgegensteht. Die Einwerbung von Forschungsmitteln lag 2016 wieder auf hohem Niveau. Der Lehrstuhl liegt damit wieder in der Spitzengruppe der TU München. Der Fünfjahresdurchschnitt an wettbewerblich eingeworbenen Mitteln steigt stetig an, d.h. die letzte Periode lag wieder auf höherem Niveau als der Vergleichszeitraum davor. Damit liegt der Lehrstuhl in der Spitzengruppe der Fakultät bzw. der TUM insgesamt.

Das alles ist nur möglich mit höchstem Einsatz und besten Leuten, die sich stetig um die Bearbeitung und Weiterentwicklung der Forschungsgebiete, der Labor- und Technikumseinrichtungen kümmern, kreative Ideen formulieren und diese umsetzen. Ecksteine sind dabei die Beiträge unserer Studierenden, die mit 23 Bachelor- und 21 Masterarbeiten (gut betreut im Team mit unseren Wissenschaftlern und technischen Mitarbeitern) sowie das förderliche Interesse von vielen Unternehmen, die in den Projektbegleitenden Ausschüssen vieler unserer Projekte (gefördert durch das BMWi) mitwirken und zuvor die Antragsstellung ideell und finanziell unterstützen.

Die Zahl und Breite der unterschiedlich ausgerichteten Projekte sowie die in der Lehre hinzugekommenen Aufgaben finden seit Februar 2016 auch im neuen Namen des Lehrstuhls Ausdruck. Die Bioprozesstechnik wurde als fester Bestandteil unserer Forschungsarbeit und in der Lehre etabliert. Nach wie vor orientiert sich der Großteil unserer Arbeiten am Substrat Milch. Der große Vorsprung und Tiefgang in der Milchtechnologie kann nun aber zielgerichteter verfolgt und auf benachbarte Gebiete der Lebensmittel- und pharmazeutischen Biotechnologie übertragen werden, um diese gegenüber Forschungsmittelgebern wie der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) mit mehr Nachdruck zu vertreten. 3 neue Forschungsprojekte kamen 2016 hinzu, 3 wurden zum Abschluss gebracht. 8 Neuanträge sind unterwegs und erwarten das Ergebnis des Begutachtungsprozesses.

Auszeichnungen 2016

Bernadette Kainz, Herausragende Masterarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V., ausgezeichnet am 08.10.2016 in Weihenstephan

Yuhong Mao, 7th Monolith Summer School & Symposium 2015, Third award Young researcher presentation to the field of Monolith Technology, 31.05.2016, Portoroz, Slowenien

Martin Hartinger, Dechema Studentenpreis für die schnelle und erfolgreiche Abwicklung des Masterstudiums, DECHEMA Jahrestagung, 12. September 2016, Aachen

Hans-Jürgen Heidebrecht, Food Sustainability Concept Development Competition, 18th World Congress of Food Science and Technology, August 2016, Dublin, Irland

Tim Steinhauer, Promotionspreis, Bund der Freunde der Technischen Universität München e.V., Jährlicher Förderpreis für eine herausragende Promotionsarbeit, ausgezeichnet am 16. Dezember 2016 anlässlich der jährlichen Mitgliederversammlung in München.

Forschung

Forschungsgebiet Bioprozesstechnik
Workgroup Bioprocess Engineering

Konzentrationsabhängiger Vergleich der Inaktivierung von *Bacillus subtilis* Sporen mit gasförmigem und kondensierendem Wasserstoffperoxid

Concentration dependent comparison of the inactivation of Bacillus subtilis spores with gasesous and condensing hydrogen peroxide

Elisabeth Eschlbeck

Thermosensitive Packstoffe für aseptische Abfüllprozesse werden häufig mit gasförmigem Wasserstoffperoxid (H_2O_2) entkeimt, um die vollständige Inaktivierung aller Mikroorganismen bei moderaten Temperaturen zu gewährleisten. Neben der hohen Effektivität bietet vor allem die Zersetzung zu Wasser und Sauerstoff und die damit einhergehende Vermeidung toxischer Rückstände einen Vorteil gegenüber anderen chemischen Entkeimungsmitteln. Das Entkeimungsverfahren mit gasförmigen H_2O_2 kann ohne Kondensatbildung als „trockene Entkeimung“ als Kondensationsverfahren eingesetzt werden. Hinsichtlich der Frage, welches Entkeimungsverfahren effektiver in seiner Inaktivierungsleistung ist, herrscht Uneinigkeit. Pruss (2012) hat diese Frage umfassend in ihrer Dissertation untersucht und zeigte in ihrer Arbeit,

dass eine Inaktivierung mit einer aktiven Konzentration von 5200 ppm im Kondensationsverfahren effektiver ist als eine Inaktivierung mit rein gasförmigem Wasserstoffperoxid. Die Kondensation wird in dieser Arbeit durch Variation der Oberflächentemperatur der Packstoffe erreicht. Liegt die Packstofftemperatur unterhalb der Taupunkttemperatur, bildet sich Kondensat. Durch die hohe H_2O_2 Konzentration im Kondensat wird die erhöhte Effektivität erklärt. Die H_2O_2 Konzentration des Kondensates ändert sich nur geringfügig durch Erhöhung der Menge an verdampftem, 35%igem H_2O_2. Dadurch wäre zu erwarten, dass ab dem Zeitpunkt einer vollständigen Betauung der vorhandenen bakteriellen Sporen keine weitere Verbesserung des Inaktivierungseffektes bei Erhöhung der H_2O_2 Menge im Gas auftritt.

Um diesen Zusammenhang weiterführend zu untersuchen, wurden *Bacillus subtilis* Sporen (*B. subtilis*, DSM 4181) mit einer hohen Resistenz gegenüber flüssigem, 25 °C warmen H_2O_2 ausgewählt und bei unterschiedlichen Konzentrationen mit rein gasförmigem H_2O_2 und im Kondensationsverfahren behandelt. Die Gastemperatur betrug jeweils 70 °C, die Ergebnisse sind in Abbildung 1 dargestellt.

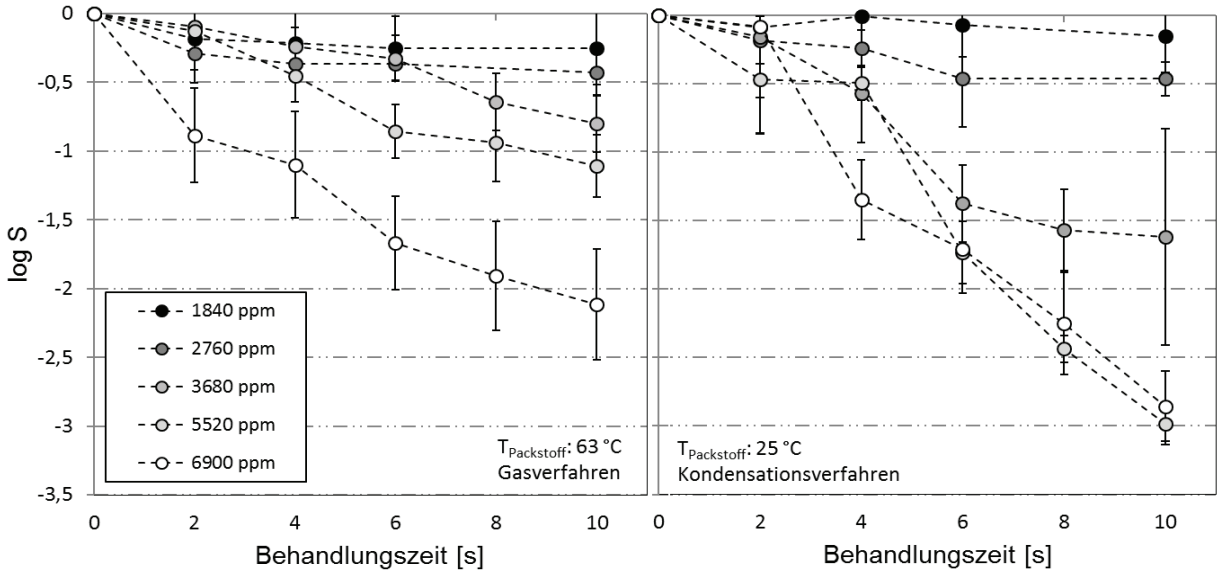


Abb. 1: Vergleich der Inaktivierungsgeraden bei unterschiedlichen Konzentrationen an H_2O_2 in der Gasphase. Links: Vorerhitzter Packstoff, Entkeimung mit rein gasförmigem H_2O_2, rechts: Packstoff bei Raumtemperatur, Kondensationsverfahren

Im Bereich geringer H_2O_2 Konzentrationen (1840 und 2760 ppm) lässt sich kein signifikanter Unterschied in der Entkeimungsleistung feststellen. Der Taupunkt, also die Temperatur, unterhalb der sich Kondensat bildet, liegt hier nahe der Raumtemperatur (1840 ppm: Taupunkt bei 26 °C, 2760 ppm: Taupunkt bei 34 °C), eine Kondensatbildung ist deshalb für keines der beiden Verfahren zu erwarten. Ab einer Konzentration von 3680 ppm weist die Inaktivierung im Kondensationsverfahren eine höhere Effektivität auf. Der Taupunkt steigt mit steigender Konzentration an H_2O_2 im Gas. Das bedeutet, je höher die gewählten Konzentrationen, umso höher ist auch der Taupunkt und umso mehr Kondensat bildet sich auf der Oberfläche, bevor der Taupunkt durch das Erwärmen des Packstoffes in der Anlage überschritten wird. Durch die von Pruss (2012) beschriebene hohe Konzentration an H_2O_2 im Kondensat (ca. 70 %) und die zunehmende Menge an H_2O_2 auf der Oberfläche ist die bessere Entkeimungswirkung des Kondensats im Bereich von 3680 bis 6900 ppm zu erklären.

Auffallend ist jedoch, dass beim Kondensationsverfahren bei den höchsten Konzentrationen kein Unterschied in der Entkeimungseffizienz erkennbar ist. Durch eine vollständige Betauung der vorhandenen Sporen wirkt eine weitere Erhöhung der Konzentration an Wasserstoffperoxid im

Gas nicht förderlich für die Entkeimungsleistung. Die Inaktivierungswirkung von rein gasförmigem H_2O_2 steigt hingegen mit steigender Konzentration an. Eine Limitierung der Wirkung von rein gasförmigem H_2O_2 wurde nicht beobachtet und ist nicht zu erwarten.

Die Beantwortung der Frage, welches Entkeimungsverfahren besser geeignet ist, hängt somit auch von der H_2O_2-Konzentration im Gas ab. Im Bereich der Lebensmittelindustrie sollen Packstoffe innerhalb von wenigen Sekunden vollständig entkeimt werden. Da im Bereich bis 5520 ppm ein kontinuierlicher Anstieg der Entkeimungsleistung beobachtet werden konnte, ist der Einsatz des Kondensationsverfahrens in diesem Konzentrationsbereich sinnvoll. Für eine zeitlich noch effizientere Inaktivierung eignet sich das Gasverfahren, da eine Limitierung der Leistung mit steigender Konzentration nicht erwartet wird.

Literatur:
Pruss, K. A. (2012): Inaktivierung von Mikroorganismen auf Packstoffoberflächen mit gasförmigem und kondensierendem Wasserstoffperoxid. Dissertation. TU München, Freising Weihenstephan. Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie.

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

Bestimmung des Erntezeitpunkts des anaeroben Mikroorganismus *Bifidobacterium longum* ssp. *longum* Reuter 1963

***Investigation on optimal harvest time of anaerobic Bifidobacterium longum* ssp. *longum* Reuter 1963**

Regina Haindl

Die Anzahl postantibiotischer Infektionen ist in den letzten Jahren stark angestiegen. *Clostridium difficile* ist dabei der Hauptauslöser für antibiotika-assoziierte Diarrhöe und nosokomiale Infektionen. Die standardmäßige Behandlung mit Antibiotika wie Vancomycin und Metronidazol kann aber besonders bei schwerwiegend verlaufenden Infektionen in hohe Rückfallquoten bis über 20 % (Zar et al., 2007) sowie der Bildung multiresistenter Stämme resultieren. Als Alternativtherapie hat die sogenannte Fäkale Mikrobiota Transplantation (FMT) sehr gute Erfolge mit bis zu 98 % Heilungschance erzielt (Brandt et al., 2012). Bei dieser Behandlungsmethode werden 60-300 ml aufgereinigter Stuhl eines gesunden Spenders mittels nasogastraler Sonde, Koloskopie oder Retentionseinlauf in den Patienten übertragen. Nicht-standardisierte Behandlungsprotokolle, schlechte Lagerungsmöglichkeiten des Stuhls und ein aufwändiges, aber notwendiges Screening des Spenders stellen allerdings große Nachteile der Methode dar.

Es ist daher das Ziel dieses neu begonnenen Projekts, ein getrocknetes und damit lagerfähiges Minimalkonsortium herzustellen, bestehend aus den Hauptvertretern des humanen Mikrobioms, welches eine vergleichbare Wirksamkeit wie die FMT aufweist. Basierend auf der Zusammensetzung des hu-manen Mikrobioms des Darms (65 % *Firmicutes*, 25 % *Bacteroides*, 5% *Actinobacterien*, 5% andere) und bisherigen Erkenntnissen zu verwendeten Minimalkonsortien (Becker et al., 2011; Petrof et al., 2013) sollen geeignete Mikroorganismenstämme ausgewählt werden. Diese werden bei unterschiedlichen Prozessparametern fermentiert, aufgereinigt und anschließend mittels Gefriertrocknung in einen lagerfähigen Zustand überführt (vgl. Abb. 1). Am Ende des Gesamtprozesses soll ein konserviertes Produkt mit gleichzeitig hoher Vitalität und Viabilität sowie guter Rekonstitutionierbarkeit vorliegen.

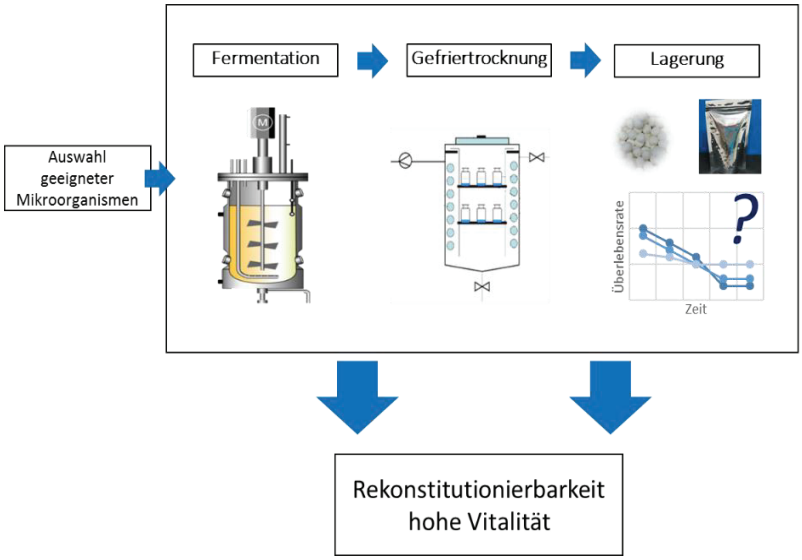


Abb. 1: Schematische Darstellung des Projektablaufs

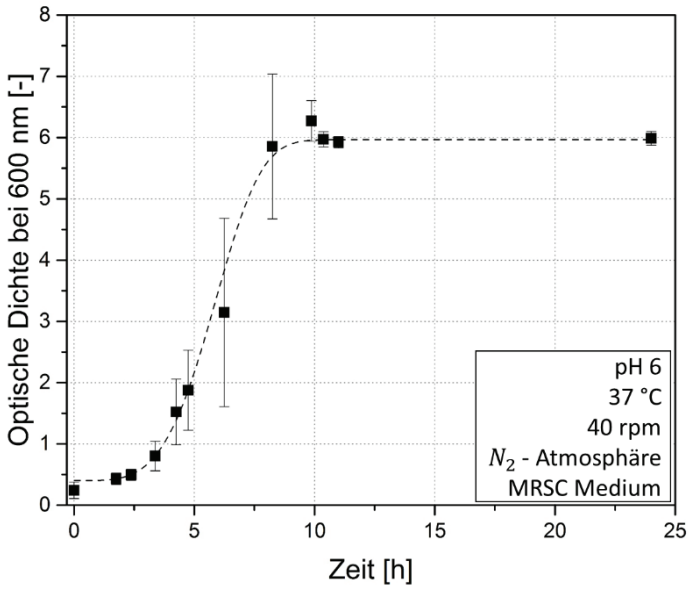


Abb. 2: Wachstumskurve von *Bifidobacterium longum* bei H-Optimum

Ein Mikroorganismus, welcher im Rahmen des Projektes fermentiert und getrocknet werden soll, ist *Bifidobacterium longum* ssp. *longum* Reuter 1963, ein Vertreter aus der Gruppe der *Actinobacterien*. Vorhergehende Arbeiten haben bereits seinen positiven Effekt auf die Darmgesundheit bewiesen (Furrie et al., 2005). Die Vitalität der Mikroorganismen vor dem Trocknungsprozess wird stark von den Fermentationsparametern beeinflusst. Die Zellernte muss im frühstationären Zustand erfolgen, um eine möglichst hohe Anzahl vitaler Zellen für den anschließenden Trocknungsprozess gewinnen zu können. Um den optimalen Erntezeitpunkt der Fermentation zu ermitteln, wurde in Abb. 2 die optische Dichte bei 600 nm (OD_{600}) als Funktion der Zeit aufgenommen. Die OD_{600} ist ein Maß für die Zelldichte. Die Fermentation wurde über einen Zeitraum von 24 h anaerob unter N_2-Atmosphäre bei einer Temperatur von 37 °C in MRSC Medium durchgeführt. Der pH-Wert wurde dabei bei dem stammspezifischen Wachstumsoptimum von pH 6 konstant gehalten. Zum Start der Fermentation wurde mit einer OD_{600} von 0,3 inokuliert, was einer Zahl koloniebildender Einheiten von $2{,}58 \cdot 10^7$ ml^{-1} entspricht. Die Zellzahl steigt über den Verlauf der Fermentation nach einer kurzen Lag-Phase an und geht nach 3,33 h in die exponentielle Wachstumsphase über. Die stationäre Phase wird nach 10 h bei einer OD_{600} von 6,27 ± 0,33 erreicht, wobei dies im Mittel einer Zahl von $2{,}81 \cdot 10^9$ ml^{-1} koloniebildenden Einheiten entspricht. Als geeigneter Erntezeitraum wurde eine Zeit von 10-11 h nach Beginn der Fermentation ermittelt. Im weiteren Verlauf des Projektes werden Gefriertrocknungsversuche durchgeführt, die den Einfluss verschiedener Fermentationsparameter auf das Verhalten der Zellen während der Trocknung zeigen.

Literatur:
Becker, N.; Kunath, J.; Loh, G.; Blaut, M. (2011): Human intestinal microbiota: characterization of a simplified and stable gnotobiotic rat model. Gut microbes. 2 (1): 25–33.
Brandt, L.J.; Aroniadis, O.C.; Mellow, M.; Kanatzar, A.; Kelly, C.; Park, T.; Stollman, N.; Rohlke, F.; Surawicz, C. (2012): Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent Clostridium difficile infection. The American journal of gastroenterology. 107 (7): 1079–1087.
Furrie, E.; Macfarlane, S.; Kennedy, A.; Cummings, J.H.; Walsh, S.V.; O'neil, D.A.; Macfarlane, G.T. (2005): Synbiotic therapy (Bifidobacterium longum/Synergy 1) initiates resolution of inflammation in patients with active ulcerative colitis: a randomised controlled pilot trial. Gut. 54 (2): 242–249.
Petrof, E.O.; Gloor, G.B.; Vanner, S.J.; Weese, S.J.; Carter, D.; Daigneault, M.C.; Brown, E.M.; Schroeter, K.; Allen-Vercoe, E. (2013): Stool substitute transplant therapy for the eradication of Clostridium difficile infection: 'RePOOPulating' the gut. Microbiome. 1 (1): 3.
Zar, F.A.; Bakkanagari, S.R.; Moorthi, K.M.L.S.T.; Davis, M.B. (2007): A comparison of vancomycin and metronidazole for the treatment of Clostridium difficile-associated diarrhea, stratified by disease severity. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 45 (3): 302–307.

Dank: Das Forschungsvorhaben wird im Rahmen des ZIEL-Projektes „Konservierung der humanen, fäkalen Mikrobiota“ finanziert.

Standardisierte Herstellung von biologischen Indikatoren für die Beurteilung der Oberflächenentkeimung mit Wasserstoffperoxid und Minimierung ihrer Varianz

Standardized production of biological indicators for the evaluation of surface decontamination with hydrogen peroxide and minimization of their variance

Philipp Stier, Elisabeth Eschlbeck

„Biologische Indikatoren“ (BI) sind mikrobiologische Testkulturen, die für die Validierung der Entkeimungsleistung aseptisch arbeitender Anlagen sowie von Entkeimungsmethoden herangezogen werden. Da viele Produkte aus dem Lebensmittel- und Pharmabereich keimarm oder aseptisch verarbeitet werden müssen, können durch BI eventuelle Schwachstellen aber auch Möglichkeiten und Grenzen der Entkeimung aufgezeigt werden. Als Beispiele sind hier Abfüllprozesse oder die Packstoffentkeimung zu nennen. Dadurch kann eine Aussage über den hygienischen Status einer Anlage getroffen werden. Die Industrie verwendet hierfür vor allem bakterielle Sporen von *Bacillus atrophaeus* und *Geobacillus stearothermophilus*. Sie zeichnen sich durch eine tendenziell hohe Grundresistenz gegen äußere Einflüsse und Dekontaminationsmethoden, z. B. die Behandlung mit H_2O_2, aus. Diese Resistenz wird in mikrobiologischen Challenge-Tests (Belastungstests) ausgenutzt, die der Beurteilung der Entkeimungsleistung dienen. Dabei werden BI auf relevante Oberflächen aufgebracht und unter definierten Parametern dem Entkeimungsprozess unterzogen. Die Überlebensrate gibt Aufschluss über die Effektivität des jeweiligen Prozesses. Da die Resistenz und die quantitative mikrobielle Belastung deutlich über der Realverkeimung liegen, kann bei erfolgreicher Dekontamination die mikrobiologische Sicherheit garantiert werden. Für den Betreiber sind reproduzierbar generierte Daten aus periodischen Tests unerlässlich, um den Prozess kontrollieren zu können. Falsch positive Befunde bedingen eine unnötige Verschärfung der Dekontaminationsparameter, falsch negative Befunde hingegen gefährden den Hygienestandard. Um kostenintensive Fehlschläge dieser Art zu vermeiden, müssen eingesetzte BI eine konstante und vorhersagbare Resistenz aufweisen, die mit dem D-Wert bei definierten Parametern ausgedrückt wird. Die Identifizierung der Einflussgrößen könnten insgesamt größeres Vertrauen in die bei einer Validierung erlangten Ergebnisse von Challenge-Tests schaffen und BI als verlässlicheres Werkzeug zur Überprüfung der Entkeimungsleistung optimieren.

Aufgrund von Beobachtungen, dass bisher nicht standardisierte Faktoren noch vor der Durchführung der Challenge-Tests Einfluss auf die Resistenz von BI haben, wurde dieses Projekt initiiert. Ziel des Forschungsvorhabens ist es, einen Resistenzstandard unter Einbeziehung

kommerziell erhältlicher BI zu etablieren. Der gewonnene Standard gibt den D-Wert an, den diese BI aufweisen sollten. In der methodischen Umsetzung heißt dies, dass durch Anwendung eines Suspensionstests mit flüssigem H_2O_2 eine Bezugsresistenz verschiedener kommerziell erhältlicher BI ermittelt wird. Der Bezugswert dient im weiteren Verlauf als Vergleichswert um Einflüsse von Kultivierungs-, Lager- und Anwendungsbedingungen zu untersuchen. Für die Submerskultivierung dienen Bioreaktoren im Labormaßstab, mit denen pH-Wert, Sauerstoffgehalt und Temperatur kontrolliert werden können. Darüber hinaus wird der Einfluss des Suspensions- bzw. Lagermediums der BI über 18 Monate hinweg untersucht und verschiedene Methoden zur Auftragung auf Oberflächen ermittelt. Schließlich folgt die Zusammenführung der verschiedenen Einflussfaktoren über ein experimentelles Design, um ein Zusammenwirken der Einflussfaktoren bei der Kultivierung zu untersuchen. Die Identifizierung der maßgeblichen Einflussfaktoren zusammen mit der Erstellung eines Protokolls für die Gewinnung des jeweiligen BI sind die Kernziele des Projekts. Daneben steht die Überprüfung auf eine Korrelation der Resistenz der BI gegenüber flüssigem und gasförmigem H_2O_2. Die Parameter bei der Entkeimung mit gasförmigem H_2O_2 werden möglichst industrienah gewählt.

Mit den im Projekt erhobenen Daten kann eine bereits als Grundlage genutzte VDMA-Richtlinie weiterentwickelt und Interpretationsunsicherheiten von Challenge-Tests und damit verbundene wirtschaftliche Schäden vermieden werden. Dieses Projekt wird einen grundlegenden Wissenspool zur standardisierten Herstellung von BI schaffen und als Basis für die Kooperation zwischen BI Herstellern und Betreibern von Anlagen und Apparaten mit Entkeimungsfunktion dienen.

Das Projekt wird im 1. Quartal 2017 beginnen und ist noch offen für Unternehmen, die einen Vertreter in den projektbegleitenden Ausschuss benennen wollen.

Dank: Das IGF-Vorhaben 19358 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wird über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Forschungsgebiet Strukturbildung und -charakterisierung
Workgroup Structure formation and -characterisation

Einfluss von Maltodextrin auf die Schäumungseigenschaften von mit Kartoffelproteinisolat aufgeschäumtem Fruchtpüree

Influence of maltodextrin on the foaming properties of fruit pulp foamed with potato protein isolate

Evelyn Dachmann, Alexandra Elfenbein

Der Zusatz von Polysacchariden zu einem Proteinschaum kann aufgrund ihres hohen Wasserbindevermögens und der verdickenden Eigenschaften zu einer Viskositätserhöhung und dadurch verbesserten Stabilität eines Schaumes führen. Speziell für das *foam mat drying* unter Mikrowellen- und Vakuumbehandlung ist eine hohe Stabilität des zu trocknenden Schaumes essentiell. Die Trocknung in Form eines Schaumes bietet sich vor allem für Produkte an, die besonders zähflüssig und klebrig und daher mit konventionellen Methoden kaum zu trocknen sind. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit dieses Verfahrens ergibt sich beispielsweise für Fruchtpürees. Getrocknete Schäume auf Fruchtbasis stellen eine sensorisch sehr ansprechende Alternative zu den derzeit erhältlichen getrockneten Früchten dar.

In Vorversuchen konnte gezeigt werden, dass zum Erhalt der Schaumstruktur unter Mikrowellen- und Vakuumbehandlung neben der Schaumstabilität, die Blasengrößen (-verteilung) sowie

der Overrun, d.h. das Aufschlagvolumen im Verhältnis zur Ausgangslösung, die wichtigsten Parameter sind, um eine hohe Trocknungsstabilität zu gewährleisten. Um einen Kollaps der Schaumstruktur, bedingt durch zu starke Ausdehnung bzw. Volumenzunahme der Blasen während der Trocknung, zu vermeiden, sind eine Schaumstabilität von 100 %, eine enge Blasengrößenverteilung mit kleinen Blasen sowie ein geringer Overrun von < 400 % unerlässlich. Durch Zugabe des wasserlöslichen Kohlenhydratgemischs Maltodextrin und der damit einhergehenden Viskositätserhöhung der Fruchtzubereitung können die genannten Schaumeigenschaften im Hinblick auf eine anschließende Trocknung optimiert werden.

Kernfreie Fruchtpürees aus Himbeeren der Sorte *Willamette* wurden unter Zusatz von Kartoffelproteinisolat (KPI, 5 %) zur Schaumbildung sowie Maltodextrin (5, 15, 30 %) zur Stabilisierung bei 20 °C mittels Rotor-Stator-System 10 min mit maximaler Drehzahl (220 rpm) aufgeschäumt und anschließend die oben beschriebenen Schaumeigenschaften untersucht. Bedingt durch die mit zunehmender Maltodextrinkonzentration einhergehende Viskositätserhöhung kann eine Abnahme des Overruns sowie ein Anstieg der Schaumstabilität verzeichnet werden (Abb. 1).

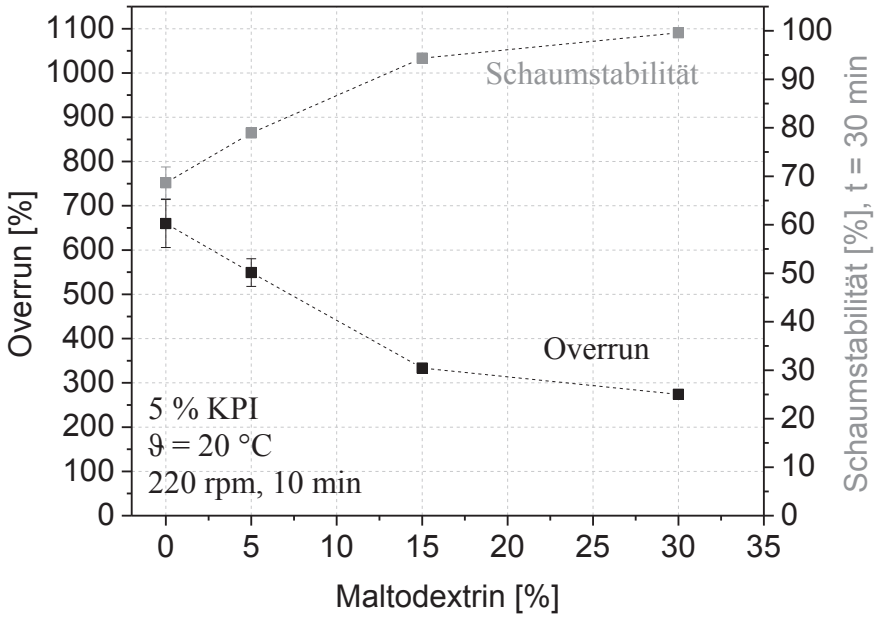


Abb. 1: Overrun und Schaumstabilität (t = 30 min) in Abhängigkeit der Maltodextrinkonzentration

Ab einer Maltodextrinkonzentration von 30 % und der eingesetzten Proteinkonzentration von 5 % sind die für die spätere Trocknungsstabilität erforderlichen Schaumeigenschaften sowohl für den Overrun als auch für die Schaumstabilität gegeben. Bezüglich der Blasengrößen (-verteilung) konnte gezeigt werden, dass mit steigender Maltodextrinkonzentration die Blasen kleiner und die Verteilungen der Blasengrößen enger werden (Abb. 2). Die Zugabe höherer Maltodextrinkonzentrationen zeigt demnach auch hier eine bessere Trocknungseignung der Fruchtschäume.

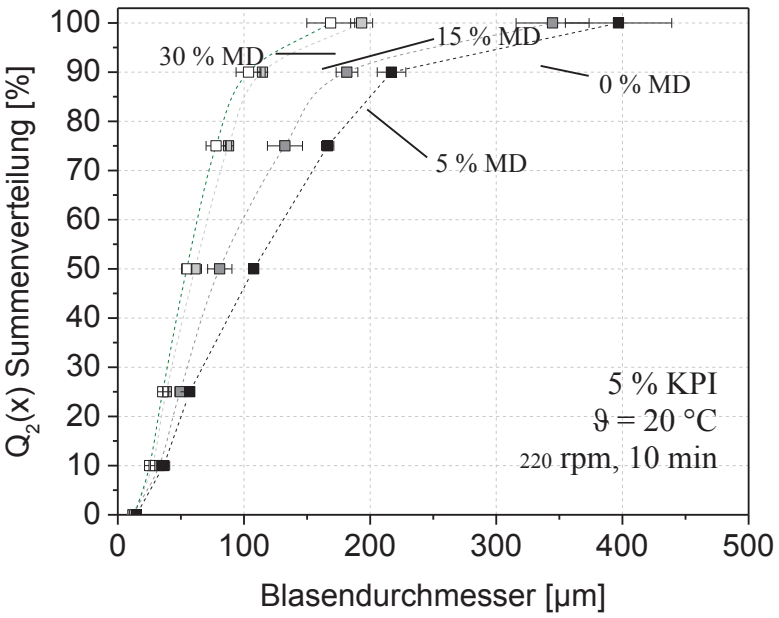


Abb. 2: Größenverteilung der Blasen von Fruchtschäumen mit 0, 5, 15 und 30 % Maltodextrin

Für die Aufgabe, die Fruchtschäume anschließend zu trocknen, bedeuten diese Ergebnisse, dass durch Zugabe von Maltodextrin die für eine hohe Trocknungsstabilität erforderlichen Schaumeigenschaften der aufgeschäumten Fruchtpürees optimiert werden können.

