TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt Technische Universität München

Jahresbericht 2019

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am Wissenschaftszentrum Weihenstephan

Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan

Jahresbericht 2019
über die milchwissenschaftliche Forschung
am Wissenschaftszentrum Weihenstephan
der Technischen Universität München
in der Zeit vom
1. Januar 2019 bis 31. Dezember 2019

62. Band 2019
Weihenstephan, März 2020

IMPRESSUM

Herausgeber:

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

Fax: 08161-71 -4384
Tel: 08161-71 -2507
info@verband-weihenstephan.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, Prof. Dr. M. Pfaffl, Univ.-Prof. Dr. S. Scherer,

Der Jahresbericht über die Milchwissenschaftliche Forschung 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, 2020

ISBN 978-3-947492-16-9

© 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 2
Personal 2
Auszeichnungen 4
Forschung 7
I. Laktationsphysiologie 7
II. Reproduktionsbiologie 10
III. Bioanalytik 12
IV. Biomarker 16
V. Sonstige Publikationen 20
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 21
Vorträge 22
Kurzfassungen (Abstracts & Proceedings) 24

Lehrstuhl für Marketing und Konsumforschung 30

Personal 30
Forschung 31
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 37
Veröffentlichungen 39

Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie
ZIEL Institute for Food & Health (Abt. Mikrobiologie) 41
Personal 41
Forschung 43
Arbeitsgruppe: Hygiene und Mikrobiota von Rohmilch 43
Arbeitsgruppe: Hitzeresistente Sporenbildner 46
Arbeitsgruppe: Ökologie und hitzeresistente Peptidasen von Pseudomonas in Rohmilch 49
Arbeitsgruppe: Taxonomie und Biodiversität 53
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 56
Veröffentlichungen 56

Seite

Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik
ZIEL Institute for Food & Health (Abt. Technologie) 58
Personal 58
Vorwort 59
Auszeichnungen 60
Forschung 61
Forschungsgebiet Bioprozesstechnik 61
Forschungsgebiet Strukturbildung und -charakterisierung 65
Forschungsgebiet Trenntechnik 83
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 101
Vorträge 102
Posterpräsentationen 104
Veröffentlichungen 105
Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen 107
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen 108

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler,
Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. 109
Struktur des Verbandes 109
Zielsetzungen des Verbandes 110
Bericht aus Weihenstephan und dem Verbandsleben 111
Versammlungen und geförderte Exkursionen 116
Verleihungsrichtlinien 117

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen
Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. 118
Vorstand 118
Zweck und Ziele der Fördervereinigung 118
Beitragsordnung 120
Informationstransfer – Mitgliederinformation 120
Beitrittserklärung 121

Technischer Teil 122

Vorwort

Der Jahresbericht der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am Wissenschaftszentrum Weihenstephan 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
Internet: http://physio.wzw.tum.de
e-Mail: physio@wzw.tum.de

Personal

Leitung:	Univ.-Prof. Dr. med. Dietmar Zehn	71-3508
Wissenschaftler:	Prof. Dr. agr. Michael W. Pfaffl	71-3511
	Prof. Dr. med. vet. Dieter Schams, a.D.	71-3510
	Graf von Silva-Tarouca, Benjamin, Dr.med.vet. bis 30.06.19	71-3314
	Julie Cullen bis 31.12.2019	71-3314
	Anna Schulz, Dr. rer.nat.	71-3510
	Talyn Chu, Dr., seit 19.08.2019	71-3314
Lehrbeauftragter:	Prof. Dr. Bajram Berisha, Universität Prishtina	71-3510
Sekretariat:	Sabine Saul-Hubrich (Teilzeit)	71-3556
	Tanja Münchmeyer (Teilzeit)	71-3508
	Gertraud Mayer (Minijob)	71-3508
Mitarbeiter:	Charline Amette, TA	71-3510
	Josephine Baum, TA	71-3510
	Brigitte Dötterböck, TA (Teilzeit)	71-5556
	Waltraud Schmid, TA	71-5544

Gäste: **Chiang Meng-Lin Dapi**, Biovesicle Inc., Taiwan – seit 15.10.2017

Andrović Peter, Palacky-Universität Olomouc,
Febs Short-Term Fellowship von Febr. 2018 bis August 2018

Lione Lucia, Univeristy of Catanzaro, Sept. 2018 bis May 2019

Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:

M.Sc. Agrarwissenschaft: Christiane Schmautz (bis 01.10.2019)

M.Sc. Biologie: Benedikt Kirchner (seit 01.06.2011)
Madlaina von Hößlin (seit 15.01.2016)
Stefanie Scherer (bis 08.10.2019)
Stefanie Nastasja Hermann (seit 01.02.2017)

M.Sc. Biochemie: Kristiyan Kanev (seit 01.09.2015)
Markus Flosbach (seit 01.01.2016)

M.Sc. Molekulare Biotechnologie:
Dominik Buschmann (bis 29.07.2019)
Francesca Alfei (bis 18.09.2019)
Alex Hildebrandt (seit 01.05.2018)
Miriam Kuhlmann (seit 15.03.2019)
Christian Grätz (seit 01.06.2019)
Jacqueline Berner (seit 01.07.2018)