Dank: Das IGF-Vorhaben 19015 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Zum Einfluss hitzeinduzierter Strukturveränderungen auf das Grenzflächen- und Schäumungsverhalten von β-Lactogloblin

On the impact of heat-induced structural changes on the surface and foaming behavior of β-lactoglobulin

Jannika Dombrowski, Matthias Gschwendtner

Aufgrund ihrer ausgeprägten Grenzflächenaktivität werden Milch- und insbesondere Molkenproteine häufig zur Strukturbildung und -stabilisierung in geschäumten Lebensmitteln eingesetzt. Trotz langjähriger Forschung in diesem Bereich gibt es bislang allerdings keine zufriedenstellende Korrelation zwischen den strukturellen Eigenschaften der eingesetzten Proteine und deren Technofunktionalität im Sinne von Struktur-Funktions-Beziehungen. Dies lässt sich zum einen auf die hohe Komplexität der beteiligten Substrate mit überlagernden Effekten zurückführen. Andererseits sind assoziierte Mechanismen, wie z. B. adsorptionsinduzierte Konformationsänderungen, schwer zu charakterisieren, da sowohl die Luft/Wasser-Grenzfläche als auch Schäume thermodynamisch instabil sind und zudem extrem empfindlich auf äußere Einflüsse reagieren.

Aktuell liegt der Forschungsfokus vor allem auf der Entwicklung partikulärer Strukturen, idealerweise aus biogenen Rohmaterialien, die in der Lage sind Luft/Wasser-Grenzflächen effektiv zu stabilisieren. Um in diesem Bereich einen umfangreichen Wissenstand (z. B. Struktur-Funktions-Beziehungen) aufzubauen ist es generell sinnvoll, sich zunächst mit molekular gut cha-

rakterisieren Einzelproteinen auseinanderzusetzen, bevor komplexere Systeme betrachtet werden. Das Hauptmolkenprotein β-Lactoglobulin (β-Lg) stellt in diesem Zusammenhang ein ideales Modellsubstrat dar, da es eine ausgeprägte Tertiär- sowie Quartärstruktur besitzt. Außerdem konnte in vorangegangenen Arbeiten gezeigt werden, dass es sowohl in nativer als auch thermisch denaturierter Form eine hohe Oberflächenaktivität besitzt [1,2,3]. Weiterführend ist es von hohem Interesse universelle Proteinstruktureigenschaften, wie z. B. Partikelgröße, molekulare Flexibilität, Oberflächenladung und Oberflächenhydrophobie, zu definieren, welche einen entscheidenden Einfluss beispielsweise auf die Schaumstabilität haben [4].

Um konkretere Schlussfolgerungen bezüglich dieser Einflussfaktoren ziehen zu können wurde im Rahmen dieser Studie folgender experimenteller Ansatz gewählt: β-Lg mit einem Proteingehalt von 1,0 % (pH 6,8) wurde bei 80 °C für 90 min im Wasserbad erhitzt. Im Anschluss daran erfolgte eine Kombination aus isoelektrischer Fällung, Zentrifugation sowie Resuspendierung auf einen Proteingehalt von 0,1 %, wodurch ein maximaler Denaturierungsgrad (DD) erreicht wurde. Gleichzeitig ermöglichte dieses Vorgehen den vielfältigen Einfluss der Lösungsviskosität auf die Grenzflächen- sowie Schaumeigenschaften auszuschließen. Zur Evaluierung der Bedeutung der Oberflächenladung (positiv, negativ oder neutral) wurden die Proben bei verschiedenen pH-Werten untersucht. Darüber hinaus ermöglichten Vergleichsversuche mit nativem β-Lg die Relevanz von Partikelgröße ($d_{50,3}$) sowie Oberflächenhydrophobie (R_0) zu bewerten (Tab. 1).

Tabelle 1: Strukturelle Eigenschaften von nativem und denaturiertem β-Lg

pH	Strukturellen Zustand	DD (%)	$d_{50,3}$ (nm)	R_0
3,0	aggregiert			
5,0	aggregiert			
6,8	aggregiert	>95	50	2,6
3,0	nativ			
5,0	nativ			
6,8	nativ	<5	3,7	1,0

Die in Abb. 1 dargestellten Ergebnisse fassen den Einfluss von Partikelgröße, Oberflächenhydrophobie und Oberflächenladung auf die Schaumbildungs- (A) und -zerfallseigenschaften (B) von nativem gegenüber denaturiertem β-Lg zusammen. In Bezug auf die Oberflächenladung (pH 3,0: positiv, pH 5,0: neutral, pH 6,8: negativ) wurde beobachtet, dass diese einen wesentlichen Einfluss auf das erreichbare Schaumvolumen hat (Abb. 1, A).

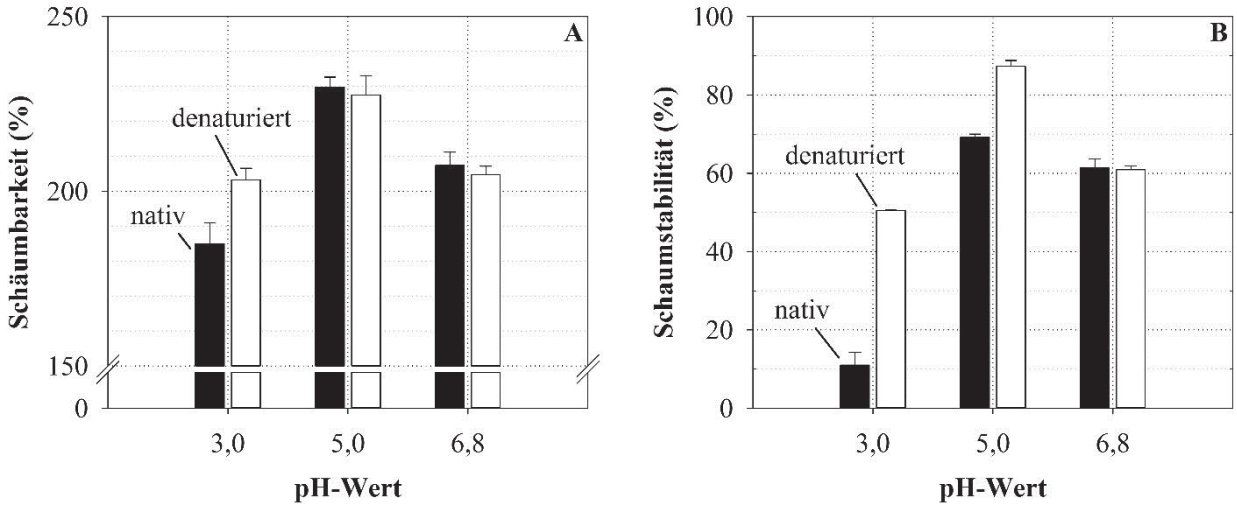


Abb. 1: Einfluss von pH-Wert und strukturellem Zustand auf die Schäumungseigenschaften von β-Lg: Schäumbarkeit, (B) Schaumstabilität. Natives β-Lg: schwarze Balken; denaturiertes β-Lg: weiße Balken.

Unabhängig vom strukturellen Zustand wiesen die Proben mit pH 5,0 die höchste Schäumbarkeit auf. Dies wurde darauf zurückgeführt, dass die zur Adsorption an die Luft/Wasser-Grenzfläche zu überwindende Energiebarriere bei abgeschirmter Oberflächenladung minimal ist, wodurch eine sehr schnelle und effiziente Grenzflächenbesetzung erfolgen kann. Die geringeren Schäumbarkeiten der Proben mit positiver oder negativer Nettoladung wurden damit erklärt, dass starke repulsive, elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den adsorbierten Proteinmolekülen einer raschen und effektiven Blasenstabilisierung entgegenwirken. Darauf basierend kam es bereits während der Schaumbildung zu Blasenkoaleszenz und dementsprechend resultierten geringere Schaumvolumina. Interessanterweise waren die pH-abhängigen Unterschiede zwischen nativem und denaturiertem β-Lg, trotz des großen Unterschieds im mittleren Partikeldurchmesser ($d_{50.3}$, Tab. 1) relativ gering. Dies lässt vermuten, dass die durch die Erhitzung bedingte Erhöhung der Oberflächenhydrophobie (Tab. 1) einen wesentlichen Beitrag zur Schaumbildung leistet und sogar in der Lage ist, den gegenläufigen Effekt der Partikelgrößenzunahme auszugleichen.

Auch in Bezug auf die Schaumstabilität wurde für natives und aggregiertes β-Lg der gleiche oberflächenladungsabhängige Trend festgestellt. Ähnlich zur Schaumbildung resultierten für die Proben mit pH 5,0 die höchsten Werte. Entgegen gängiger Erklärungsansätze ließ sich diese Beobachtung nicht auf eine Reduktion von Drainage aufgrund einer Blockierung der Schaumlamellen durch ladungsinduziert aggregiertes β-Lg zurückführen. Vielmehr wurden ausgeprägte intermolekulare Wechselwirkungen zwischen neutral geladenen, dicht gepackten Proteinmolekülen an der Luft/Wasser-Grenzfläche für eine vergleichsweise hohe Filmstabilität verantwortlich gemacht.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die hitzeinduzierte Aggregatbildung einen vielversprechenden Ansatz zur Verbesserung der Grenzflächenaktivität und Schaumeigenschaften von β-Lg darstellt. In diesem Zusammenhang eröffnet die Abschirmung der Oberflächenladung durch pH-Einstellung zusätzliche Möglichkeiten die Zeitstabilität der Schäume noch weiter zu erhöhen.

Literatur:

[1] Dombrowski, J., Johler, F., Kulozik, U.: Einfluss von hitzeinduzierten Strukturveränderungen auf das Schäumungsverhalten von β-Lactoglobulin. Jahresbericht 2014 der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am ZIEL, 57, 2015, ISBN 978-3-939182-75-7.

[2] Dombrowski, J., Mattejat, C., Kulozik, U.: Correlation between surface activity and foaming properties of individual milk proteins in dependence of solvent composition. International Dairy Journal, 61, 166-175, 2016.

[3] Dombrowski, J., Johler, F., Warncke, M., Kulozik, U.: Correlation between bulk characteristics of aggregated β-lactoglobulin and its surface and foaming properties. Food Hydrocolloids, 61, 318-328, 2016.

[4] Dombrowski, J., Gschwendtner, M., Kulozik, U.: Evaluation of structural characteristics determining surface and foaming properties of β-lactoglobulin aggregates. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 516, 286-295, 2017.

Dank:

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

Stabilisierung von Öl-in-Wasser Emulsionen durch die Eigelbfraktionen Plasma und Granula in verschiedenen Mischungsverhältnissen

Stabilization of mayonnaise type oil in water emulsions by egg yolk plasma and granula in different mixing ratios

Oliver Gmach, Philip Schmid

Die zentrifugale Trennung von Eigelb in seine beiden Hauptfraktionen Granula und Plasma ist ein bereits gut erforschtes Verfahren. Ebenso ist schon viel über das technofunktionelle Potential der beiden Einzelfraktionen bekannt. In früheren Arbeiten wurde gezeigt, dass Granula und Plasma getrennt als Emulgatoren in Öl-in-Wasser-Systemen eingesetzt werden können und dabei unterschiedliche emulgierende Eigenschaften zeigen, wodurch sie gezielt in einem breiten Anwendungsbereich eingesetzt werden können. Dies ist auf die unterschiedliche Zusammensetzung zurückzuführen. Die Plasmafraktion besteht zum Großteil aus low-density-Lipoproteinen (LDL), die Granulafraktion aus high-density-Lipoproteinen (HDL), Phosvitin und einem kleinen Anteil LDL. Die Granulabestandteile bilden im nativen Milieubereich, bei pH 6,5 und einer Ionenstärke von 0,15 M NaCl, eine komplexe Struktur aus, die durch Calciumphosphatbrücken stabilisiert wird. Die Plasmabestanteile liegen bei diesen Bedingungen als Einzelkomponenten vor. Auf diesen Erkenntnissen aufbauend wird untersucht, wie sich das Mischen von Plasma und Granula in unterschiedlichen Verhältnissen (Plasma:Granula: 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, 0:100) auf die Emulgieraktivität sowie auf charakteristische Parameter der hergestellten Emulsion, wie Partikelgröße, Festigkeit und Viskosität, auswirkt. Dazu wurden Öl-in-Wasser Emulsionen mit 80 % Sonnenblumen-Öl als disperse Phase mittels Kolloidmühle (IKA) bei 9000 rpm hergestellt. Die wässrige Phase, welche die Emulgatorfraktion enthält, wurde auf einen Proteingehalt von 2 % eingestellt.

In Abb. 1 und 2 sind für den nativen pH-Wert von 6,5 und einer Ionenstärke von 0,15 M NaCl die Partikelgrößenverteilung sowie die Festigkeit der hergestellten Emulsionen bei Variation der Emulgatorzusammensetzung dargestellt. Die Partikelgröße wurde mittels Laserbeugung gemessen (Mastersizer, Malvern Instruments), die Festigkeit durch eine Struktur-Profil-Analyse (Textureanalyzer, TA Instruments) bestimmt. Dabei wurde ein Acrylglas-Zylinder mit einem Durchmesser von 1 cm mit einer konstanten Geschwindigkeit von 1 mm/s eine Wegstrecke von 15 mm in die Emulsion bewegt. Die dabei gemessene maximale Kraft ist das Maß für die Festigkeit der Probe.

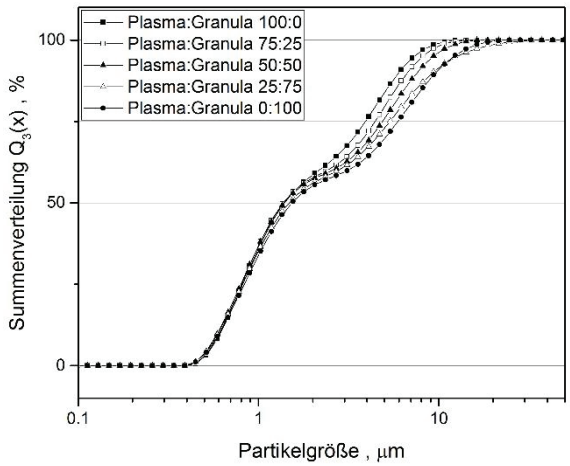


Abb.1: Partikelgrößenverteilung der Fetttropfen der Emulsionen

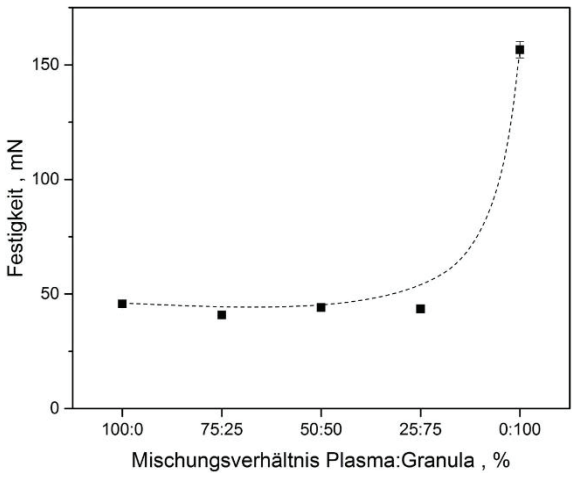


Abb.2: Festigkeit der Emulsionen

Wie aus Abb. 1 hervorgeht, erfolgt durch die Erhöhung des Granula-Anteils eine Zunahme der Bimodalität und eine leichte Verschiebung der Summenverteilung nach rechts in Richtung größerer Partikel. Der Verlauf der Summenverteilung bis zur mittleren Partikelgröße d_{50} ist beinahe unabhängig von den untersuchten Zusammensetzungen des Emulgators. Durch die Zunahme des Granula-Anteils steigt der Anteil an Partikeln mit einem Durchmesser größer 2 µm an. Dies führt zur Verschiebung der Kurve nach rechts. Die Bildung unterschiedlich großer Partikel ist zurückzuführen, dass Plasma in der Lage ist, die neu geschaffene Oberfläche der Fetttropfen im Emulgierprozess schneller zu besetzen als Granula. Dafür sind vor allem die enthaltenen Apoproteine und Phospholipide verantwortlich (Le Denmat et al., 2000). Plasma kann dadurch sehr kleine Fetttropfen stabilisieren. Bei steigendem Granula-Anteil koaleszieren einige Fetttropfen, bevor sie von den Granula-Bestandteilen stabilisiert werden.

Wie in Abb. 2 zu sehen ist, verläuft die Festigkeit der hergestellten Emulsionen bei den Mischungsverhältnissen 100:0, 75:25, 50:50 und 25:75 von Plasma zu Granula etwa konstant. Bei Verwendung von Granula allein zur Stabilisierung steigt die Festigkeit sprunghaft an. Dies ist auf die „Pickering"-Stabilisierung der Fetttropfen durch Granula-Partikel zurückzuführen (Dickinson, 2010). Dabei adsorbieren feste Partikel an der Oberfläche der Fetttropfen, deren Anlagerung als irreversibel beschrieben wird. Einzelne Partikel können dabei in der Grenzflächenschicht mehrerer dispergierter Tropfen verankert sein und dadurch ein gelartiges Netzwerk ausbilden, wodurch es zu der sehr hohen Festigkeit der Emulsion kommt.

Beide Eigelb-Fraktionen sind getrennt als Emulgatoren einsetzbar und stabilisieren sehr kleine Fetttropfen in Öl-in-Wasser Emulsionen. Bei Mischungen von Granula und Plasma hat das Plasma den dominierenden Effekt auf die Festigkeit. Nur wenn Granula einzeln als Emulgator eingesetzt wird, kommt der sogenannte „Pickering"-Effekt und die damit verbundene Strukturbildung zur Geltung.

Literatur:
Dickinson, E. (2010): Food emulsions and foams: Stabilization by particles. Current Opinion in Colloid & Interface Science 15, S. 40–49.
Le Denmat, M., Anton, M., Beaumal, V. (2000): Characterisation of emulsion properties and of interface composition in O/W emulsions prepared with hen egg yolk, plasma and granules. Food Hydrocolloids 14, S. 539–549

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

Quellungsverhalten von Eiklar- und Molkenproteinaerogelen in Quellmedien mit unterschiedlichen pH-Werten

Swelling characteristics of egg white and whey protein aerogels in swelling media with varying pH-values

Christian Kleemann, Elisabeth Rosenecker, Ilka Selmer*

Innovative Lebensmittelprodukte bieten dem Verbraucher häufig einen ernährungsphysiologischen Zusatznutzen. Transport- oder Schutzmatrices werden verwendet, um werterhöhende Inhaltstoffe vor ungünstigen Umgebungsbedingungen wie extremen pH-Werten, Licht oder Sauerstoff zu schützen. Gleichermaßen können diese genutzt werden, um sensorisch störende Stoffe zu maskieren. Als Beispiel kann Fischöl zur Erhöhung des Gehalts an ω3-ungesättigten Fettsäuren nur bedingt direkt in Lebensmitteln eingesetzt werden. Durch Oxidation geht die Funktionalität verloren und die Verbraucherakzeptanz wird durch den unangenehmen Geruch und Geschmack stark eingeschränkt.

Als neuartige Matrix zur Mikroverkapselung wurden am Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Thermische Verfahrenstechnik der TU Hamburg-Harburg Proteinaerogele aus Eiklar- und Molkenprotein untersucht. Bei der Herstellung werden Proteinlösungen über thermische Denaturierung in den Gelzustand überführt. Durch einen anschließenden Lösungsmittelaustausch wird das enthaltene Wasser durch Ethanol ersetzt. Dieser Schritt ist notwendig, um eine überkritische Trocknung mit CO_2 durchzuführen. Das CO_2-lösliche Ethanol wird überkritisch extrahiert. Dieses Verfahren erlaubt den bestmöglichen Erhalt der über die Gelbildung aufgebauten Struktur des Proteinnetzwerks und erzeugt ein feinporiges, engmaschiges Grundgerüst mit extremer spezifischer innerer Oberfläche von bis zu 500 m^2/g bei Proteinaerogelen. Diese Oberfläche soll bei der Mikroverkapselung mit dem werterhöhenden Inhaltsstoff beladen werden. Von dieser Eigenschaft der Aerogele wird eine große Beladungskapazität erwartet (Betz et al., 2012a; Selmer et al., 2015).

Mitentscheidend für ein wirkungsvolles Verkapselungssystem sind die Freisetzungseigenschaften des Kapselmaterials. Hierbei spielt das Quellungsverhalten des Materials eine wichtige Rolle. Ein größerer Porendurchmesser durch die Volumenvergrößerung würde eine vereinfachte Freisetzung des verkapselten Kernmaterials begünstigen. Um eine Einschätzung über das diffusive Freisetzungsverhalten zu gewinnen, wurde das Quellungsverhalten überkritisch getrockneter Aerogelproben (kugelförmig, d = 5 mm vor Trocknung) aus Molkenproteinisolat (WPI) und Eiklarprotein (EWP) in wässrigen Puffermedien (nach Eur. Arzneibuch (2008)) mit pH 1,2 (Magen; NaCl, HCl), pH 6,8 (Darm, KH_2PO_4, NaOH) und pH 4,2 (Lebensmittel wie bspw. Joghurt, Phosphatpuffer KH_2PO_4, NaOH) untersucht. Der pH-Wert der Proteinlösungen vor der Gelbildung war nahezu nativ und betrug 7 (WPI) bzw. 9 (EWP). Die Versuche wurden in einem Dissolutiontester bei 37 °C mit Drehkörbchen-Apparatur durchgeführt, wobei das Puffermedium im Überschuss vorlag. Die relative Massenveränderung wird als Quellgrad bezeichnet und berechnet sich zu:

$$Q_t[\%] = \frac{m_t - m_0}{m_0} \cdot 100$$

wobei m_0 die Masse vor der Quellung und m_t die Masse nach dem jeweiligen Zeitintervall ist. Abb. 1 zeigt den Quellgrad der WPI- bzw. EWP-Aerogele als Funktion der Zeit für die drei unterschiedlichen Quellmedien.

Über ein Zeitintervall von 240 min (WPI) bzw. 120 min (EWP) steigt der Quellgrad bei beiden Proteinsystemen gleichermaßen kontinuierlich an und nähert sich einem Plateauwert. Dieser liegt für die Quellmedien pH 1,2 und 6,8 etwa doppelt so hoch wie bei pH 4,2. Die Gele blieben auch während der Quellung als sehr kompakte, feste Strukturen erhalten. Es wird nicht erwartet, dass die Aerogelnetzwerkstruktur tatsächlich von der umgebenden Lösung durchdrungen wird, sondern nur in leicht zugänglichen Strukturen der äußeren Oberfläche aufgenommen wird.

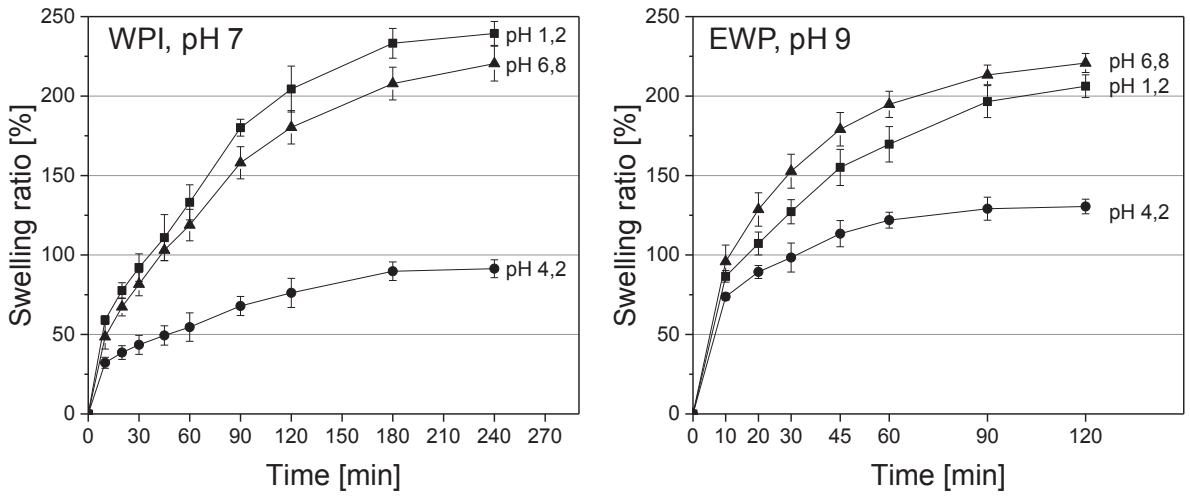


Abb. 1: Zeitabhängige relative Gewichtszunahme von WPI- und EWP-Aerogelen in wässrigen Medien mit unterschiedlichen pH-Werten.

Der geringe Quellgrad in der Pufferlösung mit pH 4,2 lässt sich durch die neutrale Nettoladung der majoren Bestandteile der Proteingemische WPI und EWP in diesem Bereich erklären. Durch das Vorliegen der Pufferlösung im Überschuss kann sich diese neutrale Nettoladung auch im Aerogelnetzwerk durch Protonierung bzw. Deprotonierung der Aminosäureseitenketten einstellen. Demzufolge sind die elektrostatischen Abstoßungskräfte zwischen den Proteinmolekülen und -ketten sehr schwach und resultieren in einer verminderten Quellfähigkeit des Gels. Diesen Effekt beobachteten auch Betz et al. (2012b), die das Quellungsverhalten von WPI-Gelen untersuchten, die bei Umgebungsdruck getrocknet wurden. In sauren und neutralen Quellmedien ist der Quellgrad durch die elektrostatische Abstoßung zwischen den Proteinmolekülen etwas höher. Hinzu kommt das stärkere Bestreben geladener Moleküle, sich in wässrigen Medien zu lösen.

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die Proteinaerogelstrukturen zwar in Abhängigkeit des pH-Wertes des Quellmediums Flüssigkeit aufnehmen, ein unmittelbares schwammartiges Aufsaugen wässriger Medien konnte aber nicht beobachtet werden. Für die untersuchten Aerogelsysteme wird daher keine starke diffusive Freisetzung als Folge der Quellung in wässrigen Medien erwartet. Die tatsächliche Freisetzung der verkapselten Substanz wird daher nicht durch Quellung, sondern durch den enzymatischen Abbau der Proteine im Verdauungstrakt ausgelöst werden.

Literatur:

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

Betz, M.; Hörmansperger, J.; Fuchs, T.; Kulozik, U. (2012b): Swelling behaviour, charge and mesh size of thermal protein hydrogels as influenced by pH during gelation. Soft Matter. 8 (8): 2477.

Eur. Arzneibuch (2008): Wirkstofffreisetzung aus festen Arzneiformen. In: EAB. 6. Amtl. Dt. Ausg., BandNr. 1: 340–350.

Selmer, I.; Kleemann, C.; Kulozik, U.; Heinrich, S.; Smirnova, I. (2015): Development of egg white protein aerogels as new matrix material for microencapsulation in food. The Journal of Supercritical Fluids. 106: 42–49.

Dank:

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

* Technische Universität Hamburg-Harburg, Institut für Thermische Verfahrenstechnik, Hamburg

Einsatz von Schäumen zur schnellen mikrowellenunterstützten Vakuumtrocknung von sensitiven Biomolekülen: Untersuchung von Blasengrößenverteilung, Overrun und Schaumstabilität bei verschiedenen Schaumzusammensetzungen

Usage of foams for fast microwave supported vacuum drying of sensitive biomolecules: Investigation of bubble size distribution, overrun and foam stability at various foam compositions

Peter Kubbutat, Thomas Cummings

Um Trocknungsvorgänge zu beschleunigen, werden die zu trocknenden Stoffe zunehmend in einer Schaummatrix getrocknet. Bedingt durch die höhere Kapillarität und die vergrößerte Oberfläche kann die Trocknungszeit bis auf ein Drittel der Zeit im Vergleich zur Trocknung einer Lösung erreicht werden (Morgan 1974). Da der zweite und dritte Trocknungsabschnitt bei der Schaumtrocknung kürzer ausfällt (Sharada 2013) als bei Lösungen, eignet sich diese auch für die Trocknung von sensitiven Stoffen (Santivarangkna et al. 2008). Als neues Trocknungsverfahren soll die Mikrowellenvakuumtrocknung von sensitiven Biomolekülen in einer Schaummatrix entwickelt werden. Dabei wird die zum Verdampfen nötige Energie volumetrisch über Mikrowellen anstelle einer beheizbaren Kontaktfläche in den Schaum eingetragen.

Um eine Aussage zur Eignung der Schäume in Hinblick auf die mikrowellenunterstützte Vakuumtrocknung geben zu können, müssen die Schäume vor den Trocknungsversuchen charakterisiert werden. Dabei werden für eine Schaumcharakterisierung typische Kennzahlen wie der Overrun, die Schaumstabilität oder die Blasengrößenverteilung gemessen. Da die Schäume beim Anlegen des Vakuums stark mechanisch beansprucht werden und von einer Trocknungszeit zwischen 1 – 2 h ausgegangen wird, soll die Stabilität des Schaums möglichst hoch ausfallen. Des Weiteren wird ein niedriger Overrun angestrebt, da die Blasen durch die Absenkung des Drucks in der Versuchskammer expandieren und es durch eine zu starke Ausdünnung der Lamellen zum Blasenkollaps kommen kann. Um den Blasenkollaps im Prozess möglichst vermeiden zu können, wird zudem eine enge Blasengrößenverteilung angestrebt.

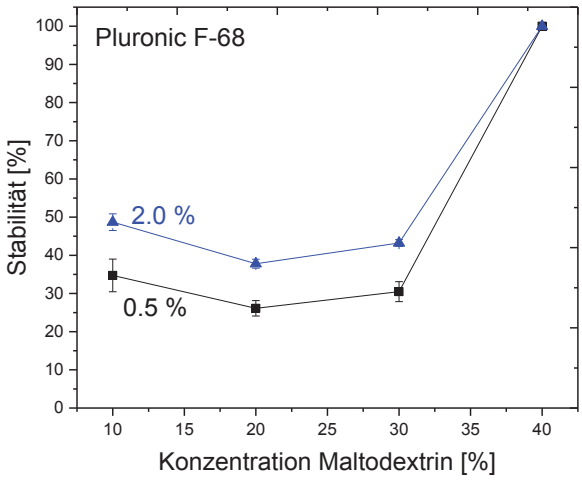


Abb. 1: Stabilität von Pluronic F-68 Schäumen mit 0.5 bzw. 20 % und einem Maltodextringehalt zwischen 10 und 40 %

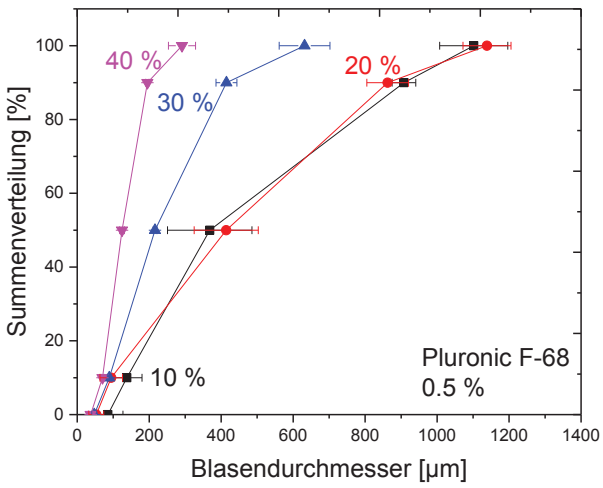


Abb. 2: Blasengrößenverteilung von Pluronic F-68 Schäumen mit einem Maltodextringehalt zwischen 10 und 40 %

Die Lösungen aus Schaumbildner (Pluronic F-68, 0.5 % und 2.0 %), Zucker (Maltodextrin DE 6, 10 – 40 %) und entsalzten Wasser werden zunächst über Nacht bei 4 °C gerührt und im Anschluss bei 20 °C in einem Rotor-Stator System (KitchenAid, St. Joseph, MI, USA) für 15 min bei höchster Stufe aufgeschlagen. Die Blasengrößenverteilung wird nach 15 min unter

dem Mikroskop (Zeiss, Oberkochen, Deutschland) bestimmt, die Stabilität des Schaums über die Drainage nach 30 min berechnet.

Der Overrun nimmt bei beiden Tensidkonzentrationen mit steigender Konzentration an Zuckern (10 % MD, 0.5 % F-68: 1597 ± 165 %, 40 % MD, 0.5 % F-68: 70 ± 1.2 %) ab. Des Weiteren fällt bei einer Tensidkonzentration von 2.0 % der Overrun tendenziell höher aus als bei 0.5 % F-68. Der Verlauf der Schaumstabilität ist in Abb. 1 dargestellt. Es fällt auf, dass die Stabilität zwischen 10 und 30 % Maltodextrinanteil mit 30 – 50 % relativ niedrig ist. Bei einer Zuckerkonzentration von 40 % konnte über 30 min eine Stabilität von 100 % erreicht werden.

In Abb. 2 sind die Blasengrößenverteilungen bei einer Tensidkonzentration von 0.5 % und einem Maltodextringehalt zwischen 10 und 40 % dargestellt. Die Breite der Blasengrößenverteilung sinkt mit steigender Zuckerkonzentration, wobei zwischen 10 und 20 % keine signifikanten Unterschiede vorliegen. Die Blasengrößenverteilung fällt bei einer Pluronic F-68 Konzentration von 2.0 % analog aus.

Durch den Einsatz von Maltodextrin erhöht sich die Viskosität der Ausgangslösung stark. Zusätzlich besitzt Maltodextrin die Fähigkeit Wasser zu binden (Kunz 2015). Aufgrund dieser Effekte kann die Lösung in den Lamellen den Schaum schlechter verlassen, was in einer niedrigen Drainage und hohen Stabilität resultiert. Auch für den Fall, dass Blasen einzeln in Lösung vorliegen und nicht über Lamellen verbunden sind, bedingt die höhere Viskosität einen langsameren Aufstieg der Blasen bzw. Sedimentation der flüssigen Phase. Davis et al. (2004) beobachteten ähnliche Effekte bei der Variation des Proteinanteils bzw. bei der Zugabe von Saccharose in geschäumten Lösungen. Zudem kommt es durch die Erhöhung der Viskosität zur Verlangsamung der Koaleszenzvorgänge. Dieser Effekt hat bei Schäumen mit 10 und 20 % Maltodextrinanteil einen geringen Einfluss, wodurch die Blasengrößenverteilung im Vergleich zu Schäumen mit 30 bzw. 40 % Maltodextrin relativ breit ausfällt. Somit scheinen maltodextrinhaltige Schäume unter Verwendung von Pluronic F-68 für Versuche zur mikrowellenunterstützten Vakuumtrocknung geeignet.

Literatur:
Davis; J. P.; Foegeding, E. A. (2004): Foaming and Interfacial Properties of Polymerized Whey Protein Isolate.
Kunz, B. (2015): Lebensmittelbiotechnologie: Mikrobiologie – Enzyme – Bioprozesstechnik – biotechnologische Prozesse. Hamburg: Behr's Verlag.
Morgan, A. J. (1974): Foam-mat drying. In: A. H. Johnson und M. S. (Eds.) Peterson (Hg.): The Encyclopedia of Food Technology: The Avi Publishing Co. Inc., S. 432–435.

Santivarangkna, C.; Kulozik, U.; Foerst, P. (2008): Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. Journal of applied microbiology 105 (1), S. 1–13.
Sharada, S. (2013): Studies on effect of various operating parameters & foaming agents- Drying of fruits and vegetables. International Journal of Modern Engineering Research 3 (3), S. 1512–1519.

Dank:
Das IGF-Vorhaben AiF 18819 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Stabilisierung von Emulsionen durch proteinbasierte Partikel

Stabilization of interfaces in emulsions by protein based particles

Franziska Kurz

Emulsionen sind thermodynamisch instabile Systeme mit großer Bedeutung sowohl in der Lebensmittelindustrie als auch im Bereich der kosmetischen und pharmazeutischen Technologie. In der Regel erfolgt eine Stabilisierung von Öl/Wasser-Grenzflächen (O/W-GF) durch grenzflächenaktive Substanzen wie beispielsweise niedermolekulare Emulgatoren oder Proteine. Eine langfristige Stabilisierung der Emulsion kann dadurch allerdings nur eingeschränkt gewährleistet werden. Alternativ können O/W-GF durch feste Partikel stabilisiert werden. Hierbei entstehen sogenannte „Pickering"-Emulsionen. Der Fokus im Bereich partikelstabilisierter Emulsionen lag bisher v. a. auf der Herstellung und Verwendung synthetischer Modellpartikel. Bedingt durch die eingeschränkte Einsatzmöglichkeit dieser Modellpartikel als Lebensmittelinhaltsstoff ergibt sich der Ansatz, stattdessen biogene Partikel zu identifizieren und diese für die Emulsionsstabilisierung zu verwenden.

Als Hypothese liegt dem Ansatz zugrunde, dass biogene Partikel mit ihren chemisch-physikalisch reaktiven Oberflächen Emulsionen besser und unter variableren Milieubedingungen stabilisieren können als typische grenzflächenaktive Substanzen.

Hierfür werden einerseits Partikel aus natürlichen biogenen Ausgangsmaterialien isoliert und andererseits gezielt aus Monomeren erzeugt. Granula in Eigelb sind von Natur aus partikuläre Strukturen, welche zur Stabilisierung eingesetzt werden können. Die Molkenproteinfraktion β-Lactoglobulin (β-Lg) aus der Milch eignet sich zur thermischen Synthese von Bioagglomeraten aus Monomeren. Diese partikulären Strukturen können durch Variation der Prozess- und Milieubedingungen (Ionenstärke, pH-Wert) in ihrer Größe, Morphologie und Grenzflächenaktivität modifiziert werden. Die Gewinnung/Herstellung sowie die Modifizierung und Verhalten dieser gezielt unterschiedlichen Proteinstrukturen an der O/W-GF und deren Prozess- und Milieustabilität stehen dabei im Fokus der Untersuchungen.

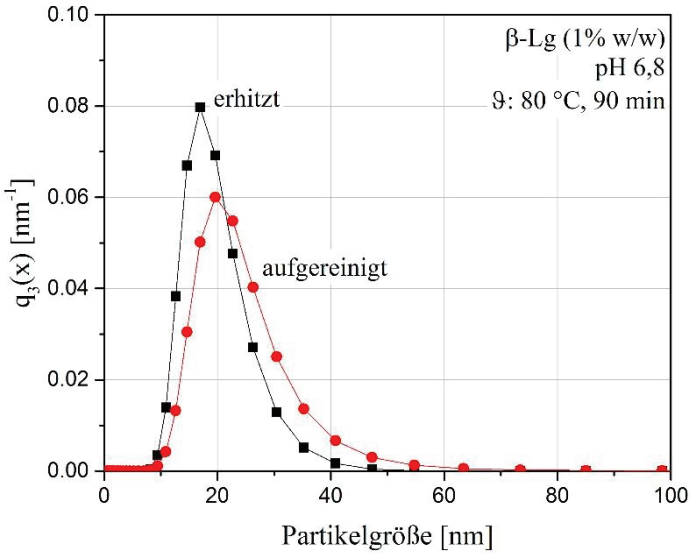


Abb. 1: Partikelgrößenverteilung der erhitzten (ϑ: 80 °C, 90 min) Proteinlösung (1% w/w, pH 6,8) sowie nach zweimaliger Aufreinigung mittels isoelektrischer Fällung.

Abb. 1 zeigt die Partikelgrößenverteilungsdichte thermisch (80 °C, 90 min) induzierter β-Lg-Partikel (1% w/w, pH 6,8). Daraus geht hervor, dass durch die reine Erhitzung der Proteinlösung monomodal verteilte Aggregate mit einem $D_{50,3}$ von 20,4 ±0,8 nm erzeugt werden können.

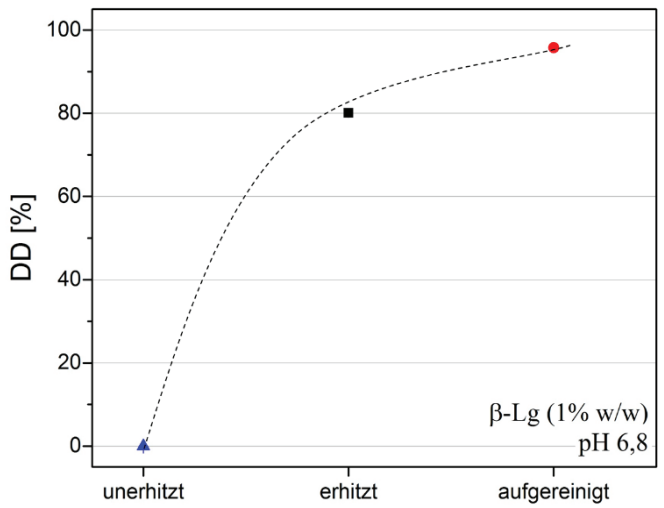


Abb. 2: Denaturierungsgrad (DD) der unerhitzten, erhitzten (ϑ: 80 °C, 90 min) sowie der zweimal mittels isoelektrischer Fällung aufgereinigten β-Lg Lösung (1% w/w, pH 6,8)

Um eine spätere Beeinflussung der chemisch-physikalischen Eigenschaften sowie dem Emulgierverhalten der Partikel durch natives Restprotein zu verhindern, erfolgte im Anschluss an die Erhitzung eine zweimalige Aufreinigung der Partikellösung mittels isoelektrischer Fällung (pH 4,6) kombiniert mit einer Zentrifugation (500 g, 10 min, 20 °C) und anschließender Resuspendierung des Sediments in entionisiertem Wasser auf einen pH-Wert von 6,8.

Dadurch konnte der Gehalt an nativem β-Lg der Partikellösung auf 4,25 ±0,4% reduziert bzw. der Denaturierungsgrad (DD) nach der Erhitzung von 80,05 ±0,4% auf 95,75 ±0,4% erhöht werden (vergleiche Abb. 2). Der DD von β-Lg wurde mit Hilfe folgender Gleichung berechnet:

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

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

Wie anhand von Abb. 1 zu erkennen ist, resultiert die Aufreinigung in einer geringfügigen Zunahme der Aggregatgröße, die weiterhin monomodal vorliegt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass monomodal verteilte Partikel aus nativem β-Lg mittels thermischer Aggregation hergestellt und aufgereinigt werden können. In diesem Zusammenhang werden gegenwärtig deren Prozess- und Milieustabilität sowie deren Emulgiereigenschaften untersucht.

Literatur:
Berton-Carabin, C.C.; Schroen, K. (2015): Pickering emulsions for food applications: background, trends, and challenges. Annual review of food science and technology. 6: 263–297.
Binks, B.P. (2002): Particles as surfactants—similarities and differences. Current Opinion in Colloid & Interface Science. 7 (1-2): 21–41.

Dank:
Das IGF-Vorhaben 18621 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Der Einfluss von Milieubedingungen und Prozessreihenfolge auf die Emulgierfähigkeiten von tryptischen Molkenproteinhydrolysaten

The influence of environmental conditions and order of processing steps on the emulsification properties of tryptic whey protein hydrolysates

Daniel Saalfeld, Jacqueline Hermann

Molke gewinnt immer mehr an Bedeutung für gesunde Ernährung. Sie beinhaltet eine Vielzahl an biologische aktiven Proteinen und Peptiden, die zudem ein hohes technofunktionelles Potential besitzen. Die Hauptproteinbestandteile sind β-Lactoglobulin (β-Lg) mit ca. 50 % und α-Lactalbumin (α-La) mit ca. 20 %. Da β-Lg nur in Kuhmilch, nicht aber in Humanmilch, vorkommt, steht es besonders im Verdacht Kuhmilcheiweiß-Allergien auszulösen, worunter ca. 3-7% der Säuglinge/Kleinkinder und 1-3% der Erwachsenen leiden. Mit Hilfe von Verfahren wie der enzymatischen Hydrolyse kann zum einen diese Allergenität entscheidend reduziert und somit der kompletten Bevölkerung der Zugang zu den biologisch aktiven und technofunktionellen Proteinen gewährleistet werden.

Zum anderen können bestimmte Eigenschaften wie die Emulgierfähigkeit oder die Verfügbarkeit bioaktiver Peptide erheblich gesteigert werden. Vor dem Hintergrund der ausreichenden Reduzierung der Allergenität (hypoallergen) bei gleichzeitiger Erhaltung bzw. Steigerung der technofunktionellen Eigenschaften erfolgten Untersuchungen zur Auswirkung der Prozessreihenfolge (Abb. 1) auf die Emulgierfähigkeit eines Molkenproteinhydrolysates in Abhängigkeit der Milieubedingungen (Salzart NaCl, KCl, $CaCl_2$, $MgCl_2$ und deren Konzentration 0.1 M und 1 M). Dazu wurde eine 5 % (w/w)

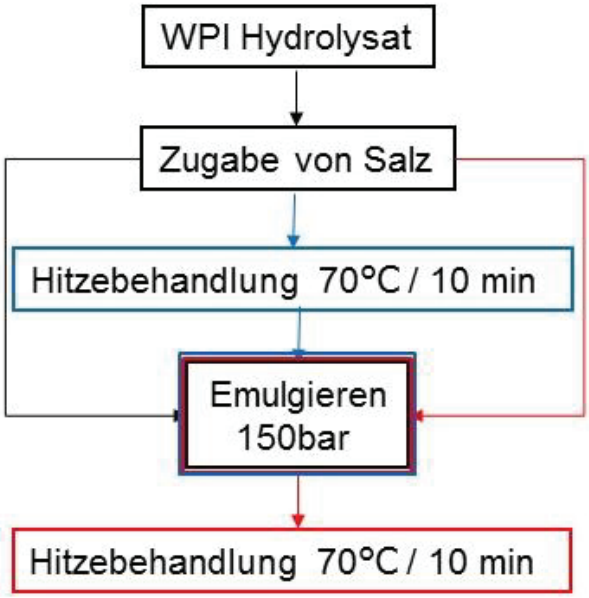


Abb. 1: Reihenfolge der Prozessschritte zur Herstellung von 10 %igen O/W Emulsion bei pH 7]

WPI-Lösung mit Trypsin bei 37 °C und pH 8.5 hydrolysiert. Die Emulsionen wurden bei pH 7 einstufig mit 150 bar und einem Proteingehalt von 1 % hergestellt. Um Aussagen zur Bildung und Stabilisierung der Emulsionen zu treffen wurden diese mit Hilfe des Mastersizers hinsichtlich der Öltröpfchengrößenverteilung untersucht. Wie in Abbildung 1 zu sehen, wurden drei Wege der Prozessführung gewählt, um die Komposition der Hydrolysate zu variieren und die Emulsionsbildung zu beeinflussen. Des Weiteren sollte dies dazu dienen, die Stabilisierungsmechanismen wie den Einfluss der Elektrostatik besser zu verstehen. Um die Auswirkungen einer thermischen Belastung auf die enthaltenen Peptide in Lösung zu testen, wurde das Hydrolysat vor dem Emulgieren erhitzt. Zum Vergleich des Verhaltens der Peptide an der Grenzfläche unter thermischer Belastung wurde die fertige Emulsion erhitzt. Als Referenz wurden Proben ohne Hitzebehandlung hergestellt. Die Ergebnisse der Variation der Prozessreihenfolge in Abhängigkeit der Milieubedingungen sind in Abbildung 2 zu sehen. Vergleicht man zunächst die thermisch unbehandelten Proben miteinander, wird ersicht-

lich, dass die monovalenten Natrium- und Kaliumsalze eine geringfügig engere Öltröpfchengrößenverteilung begünstigen als die divalenten Calcium- und Magnesiumsalze, unabhängig von der eingesetzten Konzentration.

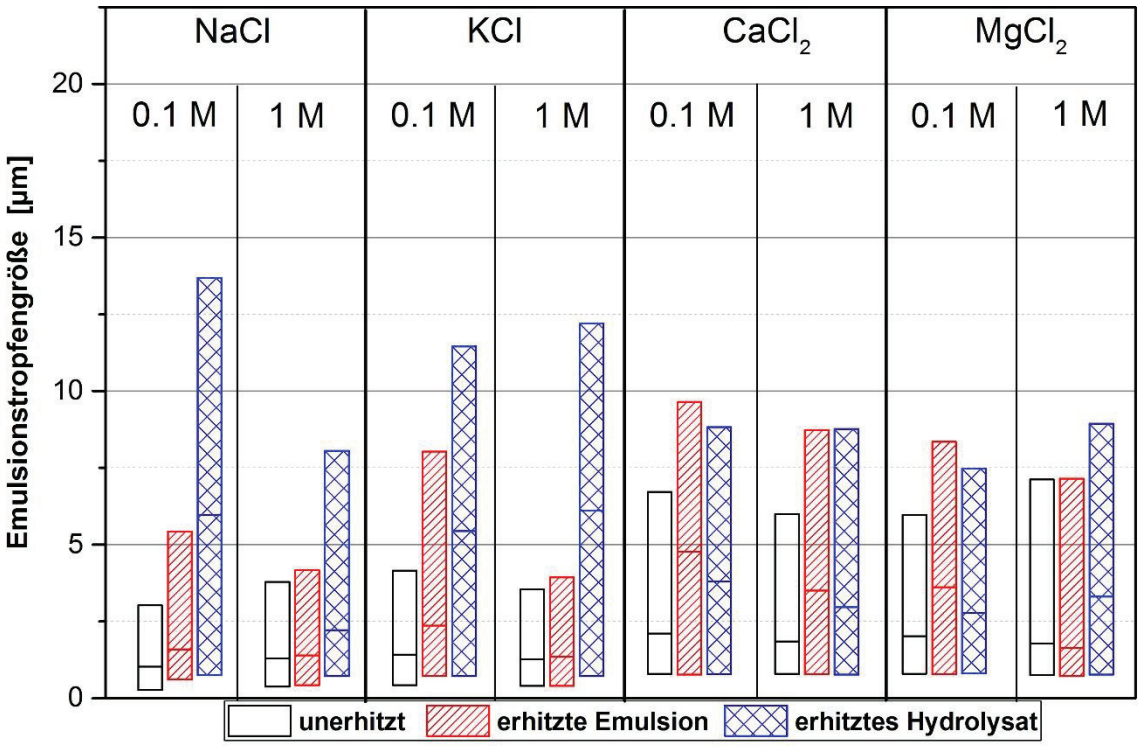


Abb. 2: Emulsionstropfengrößenverteilung 10 %iger O/W Emulsionen bei pH 7, Homogenisierungsdruck 150 bar und 1 % Proteingehalt in Abhängigkeit der Prozessreihenfolge und Milieubedingungen, Querstriche innerhalb der Balken stehen für d_{10} (Unten), d_{50} (Mitte), d_{90} (Oben)

Deutlich größere Unterschiede sind in Abhängigkeit der Prozessreihenfolge zu erkennen. Während die Zugabe geringer Konzentrationen (0.1 M) an Natrium und Kaliumchlorid eine leichte Verbreiterung der Tröpfchengrößenverteilung nach Hitzebehandlung der Emulsion (gestreift gefüllt) zur Folge hat, bleibt diese bei höheren Konzentration (1 M) nahezu konstant. Im Gegensatz dazu führt die Hitzebehandlung des Hydrolysates (kariert gefüllt) zu deutlich größeren Öltröpfchen. Dies ist auf die Bildung von Peptidaggregaten in Lösung zurückzuführen, die während des Emulgierens die Bildung von Öltröpfchenaggregaten nicht verhindern können. Im Gegensatz dazu führt die Zugabe der divalenten Salze immer zur Aggregation der Öltröpfchen nach einer Hitzebehandlung und damit zu geringeren Stabilitäten, unabhängig von der Prozessreihenfolge. Es zeigt sich, dass unter Zugabe von Calcium oder Magnesium die Eigenschaften der Peptide sowohl in Lösung als auch an der Grenzfläche identisch beeinflusst werden. Die Vergrößerung der Öltröpfchenverteilung wurde auf elektrostatische Effekte zurückgeführt, die wiederum zu einer Aggregation der Öltröpfchen durch eine Hitzebehandlung führen.

Es konnte gezeigt werden, dass die Prozessschrittreihenfolge einen entscheidenden Einfluss auf die Emulgierfähigkeiten von Molkenproteinhydrolysaten nehmen kann. Die monovalenten Salze zeigten hierbei hauptsächlich Einfluss auf die Peptideigenschaften in Lösung, woraus schlechtere Emulsionsbildungseigenschaften resultierten. Dem gegenüberstehend führte die Zugabe von divalenten Salzen unabhängig von der Prozessreihenfolge zu schlechteren Emulgiereigeschaften, was sich insbesondere auf elektrostatische Effekte zurückführen lässt. Um zu verstehen, welche Peptide für diese Unterschiede verantwortlich sind, müssen tiefergehende

Untersuchungen unter Zuhilfenahme der Massenspektrometrie erfolgen. Hiermit sollte es möglich sein, die Peptidaggregate hinsichtlich ihrer Zusammensetzung genauer zu analysieren und Rückschlüsse auf die Komposition der Hydrolysate für die Herstellung einer stabilen, hypoallergen Emulsion zu ziehen.

Aufklärung von Mechanismen bei Strukturbildungsvorgängen und von Prozess – Struktur – Wechselwirkungen in mehrphasigen, hochkonzentrierten Proteinsystemen

Clarification of mechanisms within structure formation and process – structure – interactions of multiphased, highly concentrated protein systems

Stefanie Sedlmeier

In vielen hochkonzentrierten, mehrphasigen Lebensmittelsystemen wie Frisch- oder Schmelzkäse lassen sich thermisch induzierte, strukturbildende Reaktionen beobachten, die bisher nur ansatzweise und phänomenologisch beschrieben wurden. Dabei handelt es sich um disperse Systeme, die eine hohe Proteinkonzentration aufweisen und zudem Öl enthalten.

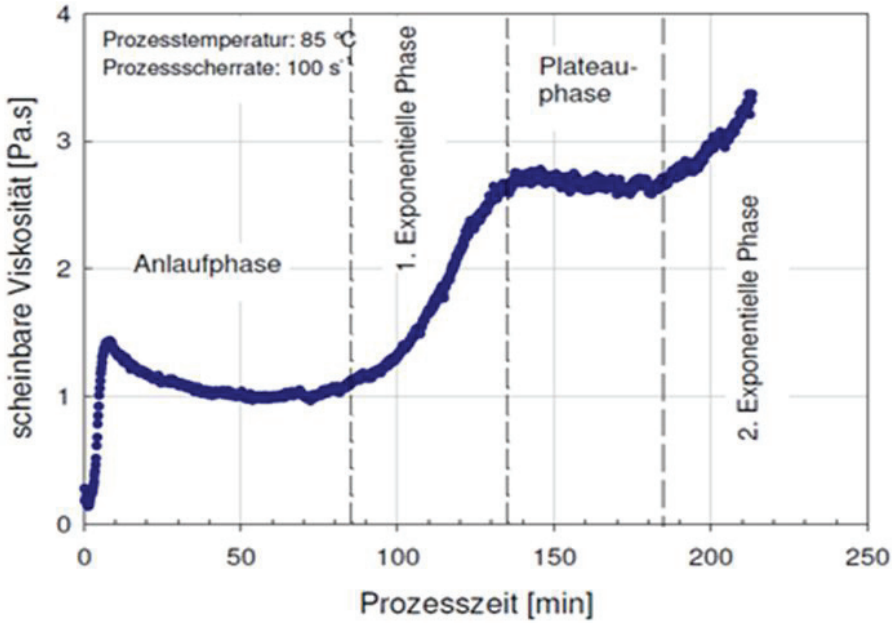


Abb. 1: In Vorarbeiten beobachteter mehrstufiger Strukturbildungsverlauf (Röck, 2010)

Bisher wurde im Modellsystem Schmelzkäse, wie in Abb. 1 gezeigt, ein mehrstufiger Strukturbildungsverlauf beobachtet (Röck 2010). Dabei wurde ein stufenförmiger Anstieg der Viskosität über die Prozesszeit auf die Strukturbildung zurückgeführt. Die Reaktion lässt sich als eine thermisch induzierte Gelbildung beschreiben.

Zunächst dispergieren die Proteine in der entstandenen Schmelze, um dann zu reassoziieren und ein Netzwerk auszubilden (Lee et al. 2003; Zhong und Daubert 2004).

Zudem konnte ein Einfluss der Fettphase auf die Strukturbildung beobachtet werden. Abb. 2 zeigt das Modellsystem Schmelzkäse zu verschiedenen Zeitpunkten der Strukturbildungsreaktion; es wird vermutet, dass Proteine von der O/W Grenzfläche abwandern und sich an der Aggregatbildung in der kontinuierlichen Phase beteiligen (Röck, 2010).

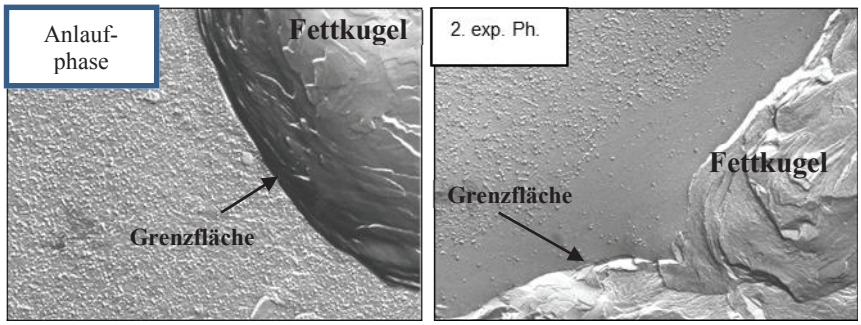


Abb. 2: Raster Elektronen Mikroskopische Aufnahmen der O/W Grenzfläche zu Beginn und am Ende der Strukturbildungsreaktion (Röck, 2010)

Es ist zu erkennen, dass während der Anlaufphase die O/W Grenzfläche dicht mit Proteinen besetzt ist. Gegen Ende der Prozessierung sind nur noch wenige Proteine an der Fettkugeloberfläche zu beobachten.

In diesem neu begonnenen Projekt sollen diese Struktur- bzw. Aggregatbildungsvorgänge beschrieben und der Reaktionsmechanismus aufgeklärt werden. Die so gewonnenen Ergebnisse können für die technologische Prozessierung von Lebensmitteln oder verwandter Systeme eingesetzt werden. Um die chemisch - mechanistischen Vorgänge während des Strukturbildungsverlaufs darstellen zu können, sollen in dieser Arbeit die in Abb. 1 gezeigten, zu verschiedenen Prozesszeiten vorhandenen oder gebildeten Aggregate bezüglich ihrer Größe, Morphologie und Bindungsnatur aufgeklärt werden. Es soll untersucht werden, inwieweit sich der dargestellte, stufenförmige Strukturbildungsverlauf in anderen Proteinsystemen wiederfinden und somit verallgemeinern lässt.

Darüber hinaus soll der Einfluss der Fettphase als Reaktionsoberfläche mechanistisch geklärt werden. Einen Lösungsansatz bietet das Fluoreszenz Labelling von Proteinen und deren Untersuchung mittels CLSM. Hierfür sollen passende Fluoreszenz Labels gefunden werden, welche Strukturbildungsreaktion nicht beeinflussen. Die erarbeiteten Methoden sollen dazu dienen, die mechanistischen Vorgänge bei der Strukturbildung in proteinreichen, dispersen Lebensmittelsystemen zu identifizieren und damit vorhersagbar zu machen.

Literatur:
Lee, S.K; Buwalda, R.J; Euston, S.R; Foegeding, E.A; McKenna, A.B (2003): Changes in the rheology and microstructure of processed cheese during cooking. In: *LWT - Food Science and Technology* 36 (3), S. 339–345. DOI: 10.1016/S0023-6438(03)00012-4.
Li, Meng; Auty, Mark A.E.; O'Mahony, James A.; Kelly, Alan L.; Brodkorb, André (2016): Covalent labelling of β-casein and its effect on the microstructure and physico-chemical properties of emulsions stabilized by β-casein and whey protein isolate. In: *Food Hydrocolloids* 61, S. 504–513. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.05.029.
Röck, Sonja Martina (2010): Untersuchung von Strukturbildungsvorgängen in komplexen Milchproteinsystemen. Dargestellt am Beispiel von Schmelzkäse. 1. Aufl. München: Verl. Dr. Hut (Lebensmitteltechnologie).
Zhong, Q.; Daubert, C. R. (2004): Kinetics of rennet casein gelation at different cooling rates. In: *Journal of colloid and interface science* 279 (1), S. 88–94. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.06.059.

Dank:
Dieses Projekt wird gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), Projektnummer: KU 750/8-1/ AOBJ: 630020

Charakterisierung von Bindungsmechanismen bei extrudierten Mikropartikulaten

Characterization of binding mechanisms in extruded whey protein micro-particles

Magdalena Wolz, Felix Kuhne

Die funktionellen Eigenschaften von Molkenproteinen können durch gezielte Partikelbildung bei der Mikropartikulierung mittels thermisch-mechanischer Behandlung verändert werden. Im Extruder kann ein kombinierter Erhitzungs- und Scherprozess realisiert werden. Im Vergleich zum bisher eingesetzten Schabewärmetauscher können dabei die Prozessbedingungen in größerem Umfang variiert werden und deutlich höhere Protein- und Trockenmassekonzentrationen eingesetzt werden. Für das Verständnis des Aggregationsprozesses im Extruder ist die Charakterisierung der Bindungen ein wesentlicher Faktor. Des Weiteren hängen auch die funktionellen Eigenschaften stark von der Größe und Struktur der erzeugten Aggregate ab. Aus diesem Grund sind die Bindungen innerhalb der Aggregate ein wichtiger Hinweis zur Beurteilung ihrer Stabilität und ihrer Einsatzmöglichkeiten in Lebensmitteln.

Die Mikropartikulierung wurde in einem gleichsinnig drehenden Doppelschneckenextruder ZSK 25 (Coperion, Stuttgart) bei einer Temperatur von 110 °C und einer Drehzahl von 400 rpm

durchgeführt. Als Ausgangsstoff wurde ein Molkenproteinkonzentrat mit einer Proteinkonzentration von 80 % verwendet, welches durch Wasserzugabe bei der Extrusion auf einen Proteingehalt von 30 % eingestellt wurde.

Durch die thermisch-mechanische Behandlung kommt es zum Verlust der Tertiär- und Sekundärstruktur der Molkenproteine und intermolekulare Bindungen werden initiiert. Infolgedessen entstehen große Aggregate. Welche Bindungen dabei eine Rolle spielen, ist hauptsächlich durch die Anzahl hydrophober Aminosäuren sowie durch die Anzahl freier Thiolgruppen und Disulfidbindungen der majoren Molkenproteinen determiniert. Um den Einfluss der hydrophoben Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindugen sowie der Disulfidbrückenbindungen auf die Bildung von Proteinaggregaten bei der Extrusion zu untersuchen, wurden diese Bindungen dissoziiert.