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

M.Sc. Nutrition and Biomedicine: Veronika Mussack (seit 01.07.2016)

Software Engineering: Ming Wu (seit 25.11.2017)

Tierärztin: Sabine Farschtschi (seit 01.05.2017)
Ronja Binder (seit 01.12.2019)

Auszeichnungen:

Heinz Maier-Leibnitz-Medaille 2019 für Herrn Prof. Dr. Michael Pfaffl

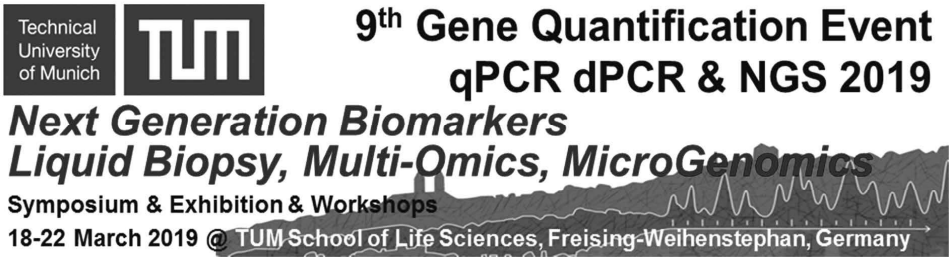
Mit der Heinz Maier-Leibnitz-Medaille ehrt die Technische Universität München (TUM) Persönlichkeiten in Anerkennung ihrer herausragenden wissenschaftlichen oder medizinischen Leistungen, mit denen sie sich als hervorragende Lehrer und Forscher um die Verdienste der Technische Universität München erworben haben. Prof. Dr. Michael Pfaffl vom Lehrstuhl für Tierphysiologie & Immunologie am Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, erhielt die Heinz Maier-Leibniz-Medaille 2019 am 23. Juli im Rahmen der Eröffnung der TUM Forschungsstation Friedrich N. Schwarz in Berchtesgaden. Gewürdigt wurden seine herausragenden, international beachteten und vielzitierten Forschungsarbeiten vor allem zur relativen Quantifizierung von mRNA durch real-time RT-PCR, im Besonderen die sehr hoch zitierte Publikation *"A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR'; Nucleic Acids Research, 2001"* mit mehr als 20.000 Zitierungen weltweit. Seine methodischen Arbeiten zur relativen Quantifizierung von RNA gehören zu den international meistzitierten der jüngeren Geschichte der TUM (Quelle TUM 2019).

Der Milch Industrie Verband (MIV) zeichnet den Tierphysiologen Prof. Dr. Michael Pfaffl mit dem Milch-Wissenschaftlicher Innovationspreis 2019 aus. Die Verleihung fand im Rahmen des 44. Wissenschaftlichen Beirates des Verbandes in Hamburg statt.

Der Preis steht für innovative und praxisnahe Leistungen aus den verschiedenen Wissenschaftsbereichen rund um die Milch. Die Wahl fiel in diesem Jahr auf einen Wissenschaftler, der sich um die Steigerung der Tiergesundheit und des Tierwohles bei Milchkühen verdient gemacht hat. Hierbei geht es um die Entwicklung von Biomarker-Signaturen für Mastitiden und andere Krankheiten und letztlich die Möglichkeit der Frühdiagnostik. Nachhaltig wird so der Selektionserfolg auf stoffwechselstabile und gesunde Kühe maximiert und die Zuchtwertschätzung für Gesundheit sowie Milchinhaltsstoffe optimiert.

„Mit der Vergabe des Milch-Wissenschaftlichen Innovationspreises 2019 an Herrn Prof. Dr. Michael W. Pfaffl von der Technischen Universität München durch die Unternehmen des Milchindustrie-Verbandes werden seine langjährige wissenschaftlich fundierte Basisarbeit, seine aktive Unterstützung der Milchindustrie sowie seine zukunftsweisenden Gedanken und Arbeiten zur Forschung auf tierphysiologischer Ebene mit einem „Mehr an Nachhaltigkeit“ gewürdigt. Die Erkenntnisse helfen der Milchbranche gezielt, praxisnah Einfluss auf die Tiergesundheit zu nehmen“, so Herr Hans Holtorf, stellv. Vorsitzender des Milchindustrie-Verbandes (Quelle MIV 2019)

Tagungen:



"Next Generation Biomarkers: Liquid Biopsy, Multi-Omics, und MicroGenomics"

Das Gene Quantification 2019 Symposium wurde zum neunten Mal an der „School of Life Sciences" vom Lehrstuhl für Tierphysiologie & Immunologie der Technischen Universität München, am Standort Freising-Weihenstephan vom 18. – 22. März 2019 durchgeführt. www.qPCR-dPCR-NGS-2019.net

Eingeladen waren weltweit agierende Wissenschaftler und Firmen auf dem Feld der Gene Quantifizierung, die mit den Methoden der quantitativen real-time PCR (qPCR), digital PCR (dPCR), sowie Next Generation Sequencing (NGS) arbeiten. Während der fünf Konferenztage tauschten ca. 420 internationale Wissenschaftler aus 35 Ländern ihre Ideen und Erfahrungen aus und diskutierten die faszinierende Zukunft dieser innovativen molekularen Techniken. In den folgenden Tagungsschwerpunkten wurden insgesamt 66 Vorträge und 86 Posterbeiträgen präsentiert: Next-Generation Biomarkers, Liquid Biopsy, Zirkulierende Nukleinsäuren, MicroGenomics, Einzell-qPCR-Diagnostik, Digitale PCR, Next Generation Sequencing auf DNA und RNA Ebene, nicht-codierende-RNAs (microRNA, siRNA, piRNA, long non-coding RNAs), Biostatistik & Bioinformatik, Multi-Omics & Integrative Big Data Analysis, qPCR Hochdurchsatzapplikationen, Strategien der Systembiologie, Molekulare Diagnostik in der Landwirtschaft und Veterinärmedizin, sowie neuste Aspekte der Standardisierung und Optimierung quantitativer Methoden (z.B. MIQE Guidelines).

Neben dem Symposium wurden auch noch einige Bioinformatik Workshops, sowie praktische dPCR und qPCR Workshops angeboten. Eine Industrieausstellung in der Aula des zentralen Hörsaalgebäudes am WZW mit über 40 Ständen rundete den Event ab.

Ausgewählte Beiträge sind in einem Special Issue der Zeitschriftenreihe Biomolecular Detection and Quantification 2019 (Vol 17) mit dem Titel *"Liquid Biopsy & Next Generation Biomarkers*" publiziert, welches vom verantwortlichen Veranstalter Prof. Michael W. Pfaffl editiert wurde. Alle Kurzfassungen der Vorträge und Poster sind in den Proceedings des 9th Gene Quantification Event (qPCR dPCR NGS 2019) – *Next Generation Biomarkers -- Liquid Biopsy, Multi-Omics, MicroGenomics* - zusammengefasst.

Zum ersten Mal fand das GSEV & ASEV Herbst Meeting 2019 von 28. – bis 30. November im Zentralen Hörsaalgebäude der TUM in Freising Weihenstephan statt.

Die Deutsche (GSEV) und die Österreichische (ASEV) Gesellschaft für extrazelluläre Vesikel veranstalteten dieses internationale Symposium, bei dem ca. 240 Wissenschaftler überwiegend aus Europa zusammen fanden. Es wurden 39 Vorträge und 35 Poster in den folgenden Sessions präsentiert: MISEV Guidelines, Charakterisierung von Extrazellulären Vesikeln, neue EV Methoden, Diagnostische EVs (neue und frühe EV Biomarker), Therapeutische EVs, und die Biologie und Physiologie der EVs. Eine Industrieausstellung mit 14 Firmen und zwei praktische Workshops am Samstag, einer zur EV Isolation aus Biofluids, sowie zur EV RNA Analyse, vervollständigten das Jahrestreffen.

Begleitend zum Herbstmeeting wurde ein Trillium Band herausgegeben, mit den wichtigsten Grundlagen zu EVs (Trillium Extracellular Vesicles 2019 1(1). Alle Kurzfassungen der Vorträge und Poster sind in den Proceedings zusammengefasst, editiert von Prof. Dr. Michael Pfaffl.

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Der positive Effekt von Bauernhof-Milch Konsum auf Asthma, Allergien und Infektionen: Von Meta-Analysen zu klinischen Studien

The beneficial effect of farm milk consumption on asthma, allergies, and infections -- from meta-analysis of evidence to clinical trial.

Tabea Brick[1], Kasper Hettinga[2], Benedikt Kirchner[3], Michael W. Pfaffl[3], and Markus Johannes Ege[1,4] (2019)
[1]Dr von Hauner Children's Hospital, LMU Munich, Munich, Germany; [2]Dairy Science and Technology, Food Quality and Design Group, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands; [3]Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences, Technical University of Munich, Freising, Germany; [4]Comprehensive Pneumology Centre Munich (CPC-M), Member of the German Center of Lung Reseach (DZL), Munich, Germany;
JACI – In Practise (accepted in November 2019)

Die geringe Prävalenz von Asthma und Allergien in Bauernhof-Kindern wurde zum Teil dem Konsum von roher Kuhmilch zugeschrieben. Eine Literatursuche identifizierte 12 Veröffentlichungen über 8 einschlägigen Studien. Eine Meta-Analyse unterstützte den schützenden Effekt von Rohmilch-Verzehr in frühen Kinderjahren (<1-5 Jahre, gemäß den