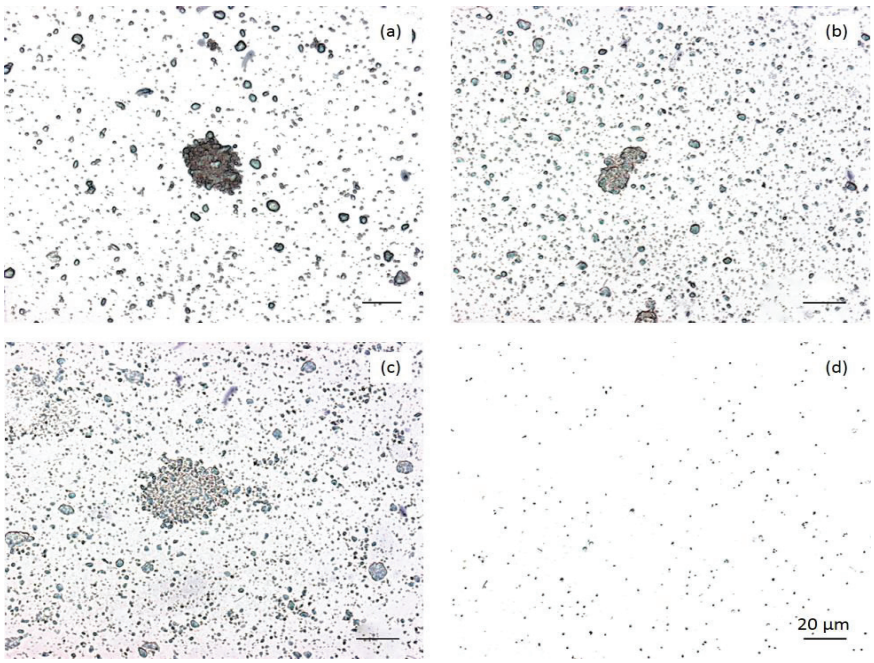


Abb. 1: Lichtmikroskopische Aufnahmen des extrudierten Mirkopartikulates

In Abb. 1 (a) sind die bei der Extrusion gebildeten Aggregate gezeigt. Der Hauptteil der Aggregate liegt im Größenbereich weniger Mikrometer vor. Teilweise werden jedoch auch etwas größere Aggregate gebildet (Abb. 1(a)). Durch die Behandlung mit einer 8 M Urea-Lösung wurden die hydrophoben Wechselwirkungen sowie die H-Brücken im Extrudat dissoziiert. Die Disulfidbrücken wurden durch 0,1 M DTT Lösung aufgebrochen.

Das Lösen der Aggregate durch die alleinige Behandlung mit Urea (Abb. 1(c)) oder die alleinige Behandlung mit DTT (Abb. 1(b)) konnte mikroskopisch lediglich durch den Zerfall einiger weniger Aggregate beobachtet werden. Die kombinierte Behandlung mit Urea und DTT führte jedoch zu einer nahezu vollständigen Auflösung der Aggregate (Abb. 1(d)). Durch das gleichzeitige Lösen der Wasserstoffbrückenbindungen sowie der Disulfidbrückenbindungen sind unter dem Lichtmikroskop die ursprünglich beobachteten Aggregate nicht mehr zu sehen. Das heißt, dass diese Bindungsarten auch maßgeblich für die Aggregation verantwortlich sind. Andere Bindungsarten wie Calciumbrücken oder elektrostatische Bindungen spielen keine nennenswerte Rolle. Dies konnte auch durch die Messung der Partikelgrößen bestätigt werden.

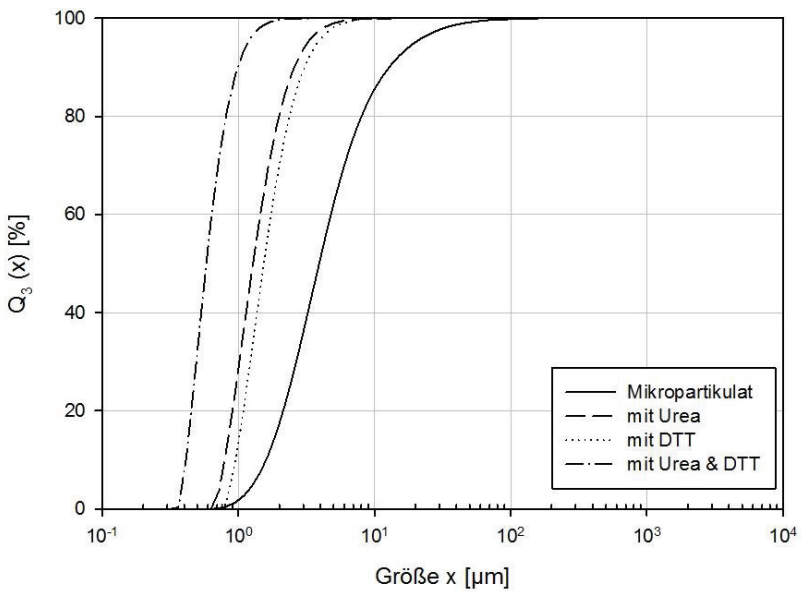


Abb. 2: Partkelgrößenverteilungen der Mikropartikulate (unbehandelt, mit Urea, mit DTT und mit Urea & DTT).

Durch die Behandlung des extrudierten Mikropartikulates alleine mit DTT oder Urea ist bereits eine deutliche Abnahme der Partikelgröße zu beobachten (Abb. 2). Wurde das Mikropartikulat zeitgleich sowohl mit Urea als auch DTT behandelt, kann eine deutliche Reduktion der Partikelgröße beobachtet werden.

Damit konnte gezeigt werden, dass die extrudierten Molkenproteine hauptsächlich durch Wasserstoffbrückenbindungen und sehr stabile Disulfidbrückenbindungen zusammengehalten werden. Es ist deshalb zu erwarten, dass die extrudierten Mikropartikulate auch stabil genug sind, um sie als funktionelle Komponente Lebensmitteln mit unterschiedlichen Milieubedingungen zuzusetzen.

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

Forschungsgebiet Trenntechnik
Workgroup Separation Techniques

Bestimmung der Hitzestabilität von micellarem Caseinkonzentrat in Abhängigkeit von pH-Wert, Protein- und Molkenproteingehalt

Determination of the heat stability of micellar casein concentrate depending pH, protein, and whey protein content

Joseph Dumpler, Pascal Birkle

Die resultierenden micellaren Caseinpulver (MCP) weisen je nach der Kombination und Anzahl der Prozess- und Diafiltrationsschritte, der Wahl des Diafiltrationsmediums, den Erhitzungs- und Trocknungsbedingungen sehr unterschiedlichen funktionelle Eigenschaften auf. Durch den partiellen oder vollständigen Austausch des Milchserums während der Diafiltration ändern sich die Millieubedingungen je nach verwendetem Diafiltrationsmedium, mit denen sich die Caseinmicellen der Magermilch im Gleichgewicht befunden haben. Zu den wichtigsten Faktoren, die zum Erhalt der nativen Micellstruktur beitragen, insbesondere bei Erhitzung, zählen der pH-Wert, der lösliche Calciumgehalt im Gleichgewicht mit dem Gehalt an Citrat und Phosphat in der Milch, die Ionenstärke sowie der Gehalt an Casein und reaktiven Molkenproteinen (MP). Die Auswirkungen einer Änderung der Zusammensetzung und der chemisch-physikalischen

Eigenschaften von Magermilch auf die Hitzestabilität sollte näher anhand eines Modellsystems isolierter Caseinmicellen untersucht werden. Die hohe Hitzestabilität von Milch resultiert aus der besonderen Struktur der Caseinmicellen im Vergleich zu den Molkenproteinen. Die Hitzestabilität beschreibt die Eigenschaft von Caseinmicellen unter Erhitzung den kolloidal löslichen Zustand beizubehalten. Die Grenze der Erhitzbarkeit in Bezug auf mögliche Temperatur-Zeit-Bedingungen ist dann erreicht, wenn eine Aggregation der Caseinmicellen eintritt, die optisch sichtbar in einer Hitzekoagulation, also einer Bildung von Proteinpartikeln in der Milch beginnt. Diese Hitzekoagulation tritt in unveränderter Magermilch selbst unter den extremen Bedingungen der Sterilisation oder UHT–Sterilisation nicht auf, steht also nicht im Konflikt mit der erforderlichen mikrobiellen Inaktivierung. Bei Konzentraten aus Milch wird jedoch häufig eine Aggregation von Casein bei für die Produkthaltbarkeit oder -sicherheit definierten Temperatur-Zeit Bedingungen festgestellt, die zu Gel- oder Sedimentbildung unmittelbar während der Erhitzung oder der Lagerung führt. Es besteht also ein Zielkonflikt zwischen der Inaktivierung von Mikroorganismen und der verbleibenden Hitzestabilität der Caseinmicellen in konzentrierten Systemen. Prüfen lässt sich die Hitzestabilität eines micellaren Caseins, wie für Herstel-lung von Kondensmilch üblich, durch einen Hitzestabilitätstest im Labormaßstab. Drei der wichtigsten Einflussfaktoren auf die Hitzestabilität sollen im Folgenden in ihrem Ausmaß auf die Hitzestabilität von MC dargestellt werden. Dieses MC wurde nach dem in Abb. 1 gezeigten Grundfließbild hergestellt. Die Magermilch wurde zunächst zur Effizienzsteigerung des Mikrofiltrationsprozesses (0,14 µm TAMI Isoflux® Sunflower) vorkonzentriert auf einen Konzentrierungsfaktor von i = 2,5 und anschließend mit simuliertem Milchultrafiltrat (SMUF) nach Dumpler *et al.* (2017) diafiltriert, weiter konzentriert bis zu einem Caseingehalt von 10% und anschließend sprühgetrocknet. Den Verlauf des verbleibenden Gehalts der einzelnen Molkenproteine im Retentat der Mikrofiltration zeigt Abb. 1. Nach der Diafiltration konnte das Casein-Molkenprotein-Verhältnis von 80:20 auf 98,5:1,5 erhöht werden. Laktose war nicht mehr nachweisbar. Die Serumzusammensetzung entsprach durch die Diafiltration mit simuliertem Milchultrafiltrat in Bezug auf die Salzzusammensetzung und -menge derjenigen von unkonzentrierter Magermilch. Nach der Sprühtrocknung wurde das Pulver gelagert und in kleineren Mengen in destilliertem Wasser auf die Trockenmasse vor der Trocknung redispergiert. Die flüssigen MCs wurden noch zur Resolubilisierung temperiert, entgast und anschließend im Caseingehalt durch Verdünnung mit SMUF und dem Molkenproteingehalt zur Zugabe von Molkenproteinisolat-Lösung (WPI) verändert. Zusätzlich wurden alle Untersuchungen der modifizierten MCs unter Variation des pH-Wertes durchgeführt. Einerseits sollte dadurch der Einfluss des pH-Wertes auf das micellare Casein und zusätzlich die Interaktion zwischen pH-Wert und Casein- bzw. Molkenproteingehalt untersucht werden. Die so hergestellten MCs wurden in einem Ölbad bei 155°C erhitzt, wobei die

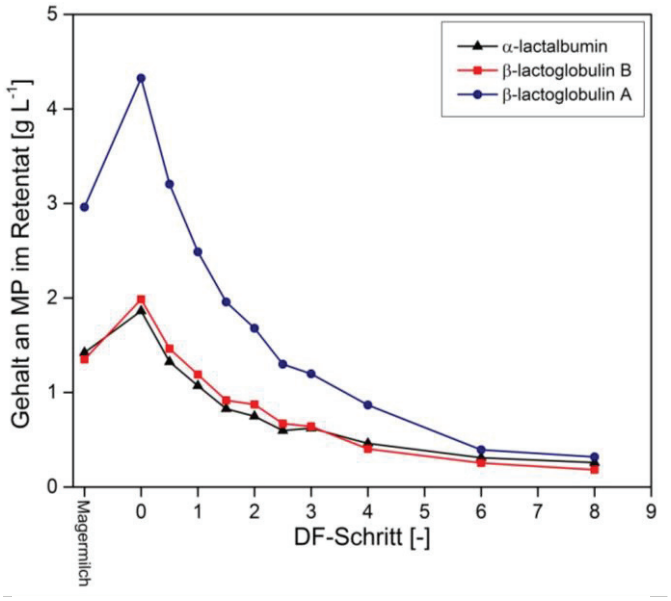


Abb. 1: Verbleibender Gehalt individueller Molkenproteine im Retentat der Mikrofiltration.

erreichbare Maximaltemperatur der Proben bei 138°C lag. Der optisch erkennbare Koagulationspunkt der Proben wurde als Hitzekoagulationszeit und -temperatur der Proben zu diesem Zeitpunkt registriert.

Die ermittelten Temperaturen und Zeiten sind jedoch aufgrund der andersartigen Aufheizprofile und damit der gesamten Hitzebelastung als Integral von Erhitzungstemperatur und -zeit nicht unmittelbar auf technische Erhitzungsprozesse übertragbar. Es lassen sich jedoch Trends und Unterschiede erkennen. Durch Vergleich der Ergebnisse des Hitzestabilitätstests mit Erhitzungsversuchen im Pilotmaßstab lassen sich Vorhersagen über die Hitzestabilität eines einzelnen Konzentrates treffen (Dumpler und Kulozik 2016, 2015).

Die Ergebnisse der Variation des Proteingehaltes des MC in Abb. 2 zeigen, dass die Hitzestabilität, gemessen an der Hitzekoagulationstemperatur und -zeit, ab einem pH-Wert von 6,6 sehr deutlich abnimmt. „Molkenproteinfreie“ MCs mit einem pH-Wert < 6,3 werden selbst bei einer Erhitzung zur Pasteurisation unabhängig vom Proteingehalt in dem analysierten Bereich nicht standhalten, wohingegen MCs mit einem pH-Wert von > 6,6 auch ultrahocherhitzt werden können. Der Proteingehalt zeigt sich hier nur als deutlicher Einflussfaktor in einem Bereich sehr geringer Hitzestabilität bei niedrigen pH-Werten. Bei Molkenproteinzusatz bei konstanten Caseingehalt im MC in Abb. 3 zeigte sich, dass mit steigendem Molkenproteinzusatz bei pH-Werten < 6,5 eine Erhöhung der Hitzestabilität der MCs feststellbar war.

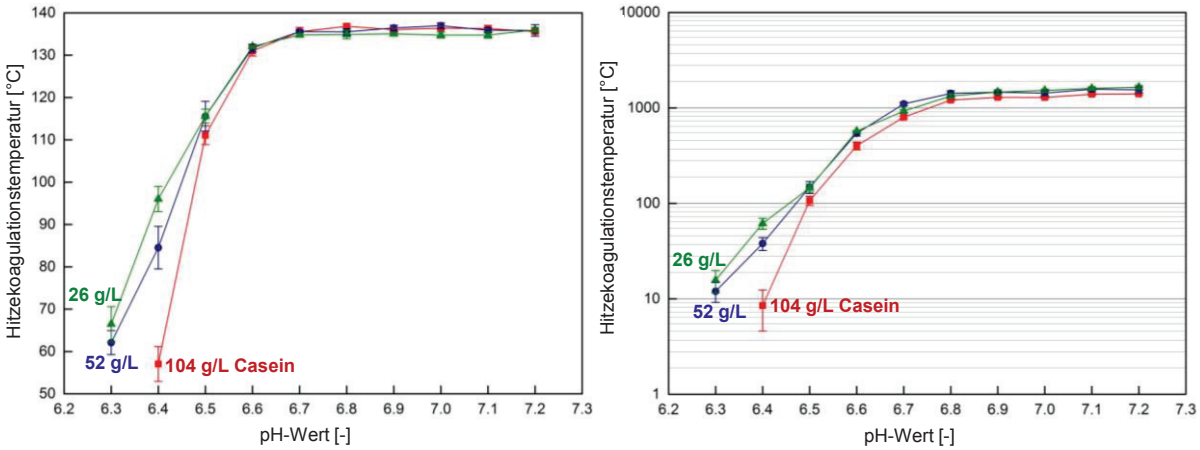


Abb. 2: Hitzekoagulationstemperatur (links) und Hitzekoagulationszeit (rechts) von MC mit unterschiedlichem Caseingehalt in Abhängigkeit des pH-Wertes.

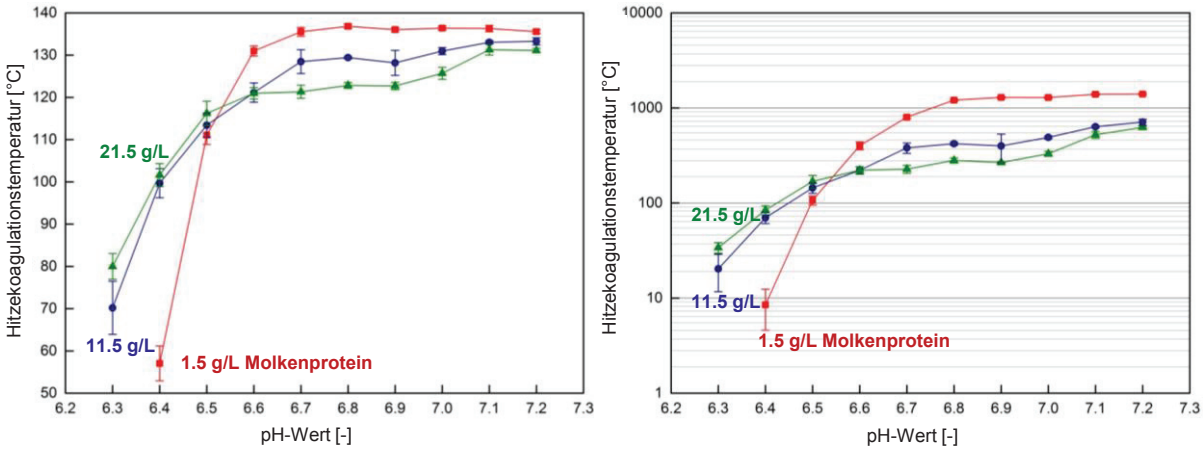


Abb. 3: Hitzekoagulationstemperatur (links) und Hitzekoagulationszeit (rechts) von MC mit unterschiedlichem Molkenproteingehalt in Abhängigkeit des pH-Wertes.

Das kann damit begründet werden, dass die denaturierten Molkenproteine eine sterische Barriere gegenüber der Aggregation der calciumsensitiven Caseine bilden. Bei höheren pH-Werten zeigte sich, dass die Anwesenheit von Molkenproteinen die Hitzestabilität von MCs als Funktion der Temperatur und Zeit mit steigender Konzentration verringert. Die Konzentration von insgesamt 21,5 g L^{-1} entspricht dem Gehalt eines Milchkonzentrates, das mittels Ultrafiltration hergestellt wurde.

Bei dieser Konzentration an Molkenprotein kann durch den Vergleich der erhaltenen Hitzekoagulationstemperaturen und -zeiten mit den Ergebnissen von Dumpler und Kulozik (2015) und Dumpler und Kulozik (2016) gesagt werden, dass UF-Konzentrate mit einem Konzentrierungsfaktor von i = 3,5 nicht mehr ohne hitzeinduzierte Aggregation UHT-sterilisiert werden können. Grund hierfür ist die κ-Casein-Dissoziation durch Wechselwirkung mit β-Lactoglobulin über Disulfidaustausch. Dieser Komplex dissoziiert bei weiterer Erhitzung und so bilden sich destabilisierte Micellen, die zur Aggregation neigen. Kann jedoch ein Teil der Molkenproteine mittels Mikrofiltration abgetrennt werden, ist eine Sterilisation der Konzentrate bei pH-Werten > 6,7 möglich, da die κ-Casein-Dissoziation durch Wechselwirkung mit β-Lactoglobulin verringert ist.

Neben diesen drei dargestellten Faktoren sind noch weitere Variationen in der Serumphase denkbar, beispielsweise eine Zugabe von löslichem Calcium oder anderen Salzen, oder aber eine Reduktion des Laktose- und Salzgehaltes durch Diafiltration mit vollentsalztem Wasser oder Umkehrosmose- oder NF-Permeaten. Diese Medien beeinflussen die Hitzestabilität ebenso und damit die Erhitzbarkeit von MCs. Wenn die Hitzestabilität als Integral von Temperatur und Zeit geringer als das notwendige Inaktivierungskriterium ist, kann dies die Standzeit von Anlagen verringern, die Verarbeitbarkeit nach der Erhitzung oder aber auch die Redispergierbarkeit der Pulver stark beeinträchtigen, wenn die Caseine durch Erhitzen koaguliert waren. Eine Prüfung der Hitzestabilität im Vergleich zur erforderlichen Hitzestabilität von caseinhaltigen Systemen zur Inaktivierung von Mikroorganismen bleibt daher unabdingbar, selbst wenn die Konzentrate nach der Erhitzung getrocknet werden.

Literatur:
Dumpler J, Kieferle I, Wohlschläger H, Kulozik U (2017) Milk ultrafiltrate analysis by ion chromatography and calcium activity for SMUF preparation for different scientific purposes and prediction of its supersaturation. *Int Dairy J* accepted.
Dumpler J, Kulozik U (2015) Heat stability of concentrated skim milk as a function of heating time and temperature on a laboratory scale – Improved methodology and kinetic relationship. *Int Dairy J* 49 111–117.
Dumpler J, Kulozik U (2016) Heat-induced coagulation of concentrated skim milk heated by direct steam injection. *Int Dairy J* 59 62–71.

Dank:
Die Förderung des Vorhabens erfolgte aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgte über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung (Förderkennzeichen 313.06.01-28-1-74.005-11).

Längenabhängigkeit der Filtration und des Druckverlusts in Spiralwickelmembranen (SWM)

Length dependency of filtration and pressure drop in spiral-wound membranes (SWM)

Martin Hartinger

Zur Fraktionierung von Caseinen und Molkenproteinen aus Magermilch werden üblicherweise keramische Mikrofiltrationsmembranen (MF) genutzt, wobei polymere Membranen in Form SWM aufgrund niedrigerer Investitionskosten eine attraktive Alternative dazu darstellen. Bei der Fraktionierung resultiert durch zunehmende Ablagerung von Partikeln auf der Membranoberfläche eine Reduzierung des Flux und der Permeation der Molkenproteine. Das Applizieren einer Querströmung wirkt dem entgegen. Allerdings tritt dadurch entlang des Moduls ein reibungsbedingter Druckverlust (Δp) auf, der zu Inhomogenitäten bei der Deckschichtbildung und der Filtrationsleistung führt.

Abb. 1: Membranmodule variierender Länge

In keramischen Membranen ist Δp linear und kann durch Gl. 1 (Druckverlust in Rohrströmungen) beschrieben werden (Bottino et al., 1994; Piry, 2011):

$$\Delta p = \frac{1}{2}\lambda(Re)\frac{l}{d}\rho w^2 \qquad \text{Gl. (1)}$$

Der Druckverlust ist proportional zur Rohrlänge l, der Dichte ρ, dem Quadrat der Strömungsgeschwindigkeit w und dem Rohrreibungsfaktor λ (eine Funktion der Reynoldszahl Re und damit der Viskosität η) sowie indirekt proportional zum Durchmesser. Im Gegensatz zu keramischen Membranen ist für SWM der Zusammenhang zwischen Modullänge und Δp bisher experimentell nicht untersucht.

Es wurden SWM (Durchmesser 6,3 "; Feed Spacer: 30 mil, diamantförmig) entwickelt, die sich abgesehen von der variierenden Länge (24, 48, 72 und 96 cm) nicht von industrieüblichen Modulen unterscheiden (Abb. 1). Bei geschlossenem Permeatablauf und 10 °C wurde mittels Differenzdruckmesser der Druckverlust entlang dieser SWM für pasteurisierte Magermilch bei variierenden Feedvolumenströmen ermittelt.

Die Ergebnisse sind in Abb. 2 für die Volumenströme 8 und 14 m³/h dargestellt. Es zeigt sich, dass Δp mit der Länge des Moduls und dem Volumenstrom zunimmt. Bei 14 m³/h liegt der Druckverlust für l = 96 cm bei ca. 1,05 bar, bei 8 m³/h hingegen bei 0,44 bar. Mit einem höheren Volumenstrom steigt die Strömungsgeschwindigkeit im Spalt, womit eine Erhöhung des Druckverlusts einhergeht (vgl. Gl. (1)). Zusätzlich ist aus der Abbildung ersichtlich, dass der Druckverlust linear mit der Länge unabhängig vom Volumenstrom zunimmt. Analog zur Rohrströmung vergrößert sich die Strecke, auf der Reibungskräfte wirken, und proportional dazu Δp. Es ist zu beachten, dass unabhängig von der Membranlänge für Δp die gemessenen Werte höher als die realen sind (um ca. 0,25 bar bei 14 m³/h, ermittelt durch Extrapolation auf l = 0 cm). Da die Druckmessung nicht direkt an der Membran lokalisiert ist, werden Strömungsverluste zwischen Druckmessstelle und Membran miterfasst. Des Weiteren treten Ein- und Ausströmeffekte auf. Beide Einflüsse sind unabhängig von der Modullänge und führen daher nur zu einer Verschiebung der Absolutwerte.

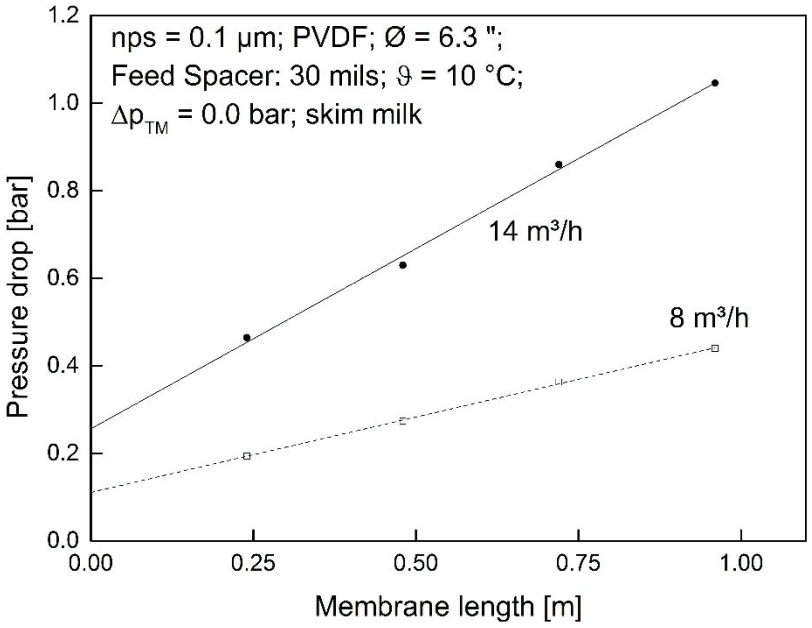


Abb. 2: Druckverlust als Funktion der Membranlänge bei variierenden Volumenströmen

Zusammenfassend ist das Verhalten von Δp in SWM vergleichbar mit dem in keramischen Membranen und Rohrströmungen. Gl. (1) kann in erster Näherung auf SWM übertragen werden, da gleiche physikalische Zusammenhänge bestehen. Aufgrund dieser Erkenntnis ist es möglich, eine Auslegung von Anlagen hinsichtlich Δp vorzunehmen. Es bleibt allerdings zu untersuchen, welche Auswirkungen der längenabhängige Druckverlust auf die Deckschichtbildung und die Filtrationsleistung hat und wie durch seine gezielte Steuerung die Fraktionierung optimiert werden kann.

Literatur:
Bottino, A.; Capanelli, G.; Grosso, A.; Monticelli, O.; Cavalleri, O.; Rolandi, R.; Soria, R. (1994): Surface characterization of ceramic membranes by atomic force microscopy. J. Mem. Sci. 95, 289-296.
Piry, A. (2011): Untersuchung zur Längenabhängigkeit der Filtrationsleistung bei der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration. TUM, Dissertation-München. 1. Aufl. München: Verlag Dr. Hut.

Dank:
Das IGF-Vorhaben 18553 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wird über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

In-situ Untersuchung der Deckschichtbildung bei der Dead –End Filtration von Magermilch mit keramischen Hohlfasermembranen mittels Magnetresonanztomographie

In-situ investigation of the deposit layer formation during skim milk dead-end filtration with ceramic hollow fiber membranes using magnetic resonance imaging

Hans-Jürgen Heidebrecht, KIT, Karlsruhe

Es ist bekannt, dass es bei der Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration durch die zurückgehaltenen Caseine zur Deckschichtbildung mit eigenständigem Retentionseffekt kommt, die sich zudem entlang einer Membran verändert. Dies führt zu einer Erhöhung der Rückhaltung der Molkenproteine und des Filtrationswiderstandes, einer Beeinflussung der Produktqualität, einer erhöhten Gefährdung durch mikrobiologische Infektionen sowie der Notwendigkeit einer regelmäßigen Reinigung der Anlagen mit entsprechenden Stillstandzeiten und dem verbundenen erhöhten Einsatz von Energie, Reinigungs- und Betriebsmitteln. Um dem entgegenzuwirken und damit eine höhere Wirtschaftlichkeit des Prozesses zu erzielen, soll in einem

kooperativen Projekt mit dem Institut für Mechanische Verfahrenstechnik und Mechanik in Karlsruhe (Prof. Nirschl, Felicitas Arndt) ein tieferes Verständnis der Deckschichtbildungsvorgänge generiert werden.

Dazu wird die Magnetresonanztomographie (engl.: Magnetic Resonance Imaging - MRI) als neuartige Methode zur Charakterisierung der Deckschichtentwicklung bei der Filtration von Milch eingesetzt, um erstmals bei diesem Prozess die zeitliche Entwicklung der Deckschichthöhe und –struktur in HF-Membranen *in-situ*, nichtinvasiv und zerstörungsfrei sowie ortsaufgelöst zu messen. Als weiterer Punkt soll im Rahmen dieses Projektes geprüft werden, ob der Einsatz polymerer und keramischer Hohlfasermembranen (HFM) in Hinblick auf Durchsatz und Trennleistung im Vergleich zu den keramischen Mehrkanalmembranen bei der Milchproteinfraktionierung von wirtschaftlichem Vorteil ist.

Basierend auf den Erfahrungen und dem experimentellen Aufbau bei der Alginatfiltration [1] wurden erste Versuche bei der Konzentrierung von Magermilch im Dead-End Betrieb durchgeführt. Abb. 1 zeigt die MRI-Bilder einer sauberen HFM (a) und nach unterschiedlichen Filtrationszeiten (b-e).

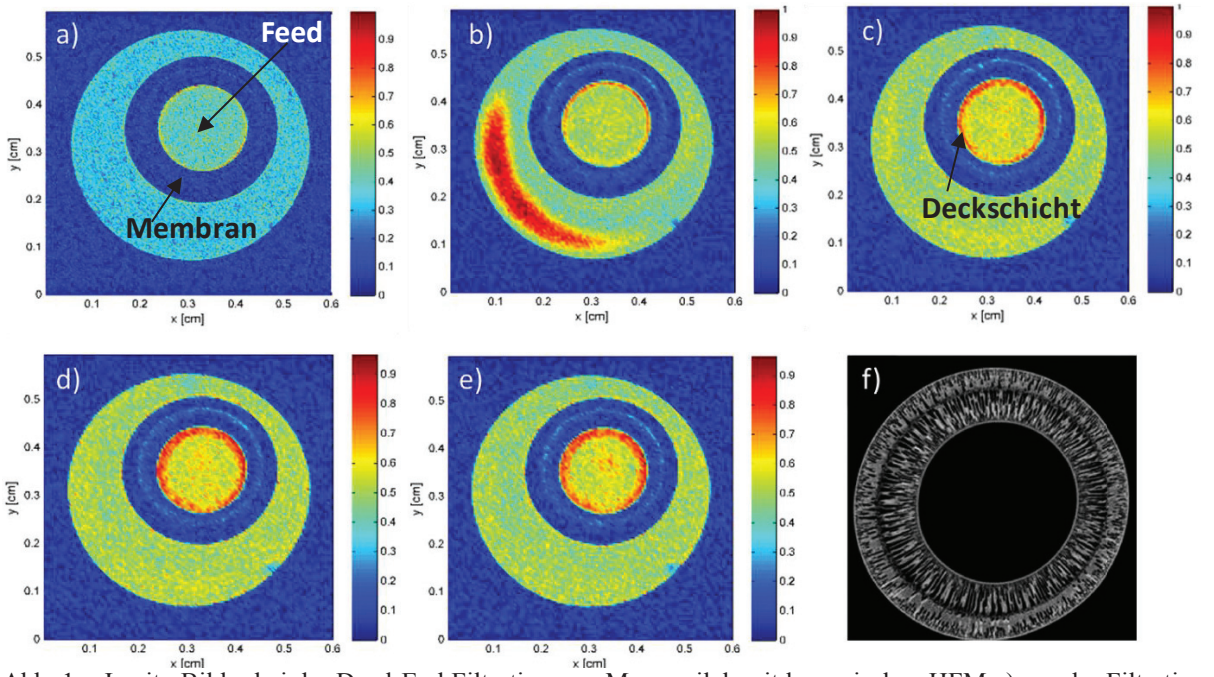


Abb. 1: In-situ Bilder bei der Dead-End Filtration von Magermilch mit keramischen HFM a) vor der Filtration, b) nach 7 min, c) nach 27 min, d) 39 min, e) 46 min, f) µCT Aufnahme der sauberen Membran [2]

Maßzahlen der Messung sind die T1- und T2-Relaxationszeiten. T1 wird als longitudinale bzw. Spin-Gitter Relaxationszeit bezeichnet und dadurch verursacht, dass die Kerne ihre Energie an die Umwelt abgeben und der Magnetisierungsvektor in das thermische Gleichgewicht zurückkehrt. T2 ist die transversale bzw. Spin-Spin Relaxationszeit und beschreibt den Magnetisierungszerfall, der u.a. durch die Wechselwirkungen von benachbarten Magnetfeldern der Kerne verursacht wird. In Vorversuchen zur Filtration von Magermilch wurde gezeigt, dass die Caseinkonzentration maßgeblich die T1- und T2-Relaxationszeiten bestimmt. Wasser besitzt typischerweise eine T1-Relaxationzeit von über 2 s, Caseinlösungen liegen im Bereich von 0,5 – 1 s. Bei Zunahme des Caseinanteils in einer Suspension sinkt ebenfalls die gemessene T2-Relaxationszeit, was bedeutet, dass zwischen unterschiedlichen Caseinkonzentrationen differenziert werden kann.