Studien) auf Asthma (Chancenverhältnis [odds ratio OR], 0.58; 95% CI, 0.49-0.69), aktuelle Atemgeräusche (OR, 0.66; 95% CI, 0.55-0.78), Heuschnupfen oder allergische Rhinitis (OR, 0.68; 95% CI, 0.57-0.82) und atopische Sensibilisierung (OR, 0.76; 95% CI, 0.62-0.95). Dieser Effekt, im Speziellen auf Asthma, konnte nicht nur in Kindern beobachtet werden, die auf Bauernhöfen aufwuchsen (OR, 0.62; 95% CI, 0.58-0.82), sondern auch in Kindern, die zwar in ländlichen Gegenden lebten aber nicht direkt auf einem Bauernhof (OR, 0.60; 95% CI, 0.48-0.74). Dies zeigt dass die Wirkung von Bauernhof-Milch Konsum unabhängig von anderen Bauernhof-Expositionen ist und dass selbst Kinder, die nicht auf einem Bauernhof leben theoretisch ebenfalls von diesem Effekt profitieren können. Durch die zwar minimal aber reelle Gefahr einer lebensbedrohlichen Infektion, wird jedoch vom Konsum von Rohmilch und Produkten daraus vollständig abgeraten. Rohmilch und industriell prozessierte Milch unterscheiden sich in vielen Punkten inklusive dem Entfernen der zellulären Komponenten, der Manipulation der Fettfraktion und dem Grad der Erhitzung. Vorläufige Ergebnisse schreiben diesen Effekt den hitze-labilen Molekülen und Komponenten in der Fettfraktion zu. Die Studie *„Milk Against Respiratory Tract Infections and Asthma (MARTHA)“* testet zurzeit den protektiven Effekt von mikrobiell sicherer, minimal prozessierter Kuhmilch im Vergleich zu gebräuchlicher ultra-hoch erhitzter Milch bei Kindern im Alter von 3 Monaten bis 6 Jahren mit dem primären Ausgang einer Asthma Diagnose bis zum 5. Lebensjahr. Sollte die Studie erfolgreich verlaufen, könnte dies eine einfache aber effektive Präventions-Strategie darstellen.

MicroRNA aus Vollmilchproben ist nicht zur Trächtigkeitserkennung in Kühen geeignet

miRNAs of whole milk samples are not suitable for pregnancy detection in cattle.

Corina I. Schanzenbach[1], Benedikt Kirchner[2], Susanne E Ulbrich[1] and Michael W. Pfaffl[2] (2019)
[1]Animal Physiology, Institute of Agricultural Science, Department of Environmental Systems Science, ETH Zürich, Zurich, Switzerland; [2]Animal Physiology and Immunology, Department of Animal Sciences, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München, Freising, Germany;
Gene (2019) 692: 17-21

Gewöhnliche Methoden zur Trächtigkeitserkennung in Milchkühen können erst relativ spät angewandt werden und haben somit zeitliche sowie Sensitivität-Einschränkungen. Aus diesem Grund war es unser Ziel neue frühe Biomarker zur Trächtigkeitsdiagnostik in Milch zu finden. In einer vorherigen Studie in Milchzellen und Magermilch wurden einige mögliche kurze RNAs = microRNAs (miRNAs) für diesen Zweck vorgeschlagen. Um die Probengewinnung für den täglichen Gebrauch handlicher zu machen und um die Milchfettfraktion in die Analyse zu integrieren wurde hier eine ähnliche Studie mit Vollmilchproben von Tag 4, 12, 18 und 21 aus trächtigen und nicht-trächtigen Milchkühen untersucht. Die miRNAs wurden aus den Milchproben extrahiert und auf einem Hochdurchsatz Sequenzierer (small-RNA Seq) sequenziert. Vielversprechende miRNA Kandidaten wurden mittels RT-qPCR validiert. Einige miRNAs waren signifikant reguliert und sechs miRNAs (bta-miR-221, bta-miR-223, bta-miR-93, bta-miR-200c, bta-miR-125b und bta-miR-15b) zeigten einen kontinuierlichen Trend, ähnlich zu dem in Milchzellen der vorherigen Studie. Allerdings konnten trächtige und zyklische Tiere nicht vollständig voneinander unterschieden werden und auch die Validierung mittels Reverse-Transkription, gefolgt von einer Polymerasen Ketten Reaktion (RT-qPCR) der RNA Sequenzierdaten war nicht zufriedenstellend. Daher ergab sich die Schlussfolgerung, dass miRNA Proben aus boviner Vollmilch nicht zur Detektion früher Trächtigkeit geeignet sind.

Veränderung der intestinalen Mikrobiota von *Clostridium difficile* infizierten Hamstern während der Behandlung mit spezifischen bovinen Antikörpern

Treatment and prevention of recurrence of Clostridium difficile infection with functionalized bovine antibody-enriched whey in a hamster primary infection model.

Hans-Jürgen Heidebrecht[1], William J Weiss[5], Mark Pulse[5], Anton Lange[7], Karina Gisch[7], Heike Kliem[3], Sacha Mann[6], Michael W. Pfaffl[3,4], Ulrich Kulozik[1,2], Christoph von Eichel-Streiber[7] (2019)
[1]Chair of Food and Bioprocess Engineering, Technical University of Munich, Germany; [2]ZIEL Institute for Food & Health, Technical University of Munich, Germany; [3]Chair of Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, Germany; [4]School of Life Science, Technical University of Munich, Germany; [5]University of North Texas Health Science Center; [6]Biosys UK Limited, London, United Kingdom; [7]tgcBIOMICS GmbH, Bingen, Germany
Toxins, Topical Collection "*Clostridium difficile/Clostridium sordellii* and *Clostridium perfringens* Toxins"; *Toxins* (2019) *11*(2): 98

Die Toxin-induzierte *Clostridium difficile* Infektion (CDI) ist eine schwere Darminfektion, die gekennzeichnet ist durch schwere Durchfälle und hohe Morbiditätsraten. Ziel dieser Studie war es, ein alternatives Medikament zur Behandlung von CDI zu entwickeln. Kühe wurden wiederholt immunisiert, um spezifische Immunglobulin-G- und -A-Titer gegen die Toxine A (TcdA) und B (TcdB) und gegen *C. difficile* Zellen in reifer Milch oder Kolostrum zu induzieren. Die Wirkung von drei verschiedenen Konzentrationen von anti-*C. difficile* Molkenprotein-Isolaten (anti-CD-WPI) und dem Standard-Antibiotikum Vancomycin wurde in einem Tiermodell von CD-infizierten Hamstern (6 Gruppen mit je 10 Hamstern) untersucht. WPI, welches aus der Milch derselben Kühe vor der Immunisierung gewonnen wurden, und eine Gruppe die nur den Lösungspuffer bekam, dienten als Negativkontrolle. Die Überlebensrate der Hamster, die anti-CD-WPI erhielten, betrug 50, 80 und 100%, verglichen mit 10 und 0% für die Kontrollgruppen. Vancomycin unterdrückte das Wachstum von *C. difficile* und schützte so die Hamster zum Zeitpunkt der Verabreichung, aber 90% dieser Hamster starben dennoch kurz nach Absetzen der Behandlung. Im Gegensatz dazu überlebten mit anti-CD-WPI behandelten Gruppen den gesamten Studienzeitraum, obwohl sie nur 75 h therapiert wurden. Die spezifischen Antikörper inaktivierten nicht nur die Toxine zur anfänglichen Unterdrückung von CDI, sondern bewirkten auch die Hemmung des Wachstums von *C. difficile* nach dem Absetzen der Therapie und verhinderten so ein Wiederauftreten.

Die orale Verabreichung von Anti-CD-WPI ist eine funktionelle Therapie von CDI bei infizierten Hamstern sowohl zur Primärbehandlung als auch zur Rezidivprophylaxe. Somit könnte anti-CD-WPI den dringenden medizinischen Bedarf für die Behandlung und Prävention von rezidivierenden CDI beim Menschen decken.

II. Reproduktionsphysiologie

Blastozysten zeigen geschlechtsspezifische Signale der Inteferon tau (IFNT) Transkription, -Translation und -Aktivität.

Blastocysts depict sex-specific signaling of IFNtau transcription, translation and activity.

Corina I. Schanzenbach[1], Sandra Bernal[1], Vera van der Weijden[1], Michael W. Pfaffl[2], Mathias Büttner[3], Annegret Wünsch[4], Susanne E. Ulbrich[1] (2019)
[1]Animal Physiology, Institute of Agricultural Science, Department of Environmental Systems Science, ETH Zürich, Zurich, Switzerland; [2]Animal Physiology and Immunology, Department of Animal Sciences, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München, Freising, Germany; [3]Bavarian Health and Food Safety Authority, Oberschleissheim, Germany; [4]Ludwig-Maximilians-Universität München, Chair for Molecular Animal Breeding and Biotechnology, Munich, Germany
Reproduction. 2019, 157 (3): 245–258

Überstände von bovinen Präimplantationsblastozysten zeigen geschlechtsabhängige Antiviralität aufgrund des Trächtigkeitserkennungssignals von Wiederkäuern mittels Interferon tau (IFNT). Als Grund hierfür wurden unterschiedlich potente IFNT Varianten vorgeschlagen. Die Beweise für diese Hypothese sind jedoch sehr rar. In dieser Arbeit strebten wir an, die geschlechtsabhängige IFNT Produktion auf Ebene der Transkription, Translation und biologischer Aktivität in bovinen Blastocysten zu quantifizieren um den Grund der Unterschiede in antiviraler Aktivität zwischen männlichen und weiblichen Blastozysten herauszufinden.

Bovine Blastozysten wurden am Tag 8 mit endometrialen Stroma Zellen für 48 Stunden co-kultiviert. Die embryonale IFNT mRNA Expression wurde mittels quantitativer Reverser-Transkription, gefolgt von einer Polymerasen Ketten Reaktion (RT-qPCR) bestimmt. Zusätzlich wurde die IFNT Protein Konzentration mittels eines sensitiven, selbst entwickelten, IFNT-spezifischen Enzyme-linked-Immunosorbent Assay (ELISA) bestimmt. Die biologische Aktivität wurde gemessen indem die Genexpressionsantwort Interferon stimulierter Gene (ISG) in endometrialen Stroma Zellen quantifiziert wurde.

Während der IFNT spezifische ELISA ein Detektionslimit von 7,3 pg/ml aufwies, zeigten das Stroma Zell-Kultursystem eine Reaktion bis zu 0,1 pg/ml IFNT in RT-qPCR Analyse. Die weiblichen Blastozysten hatten eine signifikant (bis 5,6 mal) höhere IFNT Produktion als männliche Blastozysten, gemessen anhand Transkriptmenge, Proteinkonzentration und -aktivität. Zusätzlich korrelierten alle Parameter positiv. Daraus schließen wir, dass weibliche Blastozysten höchst wahrscheinlich erhöhte Mengen an IFNT Gene und Protein Expression zeigen und nicht potentere IFNT-Varianten für den Unterschied verantwortlich sind.