Da im Verlauf der Filtration die Caseinkonzentration in der Deckschicht gegenüber dem Feed signifikant steigt und sich somit das Relaxationsverhalten in diesem Bereich ändert, kann der Anstieg der in roten Farbtönen gezeigten Deckschicht im Feedkanal durch die erhöhte Caseinkonzentration begründet werden. Weiterhin ist ein Ring höherer Intensität innerhalb der dunkel erscheinenden Membran zu erkennen. Dieser Ring entsteht bei geringen Echozeiten durch das in den Poren der Stützschicht befindliche Fluid und lässt somit Rückschlüsse auf die Membranstruktur zu. Die Ungleichmäßigkeit der Deckschicht über den Umfang der Membran ist auf variable Eigenschaften der verwendeten Membran zurückzuführen (vgl. Abb.1 f), so dass im oberen Bereich der Membranwiderstand geringer ist und daher der konvektive Transport zur Membranoberfläche höher ist. Aus diesen Bildern kann im weiteren Verlauf die Höhe der Deckschicht berechnet und mit dem Flux korreliert werden, was in Abb. 2 dargestellt ist.

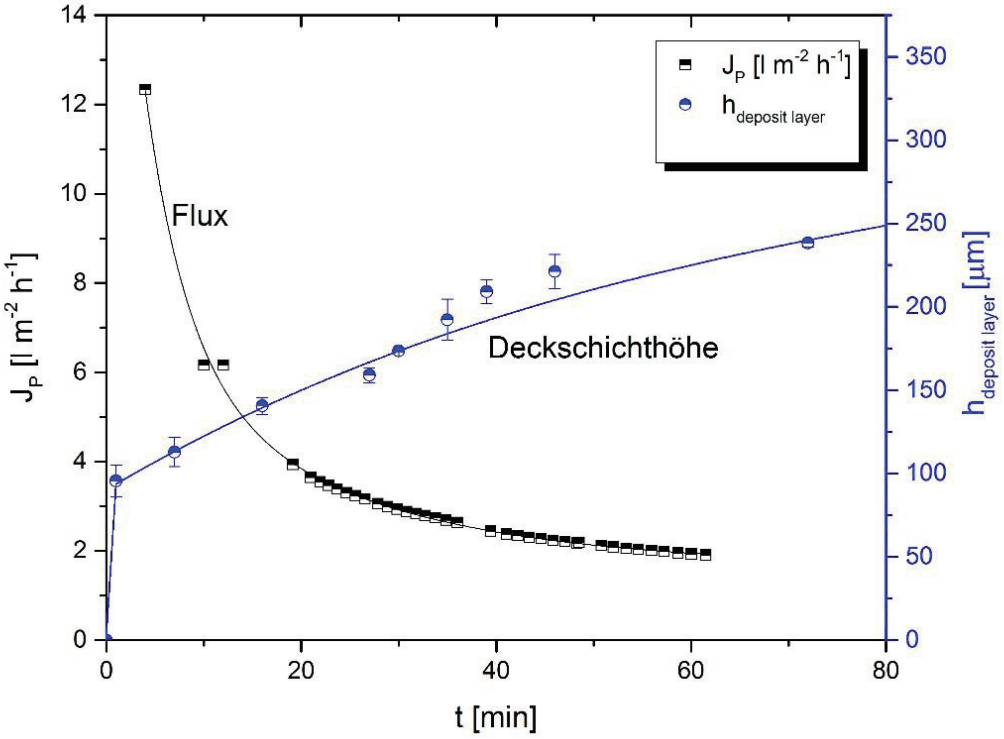


Abb. 2: Flux und Deckschichthöhe als Funktion von der Zeit [2]

Aus Abb. 2 ist ersichtlich, dass sich bereits direkt nach Filtrationsbeginn eine relative hohe Deckschicht ausgebildet hat, was auf den hohen initialen Flux und damit hohen konvektivem Transport von Caseinmicellen zurückzuführen ist. Im weiteren Verlauf steigt die Höhe weiter an, was zu einem höheren Deckschichtwiderstand und damit abfallendem Flux führt. Der Rückschluss aus diesen ersten Ergebnissen ist, dass es möglich ist, Bereiche mit hohen Caseinkonzentration (z.B. in der Deckschicht) von Bereichen mit geringeren Konzentrationen (Feed und Permeat) zu differenzieren und somit die Deckschichthöhe zu bestimmen. Im weiteren Verlauf des Projektes werden die Ergebnisse auf den Cross-Flow Betrieb übertragen. Das Projekt hat im April 2017 begonnen, so dass sich interessierte Unternehmen dem Projektausschuss dieses AiF-geförderten Vorhabens gerne noch anschließen können.

Literatur

[1] F. Arndt, U. Roth, H. Nirschl, S. Schütz, G. Guthausen, New insights into sodium alginate fouling of ceramic hollow fiber membranes by NMR imaging, AIChE J. 62 (7) (2016) 2459–2467.

[2] F. Arndt, H.-J. Heidebrecht, N. Schork, S. Schuhmann, U. Kulozik, S. Schütz, H. Nirschl, G. Guthausen, Deposit layer formation during skim milk dead-end filtration with ceramic hollow fiber membranes using magnetic resonance imaging, Magnetic Resonance in Food Science 2016 Proceedings (2016) 55–59

Dank:
Das IGF-Vorhaben 19254 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wird über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Beschreibung des Fließverhaltens frischer und rekonstituierter Milchproteinkonzentrate im Rahmen des Projekts ‚Freispülen von Spiralwickelmembranen'

Description of flow properties of fresh & reconstituted milk protein concentrates within the project 'Rinsing of spiral wound membranes'

Ingrun Kieferle, Katharina Hiller

Milchproteinkonzentrate treten in der industriellen Praxis häufig als Zwischenprodukt bei der Herstellung von Milchproteinpulvern auf. Durch das Konzentrieren in mehrstufigen Membrananlagen kann vor der Trocknung viel Wasser entfernt werden, woraus eine große Reduktion des Gesamtenergiebedarfs resultiert. Zur Aufrechterhaltung der Leistungsfähigkeit der Membrananlagen sowie der mikrobiologischen Stabilität der Konzentrate sind regelmäßige Reinigungszyklen notwendig. Vor jeder chemischen Reinigung wird das Konzentrat mit Hilfe von Wasser physikalisch aus den Membranen und Rohrleitungen verdrängt, wobei unweigerlich eine Mischphase aus Produkt und Spülfluid entsteht. Die Breite dieser Mischphase bestimmt den Umfang der Produkt- und Wasserverluste pro Reinigungszyklus. Gemäß den Gesetzen der Hydrodynamik stellt die Viskosität des auszuschiebenden Produktes neben der Viskosität und dem Volumenstrom des Spülfluids einen der Haupteinflussfaktoren dar. Da die entstehenden Verluste nicht zu unterschätzen sind und einen entsprechenden ökonomischen Gegenwert haben, werden diese Einflussfaktoren auf den Mischphasenverlauf im Rahmen des Projektes untersucht.

Da das Freispülen der Stufen einer industriellen Spiralwickelmembrananlage im Pilotmaßstab mit einer einzelnen Spiralwickelmembran imitiert werden soll, müssen Konzentrate zunehmender Trockenmasse ausgeschoben werden. Gerade für Konzentrate mit hohem Trockenmassegehalt nimmt die Konzentrierung selbst allerdings zu viel Zeit in Anspruch und ist zusätzlich wegen des hohen Ressourcenbedarfs logistisch sehr anspruchsvoll. Aus diesem Grund werden die für die Untersuchungen benötigten Milchproteinkonzentrate durch Redispergierung von Milchproteinpulver (MPC) in Magermilch hergestellt. Um die Freispülversuche im Hinblick auf ihre industrielle Relevanz auslegen zu können, ist der Vergleich der rheologischen Eigenschaften der frischen und rekonstituierten Konzentrate notwendig.

Wie auch die frischen, können die rekonstituierten Proteinkonzentrate als Dispersionen von Proteinen in einer salzhaltigen Serumphase betrachtet werden. Aufgrund der Konzentrierung mit Ultrafiltrationsmembranen (UF), welche für Proteine nicht passierbar sind, enthalten die Konzentrate alle Milchproteine in denselben Mengenverhältnissen wie Milch. Etwa 80 % dieser Proteine sind Caseine, welche in der Regel in micellarer Form vorliegen. Die Caseinmicellen bestehen aus durch Calciumphosphat stabilisierten Aggregaten der α_{S1}-, α_{S2}-, β- und κ-Caseine (Dalgleish und Corredig, 2012). Die Molkenproteine α-Laktalbumin, β-Lacto-globulin, bovines Serumalbumin sowie Lactoferrin werden als minore Milchproteine bezeichnet, da sie insgesamt nur 20 % des gesamten Milchproteingehalts ausmachen. Der Volumenanteil der Pro-

teine – insbesondere der Caseine – im Konzentrat bestimmt das Fließverhalten der Dispersionen. Zur Beschreibung der rheologischen Eigenschaften von Milchproteinkonzentraten können verschiedene mathematische Modelle wie die Cross-, Krieger-Dougherty-, Bingham-, Ostwald-de Waele- sowie die halbempirische Eiler-Gleichung erfolgreich angewendet werden (Dahbi et al., 2010; Bouchoux et al., 2009; Bienvenue et al., 2003; Carvalho, 1986; Snoeren et al., 1982). Die für den Vergleich des Fließverhaltens der untersuchten Stoffsysteme notwendige Regression der Messpunkte beruht aufgrund seiner guten Anwendbarkeit auf dem Ostwald-de Waele-Gesetz (Gleichung 1).

$$\eta = K_{OW}\,\dot{\gamma}^{n-1} \qquad \text{(Gleichung 1)}$$

Die scheinbare Viskosität η ist eine Funktion der Scherrate $\dot{\gamma}$ und kann mit Hilfe zweier stoffabhängiger Faktoren beschrieben werden: Der Ostwaldfaktor K_{OW} kann als Viskosität aufgefasst werden, während der Fluidindex n als Maß für die Abweichung vom Newton'schen Fließverhalten (n = 1) dient. Ist der Fluidindex größer als 1, liegt scherverdickendes (dilatantes) Verhalten vor. Besitzt n einen Wert zwischen 0 und 1, zeigt das Fluid scherverdünnende (strukturviskose) Fließeigenschaften.

Die Herstellung der frischen Magermilchkonzentrate für den Vergleich der Fließeigenschaften erfolgt im Labormaßstab durch Konzentrieren mit Hilfe von UF-Membranen (Größenausschlussgrenze: 10 kDa). Die rekonstituierten Konzentrate werden durch Redispergierung von MPC85 in Magermilch hergestellt. Durch die Rekonstitution der Konzentrate mit MPC85 kann der Proteingehalt variiert werden, ohne die Salzzusammensetzung und die Viskosität der Serumphase maßgeblich zu verändern. Dies ist damit zu begründen, dass Salze und Laktose im Pulver unterproportional enthalten sind, da sie bei der Herstellung im UF-Diafiltra-tionsbetrieb ausgewaschen wurden.

Ergebnisse der rheologischen Untersuchung der frischen und redispergierten Milchproteinkonzentrate sind in Abb. 2 dargestellt. Unter Zuhilfenahme der oben genannten Definition des Fluidindexes n wird das Fließverhalten beider Konzentrattypen als scherverdünnend charakterisiert. Aufgrund der Scherung kommt es zu einem reversiblen Strukturabbau, der sich auch bei der UF in der Abnahme des Durchmessers der Caseinmicellen widerspiegelt (Srilaorkul et al., 1989).

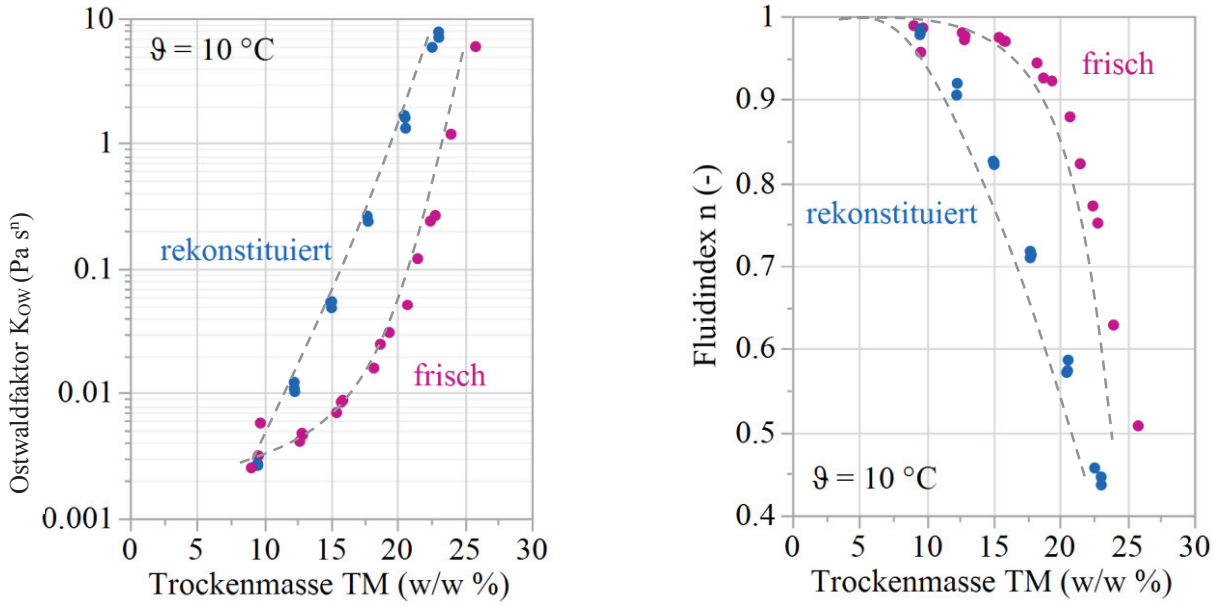


Abb. 2: Abhängigkeit des Ostwaldfaktors K_{OW} (links) und des Fluidindexes n (rechts) von der Trockenmasse der frischen und rekonstituierten Milchproteinkonzentrate

Die generelle Zunahme der Viskosität mit steigendem Konzentrierungsgrad ist dadurch zu begründen, dass sich die Proteine gezwungenermaßen annähern und beginnen, miteinander zu interagieren. Der Vergleich der zur Charakterisierung des Fließverhaltens verwendeten Faktoren zeigt, dass die rekonstituierten Konzentrate bei derselben Trockenmasse sowohl eine höhere Viskosität (vgl. Ostwaldfaktor), als auch ein deutlicher ausgeprägtes scherverdünnendes Fließverhalten (vgl. Fluidindex) aufweisen als frische Konzentrate. Diese Unterschiede werden unter anderem auf den Herstellungsprozess des MPC85 zurückgeführt. Bei der Sprühtrocknung werden die Proteine mitunter sehr hohen Temperaturen ausgesetzt. Dabei kommt es zur thermischen Denaturierung und Aggregation von Molkenproteinen, welche infolge dieser Reaktionen Komplexe mit den Caseinmicellen bilden (Corredig und Dalgleish, 1999). Die Größe der Caseinmicellen bzw. der Casein-Molkenprotein-Komplexe nimmt also zu (Anema und Li, 2003) und führt zu der vergleichsweise hohen Viskosität. Auch die Verringerung des Salzgehaltes im Konzentrat während der Diafiltration (Sikand et al., 2013) sowie die bei der Pulverlagerung auftretenden Aggregationsreaktionen (Gazi und Huppertz, 2015) beeinflussen den Zustand der Caseinmicellen und damit die Viskosität der rekonstituierten Konzentrate.

Soll mit Hilfe der rekonstituierten Milchproteinkonzentrate das Freispülen mehrstufiger Spiralwickelmembrananlagen imitiert werden, ist es erforderlich, dass die verwendeten rekonstituierten Konzentrate in etwa die gleiche Viskosität aufweisen wie die frischen Konzentrate. Auf Grundlage der Ergebnisse müssen folglich Anpassungen des Trockenmassegehaltes gemacht werden, um dieselbe Viskosität zu erhalten. Wird beispielsweise das Ausschieben eines frischen Konzentrates aus der letzten Konzentrierungsstufe (TM = 22,5 %) nachgestellt, muss die Trockenmasse des rekonstituierten Konzentrates auf ca. 17,5 % reduziert werden.

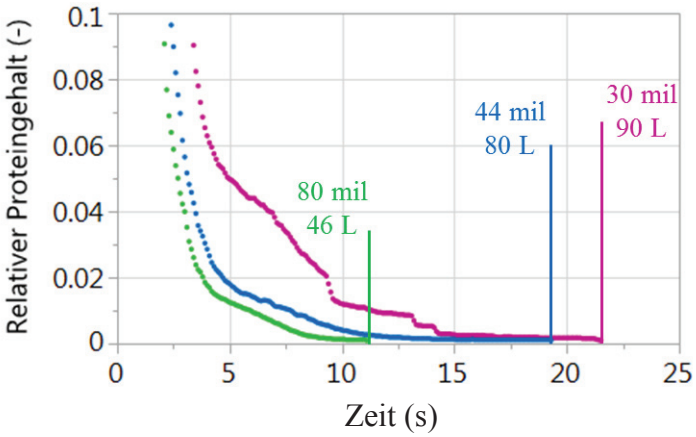


Abb. 3: Exemplarische Freispülverläufe zur Verdeutlichung des Einflusses der Spacerdicke (80, 44, 30 mil) auf den Wasserverbrauch

Werden solche Konzentrate aus Spiralwickelmembranen mit unterschiedlichen Spacern (≈ 2.0, 1.1, 0.8 mm) ausgeschoben, ergeben sich die in Abb. 3 dargestellten Freispülverläufe. Erstaunlich ist, dass für das Freispülen eines SWM-Moduls mit einem 30 mil-Spacer beinahe doppelt so viel Wasser benötigt wird wie für das Freispülen eines 80 mil-Moduls. Durch die Wahl der Membran mit dickerem Spacer scheinen sowohl die Produkt-, als auch Wasserverluste reduziert werden zu können.

Literatur:
Anema, S. G.; Li, Y. (2003). In: *Journal of Dairy Research* 70 (1), S. 73–83.
Bienvenue, A.; Jiménez-Flores, R.; Singh, H. (2003). In: *Journal of Dairy Science* 86 (12), S. 3813–3821.
Bouchoux, A.; Debbou, B.; Gesan-Guiziou, G.; Famelart, M.-H.; Doublier, J.-L.; Cabane, B. (2009). In: *The Journal of Chemical Physics* 131 (16), S. 165106.
Carvalho, Junior I. C. de (1986). Dissertation. Technische Universität München.
Corredig, Milena; Dalgleish, Douglas G. (1999). In: *International Dairy Journal* 9 (3–6), S. 233–236.
Dahbi, L.; Alexander, M.; Trappe, V.; Dhont, J. K. G.; Schurtenberger, P. (2010). In: *Journal of Colloid and Interface Science* 342 (2), S. 564–570.
Dalgleish, D. G.; Corredig, M. (2012). In: *The Annual Review of Food Science and Technology* (3), S. 449–467.
Gazi, I.; Huppertz, T. (2015). In: *IDF Symposia on Microstructure of Dairy Products and Science and Technology of Fermented Milk, Melbourne, 2014* 46, S. 22–30.
Sikand, V.; Tong, P. S.; Walker, J. (2013). In: *Dairy Sci. & Technol.* 93 (4-5), S. 401–413.
Snoeren, T. H. M.; Damman, A. J.; Klok, H. J. (1982). In: *Netherlands Milk & Dairy Journal* (36), S. 305–316.
Srilaorkul, S.; Ozimek, L.; Wolfe, F.; Dziuba, J. (1989). In: *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal* 22 (1), S. 56–62.

Dank:
Das IGF-Vorhaben (18770 N) der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Demineralisierung von Molkenkonzentraten mittels Nanofiltration und deren Auswirkungen auf die thermische Molkenproteinstabilität

Demineralization of whey concentrates by means of Nanofiltration and its impact on thermal whey protein stability

Melanie Marx

Aufgrund der vielfältigen techno-funktionellen Eigenschaften sowie der hohen biologischen Wertigkeit der Molkenproteine sind Molkenprodukte wie Molkenpulver oder flüssiges Molkenkonzentrat häufig eingesetzte Lebensmittelinhaltsstoffe. Allerdings weist Molke einen hohen Mineralstoffgehalt von 0,5-0,7% auf, der eine Demineralisierung für den Einsatz von Molke in bestimmten Produkten, wie Säuglingsnahrung oder Süßwaren, notwendig macht.

Typische Demineralisierungsgrade liegen für eine Anwendung in Süßwaren bei 50-70% (Gernigon et al, 2011). Grundsätzlich kann eine Demineralisierung mittels Ionenaustauscher, Elektrodialyse oder Nanofiltration (NF) erfolgen. Sowohl Ionenaustauscher als auch Elektrodialyse sind geeignet, um hohe Demineralisierungsgrade zu erreichen. Jedoch weisen beide Verfahren hohe Betriebskosten auf, die u.a. durch intensiven Chemikalienverbrauch und teure Abwasserbehandlungen bedingt sind. Die NF stellt eine energetisch günstige Alternative zu Ionenaustauscher und Elektrodialyse dar, die sich für die Herstellung von haltbaren, flüssigen Molkenkonzentraten besonders gut eignet, da unter Einsatz der NF bereits während der Konzentrierung eine Demineralisierung stattfindet. Wenn der gewünschte Konzentrierungsgrad erreicht ist, kann das Produkt mittels Diafiltration weiter entsalzt werden. Flüssige Molkenkonzentrate stellen eine energieeffiziente Alternative zu den sehr energieaufwändig produzierten Molkenpulvern dar.

Um mikrobiologisch stabile Produkte zu erhalten, ist im Anschluss an den Konzentrierungs- und Demineralisierungsschritt eine thermische Behandlung der Konzentrate notwendig, die gleichzeitig einen möglichst weitgehenden Erhalt der Molkenproteinnativität gewährleisten soll. Da nach O'Kennedy & Monsey (2009) unter Anwesenheit von NaCl der aggregationsfördernde Effekt von Calcium in simuliertem Milch-Ultrafiltrat gehemmt wird, könnte die Demineralisierung eine reduzierte thermische Stabilität von β-Lg in konzentrierter Molke zur Folge haben. Bisher ist jedoch nicht bekannt, wie sich eine Demineralisierung auf die thermische Stabilität der Molkenproteine im komplexen System Molkenkonzentrat auswirkt.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, die Demineralisierung von Molke mittels NF sowie den Einfluss des Demineralisierungsgrades auf die thermische Molkenproteindenaturierung in NF-Molkenkonzentraten zu untersuchen.

Hierfür wurden mittels NF Molkenkonzentrate mit definierten Trockenmassen (TM) (12, 18, 24%) hergestellt. Die Veränderung der Konzentration an Gelöststoffen im NF-Retentat sowie im NF-Permeat während Konzentrierung und Diafiltration wurde flammenphotometrisch ermittelt. Nach der Konzentrierung wurde die NF im Diafiltrationsmodus mit vollentsalztem Wasser betrieben. Im Anschluss wurden die Molkenkonzentrate verschiedener Demineralisierungsgrade bei 80°C für 30 s pasteurisiert. Die Erhitzung der Konzentrate wurde sowohl bei nativem pH-Wert als auch bei pH 3,5 durchgeführt. Der Gehalt an nativen Molkenproteinen vor und nach der Pasteurisation wurde mittels RP-HPLC bestimmt.

Die Permeation der Gelöststoffe während der NF wurde mit Hilfe von Gleichung 1 berechnet,

$$P = \frac{C_{Per}}{C_{Ret}} * 100\% \qquad \text{Gleichung 1}$$

wobei C_{Per} die Konzentration des Gelöststoffes im Permeat und C_{Ret} die Konzentration des Gelöststoffes im Retentat darstellt. Abb. 1 zeigt die Permeation von Salzen und Laktose bei der Konzentrierung von Molke mittels NF in Abhängigkeit von der TM. Die Permeation der einwertigen Kationen Natrium und Kalium liegt für TM zwischen 6 und 18% bei etwa 40-45% und steigt mit zunehmender TM noch weiter an. Im Gegensatz dazu werden Laktose und Calcium aufgrund ihrer Molekülgröße nahezu vollständig von der NF-Membran zurückgehalten. Im Anschluss an die reine Konzentrierung wurde das Molkenkonzentrat zusätzlich mit vollentsalztem Wasser diafiltriert. Dadurch wurde der Demineralisierungsgrad noch weiter erhöht.

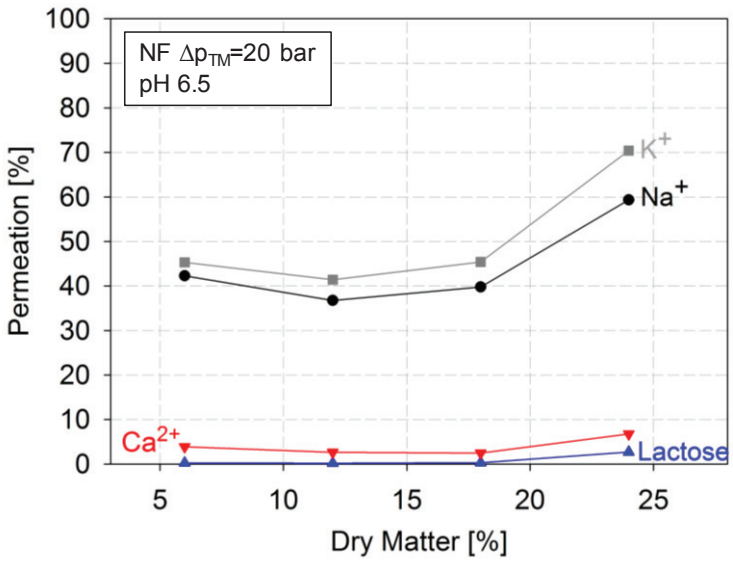


Abb. 1: Permeation von Salzen und Laktose während der Konzentrierung von Molke mittels NF in Abhängigkeit von der TM

In Abb. 2 ist der Demineralisierungsgrad von NF-Molkenkonzentrat mit 18% TM in Abhängigkeit von der Anzahl der Diafiltrationsschritte dargestellt. Mittels der NF wird eine Abreicherung einwertiger Ionen in der Molke erreicht, die ohne anschließende Diafiltration (≙ 0 Diafiltrationsschritte) abhängig vom Konzentrierungsgrad bereits bei 35-45% liegt.

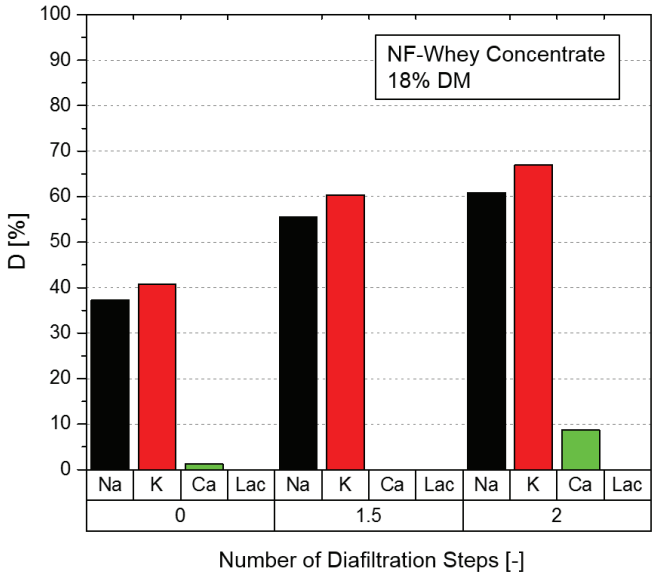


Abb. 2: Demineralisierungsgrad (D) von Salzen und Laktose in Molkenkonzentrat mit 18% TM in Abhängigkeit von der Anzahl der Diafiltrationsschritte

Mit zunehmender Anzahl an Diafiltrationsschritten steigt der Demineralisierungsgrad der untersuchten einwertigen Kationen linear an und liegt bei zwei Diafiltrationsschritten für Kalium bei 67% und für Natrium bei 61%. Kalium wird stets in etwas größerem Umfang abgereichert als Natrium, was durch die etwas höheren Permeationswerte von Kalium (Abb. 1) verursacht wird. Calcium zeigt nach zwei Diafiltrationsschritten lediglich einen Demineralisierungsgrad von 9%. Laktose dagegen verbleibt, wie gewünscht, auch nach der Diafiltration vollständig im Molkenkonzentrat.

Im Anschluss an die NF bzw. die Diafiltration erfolgte die Pasteurisierung der Molkenkonzentrate. Der Denaturierungsgrad (DD) von α-La und β-Lg wurde mit Hilfe von Gleichung 2 berechnet,

$$DD = \left(1 - \frac{c_t}{c_0}\right) * 100\% \qquad \text{Gleichung 2}$$

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

In Abb. 3 ist die Denaturierung von β-Lg in unterschiedlich stark konzentrierter Molke nach der Pasteurisierung (80°C / 30s) bei pH 3,5 und nativem pH-Wert dargestellt. Eine Absenkung des pH-Wertes auf 3,5 führt unabhängig von der TM zu einer Senkung des Denaturierungsgrads von β-Lg. Dies gilt sowohl für die diafiltrierten als auch für die nicht diafiltrierten Konzentrate. Verursacht wird diese Erhöhung der thermischen Stabilität durch die geringere Reaktivität der freien Thiolgruppe von β-Lg bei pH-Werten unterhalb seines isoelektrischen Punktes (pH 5,2). Auch ist eine Abnahme des Denaturierungsgrades mit zunehmender Konzentrierung der Molke feststellbar.

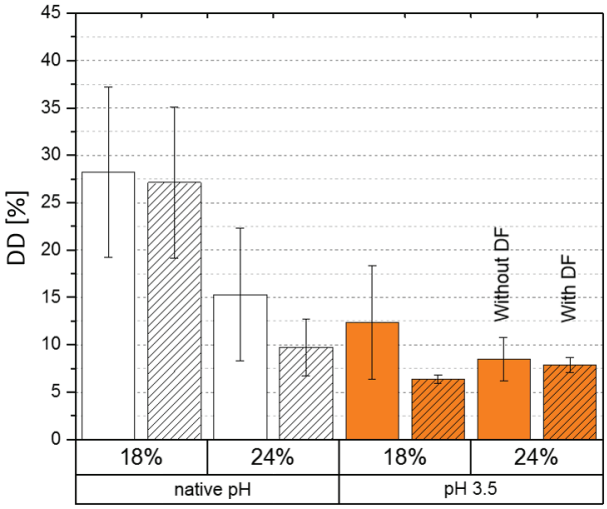


Abb. 3: Molkenproteindenaturierung in NF-Molkenkonzentrat mit 18 und 24% TM nach zwei Diafiltrationsschritten (schraffiert) sowie ohne Diafiltration

Dieser Trend ist bei nativem pH-Wert besonders stark ausgeprägt. Vermutlich wird dies durch die Schutzwirkung der Laktose verursacht, deren Konzentration linear mit dem Konzentrierungsgrad der Molke ansteigt. Nach Haque et al. (2015) kann Laktose in ausreichender Konzentration eine vollständige Auffaltung sowie die Exposition hydrophober Molekülbereiche verhindern. Der durch die Diafiltration deutlich erhöhte Demineralisierungsgrad führt zu keinen signifikanten Unterschieden im Denaturierungsgrad von β-Lg.