Prostaglandine in Superovulation-induzierten Follikeln während der prä-ovulatorischen Phase und im frühen Corpus luteum.

Prostaglandins in Superovulation induced Bovine Follicles during the Periovulatory Period and Early Corpus Luteum.

Berisha B[1,2], Rodler D[3], Schams D[2], Sinowatz F[3], Pfaffl MW[2]
[1]Department of Animal Biotechnology, Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Prishtina, Kosovo.
[2]Animal Physiology and Immunology Weihenstephan, Technical University of Munich, Munich, Germany.
[3]Department of Veterinary Sciences, Ludwig Maximilian University of Munich, Munich, Germany.
Frontiers in Endocrinology 2019. 10, 467.

Das Ziel dieser Studie war es das Regulierungsmuster einiger Prostaglandine in bovinen Follikeln während der prä-ovulatorischen Phase und im frühen Corpus luteum (CL) zu charakterisieren. Namentlich wurden folgende Prostagalandine der Familie untersucht: Prostaglandin F2alpha (PTGF), Prostaglandin E2 (PTGE), als auch ihre Rezeptoren (PTGFR,

PTGER2, PTGER4), Cyclooxygenase 2 (COX-2), PTGF Synthase (PTGFS) und PTGE Synthase (PTGES). Ovarien, die prä-ovulatorische Follikel enthielten, wurden durch transvaginale Ovariektomie (n= 5 Kühe/Gruppe) gewonnen und die Follikel wurden folgendermaßen in sechs Gruppen (I-VI) klassifiziert: (I) vor der GnRH Behandlung; (II) 4 h nach GnRH Behandlung; (III) 10 h nach GnRH Behandlung; (IV) 20 h nach GnRH Behandlung; (V) 25 h nach GnRH Behandlung und (VI) 60 h nach GnRH Behandlung (frühes CL). Bei diesen Proben wurden die Konzentrationen von Progesteron (P4), Östradiol (E2), PTGF und PTGE in der Follikelflüssigkeit (FF) durch ein etabliertes EIA gemessen. Die relative RNA-Gehalt der Gene, welche für die Prostaglandin Rezeptoren (PTGFR, PTGER2, PTGER4), COX-2, PTGFS und PTGES kodieren, wurden durch ein RT-qPCR quantifiziert. Die Lokalisationen von COX-2 und PTGES wurden durch etablierte Immunhistochemie ermittelt, bei der fixierte Gewebeproben von Follikeln und Corpora lutea verwendet wurden. Der hohen Konzentration in der FF der Follikelgruppe vor der GnRH Behandlung (495.8 ng/ml) und während des Anstiegs des Luteinisierungshormons (LH) (4 h nach GnRH Behandlung, 574.36 ng/ml), folgte im Anschluss eine signifikante Herunterregulierung $P<0.05$), mit niedrigstem Level während der Ovulation (25 h nach GnRH Behandlung, 53.11 ng/ml). Im Gegensatz dazu war die Konzentration von P4 vor dem LH Anstieg sehr niedrig (50.64 mg/ml), zeigte jedoch eine bedeutende Hochregulierung ($P<0.05$) während der Ovulation (537.18 ng/ml). Die mRNA-Expression von COX-2 stieg signifikant an ($P<0.05$), 4 h nach GnRH Behandlung und ein weiteres Mal 20 h nach GnRH Behandlung, gefolgt von einer bedeutenden Abnahme ($P<0.05$) nach der Ovulation (frühes CL). Die mRNA-Expression von PTGFS in den Follikeln vor der GnRH Behandlung war hoch, zeigte aber anschließend eine kontinuierliche und signifikante Herunterregulierung ($P<0.05$). Im Vergleich dazu stieg der Gehalt der PTGES-mRNA in Follikeln 20 h nach GnRH Behandlung deutlich erkennbar an ($P<0.05$) und verblieb im Anschluss gleichermaßen hoch. Der mRNA Gehalt von PTGFR, PTGER2 und PTGER4 in Follikeln vor GnRH Behandlung war hoch, gefolgt von einer nachfolgend kontinuierlichen und signifikanten Herunterregulierung, mit nur einem bemerkenswerten Anstieg ($P<0.05$) nach der Ovulation (frühes CL). Die niedrigen Konzentrationen von PTGF (0.04 ng/ml) und PTGE (0.15 ng/ml) in der FF vor der GnRH Behandlung stiegen gleichmäßig in Follikelgruppen vor der Ovulation an und zeigten weiterhin einen bedeutsamen drastischen Anstieg ($P<0.05$) während der Ovulation (101.01 ng/ml, beziehungsweise 484.21 ng/ml). Immunhistochemisch konnte ein deutliches Signal für COX-2 und PTGES in den Follikelzellen von prä-ovulatorischen Follikeln und in Granulosa-Lutein-Zellen des frühen CL nachgewiesen werden. Als Schlussfolgerung zeigen unsere Ergebnisse, dass die untersuchten Mitglieder der bovinen Prostaglandin-Familie in lokale Mechanismen involviert sind, welche während der Umwandlung der Follikelzellen in Luteinzellen und der Bildung des CL die finale Follikelreifung und Ovulation induzieren.