Demnach spielt der Demineralisierungsgrad und damit der Entzug stabilisierender einwertiger Kationen im untersuchten Bereich neben den Parametern Trockenmasse und pH-Wert eine deutlich untergeordnete Rolle. Die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen, dass mit Hilfe der Nanofiltration in Kombination mit einer Diafiltration hohe Demineralisierungsgrade erzielt werden können, die für den Einsatz in Süßwaren ausreichend sind.

Weiterhin wurde festgestellt, dass die thermische Stabilität von β-Lg nicht durch den gesteigerten Demineralisierungsgrad nach der Diafiltration beeinflusst wird. Besonders im Bereich höherer TM oder niedriger pH-Werte ist eine Pasteurisierung sehr gut für die Herstellung von demineralisierten Molkenkonzentraten mit hoher Proteinnativität und -funktionalität geeignet.

Literatur:
Haque, A. M.; Chen, J.; Aldred, P.; Adhikari, B. (2015): Drying and denaturation characteristics of whey protein isolate in the presence of Lactose and trehalose. Food Chemistry 177, 8-16.
Kessler, H.G. (1996): Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik – Molkereitechnologie. Verlag A. Kessler, München.
Gernigon, G.; Schuck, P.; Jeantet, R.; Burling, H. (2011): Whey processing | Demineralization. In: Fuquay, J. W., (Hrsg.). Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition): 738-743. San Diego: Academic Press
O'Kennedy, B.T.; Mounsey, J.S. (2009): The dominating effect of ionic strength on the heat-induced denaturation and aggregation of β-Lactoglobulin in simulated milk ultrafiltrate. International Dairy Journal. 19 (3): 123-128.

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

Einfluss unterschiedlicher Diafiltrationsmedien auf die Effizienz der Mikrofiltration zur Fraktionierung von Casein und Molkenproteinen

Influence of different diafiltration media on the efficiency of the microfiltration for the fractionation of casein and whey proteins

Michael Reitmaier, Hans-Jürgen Heidebrecht

Da sich die einzelnen Milchproteinfraktionen bzgl. technofunktioneller und ernährungsphysiologischer Eigenschaften stark voneinander unterscheiden, besteht ein großes Interesse daran, mizellares Casein und Molkenproteine getrennt voneinander zu gewinnen. Die Kombination von Mikrofiltration (MF) und Ultrafiltration (UF) wird verwendet, um diese Fraktionierung im industriellen Maßstab zu erzielen. Aufgrund der unterschiedlichen Molekülgrößen der Proteinfraktionen verbleiben Caseinmizellen (50-180 nm) hierbei im MF-Retentat, während Molkenproteine (1-5 nm) durch die MF-Membran permeieren und im UF-Retentat konzentriert werden können. Um eine Trennung der beiden Fraktionen mit höchstmöglicher Reinheit zu erzielen, wird ein mehrstufiger Auswaschprozess (Diafiltration, DF) benötigt. Dies bedeutet, dass das Fluid, welches durch die MF-Membran permeiert, von einem Medium ersetzt werden muss, das die abzutrennenden Molkenproteine nicht enthält (DF-Medium). Der einmalige Austausch des Gesamtvolumens an MF-Retentat gegen das DF-Medium stellt dabei einen DF-Schritt dar. Hierbei kommt häufig Frischwasser mit allgemeinen regionalen Unterschieden in der Ionenzusammensetzung und Härtegraden zum Einsatz. In Hinblick auf Kosteneinsparung und Nachhaltigkeit besteht ein großes Interesse daran, Frischwasser zu ersetzen und geschlossene Stoffströme („zero discharge processes") durch Verwendung anderer Molkereiprozessströme als DF-Medium zu erhalten. Um den Einfluss potentieller DF-Medien auf den Trennprozess zu untersuchen, wurden erste Filtrationsversuche mit vollentsalztem Wasser, UF-Permeat und Freisinger Leitungswasser (18° dH) als DF-Medium durchgeführt. Diese Medien wurden ausgewählt, da vollentsalztes Wasser der Zusammensetzung von Umkehrosmosepermeat nahekommt und UF-Permeat das natürliche Milchmilieu wiederspiegelt. Leitungswasser wurde als Referenz mituntersucht.

Abb. 1 zeigt den im MF-Retentat verbliebenen Anteil an Molkenproteinen (BSA, Lactoferrin, α-La, IgG β-Lg A und B) als Funktion der Zeit bei Verwendung der unterschiedlichen Medien. Die Messpunkte stellen dabei die Zeitpunkte dar, an welchen im Filtrationsverlauf jeweils ein DF-Schritt abgeschlossen wurde. Es ist ersichtlich, dass die notwendige Zeit für das Erreichen eines DF-Schritts bzw. eine vergleichbare Molkenproteinabreicherung bei den unterschiedlichen Medien deutlich voneinander abweicht.

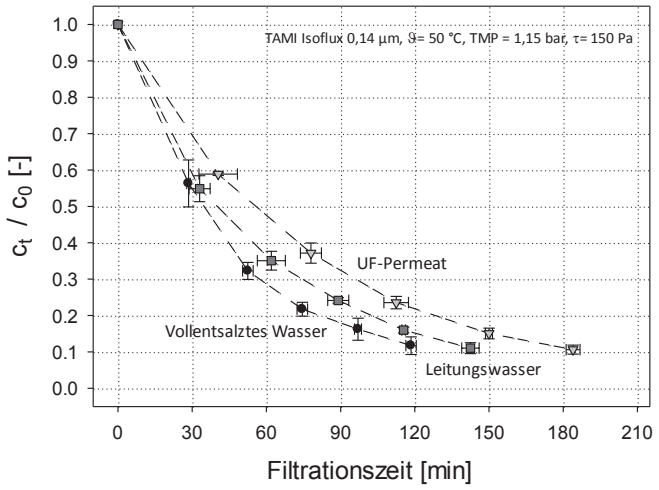


Abb. 1: Relativer Restgehalt an Molkenproteinen im Retentat über den Filtrationsverlauf für unterschiedliche DF-Medien

Gegenüber der DF mit Leitungswasser zeigt eine DF mit UF-Permeat ab DF-Schritt 1 eine verlängerte erforderliche Prozesszeit. Bei DF mit vollentsalztem Wasser konnte im Gegensatz dazu für jeden DF-Schritt eine verkürzte Filtrationszeit erzielt werden. Die resultierende Prozesszeit für die über fünf DF-Schritte erreichte Abreicherung auf etwa 11 % des Ausgangsgehaltes ist bei UF-Permeat gegenüber Leitungswasser um 29 % erhöht, bei Verwendung von vollenthärtetem Wasser um 17 % reduziert.

Der primäre Grund für die unterschiedlich schnelle Abreicherung ist der unterschiedliche Fluxverlauf bei Verwendung der verschiedenen Medien (Abb.2).

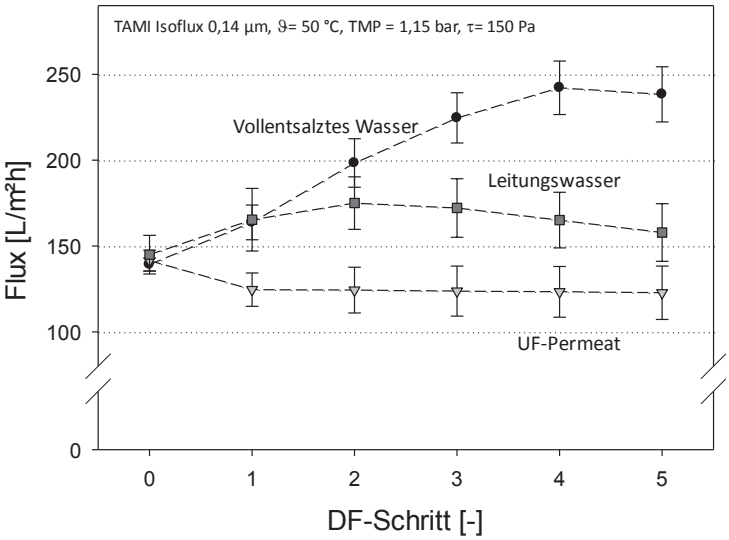


Abb. 2: Flux als Funktion des DF-Schrittes für unterschiedliche DF-Medien

Aus Abb. 2 ist ersichtlich, dass bei Verwendung von UFP als DF-Medium zunächst zu einem Fluxabfall von ca. 12 % kommt, was auf initiale Ausbildung einer Deckschicht in den ersten Minuten der Filtration zurückzuführen ist. Danach stabilisiert sich der Flux auf einem konstanten Level. Im Gegensatz dazu steigt der Flux bei der Verwendung von Leitungswasser und vollentsalztem Wasser bis DF-Schritt 2 bzw. 4 an und fällt anschließend wieder leicht ab. Ein Grund für den Fluxanstieg ist die sinkende Permeatviskosität durch das Auswaschen der Lacoste, die für beide Medien ab DF-Schritt 2 ein zu reinem Wasser vergleichbaren Wert von etwa 0,56 mPas annimmt. Allerdings erklärt dies nicht die Unterschiede zwischen Leitungswasser und vollenthärtetem Wasser. Der Unterschied im Fluxanstieg zwischen VE-Wasser und LW ist somit auf unterschiedliche Deckschichtwiderstände zurückzuführen. Der Grund dafür ist, dass es während der Filtration, bedingt durch die Medienzusammensetzungen, zu unterschiedlichen Veränderungen des pH-Wertes und des Ionenmilieus im Retentat kommt. Die Mechanismen hinter der deutlich unterschiedlichen Deckschichtausbildung sollen im weiteren Verlauf des Projektes aufgeklärt werden.

Als weiteres Merkmal für die Reinheit der Proteinfraktionen wurde die Caseinpermeation mittels RP-HPLC nach Dumpler et al. (2016) untersucht. Zu Beginn der Filtration wurde unabhängig vom Medium eine geringfüge Permeation an Casein (<1 %) festgestellt, welche in den nachfolgenden DF-Schritten nicht mehr nachweisbar war. Der Rückschluss aus den bisherigen Untersuchungen ist, dass bei Verwendung von VE-Wasser als DF-Medium die Prozesszeit im Vergleich zu UF-P bzw. Frischwasser bei vergleichbarem Abreicherungsgrad an Molkenprotein deutlich verkürzt werden kann. Die praktische Umsetzung besteht darin, dass Prozessnebenströme mit minimalen Ionengehalten wie Umkehrosmosepermeate oder Brüdenkondensate mit vergleichbaren Ergebnissen als DF-Medium eingesetzt werden können. Inwieweit unterschiedliche Härtegrade des LW sowie eine weitere Abreicherung an Molkenproteinen Unterschiede im Endprodukt hervorrufen, ist Gegenstand laufender Untersuchungen. Ferner stehen die Aufklärung des Einflusses einer Vorkonzentrierung, der Verwendung weiterer Prozessnebenströme sowie Anwendung einer Filtrationstemperatur von 10 °C auf die Prozesseffizienz sowie die Reinheit und Funktionalität der erzeugten Fraktionen im Fokus kommender Versuchsreihen.

Literatur:
Dumpler J, Wohlschläger H, Kulozik U (2016) Dissociation and coagulation of caseins and whey proteins in concentrated skim milk heated by direct steam injection. *Dairy Science & Technology* doi:10.1007/s13594-016-0304-3.

Dank:
Das Forschungsvorhaben AiF 18818 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. Das Projektkonzept wurde auf dem World Congress of Food Science and Technology, Dublin 2016, mit dem Nachhaltigkeitspreis ausgezeichnet.

Vermeidung von Fouling in der Crossflow-Filtration durch oszillierende Strömung

Fouling mitigation in crossflow filtration by oscillating tangential flow

Maria Weinberger

Membranbasierte Prozesse sind eine wichtige Grundoperation in der Aufbereitung von Suspensionen aus der Chemie-, Lebensmittel- und pharmazeutischen Industrie. Ein wesentlicher Nachteil membranbasierter Prozesse ist der Aufbau von Deckschichten auf der Filtermembran, die dort als Sekundärmembran wirken und dadurch die Trennspezifität beeinflussen und den Permeatflux stark reduzieren. Obwohl dieses Problem in der Crossflow-Filtration durch Überströmung des Filters verringert wird, ist das Fouling von Membranen noch nicht zufriedenstellend beherrscht.

Eine alternative Verfahrensweise mit verbessertem Deckschichtabtrag, die sich als Zellrückhaltesystem in der Perfusionskultur von Säugerzellen in der pharmazeutischen Industrie etabliert hat, ist die alternierende Tangentialflussfiltration (ATF). Dabei wird der Retentatstrom durch eine Diaphragmapumpe am Ende des Filtermoduls zyklisch alternierend in beide Richtungen durch die installierten Hohlfasermodule gepumpt (Abb. 1, links). Trotz der breiten Akzeptanz des ATF bei Herstellern von Biopharmazeutika und in der Zellkulturforschung, sind die Technik aus verfahrenstechnischer Sicht und die deckschichtabtragenden Mechanismen noch nicht ausreichend verstanden. Daher sollen an einer Modellsuspension aus *S.cerevisiae* der Einfluss verschiedener Prozessparameter auf den Deckschichtabtrag systematisch untersucht werden. Für die Bereitstellung der Mittel zur Beschaffung der Anlage danken wir der Studienfakultät Brau- und Lebensmitteltechnologie.

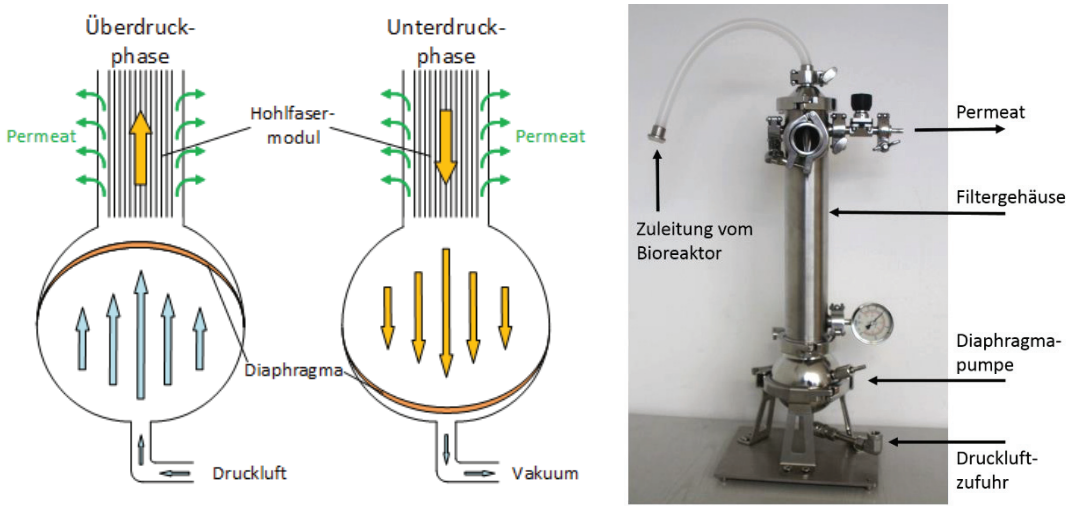


Abb. 1: Schematische Darstellung der Über- und Unterdruckphase (links), ATF4-Modul zur Zellretention in Perfusionsprozessen (rechts)

Nachdem sich der Einsatz oszillierender Tangentialströmung im Zellkulturbereich in Ansätzen bewährt zu haben scheint, soll diese Technik auf weitere Anwendungsbereiche wie beispielsweise die Zellernte, Milchproteinfraktionierung und Proteinkonzentrierung übertragen werden. Dazu wird zunächst eine Testanlage aufgebaut, an der verschiedene Strömungsmodi, nämlich pulsierende und alternierende Strömung unterschiedlicher Frequenz und Amplitude sowie stetige Tangentialströmung, realisierbar sind. Durch Messung von Flux und Permeation von Gelöststoffen soll das Ausmaß des Membranfouling für unterschiedliche Prozessparameter beurteilt werden. Es wird erwartet, dass durch die Oszillation der Querströmung ein verbesserter Deckschichtabtrag bei insgesamt geringeren Strömungsgeschwindigkeiten erreicht werden kann. Auf Grundlage der erhobenen Daten sollen Empfehlungen für die Wahl alternativer Verfahrensweisen in der Crossflow-Filtration zur Erhöhung der Prozesseffizienz in Form eines höheren Permeatflusses und definierten Permeationsprofils erarbeitet werden.

Das Forschungsvorhaben wurde im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) beim Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) beantragt. An dem Vorhaben interessierte Unternehmen können nähere Auskunft über den Lehrstuhl erhalten.

Forschungsgebiet Analytik
Workgroup Analytics

Kontinuierliche zentrifugale Separation von aggregiertem α-Lactalbumin

Continuous centrifugal separation of aggregated α-lactalbumin

Nicole Haller

Molke beinhaltet die beiden Proteine β-Lactoglobulin (β-Lg, ca. 70%) und α-Lactalbumin (α-La, ca. 20%) sowie eine Vielzahl minorer Komponenten (ca. 10%). β-Lg zeichnet sich durch seine hervorragenden techno-funktionellen Eigenschaften aus [1], wohingegen die Kombination von α-La und der restlichen, minoren Proteine ein idealer Rohstoff zur Produktion von humanmilch-angenäherter Säuglingsnahrung darstellt [2]. Eine Trennung dieser beiden Proteinfraktionen würde eine gezielte Nutzung erlauben, was gleichbedeutend mit einer enormen Wertsteigerung wäre.

Im Rahmen dieses Projektes soll nun ein Verfahren etabliert werden, welches eine effiziente und kontinuierliche Trennung der beiden Proteine realisiert. Die sogenannte selektive thermische Aggregation ist ein Verfahren, mit dem gezielt ein Größenunterschied zwischen den beiden Proteinkomponenten induziert werden kann. Sie basiert auf dem Prinzip, gezielt eine Proteinkomponente durch geeignete Millieubedingungen zu schwächen und anschließend durch eine Erhitzung eine Aggregation hervorzurufen. Für die Versuche wurde eine 15%ige Proteinlösung aus Molkenproteinkonzentrat hergestellt. Durch eine Erniedrigung des pH-Wertes auf 3,4 mit Hilfe eines Zitronensäure-Zitrat-Puffersystems wird das vom α-La gebundene Calciumion freigesetzt, wodurch das Protein an Hitzestabilität verliert. Unter Hitzeeinwirkung (55°C, 120 min) resultiert dies in der Bildung von Aggregaten (d = 20 µm), welche über hydrophobe Wechselwirkungen stabilisiert werden. Das Protein β-Lg verbleibt hingegen bei diesen Bedingungen in seiner nativen Form. Der dadurch erzeugte Größenunterschied erlaubt nun eine mechanische Trennung der beiden Komponenten. In einem früheren Projekt konnte so mittels Mikrofiltration im Diafiltrationsmodus eine Separationseffizienz von über 97% erreicht werden [3]. Allerdings weist dieses Trennverfahren bei der praktischen Anwendung gravierende Nachteile auf. Eine hohe Viskosität der Aggregatsuspension bedingt eine schlechte Permeation, was lange Prozesszeiten und einen hohen Verbrauch an Diafiltrationsmedium mit sich bringt. Ebenso ist eine häufige Reinigung der Membran unerlässlich, wodurch der Prozess im Großmaßstab zusätzlich kosten- und zeitintensiv wird. Als eine Alternative zur Filtration, sollte in diesem Projekt die Eignung einer kontinuierlich arbeitenden Zentrifuge überprüft werden.

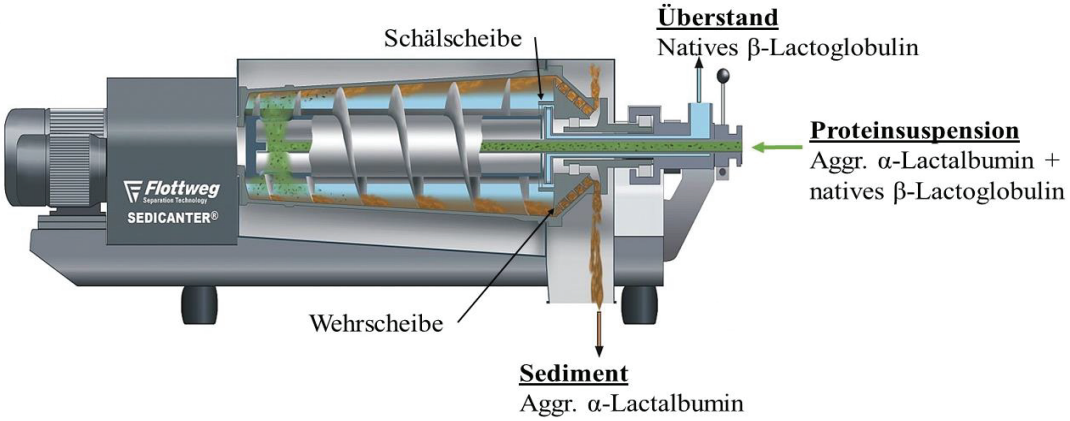


Abb. 1: Schematische Darstellung der Abtrennung des α-La-reichen Sedimentes mittels Sedicanter® (modifiziert, nach Flottweg SE)

Hierfür konnte die Firma Flottweg für eine Zusammenarbeit gewonnen werden. Der Sedicanter® (siehe Abb. 1) ist eine spezielle Bauform des Dekanters, der insbesondere für weiche und fließfähige Sedimente aus Suspensionen mit hoher Trockenmasse geeignet ist. Der doppelkonische Aufbau der Trommel garantiert eine maximale Länge der Trennzone, damit selbst kleinste Partikel eine ausreichende Sedimentationszeit zur Verfügung haben. Die Förderschnecke rotiert mit einer geringen Differenzdrehzahl zur Trommel und fördert dadurch den sedimentierten Feststoff zum tiefsten Punkt der Vollmanteltrommel. Hier wird das Sediment mit Hilfe hydrostatischen Druckes unter einer Wehrscheibe hindurchgedrückt und von einer weiteren Schnecke über den zweiten steilen Konus ausgetragen. Die geklärte flüssige Phase wird durch eine Schälscheibe am Ende der Trennzone unter Druck abgeführt. Eine weitere Besonderheit des Sedicanters ist seine sehr hohe Beschleunigung von bis zu 10.000 g.

Herkömmliche Dekanter hingegen sind durch Limitierungen bezüglich der Werkstofffestigkeit oder aus anderen Konstruktionsgründen auf Beschleunigungen von maximal 6.000 g begrenzt.

In Abb. 2 sind die Zusammensetzungen der verwendeten Aggregatsuspension sowie des durch die Zentrifugation erhaltenen Überstandes und des Sediments dargestellt. Bei den durchgeführten Versuchen ergab sich ein β-Lg-haltiger Überstand mit einer Reinheit von über 99%. Das erhaltene Sediment wies eine brotteigähnliche Konsistenz mit einer Trockenmasse von über 30% auf. Es bestand etwa zur Hälfte aus α-La, ebenso lagen alle minoren Komponenten im Sediment vor, da diese aufgrund ihres hydrophoben Charakters in die Aggregate eingeschlossen wurden. Allerdings waren durch die hohe Restfeuchte auch noch 26% β-Lg enthalten. Eine Resuspendierung und nochmaliger zentrifugale Separation stellte ein effektives Auswaschverfahren für das verbliebene lösliche β-Lg aus dem Sediment dar. Schlussendlich konnte eine über 99%-ige Freiheit von β-Lg erzielt werden.

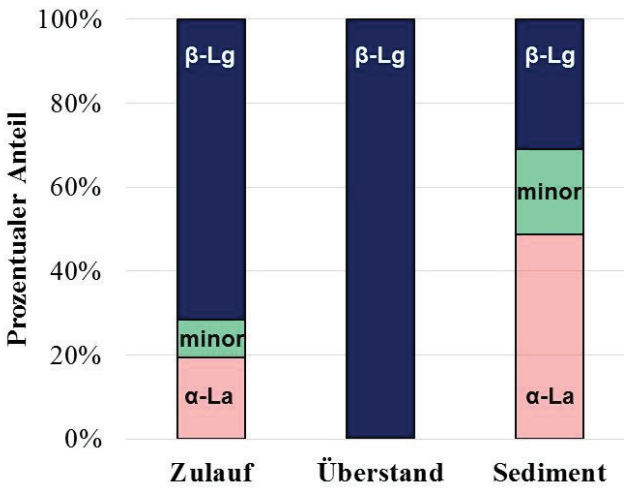


Abb. 2: Prozentuale Zusammensetzung von Zulaufsuspension, des erhaltenen Überstands und Sediments

Da die Aggregate über reversible Bindungsmechanismen stabilisiert werden, lassen sie sich durch eine pH-Erhöhung und Calciumzugabe wieder zu nativen Proteinen rückfalten.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass sich die spezielle Bauweise des Sedicanters sehr gut für die Abtrennung und den Austrag des α-La-reichen Sediments eignet. Mit Hilfe des vorgestellten Verfahrens ist es möglich, die beiden majoren Molkenproteinfraktionen in höchster Reinheit und Nativität voneinander zu separieren.

Literatur:
[1] Sawyer, L. "β-Lactoglobulin." *Advanced Dairy Chemistry—1 Proteins* (2003): 319-386
[2] Trabulsi, J., et al. "Effect of an α-lactalbumin-enriched infant formula with lower protein on growth." *European journal of clinical nutrition* 65.2 (2011): 167-174
[3] Toro-Sierra, J., et al. "Fractionation of α-lactalbumin and β-lactoglobulin from whey protein isolate using selective thermal aggregation, an optimized membrane separation procedure and resolubilization techniques at pilot plant scale." Food and Bioprocess Technology 6.4 (2013): 1032-1043

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

Hydrolysis of β-lactoglobulin Via CIM-monolithic based immobilized trypsin reactors at different flow rates and pH values

Verwendung eines monolithischen Trypsin-Reaktors für die Hydrolyse des β-lactoglobulin bei unterschiedlichen Durchflussraten und pH-Werten

Yuhong Mao

β-lactoglobulin (β-Lg), existing in cow's milk while absent from human milk, is the major protein in whey and also seen as the main antigen, predominantly in infant nutrition. Some approaches to produce infant formulas try to selectively remove or break down β-Lg. However, due to the challenge of maintaining properties of the rest of proteins it is difficult to design an economic process. Among these previous processes, Cheison et al (2011). reports that trypsin

hydrolysis outside the optimum pH and temperature offers potential for selective removal of β-Lg among major whey proteins. Although it is possible to maintain 67.87% α-lactalbumin (α-La), another major whey protein, as native, the cost of large-scale use of trypsin in solution is very high. Furthermore, the soluble trypsin also remains to contaminate the product and its removal may involve extra purification cost. Correspondingly, the application of immobilized trypsin with a flow through system can be a more practical alternative choice.

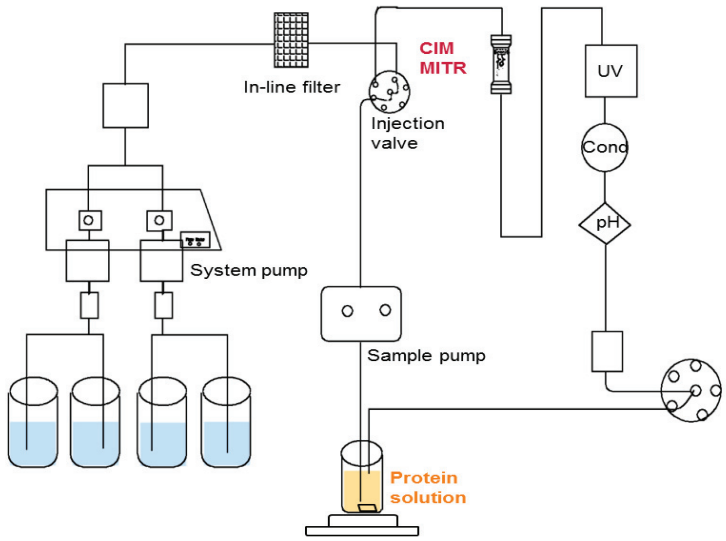


Fig.1: Schematic of applied flow-through system

CIM (Convective Interaction Media) - Methacrylate monolith, consisting of a single piece of highly porous material, is a special class of chromatographic supports through which a sample is mainly transported by convection. In our study, immobilized trypsin reactor based on this kind of monolith (CIM-MITRs) with 0.6 ml pore volume while different pore sizes (N3 with 0.6 µm pore size and N4 with 2.1 µm pore size) were connected with a flow-through system (ÄKTA system, simplified in Fig.1) to hydrolyze β-Lg.

By using module substrate BAEE solution at pH 8.7, N3 and N4 can convert 63.86 µm and 32.86 µm BAEE every minute respectively. This different activity is mainly due to the different amount of immobilized trypsin. Since N4 with 6 µm pore size gives a much smaller surface area so that less chance to immobilize enzyme. In this report, we discuss the effects of pH values and flow rates on the hydrolysis of β-Lg via these two CIM-MITRs.

It is known that enzymes are active only in certain pH range and normally each enzyme has strongly favorable pH where its activity reaches a maximum. Furthermore, at extreme pH, enzymes can be denatured and then lose their biological activities. Trypsin (EC 3.4.21.4) is a serine protease and it is most active at pH 7.8. From our previous data (not shown here), both soluble and immobilized trypsin behave greatly active around pH 7.8. Differently, the activity of soluble trypsin decreases significantly when pH further increases up to 9.2, while immobilization in our case make trypsin more stable, a constant activity (even a slight increase at pH 8.7) is observed with increasing pH values up 9.2.

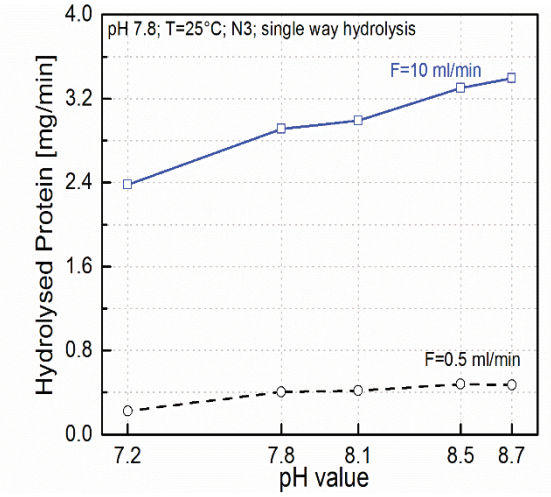


Fig.2: Hydrolysis of β-Lg Via N3 at various

Varied pH not only affects the shapes of enzyme and substrate, but also leads to the change in charges of different amino acids of protein macromolecules that, in turn, results in the alteration in enzyme–substrate interactions. To investigate the effect of pH on the hydrolysis of β-Lg via CIM-MITR, 2 mg/ml native β-Lg solutions in water from pH 7.2 to 8.7, were pumped through the CIM-MITR N3 with zonal elution mode at 0.5 ml/min and 10 ml/min, respectively. The amount of hydrolysed protein is calculated from the difference between initial native protein content and residual native protein content after hydrolysis.

As shown in Fig. 2, the efficiency of hydrolysed protein increases with stepwise pH values at both flow rates. Obvious increments of hydrolyzing efficiency are witnessed from pH 7.2 to pH 7.8, as well as from pH 8.1 to 8.5. As mentioned before, optimum pH for immobilized trypsin is also around 7.8, accounting for the former increase readily, while the later should be more attributed from the structure transform of β-Lg and the better interplay between substrate and immobilized enzyme. On the structure of β-Lg, increasing the pH to 6.8 leads to dissociation of the dimers, if the pH is raised further it results in an unfolding, even a denaturation of β-Lg. Generally, alkaline unfolding of bovine β-Lg becomes significant above pH 8. Correspondingly, this unfolding can promote the hydrolysis of β-Lg due to the exposure of more restricted enzyme cutting sites. Regarding their interplay, the milieu pH value and pKa values of different amino acid side chains determine the charging states of β-Lg, as well as the immobilized trypsin. (Butre, Sforza et al. 2014) points out that the dissimilar cleavage preference of trypsin to Arg and Lys is partially due to the different pKa values of them (Arg: 12.4; Lys: 10.5), which afterwards present different charged states at various milieu pH values.

In this flow through enzymatic system based on CIM-MITRs, the kinetic of immobilized trypsin inside not only depends on the enzymatic hydrolysis process but also on the mass transfer of both substrate and product. For this flow-through system, a reaction time or hydrolyzing time is defined by the residence time of a product inside porous space of monolithic reactor, which depends upon applied flow rates.

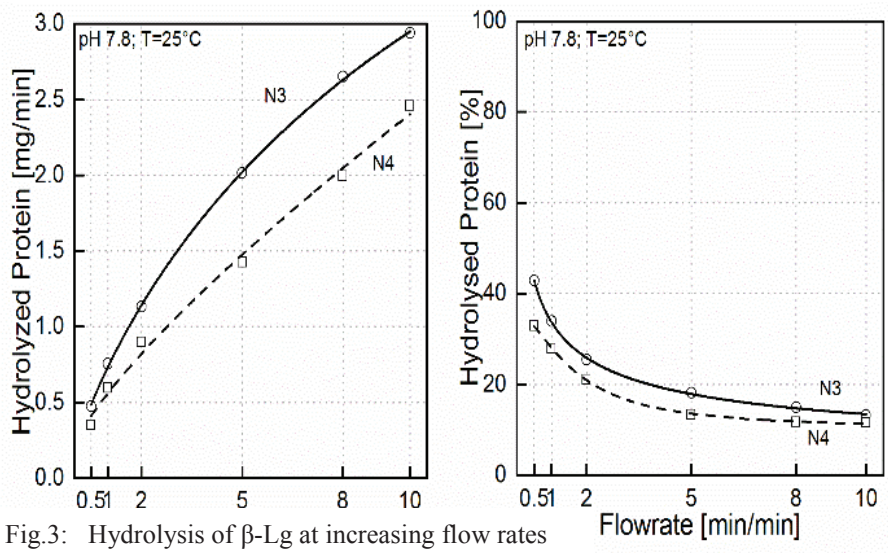


Fig.3: Hydrolysis of β-Lg at increasing flow rates

To investigate the effect of flow rates, 6 ml 2mg/ml β-Lg in 0.1 M Tris buffer solution with pH 8.7 was pumped through two CIM-MITRs (N3 and N4) at stepwise flow rates, namely from 0.5 ml/min up to 10 ml/min, respectively. As shown in Fig. 3 A), the hydrolyzing efficiency is expressed as the amount of hydrolyzed native protein per minute, and it significantly improves with increasing flow rates for both CIM-MITRs. Compared with the hydrolyzing efficiency at 0.5 ml/min, it is up to 6 times at 10ml/min. Of course, when we pay attention to the amount of hydrolysed native protein, as shown in Fig. 3B), the amounts of hydrolysed native β-Lg at 0.5 ml/min are more than or close to 40% for both reactors, while those are less than 20% at 10 ml/min. We have to emphasize that the hydrolysis is performed at zonal mode, which results in the reduced time of contact between substrate and enzyme at higher flow rates. In detail, it takes 12 min to pump through 6 ml substrate solution at 0.5 ml/min, while only 0.6 min at 10 ml/min. If we switch this mode to the recirculation mode of hydrolysis, which can maintain the same contacting time in total for different flow rates, then it is much meaningful to compare the amount of hydrolysed native protein.

Another interesting observation is the different efficiency to deplete native β-Lg between N3 and N4. As mentioned before, the enzymatic activity of N3 is almost double of N4. However, the abilities to hydrolyse native β-Lg by both reactors are quite equivalent, at least compared with the ability to convert substrate BAEE. Regarding the kinetic of immobilized trypsin in these reactors, the well-known Michaelis–Menten model is at least limited by the different contact mode between substrate and enzyme. Since the enzyme is fixed, how substrate can face and bind to enzyme is a totally different case in these flow-through reactors from that by soluble trypsin and in a batch. From this comparison, it is obvious that N3 is still far away from its maximum capacity. We can also infer that N3 has the potential to be improved with the ability to hydrolyse more native β-Lg by increasing the contacting chance between substrate and immobilized trypsin.

Literature:
Butre, C. I., S. Sforza, H. Gruppen and P. A. Wierenga (2014). "Introducing enzyme selectivity: a quantitative parameter to describe enzymatic protein hydrolysis." Anal Bioanal Chem 406(24): 5827-5841.
Cheison, S. C., E. Leeb, J. Toro-Sierra and U. Kulozik (2011). "Influence of hydrolysis temperature and pH on the selective hydrolysis of whey proteins by trypsin and potential recovery of native alpha-lactalbumin." International Dairy Journal 21(3): 166-171.

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Steinhauer, Tim: On the Micro- and Ultrafiltration of Dairy Fluids - Molecular Mechanisms of Membrane Fouling and Elucidation of Deposit Layer Structures, 24.03.2016

Brand, Janina: Modification of the Structural Properties of Egg White by Mechanical Methods prior to Membrane Based Ion Exchange Chromatographic Fractionation of Egg White Protein, 05.09.2016

Voswinkel, Linda: Fractionation of major and minor Whey Proteins using Membrane-based Ion-exchange Chromatography, 12.10.2016

Toro Sierra, Jose Pablo: On the separation, thermal and shear induced modification, and study of the functional properties of the major whey protein fractions, 23.11.2016

Holzmüller, Wolfgang: Investigations on the isolation of milk fat globule membrane proteins from cream and buttermilk, 23.11.2016

Masterarbeiten

Bauer, Maria: Physikalische Veränderungen in Eiklar- und Milchprotein-Aerogelen während der Lagerung.

Beck, Julia: Heatable Silcion Carbide Hollow Fiber Membranes for Fouling Control and Prevention.

Böck, Anna: Vollständige Abtrennung von ß-Lactoglobulin aus Molkenproteinisolat durch thermische Aggregation und Membranadsorptionschromatographie.

Dörle, Marie-Therese: Hitzeinduzierte Strukturveränderungen der Caseinmicelle in Abhängigkeit der Millieubedingungen.

Geiger, Michael: Einfluss des pH-Werts während der Fermentation und Auswirkungen verschiedener Trehalosekonzentrationen auf das Trocknungsverhalten von Bifidobacterium longum subsp. longum Reuter 1963.

Kainz, Bernadette: Isolierung von Immunglobulinen aus boviner Milch und Kolostralmilch.

Kofler, Vera: Untersuchung des Gefrier-Tau-Verhaltens von granula- und plasmastabilisierten Emulsionen.

Krischke, Maria: Comparison of soluble and CIM- monolithic based immobilized trypsin for the hydrolysis of β-Lactoglobulin.

Kurz, Franziska: Einflussfaktoren auf die Proteinnativität und Lagerstabilität von NF-Molkenkonzentraten.

Richter, Dominik: Untersuchung der Trennbarkeit von thermisch aggregiertem alpha-Laktalbumin von den löslich verbliebenen Bestandteilen mittels einer Dekanterzentrifuge.

Rosenecker, Elisabeth: Quellungsverhalten von Hydro-, Alco- und Aerogelen aus Protein bei unterschiedlichen pH-Werten.

Sasonov, Katarina: Renaturierung von Alpha- Lactalbumin nach dessen selektiver thermischer Präzipitation im sauren Milieu und zentrifugaler Separation der zwei Phasen.

Schiffer, Simon: Untersuchung der Längenabhängigkeit von Spiralwickelmembranen bei der Fraktionierung von Magermilch.

Schulte, Alicia-Sophie: Characterisation of casein micro-particles as an α-tocopherol carrier.

Seeburger, Christina: Einfluss von Hydrophobie und Rauheit auf die Oberflächendekontamination durch gasförmiges, kondensierendes Wasserstoffperoxid.

Sixt, Anna: Herstellung und Lagerverhalten von Molkenkonzentraten.

Stegmann, Valentin Tobias: Influence of process parameters of supercritical CO2 fat extraction from insects on yield and physicochemical fat characteristics.

Steinbrückner, Kathrin: Fractionation of milk minerals from whey permeate streams by Nanofiltration: Effect of raw materials, the transmembrane pressure and the type of membrane on composition and sensory.

Wegmeyer, Katrin: Entwicklung und Gegenüberstellung von mikrowellenunterstützter Vakuumschaum- und Gefrierschaumtrocknung zur Konservierung von sensitiven Biomolekülen.

Zhou, Nan: Effects of pH and storage on properties of casein microparticles in solution.

Zink, Jöel: Einfluss von Ethanol auf die Sekundärstruktur und Protonenmobilität von Xerogelen aus hitzedenaturierten Molken- und Eiklarproteinen.

Bachelorarbeiten

Birkle, Pascal Bernhard: Untersuchungen zur Hitzestabilität von micellaren Caseinkonzentraten.

Fuchs, Michael: Thermische und enzymatische Modifikation der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma.

Groß, Melanie: Einfluss des pH-Wertes und der Erhitzungstemperatur auf die thermische Denaturierung der Molkenproteine in Molkenkonzentraten unterschiedlicher Trockenmassen.

Gruber, Sebastian: Vergleich der Filtrationsleistung von Röhren- und Spiralwickelmembran bei der Umkehrosmose von Magermilch.

Hägler, Marion: Freisetzungsverhalten von Fischöl aus Proteinaerogelen als Trägermaterial bei in-vitro-Verdauungsversuchen.

Hainz, Alexander: Untersuchungen zur hitzeinduzierten Aggregation der Caseine in direkt erhitztem Magermilchkonzentrat.

Hiller, Katharina: Vergleich der rheologischen und adsorptiven Eigenschaften von Milchproteinkonzentraten.

Hörl, Dominik: Thermische Behandlung der Eigelbfraktionen Granula und Plasma.

Kott, Sinclair Manfred: Untersuchung der pH-abhängigen Struktur und Wechselwirkung von ß-Lactoglobulin mittels Lichtstreuung.

Kremer, Daniel: Characterization of monolithic trypsin reactors for the enzymatic hydrolysis of ß-Lactoglobulin.

Lüthje, Laura: Untersuchung des Aggregations- und Abtrennverhaltens von α-Lactalbumin in verschiedenen Molkenproteinisolaten und -konzentraten.

Marinovic, Tina: Einfluss der Zusammensetzung sowie der Trockenmasse auf die thermische Inaktivierung von Bacillus subtilis Sporen in Molkenkonzentraten.

Michallik, Laura: Einfluss des Trocknungsverfahrens auf Viabilität und Lagerstabilität von Lactobacillus paracasei ssp. paracasei F19.

Migliarini, Florian: Shelf-life and storage stability of microfiltrated whey concentrates.

Reiter, Marius: Konzentrationsabhängige Inaktivierungskinetik von Bacillus subtilis Sporen mit gasförmigem H2O2.

Rhein, Anita: Kultivierung von Bacillus subtilis Sporen im Bioreaktor: Einfluss hoher ph-Werte auf Resistenz und Oberflächenbeschaffenheit.

Schmidt, Larissa: Einfluss des pH-Wertes und der Temperatur auf die tryptische Hydrolyse des Molkenproteins alpha-Lactalbumin.

Schobesberger, Michael: Charakterisierung potentieller Diafiltrationsmedien und Methodenentwicklung zur Analyse induzierter Veränderungen der Caseinmizelle.

Schumann, Benjamin: Influence of pressure and microwave power on the properties of the microwave-freeze-drying process and the product quality of Bifidobacterium animalis ssp. lactis INL1.

Stoll, Miriam: Einfluss der Proteinkonzentration auf die Hitzestabilität von IgG in Kolostrum.

Wang, Dan: Einfluss der Oberflächenbeschaffenheit einer Mischkultur auf die Inaktivierung mit gasförmigem Wasserstoffperoxid.

Weng, Janina: Einfluss von pH-Wert, Salzkonzentration und Enzymbehandlung auf granula- und plasmastabilisierte Emulsionen.

Wirnharter, Rupert: Einfluss der Trockenmasse auf die Lagerstabilität von Molkenkonzentraten.

Wörthmann, Mario: Optimierung der Prozessparameter bei der Fraktionierung von bovinen Immunoglobulinen im Diafiltrationsbetrieb.

Vorträge

30. Sitzung des Fachbeirats Milch und Milcherzeugnisse der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), Berlin, 19. Januar 2016

Kulozik, U., Marx, M., Dumpler, J., Depping, V., Steffansdottir, B., Grunow, M.: Neue ressourcen- und energiesparende Prozesse zur Herstellung, Vertrieb/Logistik und Einsatz von haltbaren Milch- und Molkekonzentraten als Ersatz für Milch- und Molkepulver.

The 2nd Food Structure and Functionality Forum Symposium "From Molecules to Functionality" (FSFF), Singapur, 28. Februar – 2. März 2016

Zhuang, Y., Sterr, J., Kulozik, U., Gebhardt, R.: Casein micro-particles as carriers for Vitamin E – a new approach for isolation and characterization.

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Erlangen, 10.-11. März 2016

Heidebrecht, HJ.: Gewinnung von bovinen Immunglobulinen aus Milch und Colostrum.

Marx, M., Kulozik, U.: Molkenkonzentrat als Ersatz für Molkenpulver: Energieeffiziente Prozesse und deren Einfluss auf funktionale und mikrobielle Qualitätskriterien.

16th Food Colloids Conference: Structure beyond the colloidal scale, Wageningen, Niederlande, 10.-13. April 2016

Zhuang, Y.: Casein micro-particles as carriers for hydrophobic substances - new approach for preparation and characterization.

IDF Parallel Symposia: Concentrated & Dried Milk Products / Cheese Science & Technology, Dublin, Irland, 11.–14. April 2016

Dumpler, J., Kulozik, U.: Reaction kinetics of heat-induced aggregation in skim milk concentrates - Comparison of lab-scale indirect heating and direct steam injection.

Seminar Schaumanalytik, Krüss GmbH, Hamburg, 18. April 2016

Dombrowski, J., Ambros, S., Kulozik, U.: Proteinstabilisierte Schäume: Mechanismenaufklärung, Strukturoptimierung und neue Einsatzmöglichkeiten.

International Congress on Particle Technology, PARTEC 2016, Nürnberg, 19.-21. April 2016

Kleemann, C., Selmer, I., Goslinska, M., Smirnova, I., Heinrich, S., Kulozik, U.: Protein hydrogel microparticles as precursor for supercritically dried aerogels to encapsulate sensitive substances.

15. FEI-Kooperationsforum „Trenntechniken für Lebensmittel- und biotechnologische Prozesse“, Bonn, 26. April 2016

Kulozik, U.: Anforderungen an Trennverfahren für komplexe Medien in der Lebensmittel- und Biotechnologie.

Arbeitstagung der technischen Sachverständigen / Amtsingenieure, Beratungsingenieure und Architekten für das Molkereiwesen, Rendsburg, 27.-29. April 2016

Kulozik, U.: Aktuelle Entwicklungen im Forschungsbereich der Milch.

AMA Milchsymposium, Wien, Österreich, 31. Mai 2016

Kulozik, U.: Milchtechnologie – Quo vadis?

IFAT DGMT Seminar / Workshop: Membrane Technologies for Environmental Protection, München, 2. Juni 2016

Reitmaier, M., Heidebrecht, HJ., Kulozik, U.: Milk protein fractionation by UF/MF in diafiltration mode: Considerations regarding replacement of fresh water as washing media by process streams.

TUM - Tag der Studienfakultät Brau- und Lebensmitteltechnologie, Freising, 24. Juni 2016

Dumpler, J., Marx, M., Kulozik, U., Depping, V., Stefánsdóttir, B., Grunow, M.: Ressourcenschonende Produktion von Milcherzeugnissen am Beispiel von Milch- und Molkenkonzentrat.

American Dairy Science Association Annual Meeting (ASAS JAM), Salt Lake City, USA, 19.-23. Juli 2016

Kulozik, U.: Enhanced dairy membrane operations through control of deposit formation on membrane surfaces.

IUFoST, 18th World Congress of Food Science and Technology, Dublin, Irland, 21.-25. August 2016

Dombrowski, J., Kulozik, U.: New insights into the structure of milk protein-stabilized foams: A multiscale approach.

Haller, N., Kulozik, U.: Innovative fractionation process for whey proteins aiming for preservation of maximal nativity of all components.

Heidebrecht, HJ., Reitmaier, M.: Towards "Zero liquid discharge": Application of processing side streams as diafiltration media in membrane technology.

Heidebrecht, HJ., Kainz, B., Godl, K., Förster, B., Kulozik, U.: Isolation of bovine IgG from milk and colostrum on an industrial scale.

Seminar on Emerging Dairy Technologies – Sustainability, Novel Nutritional Concepts, New Functionalities and Structure –, Freising, 14.-16. September 2016

Dombrowski, J.: Multiscale characterization of protein stabilized foams: Mechanistic understanding facilitates structure optimization and offers new fields of application.

Dumpler, J., Depping, V.: Milk concentrates as alternative to powder manufacture – Technical solutions for preservation with reduced economic and environmental impact.

Dumpler, J.: Diafiltration and heat treatment of micellar casein concentrates – Factors affecting filtration performance and heat stability.

Eschlbeck, E.: Methods to manipulate the adhesion ability of the probiotic bacterial spore former Bacillus subtilis.

Gmach, O.: "Pickering" emulsions and foams stabilized by biogenic particles made of protein at different environmental conditions.

Haller, N.: Selective thermal aggregation of the major whey protein fractions – Comparison of heating strategies and subsequent separation techniques.

Haller, N.: High throughput chromatographic applications for the isolation of minor components in whey.

Heidebrecht, H.: Retention of activity during fractionation and isolation of bioactive immunoglobulins from milk and colostrum.

Heidebrecht, H, J.: Towards "Zero fluid discharge": Application of processing side streams as diafiltration media in membrane technology.

Kieferle, I.: Minimising product losses and water consumption during rinsing of production plants with emphasis on protein concentrate removal from membrane plants.

Kleemann, C., Selmer, I., Goslinska, M., Smirnova, I., Heinrich, S., Kulozik, U.: Protein aerogel micro particles as encapsulation technology for sensitive substances.

Kulozik, U., Ambros, S.: Drying technologies for maximized survival of Lactobacilli as health promoting microorganisms.

Mao, Y.: Monolith based immobilized trypsin reactor for selective hydrolysis of ß-Lactoglobulin in a continuous flow system.

Marx, M.: Processing concepts for production of demineralized whey and whey concentrates

Marx, M., Meyer, P.: Energy efficient concentration and thermal treatment of milk and whey: Processing options for various shelf-life requirements and protein properties.

Saalfeld, D.: Goals of enzymatic hydrolysis of whey proteins: From reduction of allergenicity to production of bioactive peptides.

MIV-Seminar "Umweltschutz und Stand der Technik in der Milchindustrie" Neu-Ulm, 19. September 2016

Kulozik, U.: Neue Ansätze zur umweltschonenderen Herstellung von Milchprodukten.

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising, 06.-07. Oktober 2016

Dombrowski, J., Kulozik, U.: Stabilisierung von Schaumgrenzflächen durch Milchproteine unterschiedlicher molekularer und partikulierter Struktur: Neue Erkenntnisse und innovative Konzepte.

Hartinger, M., Kulozik, U.: Polymere Mikrofiltrationsmembranen für die Fraktionierung von Milchproteinen: Eine kostengünstige und effektive Alternative zu Keramikmembranen.

Kleemann, C., Selmer, I., Goslinska, M., Smirnova, I., Heinrich, S., Kulozik, U.: Mikroverkapselung sensitiver Inhaltsstoffe in Aerogelen: Proteinbasierte Schutzsysteme mit extremen adsorptiven inneren Oberflächen.

Kubbutat, P., Ambros, S., Kulozik, U.: Produktschonung und Prozesseffizienz im Widerstreit: Schnelle mikrowellenunterstützte Trocknung von sensitiven Proteinen und Wirkstoffen in einer Schaummatrix mit Schutzstoffen.

Kulozik, U.: Status Quo und Perspektiven zur Herstellung von Lebensmitteln für spezifische Zielgruppen im Rahmen personalisierter Ernährung. Welche Position nehmen Milchbestandteile dabei ein (und was kann die Verfahrenstechnik dazu beitragen)?

Saalfeld, D., Leeb, E., Kulozik, U.: Steuerung und Steigerung des techno- und biofunktionellen Potenzials von β–Lactoglobulin durch enzymatische Hydrolyse, Ultrahochdruck und den Einfluss strukturbeeinflussender Salze.

GDL Kongress Lebensmitteltechnologie 2016, Lemgo, 20.–22. Oktober 2016

Dumpler, J., Marx, M., Kulozik, U., Depping, V., Stefánsdóttir, B., Grunow, M.: Technologische, ökonomische und ökologische Aspekte ressourcenschonender Produktion von Milch- und Molkenkonzentrat.

BLE Innovationstage, Bonn, 25.-26. Oktober 2016

Kulozik, U.: Ressourcenschonende Produktion und Anwendung mikrobieller Kulturen für Milcherzeugnisse (Projekt RESOCULT).

MIV - 9. Ideenbörse Forschung, Fulda, 16.-17. November 2016

Kulozik, U.: Technologien zum An- oder Abreichern physiologisch relevanter Komponenten aus Milch und Molke (zur Gewinnung isolierter Komponenten mit gesteigerter Funktionalität und höherer Wertschöpfung).

30th EFFoST International Conference, Targeted Technologies for Sustainable Food Systems, Wien, Österreich, 28.-30. November 2016

Dumpler, J., Marx, M., Kulozik, U., Depping, V., Stefánsdóttir, B., Grunow, M.: Milk and whey concentrates vs. dairy powders – Opportunities and challenges towards a reduced environmental impact of dairy processing.

Saalfeld, D.: The influences of different salts in combination with high pressure processing on the structure of β-Lactoglobulin.

Sitzungen der Projektbegleitenden Ausschüsse der AiF/FEI- und BLE–Forschungsvorhaben

Dombrowski, J: Mikrowellenunterstützte Vakuum- und Gefriertrocknung zur schnelle Konservierung von sensitiven Biomolekülen in einer Schaummatrix, AiF 18819 N, Freising, 09.06.2016.

Dachmann, E, Ambros S: Mikrowellen-Vakuumtrocknung von Fruchtschäumen und Gewinnung von natürlichen Fruchtaromen, AiF 19015 N, Freising, 23.11.2016.

Gmach, O, Kulozik, U: Separate Funktionalisierung der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma zur Steigerung von deren Emulgiereigenschaften, AiF 18122 N, Freising, 17.02.2016.

Gmach, O, Kulozik, U: Separate Funktionalisierung der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma zur Steigerung von deren Emulgiereigenschaften, AiF 18122 N, Freising, 01.12.2016.

Haller, N, Kulozik, U: Selektive thermische Denaturierung von Molkenproteinen und anschließende Fraktionierung der gewonnenen Komponenten, AiF 18126 N, Freising, 06.04.2016.

Haller, N, Kulozik, U: Selektive thermische Denaturierung von Molkenproteinen und anschließende Fraktionierung der gewonnenen Komponenten, AiF 18126 N, Freising, 08.12.2016.

Hartinger, M, Heidebrecht, HJ, Dumpler, J, Kulozik, U: Polymere Spiralwickelmembranen zur Milchproteinfraktionierung, AiF 18553 N, Freising, 24.11.2016.

Heidebrecht, HJ, Reitmaier, M: Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration, AiF 18818 N, Freising, 07.07.2016.

Kieferle, I: Freispülen von Spiralwickelmembran-Modulen von Milchproteinkonzentraten: Experimentelle Untersuchung und Entwicklung eines Simulationsmodells, AiF 18770 N, Freising, 24.11.2016.

Kleemann, C, Selmer, I, Goslinska, M, Smirnova, I, Heinrich, S, Kulozik, U: Hochporöse Aerogelpartikel aus Protein als Trägermatrix für sensitive und sensorisch störende Stoffe in Lebensmitteln, AiF-FV 17485 N, Hamburg, 29.04.2016.

Marx, M, Dumpler, J, Kulozik, U: Neue ressourcen- und energiesparende Prozesse zur Herstellung, Vertrieb/Logistik und Einsatz von Molkenkonzentraten als Ersatz für Molkenpulver, BLE 313.06.01-28-174.005-11, Freising, 07.12.2016.

Posterpräsentationen

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Erlangen, 10.-11. März 2016
Eschlbeck, E.: Manipulation der Oberflächenbeschaffenheit bakterieller Sporen im Bioreaktor.

Hartinger, M., Heidebrecht, H.-J., Kulozik, U.: Einfluss von Porengröße und Transmembrandruck auf die Fraktionierung von Caseinen und Molkenproteinen mittels polymerer Mikrofiltrationsmembranen.

IDF Parallel Symposia: Dairy Products Concentration and Drying, Dublin, Irland, 11.–14. April 2016
Marx, M., Kulozik, U.: Whey concentrates as substitute for whey powder: Energy efficient processes and their influence on functional and microbial quality criteria.

IUFoST, 18th World Congress of Food Science and Technology, Dublin, Irland, 21.-25. August 2016
Eschlbeck, E.: Decontamination with gaseous H2O2: Influence of surface hydrophobicity.

IDF World Dairy Summit, Rotterdam, Niederlande, 16.-21. Oktober 2016
Heidebrecht, HJ., Kainz, B., Godl, K., Förster, B., Kulozik, U.: Separation and isolation of bovine IgG from milk and colostrum on an industrial scale.

30th EFFoST International Conference, Targeted Technologies for Sustainable Food Systems, Wien, Österreich, 28.-30.11.2016
Dombrowski, J., Dechau, J., Kulozik, U.: Multiscale characterization of bulk, surface and foaming properties of casein micelles as a function of alkalinisation.

Veröffentlichungen

Peer review Verfahren

Brand, J, Kulozik, U: Comparison of Different Mechanical Methods for the Modification of the Egg White Protein Ovomucin, Part A: Physical Effects. Food Bioprocess Technol, 9 (7) 1210–1218, 2016.

Brand, J, Silberbauer, A, Kulozik, U: Comparison of different mechanical methods for the modification of the egg white protein ovomucin, Part B: Molecular aspects. Food Bioprocess Technol, 9, 3, 501-510, 2016.

Brand, J, Voigt, K, Zochowski, B, Kulozik, U: Lysozyme fractionation from egg white at pilot scale by means of tangential flow membrane adsorbers: Investigation of the flow conditions. J Chromatography A, 1438, 143-149, 2016.

Brand, J, Dachmann, E, Pichler M, Lotz, S, Kulozik, U: A novel approach for egg white protein fractionation by usage of radial flow membrane adsorption chromatography in lab scale: Impact of relevant product and process parameters. Separation Purification Technol, 161, 44–52, 2016.

Bulca, S, Wolfschoon, A, Kulozik, U: Rennet coagulation properties of UHT-treated phosphocasein dispersions as a function of casein and NaCl concentration, Int J Dairy Techn, 3, 69, 328-336, 2016.

Bulca, S, Dumpler, J. Kulozik, U: Kinetic description of heat-induced cross-linking reactions of whey protein-free casein solutions. Int J Dairy Technol, 69, 1-8, 2016.

Dombrowski, J, Dechau, J, Kulozik, U: Multiscale approach to characterize bulk, interfacial and foaming behavior of casein micelles as a function of alkalinisation. Food Hydrocolloids 57, 92-102, 2016.

Dombrowski, J, Johler, F, Warncke, M, Kulozik, U: Correlation between bulk characteristics of aggregated ß-Lactoglobulin and its interfacial foaming properties. Food Hydrocolloids, 61, 318-328, 2016.

Dombrowski, J, Mattejat, C, Kulozik. U: Correlation between surface activity and foaming properties of individual milk proteins in dependence of milieu composition, Int Dairy J, 61, 166-175, 2016.

Dittmann, J, Eggert, A, Lambertus, M. Dombrowski, J (group Kulozik), Rack, A, Zabler, S: Finding robust descriptive features for the characterization of the coarsening dynamics of three dimensional whey protein foams. J Colloid Interface Sci 467, 148–157, 2016.

Dumpler, J, Kulozik, U: Heat-induced coagulation of concentrated skim milk heated by direct steam injection. Int Dairy J, 59, 62-71, 2016.

Dumpler, J. Kulozik, U: Dissociation and coagulation of caseins and whey proteins in concentrated skim milk heated by direct steam injection. Dairy Science & Technology, Accepted 12.09.2016.

Goslinska, M, Heinrich, S, Selmer, I, Smirnova, I, Kleemann, C, Kulozik, U. (2016): Coating of Protein-Based Aerogels Using Spouted-Bed Technology. Chemie Ingenieur Technik, 88 (9), 1370, 2016.

Holzmüller, W, Müller, M, Himbert, D, Kulozik, U: Impact of cream washing on fat globules and milk fat globule membrane proteins. Int Dairy J, 59, 52-61, 2016.

Holzmüller. W, Kulozik, U: Protein quantification by means of a stain-free SDS-PAGE technology without the need for analytical standards: Verification and validation of the method, J Food Composition Analysis 48, 128–134, 2016

Holzmüller, W, Kulozik, U: Technical difficulties and challenges in the isolation of milk fat globule membrane material - A critical review. Int Dairy J, 61, 51-66, 2016

Holzmüller, W, Gmach, O, Griebel, A, Kulozik. U: Casein precipitation by acid and rennet coagulation of buttermilk: Impact on the isolation of milk fat globule membrane proteins. Int Dairy J, 63, 115-123, 2016.

Holzmüller, W, Kulozik, U: Isolation of MFGM material by coagulation and diafiltration of buttermilk. Int Dairy J, 63, 88-91, 2016.

Kirchner, B, Pfaffl, MW, Dumpler, J (group U Kulozik), v. Mutius, E, Ege, M: miRNA in native and processed cow´s milk and its implication for the farm milk effect on asthma, J Allergy Clinical Immunol, 137, 6, 1890-93, 2016.

Metwalli, E, Hermes, HE, Calzadac, E, Kulozik, U, Egelhaaf, SU, Müller-Buschbaum, P: Water ingress into a casein film quantified using time-resolved neutron imaging, Phys. Chem. Chem. Phys, 18, 6458-64, 2016.

Meyer, P, Kulozik, U: Impact of protein removal by an upstream ultrafiltration on the reverse osmosis of skim milk and sweet whey. Chem. Ing. Tech. 88 (5) 585-590, 2016.

Steinhauer, T, Leeb, E, Birle, D, Kulozik, U: Determination of a molecular fouling model for the filtration of whey: A recombination study from single whey proteins to complex mixtures. Int Dairy J, 52, 50-56, 2016.

Schmitz-Schug. I, Kulozik. U, Foerst, P: Modeling spray drying of dairy products – Impact of drying kinetics, reaction kinetics and spray drying conditions on lysine loss, Chem Eng Sci 141, 315–329, 2016.

Voswinkel, L, Vogel, T. Kulozik, U: Impact of the iron saturation of bovine lactoferrin on the adsorption to a strong cation exchanger membrane. Int Dairy J, 56, 134-140, 2016

Wolz, M, Mersch, E, Kulozik, U: Thermal aggregation of whey proteins under shear stress, J Food Hydrocolloids, 56, 396-404, 2016.

Wolz, M, Kulozik, U: High moisture food extrusion for microparticulation of whey proteins – Influence of process parameters, J Food Eng,185, 56-61, 2016.

Würth, R, Foerst, P, Kulozik, U: Development and evaluation of a spray drying microencapsulation process for water-insoluble milk protein capsules. Int Dairy J 61, 99-106, 2016.

Zhuang, Y, Sterr, J, Schulte, A, Kulozik, U, Gebhardt, R: Casein micro-particles from blend films form emulsion droplets with α-tocopherol in solution. Food Biophysics, 11, 332–338, 2016.

Congress Proceedings / Praxisorientierte Publikationen

Arndt, F, Heidebrecht, HJ, Schork, N, Schuhmann, S, Kulozik, U, Schütz, S, Nirschl, H, Guthausen, G: Deposit Layer Formation during Skim Milk Dead-End Filtration with Ceramic Hollow Fiber Membranes using Magnetic Resonance Imaging. XIII Int. Conference on the Applications of Magnetic Resonance in Food Science, Karlsruhe, 7.-10. June, 2016. 55-59, Doi: 10.1255/mrfs.11, 55-59, 2016.