III. Bioanalytik

Ein Plädoyer für die Einhaltung der MIQE-Richtlinien bei qPCR Daten in der forensischen Genforschung

Pleading for adherence to the MIQE-Guidelines when reporting quantitative PCR data in forensic genetic research.

Cornelius Courts[1], Michael W. Pfaffl[2], Eva Sauer[3], Walther Parson[4] (2019)
[1]University Hospital of Schleswig-Holstein, Institute of Forensic Medicine, Kiel, Germany; [2]Technical University of Munich, Animal Physiology & Imunology, Freising, Germany; [3]State Office of Criminal Investigation of Rheinland-Pfalz, Mainz, Germany; [4]Innsbruck Medical University, Institute of Legal Medicine, Innsbruck, Austria
Forensic Science International -- Genetics (2019) 42: e21–e24

In diesem Artikel werden die Bedeutung der zuvor definierten MIQE-Richtlinien *„Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments“* für Studien zur quantitativen oder Echtzeit-PCR vorgestellt und diskutiert. Die Autoren schlagen deren Implementierung in das Fachgebiet der forensischen Genetik vor. Die Genomik, die Epigenomik oder die Transkriptomik sind heute in molekularbiologischen Labors weltweit etabliert. Daher kann die Quantifizierung von DNA oder RNA entweder an ganzen Genen oder an kleinen Fragmenten (z.B. kleine RNA, microRNA) durch quantitative Echtzeit-PCR (qPCR) oder in Kombination mit der Reversen-Transkription (RT) durchgeführt werden. Heute ist RT-qPCR der Stand der Technik in allen molekularanalytische Laboren. Aufgrund der vielfältigen wissenschaftlichen Fragestellungen, die in solchen Studien behandelt werden, verwendet die Wissenschaft eine Vielzahl von Methoden, Versuchsanordnungen, Nukleinsäure-Isolationstechniken, Chemikalien, Verbrauchsmaterialien und Instrumente zur Quantifizierung. Dies schafft eine breite Palette von angewandten Protokollen und veröffentlichten Methoden, die die abgeleiteten quantitativen Daten sehr heterogen machen, was viel technische Varianz verursacht. Weiterhin wird festgestellt, dass die angewandten Methoden nicht immer korrekt beschrieben und publiziert werden und in den meisten Fällen nur fragmentierte Informationen in den Manuskripten bereitgestellt werden. Vor allem das Fehlen von Informationen zur molekularen Lokalisierung der Primer, unvollständige Assay- oder Hardware-Informationen, fehlende PCR-Effizienzdaten oder unangemessene Analyse von qPCR-Daten ohne geeignete Normalisierungsstrategien kommen gehäuft vor. Für die RNA-Quantifizierung mangelt es aufgrund der Wahl des geeigneten RT-Enzyms an einer Bewertung der Integrität und der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Um diese Probleme anzugehen, hat die PCR Community allgemeine Empfehlungen entwickelt, die als MIQE-Richtlinien bekannt sind. Wir plädieren mit diesem Artikel diese in die forensische Genetik und Forschung zur Steigerung der Qualität und Glaubwürdigkeit zu übernehmen.

Nukleinsäuren: RNA Identifikation und Quantifizierung mittels RT-qPCR

Nucleic acids: RNA identification and quantification via RT-qPCR.

M.W. Pfaffl, D. Buschmann, V. Mussack, B. Kirchner, B. Berisha (2019)
Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition), Editors: Paul Worsfold, Colin Poole, Alan Townshend, Manuel Miró, Academic Press, 2019, Pages 35-44

Quantitative molekulare Technologien sind heutzutage in jedem biologischen Labor vorzufinden. Dies führt zu einem immensen Fortschritt in der Datengenerierung, die für die molekulare Diagnostik und die Erstellung von Biomarker-Signaturen nützlich sein könnten. Die quantitative Bewertung von Zielnukleinsäuren ist eine dieser hoch entwickelten Methoden, welche meist als quantitative Polymerase-Kettenreaktion (qPCR) auf DNA-Ebene

oder kombiniert mit der Reversen Transkriptions-PCR (RT-qPCR) auf RNA-Ebene angewendet wird. Die Mehrheit der Genexpressionsstudien quantifiziert mRNAs, aber die Forschung anderer RNA-Klassen, wie nicht-kodierende RNAs, entwickelt sich schnell. Vor allem kleine microRNA oder piRNA sowie die langen nicht-kodierenden RNAs sind hier zu nennen. In diesem Kapitel konzentrieren wir uns auf die Quantifizierung der beiden wichtigsten RNA-Unterfamilien in der molekularen Physiologie, nämlich mRNAs und microRNAs.