Gastl, M, Föhr, Chr, Munoz, A, Becker, T, Voswinkel, L, Steinhauer, T, Kulozik, U: Charakterisierung qualitätsbeeinflussender Proteinfraktionen in Bier, Brauwelt, 23, 1556-1559, 2016.

Marx, M, Dumpler, J, Kulozik, U, Depping, V, Steffansdottir, B, Grunow, M: Milch- und Molkenkonzentrate – Ökologisch und ökonomisch sinnvoll, Teil 1, Moproweb.de, 8, 35-37, 2016.

Marx, M, Dumpler, J, Kulozik, U, Depping, V, Steffansdottir, B, Grunow, M: Milch- und Molkenkonzentrate – Ökologisch und ökonomisch sinnvoll, Teil 2, Moproweb.de, 9, 46-48, 2016.

Kleemann, C., Selmer, I., Smirnova, I., Goslinska, M., Heinrich, S., Kulozik, U.: Protein hydrogel micro particles as precursor for supercritically dried aerogels to encapsulate sensitive substances. International Congress on Particle Technology, PARTEC 2016, Nürnberg, 19.-21.04.2016, Book of Abstracts, ISBN 978-3-18-092283-6, Düsseldorf, S. 239, 2016.

Technologietransfer/Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen

15. FEI Kooperationsforum 2016 – Trenntechnik für lebensmittel- und biotechnologische Prozesse, 26. April 2017 (Programmgestaltung).

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V., 6.-7. Oktober 2016 in Weihenstephan.

Seminar on Emerging Dairy Technologies - Sustainability, Novel Nutritional Concepts, New Functionalities and Structure, 14.-16. September 2016 in Weihenstephan.

Im Berichtszeitraum aktive Forschungsvorhaben

Hydrolysis of β-lactoglobulin via CIM-monolithic based immobilized trypsin reactors at different flow rates and pH values, 14.12.2014 – 30.09.2018.

Konservierung der humanen, fäkalen Mikrobiota , 01.01.2016 – 31.12.2018.

Hochporöse Aerogelpartikel aus Protein als Trägermatrix für sensitive und sensorisch störende Stoffe in Lebensmitteln 01.09.2013 – 29.02.2016.

Gewinnung ß-Lactoglobulin-freier Molkenerzeugnisse mittels selektiver thermischer Aggregation und Fraktionierung der entstandenen Komponenten 01.04.2014 – 30.09.2016.

Separate Funktionalisierung der Eigelbhauptfraktionen Granula und Plasma zur Steigerung von deren Emulgiereigenschaften 01.04.2014 – 30.09.2016.

Polymere Spiralwickelmembranen zur Milchproteinfraktionierung 01.01.2015 – 30.06.2017.

Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration: Einfluss des Diafiltrationsmediums auf Deckschichtbildung, Transmission und Funktionalität der Proteinfraktionen 01.09.2015 – 28.02.2018.

Mikrowellenunterstützte Vakuum- und Gefriertrocknung zur schnellen Konservierung von sensitiven Biomolekülen in einer Schaummatrix 01.10.2015 – 31.03.2018.

Freispülen von Spiralwickelmembran-Modulen von Milchproteinkonzentraten: Experimentelle Untersuchung und Entwicklung eines Simulationsmodells 01.02.2016 – 31.07.2018.

Mikrowellen-Vakuumtrocknung von Fruchtschäumen und Gewinnung von natürlichen Fruchtaromen 01.02.2016 – 31.01.2018.

Stabilisierung von Emulsionen durch proteinbasierte Partikel 01.08.2016 – 31.01.2019.

Aufklärung von Mechanismen bei Strukturbildungsvorgängen und von Prozess-Struktur Wechselwirkungen in mehrphasigen, hochkonzentrierten Proteinsystemen 01.08.2016 – 31.07.2019.

Neue ressourcen- und energiesparende Prozesse zur Herstellung, Vertrieb/ Logistik und Einsatz von Milch- und Molkekonzentraten als Ersatz für Milch und Molkepulver, Laufzeit 15.07.2012 – 14.09.2016.

Ressourcenschonende Produktion und Anwendung mikrobieller Kulturen für Milcherzeugnisse, Laufzeit 01.02.2013 – 30.09.2016.

sowie zwei weitere bilateral finanzierte Forschungsprojekte.

Exkursionen

22.01.2016	Fachexkursion mit 25 Studenten des Studiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel im Rahmen der Vorlesung Lebensmittelverfahrenstechnik zu Fa. Flottweg, Vilsbiburg und Fa. Brand, Landshut.
16.-20.05.2016	Fachexkursion mit 27 Studenten des Studiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben (Raum Graz, Wien, Linz).
16.-20.05.2016	Fachexkursion mit 23 Studenten des Studiengangs Bioprozesstechnik/Molekulare Biotechnologie zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben (Raum Berlin, Leipzig).

Partnerschaft Technische Universität München mit 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 der Zeitschriften Int. Dairy Journal (IDJ) und Food Science and Technology (LWT)
- Berufenes Mitglied in der International Academy of Food Science and Technology (IAFoST)
- Mitglied im Wissenschaftlichen Ausschuss des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
- Mitglied im Wissenschaftlichen Beirat des Milchindustrieverbandes (MIV) e.V.
- Gewähltes Mitglied des Studienfakultätsrates Brau- und Lebensmitteltechnologie
- Berufenes Mitglied im ProcessNet-Arbeitsausschuss „Membrantechnik“ und im Arbeitsausschuss „Lebensmittelverfahrenstechnik“
- Gewählter Gutachter der Allianz Industrie Forschung (AIF) "Otto von Guericke" e.V. zur Evaluierung von Forschungsanträgen an das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi)
- Mitglied (Co-Chairman der Scientific Working Group on Sustainable Food Processing and Packaging „Food for Life“) der European Technology Platform (ETP)
- Mitglied im Standing Committee Dairy Science & Technology (SCDST) des IDF (International Dairy Federation)

Dumpler, Joseph

- Prüfstelle für milchwirtschaftliche Maschinen und Anlagen

Stulac, Mirjana

- IHK München: Prüfungsmitglied der Technischen Abschlussprüfung von Fachkräften für Lebensmittel

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V.

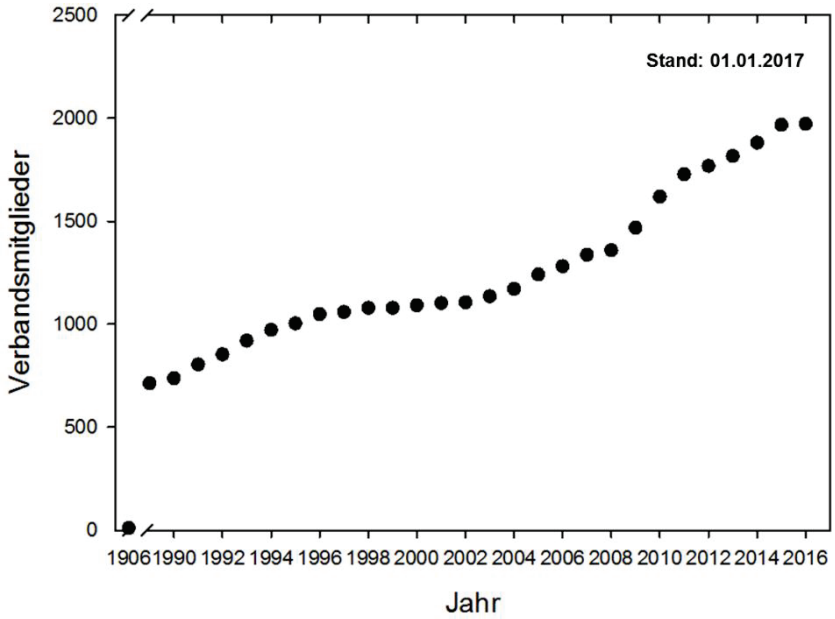
Adresse

Gechäftsführung:
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 1968 Mitgliedern (Stand 01.01.2017). Im Geschäftsjahr 2016 ist die Mitgliederzahl des Verbandes um 35 Mitglieder gestiegen.



Entwicklung der Mitgliederzahl des Verbandes in den letzten 25 Jahren

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. Übermittlung von Stellenangeboten

3. **Preise für herausragende wissenschaftliche Arbeiten**
   a. Bachelorarbeit: € 500,-
   b. Masterarbeit: € 1000,-
   c. Doktorarbeit: € 2000,-

4. **Eine Netzwerk-Plattform**
   a. Über 1900 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

Bericht aus Weihenstephan und dem Verbandsleben

Melanie Marx, Christian Kleemann

Ehrung der besten Bachelorarbeit anlässlich des Hochschultages

Anlässlich des Studienfakultätstages Ende Juni 2016 hat der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler-, Bio- und Lebensmitteltechnologen wieder einen Preis für die beste Bachelorarbeit verliehen.
Der mit € 500,- dotierte Preis für die beste Bachelorarbeit wurde in diesem Jahr an Frau Miriam Stoll, B.Sc. für ihre mit der Note 1,0 bewertete Bachelorarbeit zum Thema „Einfluss der Proteinkonzentration auf die Hitzestabilität von IgG in Kolostrum“ verliehen.

Übergabe des Preises für herausragende Bachelorarbeiten an Frau Miriam Stoll durch die Geschäftsführung des Verbands Melanie Marx und Christian Kleemann.
(© TUM-SFBL, Foto: Matthias Moerch)

Herbsttagung 2016

Die traditionsreiche Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung fand im Jahr 2016 am 06. und 07. Oktober statt. Ein interessantes Vortragsprogramm aus Forschung und Wirtschaft hat etwa 220 Verbandsmitglieder nach Weihenstephan gelockt, die die Gelegenheit nutzten, sich untereinander fachlich auszutauschen. Im Rahmen des Ehemaligentreffens mit dem bekannten Käsebuffet bot sich die Gelegenheit über vergangene Zeiten zu plaudern.

Preisverleihungen

Wie bereits in den Jahren zuvor wurden auch in diesem Jahr wieder Nachwuchswissenschaftler für herausragende wissenschaftliche Abschlussarbeiten geehrt. Der mit 1.000 € dotierte Preis für die beste Masterarbeit ging in diesem Jahr an Frau Bernadette Kainz. Ihre Masterar-

beit mit dem Thema „Isolierung von Immunglobulinen aus boviner Milch und Kolostralmilch“ wurde mit der Note 1,0 bewertet. Die Arbeit wurde am Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie, Prof. Kulozik, angefertigt.

Übergabe des Preises für herausragende Masterarbeiten an Frau Bernadette Kainz durch die bayerische Milchkönigin Susanne Polz und den Vorstandsvorsitzenden des Verbandes Professor Horst-Christian Langowski. (Foto: Rehklau)

Den mit 2.000 € dotierten Preis für die beste Doktorarbeit erhielt in diesem Jahr Frau Dr. rer. pol. Martina Reitmeier. Sie hat ihre Doktorarbeit mit dem Thema „The Effect of Life Transitions and Emotions on Food Choices in Older Adults“ am Lehrstuhl für Marketing und Konsumforschung, Prof. Roosen, mit Auszeichnung abgeschlossen.

Dr. rer. pol. Martina Reitmeier, Preisträgerin des Verbands WMBL für Ihre herausragende Doktorarbeit. (Foto bereitgestellt durch: Reitmeier)

Ehrungen

Die langjährige Treue von Verbandsmitgliedern ist Voraussetzung für eine erfolgreiche Verbandsarbeit. Die Unterstützung der ehemaligen Weihenstephaner ermöglicht dem Verband die Förderung der Nachwuchskräfte und erlaubt die Durchführung einer Veranstaltung wie der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung. Daher ehrt der Verband auf der Herbsttagung Mitglieder mit 40-, 50- oder 60-jähriger Mitgliedschaft.

Im Jahr 2016 wurden Frau Isolde Degle, Herr Erich Fugmann, Herr Heinz Hahn sowie Herr Hardy Lapot für 40 Jahre Mitgliedschaft gewürdigt. Der Verband konnte außerdem Herrn Friedrich Scheurer, Herrn Hugo Spitz, Herrn Heinz Stock und Herrn Ernst Wimmer zur 50-jährigen Mitgliedschaft gratulieren.

Ehrung der langjährigen Mitglieder Herr Ernst Wimmer, Herr Hardy Lapot, Herr Erich Fugmann, Frau Isolde Degle, Herr Heinz Hahn, Herr Hugo Spitz, Herr Heinz Stock sowie Herr Friedrich Scheurer durch die bayerische Milchkönigin Susanne Polz und Professor Langowski. (Foto: Rehklau)

Geehrt im Rahmen der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung wurde außerdem Frau Petra Schönecker für Ihre 30-jährige Vereinstätigkeit als Assistentin der Geschäftsführung der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V. Ebenfalls dankten der Vorstand und die Geschäftsführung der Fördervereinigung Herrn Dr. Josef Gühl für seine 30-jährige Tätigkeit als Kassenprüfer.

Frau Petra Schönecker wird von dem Geschäftsführer Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik und dem 1. Vorsitzenden Dr.-Ing. Johannes Schraml für ihre 30-jährige Tätigkeit als Assistentin der Geschäftsführung der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V. geehrt. (Foto: Rehklau)

Neuentwicklungen bei den Verbandsverantwortlichen

Im Jahr 2016 endete die Wahlperiode der Vorstandsmitglieder Herr Michael Baumeister und Herr Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik. Herr Prof. Kulozik wurde in der Mitgliederversammlung in seinem Amt bestätigt. Herr Baumeister, der nicht zur Wiederwahl stand, schied Ende des Jahres aus der Vorstandschaft aus, nachdem er sich viele Jahre als Vorstand für die Belange des Verbands engagiert hat. Der Verband bedankt sich ganz herzlich für die langjährige Unterstützung. Neugewählt in die Vorstandschaft wurde Herr Dr.-Ing. Bernd Hammelehle, tätig in der Molkereibranche.

Auf eigenen Wunsch schied im Jahr 2016 der stellvertretende Vorsitzende Prof. Dr.-Ing. Dirk Rehmann aus der Vorstandschaft aus. Der Verband bedankt sich sehr herzlich bei Herrn Rehmann für das langjährige Engagement im Vorsitz der Vorstandschaft und wünscht ihm für die Zukunft alles Gute. Um auch weiterhin einen Vertreter der Professorenschaft der Hochschule Weihenstephan Triesdorf im Vorstand des Verbandes vertreten zu haben, wurde Frau Prof. Dr. Carola Kuss, Fachbereich Lebensmitteltechnologie und Produktentwicklung, in die Vorstandschaft gewählt.

Das Amt des stellvertretenden Vorsitzenden übernimmt zukünftig Dr.-Ing. Hans Besner, der bereits über lange Jahre ein sehr engagiertes Mitglied der Vorstandschaft ist. Damit ist im Vorsitz des Verbandes nun ein Vertreter der Industrie aus der Molkereibranche.

Die Vorstandschaft hat außerdem Frau Eva Schlosser zur Mitarbeit in der Geschäftsführung berufen, um rechtzeitig eine weitere Person in die Geschäftsführung des Verbandes einzuarbeiten. Frau Schlosser hat in Freising studiert und promoviert und wird zukünftig am Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik angestellt sein.

Deutschland Stipendium - Der Verband als Förderer

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen tritt im Jahr 2017 erstmalig als Förderer im Rahmen des Deutschland Stipendiums auf. Die Vorstandschaft hat in der Versammlung im Herbst 2016 entschieden, insgesamt vier Stipendiaten über das Fördermodell Deutschland Stipendium zu unterstützen. Je zwei Studenten der Technischen Universität München und der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, die sich durch besondere Leistungen im Studium und durch ehrenamtliches Engagement im universitären und privaten Bereich hervorgetan haben, werden dabei finanziell unterstützt, um ihnen die Möglichkeit zu geben, ihre Aktivitäten weiterhin durchzuführen. Die Fördersumme von 3600,- € pro Jahr für jeden Stipendiaten setzt sich dabei zur Hälfte aus den Geldern des jeweiligen Förderers und zur anderen Hälfte aus Mitteln des Bundes zusammen.

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen freut sich sehr, in diesem Jahr je einen Studenten aus dem Studiengang Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel sowie Bioprozesstechnik an der TU München zu fördern.

Frau Luisa Murer, Studentin des Bachelorstudiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel (3. Sem.)
Herr Fabian Schmitz, Student des Masterstudiengangs Pharmazeutische Bioprozesstechnik (3. Sem.)

Der Verband WMBL gratuliert den Stipendiaten aufs herzlichste und wünscht weiterhin viel Erfolg im Studium.

Wenn Sie sich näher über das Fördermodell Deutschland Stipendium informieren möchten, finden Sie weiterführende Informationen direkt auf der Website www.deutschlandstipendium.de oder unter www.tum.de für Informationen über die Zusammenarbeit von Deutschland Stipendium und der TU München.

Die Benennung der Stipendiaten der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf steht noch aus.

Frau Luisa Murer und Herr Fabian Schmitz zusammen mit den Geschäftsführern des Verbands WMBL bei der offiziellen Verleihung der Stipendien im Rahmen des Fördermodells Deutschland Stipendium in Garching. (© TUM/Heddergott)

Aktuelles vom Campus Weihenstephan

Das Jahr 2016 brachte einen Wechsel in der Führungsebene des Wissenschaftszentrums Weihenstephan. So folgt auf die Amtszeit von Frau Prof. Angelika Schnieke als neuer Dekan des Wissenschaftszentrums Weihenstephan Herr Prof. Dr.-Ing. Thomas Becker, der den Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie leitet.
Im Jahresbericht 2015 haben wir darüber berichtet, dass das Gebäude, in dem zuletzt der Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse, der Lehrstuhl für Systemverfahrenstechnik und die Praktikumsräume der Chemisch-Technischen Analyse untergebracht waren, abgerissen wird. Diese Arbeiten sind nun beendet und eine neue Grünfläche ist am Campus in Weihenstephan entstanden.

Abrissmaßnahmen des ehemaligen Braufakultätsgebäudes II (oben) und die neu entstandene Grünfläche (unten), im Hintergrund die Forschungsbrauerei und die Versuchs- und Lehrbrennerei. (Foto: Verband WMBL)

Der Neubau des Zentrums Naturwissenschaftliche Grundlagen Weihenstephan der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf zwischen Thalhauserstraße und Vöttinger Straße auf dem früheren Parkplatz gegenüber der Werksfeuerwehr Weihenstephan ist nahezu fertiggestellt. Unter anderem vier neue große Hörsäle und viele Praktikumsräume stehen der HSWT nun für die Lehre zur Verfügung.

Neubau Zentrum Naturwissenschaftliche Grundlagen Weihenstephan der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf. Im Hintergrund das Zentrale Hörsaalgebäude der TU München. (Foto: Verband WMBL)

Die nächste Großbaustelle hat nicht lange auf sich warten lassen. Die Gebäude an der Liesel-Beckmann-Straße, zu denen das Hans Eisenmann-Zentrum für Agrarwissenschaften gehört, waren bisher vom übrigen Campus durch die Thalhauser Straße getrennt. Um die Erreichbarkeit der Gebäude zu verbessern und deren Zugehörigkeit zum übrigen Gelände des Wissenschaftszentrums Weihenstephan zu unterstreichen, wird nun eine Brücke über den Weiher hinter der Mensa gebaut. Die Bauarbeiten sind bereits in vollem Gange, auf das Ergebnis darf man gespannt sein.

Blick auf das Hans Eisenmann-Zentrum für Agrarwissenschaften an der Liesel-Beckmann-Straße mit den Neubaumaßnahmen für eine Brücke über den Mensaweiher, Blick von der Treppe zwischen Mensa und Zentralem Hörsaalgebäude. (Foto: Verband WMBL)

Versammlungen und geförderte Exkursionen

Versammlungen:

Vorstandssitzung am	23.03.2016
Vorstandssitzung am	05.10.2016
Mitgliederversammlung am	06.10.2016

Lehrstuhlexkursionen:

22.01. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) mit 25 (22 WMBL) Studenten zu Flottweg SE und Brandt Zwieback-Schokoladen GmbH + Co. KG im Raum Landshut.

17.05. – 20.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr.-Ing. Horst-Christian Langowski) der TUM mit 20 (4 WMBL) Studenten in den Raum Frankfurt.

16.05. – 20.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 23 (17 WMBL) Studenten in den Raum Köln.

16.05. – 20.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 27 (19 WMBL) Studenten in den Raum Heidelberg, Kaiserslautern und Ludwigshafen.

17.05. – 20.05. unter Leitung des Lehrstuhls für Systemverfahrenstechnik (Prof. Dr.-Ing. Heiko Briesen) der TUM mit 20 (7 WMBL) Studenten in den Raum Leipzig und Dresden.

06.06. – 09.06. unter Leitung von Prof. Dr. Dirk Rehmann mit 90 (1 WMBL) Studenten des Studienganges Lebensmitteltechnologie der Hochschule Weihenstephan Triesdorf zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben.

25.09. – 30.09. unter Leitung des Sprachenzentrums der HSWT mit 3 WMBL Studenten nach Andalusien.

26.09. – 29.09. unter Leitung von Prof. Dr.-Ing. Dirk Rehmann im Rahmen des Kurses Innovative, moderne Verfahren der HSWT mit 8 (5 WMBL) Studenten in die Schweiz.

Privatexkursionen:

Neben den universitär organisierten Fachexkursionen wurden im Jahr 2016 auch 15 eigeninitiativ organisierte Exkursionen studentischer Mitglieder zu Fachmessen und -Tagungen bezuschusst. Informationen zur Förderung sowie der Förderantrag finden sich auf der Homepage des Verbandes.

Verleihungsrichtlinien zum Preis für Semester-, Bachelor-, Diplom-, Master sowie Doktorarbeiten

Präambel

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ist einer der traditionsreichsten Hochschulverbände mit über 1900 Mitgliedern. Das stetige Wachsen des Verbands ist eng mit den Erfolgen der Absolventen der Lebensmittelforschung in Weihenstephan verbunden. Der Verband möchte durch die Vergabe eines Preises für herausragende Studien-/Forschungsleistungen die Verbundenheit zu den Forschungsinstituten noch stärker zum Ausdruck bringen und die studentischen Mitglieder dazu ermutigen, sich an den Einrichtungen der Lebensmittelforschung weiter zu engagieren.

Dotierung

Die Preise werden je nach Kategorie mit folgenden Beträgen honoriert:

- Semester- oder Bachelorarbeit: 500 €
- Diplom- oder Masterarbeit: 1000 €
- Doktorarbeit: 2000 €

In jeder Kategorie wird jährlich jeweils ein Preis verliehen.

Auswahlkriterien

- Es muss sich um eine herausragende Arbeit in Zusammenhang mit einer überdurchschnittlichen Gesamtnote handeln.
- Die Arbeit muss thematisch aus einem milchwirtschaftlichen, bio- oder lebensmitteltechnologischen Forschungsbereich kommen.

Bewerbung und Verleihungsverfahren

Die Arbeit muss vom betreuenden Institut bzw. Lehrstuhl nominiert werden. Die Arbeit wird zusammen mit einem Bewerbungsformular (erhältlich unter www.verband-weihenstephan.de) bei der Geschäftsstelle des Verbands Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. zu folgenden Daten eingereicht:

- Semester- oder Bachelorarbeit: bis 30. April
- Diplom- oder Masterarbeit: bis 30. Juni
- Doktorarbeit: bis 30. Juni

Die Arbeit darf als ältestes Datum (Abgabetermin beim Lehrstuhl) den 30. April/Juni des Vorjahres tragen. Der Preis für die Semester-/Bachelorarbeit wird am Weihenstephaner Hoch-schultag verliehen. Die Preise für Diplom-/Master- und Doktorarbeit werden vom Vorstand des Verbands jährlich bei der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung ver-liehen. Nur der Verbandsvorstand ist berechtigt, die Preisträger öffentlich bekannt zu geben.

Jury

Die Jury besteht aus 5 Professoren der TUM und der Hochschule Weihenstephan Triesdorf. 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 Produktion und Supply Chain Management

- *Ablaufplanung in der Käseproduktion*

Abteilung Mikrobiologie

- *Peptidaseproduktion bei Pseudomonas: Analyse des Transkriptoms zur Detektion regulatorischer Elemente*

Abteilung Physiologie

- *Hochauflösendes Immun-Monitoring in Milch und Blut bei Milchkühen*

Abteilung Technologie

- *Vorarbeiten zur Optimierung der Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration: Einfluss von Temperatur, pH-Wert und Ionenstärke auf die Effizienz des Verfahrens*
- *Anteilsfinanzierung für eine neue 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 Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik
85354 Freising, Weihenstephaner Berg 1
Telefon: 0 81 61 / 71 42 05
Telefax: 0 81 61 / 71 43 84
foerderverein.weihenstephan@t-online.de
Bankverbindung: Sparkasse Freising
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	114
2.	Bayerische Milchindustrie eG, Landshut	115
3.	Privatmolkerei Bauer GmbH & Co. KG, Wasserburg/Inn	116
4.	B&L Mediengesellschaft mbH & Co. KG, Bad Breisig	117
5.	DSM Food Specialities Germany GmbH, Düsseldorf	119
6.	Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH , Cham	118
7.	Milchindustrie-Verband e.V., Berlin	120
8.	Molkerei Gropper GmbH & Co., Bissingen	121
9.	Molkerei Weihenstephan GmbH & Co. KG, Freising	123
10.	Zentis GmbH & Co. KG, Aachen	122

Qualität ohne Kompromisse

Seit über 70 Jahren steht ALPMA für ausgereifte Technik, höchste Qualität und langfristige Zuverlässigkeit – durchdachte und praxisorientierte Lösungen in allen Bereichen.

Prozesstechnik
Käsereitechnik
Schneidetechnik
Verpackungstechnik

www.alpma.de

Beste Milch Ideen
aus Tradition

Beste Qualität
Verantwortungsvoll erzeugte Milch
Innovative Produktideen

www.bmi-eg.com

paladin Frankenland BMi Bio Bauern

Ihre Genossenschaftsmolkerei
BMI – Bayerische Milchindustrie eG
Klötzlmüllerstraße 140 · 84034 Landshut
Telefon: +49 (0) 871 685-0

Es ist schwer für eine Familie,
wenn ihr Großer das Haus
verlässt.
Wir erleben das
edeln Tag.
FAMILIENGEFÜHRT
Baues
SEIT 1887
Unser Familienversprechen
✓ tagesfrische Milch
✓ ohne Konser-
vierungsstoffe
✓ ohne Gelatine
Garantiert die Familie Baues
Die Privatmolkerei
Bauer
DER
GROSSE
BAUER®
Erdbeere
250g

B&L MedienGesellschaft mbH & Co. KG

Unser Fach- und Kundenzeitschriften begleiten den gesamteten Weg der Milch: von der Verarbeitung über die Vermarktung, an den POS und direkt bis zum Verbraucher.

B&L MedienGesellschaft mbH & Co. KG • Zehnerstr. 22b • 53498 Bad Breisig • Postfach 1363
T: 0 26 33/45 40-0 • F: 0 26 33/45 40 99 • info@moproweb.de • www.moproweb.de

Verantwortung für Mensch & Natur
Ohne Gentechnik
GOLDSTEIG
KÄSESPEZIALITÄTEN
www.goldsteig.bayern
Bayerns feiner Käse
GOLDSTEIG
Mozzarella
Classic
125g
Bambini Mozzarella
Bambini Mozzarella
GOLDSTEIG
Der Milde aus Bayern
Almdammer
hauchdünn
hauchdünne Scheiben
GOLDSTEIG
Der nussig Feine aus Bayern
Emmentaler
hauchdünn
nussig-fein
hauchdünne Scheiben

Sie wollen Textur und Geschmack verbessern, Ausbeute und Lebensmittelsicherheit erhöhen oder Ihre Prozesswirkungsgrade optimieren? Dank unseres fundierten wissenschaftlichen und anwendungstechnischen Knowhows sind wir in der Lage, eines der umfassendsten Portfolios an Zusatzstoffen für die Milch- und Molkereiindustrie, die derzeit auf dem Markt sind, anzubieten.
In Zusammenarbeit mit Ihnen trägt unser globales Expertenteam dazu bei, die vom Verbraucher gewünschten gesunden, natürlichen und verführerischen Milchprodukte bereitzustellen. Wie unsere innovativen Lösungen für Milchprodukte Ihnen den Weg ebnen können, erfahren Sie bei: **www.dsm.com/food**.

HEALTH · NUTRITION · MATERIALS

DSM
BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.

Der Milchindustrie-Verband e.V. (MIV) ist der Spitzenverband der deutschen Milchindustrie

- Er vertritt rund 80 Unternehmen.
- 95 % der deutschen Milchanlieferung oder rund 30 Mio. t Milch und 90 % des Exportvolumens werden von MIV-Mitgliedern erbracht.
- Mit rund 20 Milliarden Euro Jahresumsatz ist die Milchindustrie der größte Bereich der deutschen Ernährungsbranche.
- Er ist Interessenvertreter und Dienstleister auf regionaler, nationaler, europäischer und internationaler Ebene.

Tätigkeitsfelder sind u.a. neben Agrarpolitik, Marktordnung und Wirtschaft, rechtliche Fragestellungen, Wissenschaft, Forschung und Qualität, auch Sozial- und Tarifpolitik sowie Außenhandel, Umwelt oder Logistik.

Der MIV fördert Forschung und Wissenschaft:

- **MIV-Kompetenznetzwerk-Milch:** Milchindustrie und Wissenschaft als Partner
- **Wissenschaftlicher Beirat des MIV** mit Experten der Natur-, Rechts- und Wirtschaftswissenschaft
- **MIV-Ideenbörse Forschung:** Generierung praxisnaher Forschungsideen
- **MIV-Arbeitsgruppe Forschung:** Initiierung, Prüfung und Koordinierung von milchspezifischen Projekten der Gemeinschaftsforschung, die Milchindustrie ist die forschungsintensivste Lebensmittelbranche
- Jährliche Vergabe des **Milch-Wissenschaftlichen Innovationspreises**

Milchwissenschaft und –forschung: eine Chance für Milchindustrie und Wissenschaft

Milchindustrie-Verband e.V. | Jägerstraße 51 | 10117 Berlin
Ansprechpartnerin Wissenschaft: Dr. Gisela Runge
Tel.: +49 30 4030445-19 | Fax: +49 30 4030445-57 | E-Mail: runge@milchindustrie.de
www.milchindustrie.de & www.meine-milch.de

Milch
DE
BY 77723
EG
Qualität
Ohne
Gentechnik
BEI MILCH IM TREND:
Regionalität und
Natürlichkeit...
... für die Molkerei Gropper seit langer Zeit eine Selbstverständlichkeit. Wir beziehen unsere Milch größtenteils aus der Region - sowohl in Bio Qualität als auch konventionell erzeugt mit VLOG Zertifizierung. Dies sichert unseren stetigen Erfolg auf nachhaltige Weise. Gut für die Umwelt, unsere Kunden und uns.
Mehr über uns erfahren Sie unter www.gropper.de
Molkerei Gropper GmbH & Co. KG
Am Mühlberg 2
86657 Bissingen
www.gropper.de
/molkerei.gropper
GROPPER
QUALITÄT & IDEEN SEIT 1929

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
seit 1893
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

Weihenstephan
Für stets frischen Milchgenuss
Jetzt auch in klein
Weihenstephan
Haltbare
Milch
1,5 % Fett
1 Liter e
Haltbare Vollmilch
Weihenstephan
Haltbare
Milch
3,5 % Fett
www.molkerei-weihenstephan.de

www.druckmedienzentrum.de

d | m | z
druckmedienzentrum

Bei uns dreht sich alles um Sie und Ihre Wünsche!

Sie erhalten bei uns Erstberatung, Satz und Layout, Offset- bzw. Digitaldruck und Weiterverarbeitung. Wir machen alles dafür, damit Sie ein erstklassiges Druckprodukt bekommen.

Aufkleber
Banner / Roll-Ups
Briefbogen
Briefhüllen
Broschüren
Bücher
Flyer / Karten
Kataloge
Mappen
Vereinszeitungen
und vieles mehr

Testen Sie uns!

Durch unseren Digitaldruck sind alle Produkte auch in kleinen Auflagen erhältlich.

Druckmedienzentrum Gotha GmbH | Verkaufsbüro Süd – Jürgen Eitner
Am Mühlbachbogen 4 a · 85368 Moosburg · Tel. (0 87 61) 7 29 78 78 · j.eitner@druckmedienzentrum.de