Bei der Quantifizierung der gewebsspezifischen Expression dieser RNA-Unterklassen und der Erwartung zuverlässiger Ergebnisse auch in Geweben mit geringer RNA Ausbeute werden hoch spezifizierte Methoden und standardisierte Analyseprotokolle benötigt. Wenn sich die Wissenschaftler strikt an die MIQE-Richtlinien halten, ist eine sensitive und reproduzierbare Quantifizierung bis hinunter zu einigen wenigen RNA-Molekülen möglich. Das Ziel einer vollständigen quantitativen und MIQE-konformen Methode ist es, so genau und zuverlässig wie möglich die Anzahl der Zielmoleküle zu messen, die in einer biologischen Probe vorzufinden sind.

Eine derart genaue und zuverlässige Quantifizierung von gering exprimierten Genen wird allerdings nur durch wenige PCR-Methoden ermöglicht. In den ersten Tagen der quantitativen RT-PCR wurde hauptsächlich der intern standardisierte, kompetitive RT-PCR-Ansatz verwendet. Dabei wurde sehr zeitaufwändig und arbeitsintensiv eine synthetische Referenz-RNA-Mutante rücktranskribiert und bei RT und PCR mit der nativen Ziel-mRNA-Sequenz co-amplifiziert. Die resultierenden RT-PCR-Produkte wurden entweder durch HPLC-Trennung/UV-Detektion oder durch Massenspektrometrie gemessen, oder alternativ durch hochauflösende Gelelektrophorese mit anschließender densitometrischer Analyse. Es wurde allgemein angenommen, dass sie die präzisesten Ergebnisse liefert, da alle Analyten und Parameter aus RT und PCR sowohl auf die native RNA als auch auf die synthetische Referenz-RNA-Mutante wirken.

Als zweiter Ansatz wird heute die extern standardisierte RT-PCR mit Online-Detektion zur RNA-Quantifizierung eingesetzt. Dieser Ansatz wird durch die klassische Echtzeit-RT-PCR (RT-qPCR) repräsentiert, bei der ein sogenannter "unspezifischer interkalierender Farbstoff" zur Detektion und Quantifizierung des erzeugten DNA-Produkts verwendet wird. SYBR Green I (oder vergleichbare DNA-Interkalationsfarbstoffe) wird üblicherweise verwendet, um ein sensitives und zuverlässiges Quantifizierungsergebnis zu erhalten. Durch die Verwendung einer externen Standardkurve müssen die RT-Konversionsrate und die PCR-Amplifikationseffizienz für die Kalibrierungskurve und die unbekannte RNA gleich sein, um genaue Quantifizierungsergebnisse zu erhalten. Um bei der extern standardisierten RT-qPCR spezifischer zu sein, kann der Farbstoff durch ein "spezifisches Sondensystem" ersetzt werden, wie z.B. "Taqman-Sonden", "Hybridisierungssonden" oder "Molecular Beacons", um hier nur die wichtigsten Sondensysteme zu nennen. Diese Erkennungsformate basieren auf verschiedenen Fluoreszenz-Detektionssystemen, z.B. Quenchen von zwei Farbstoffen oder Fluoreszenz-Resonanzenergietransfer (FRET).

Aufgrund ihrer hohen Sensitivität und Spezifität ist RT-qPCR die am häufigsten verwendete Methode zur Quantifizierung von physiologisch relevanten Veränderungen in der Genexpression. Die RT-qPCR hat eine etwa 100-fach niedrigere Nachweisgrenze als andere Einzel-RNA-Quantifizierungsmethoden, wie z.B. "RNA Protection Assay" oder "Northern Hybridization". Es bietet eine neue Dimension im Nachweis von seltenen mRNA- oder microRNA-Kopien durch Amplifikation einer einzelsträngigen cDNA nach reverser

Transkription. Heute ist die RT-qPCR die modernste RNA-Quantifizierungsmethode aufgrund ihrer hohen Sensitivität, hohen Spezifität, guten Reproduzierbarkeit und großen Quantifizierungsbereichs.

Die erste praktische Echtzeit-PCR-Technologie, der 5‘-Nuklease-Assay, wurde 1993 eingeführt und vereint die exponentielle PCR Amplifikation eines spezifischen Transkripts mit der Überwachung der neu synthetisierten DNA in jedem durchgeführten PCR-Zyklus. Es war das empfindlichste Verfahren zum Nachweis und zur Quantifizierung von RNA-Genexpressionsniveaus, insbesondere für gering vorkommende Transkripte. Diese Methode ermöglichte die RNA-Quantifizierung aus limitierten Gewebeproben mit geringen RNA-Konzentrationen und den Nachweis von kleinen Änderungen in den mRNA- oder microRNA-Expressionsebenen. Die Echtzeit-RT-PCR bietet ein enormes Potenzial für analytische und quantitative Anwendungen, dennoch ist ein umfassendes Verständnis der zugrundeliegenden Prinzipien enorm wichtig. Die Genauigkeit der RT-qPCR ist verbunden mit ihrer wahren Spezifität, Empfindlichkeit, Reproduzierbarkeit, Robustheit und, falls MIQE-konform durchgeführt, gilt sie als vollständig zuverlässige quantitative Methode. Problematiken treten allerdings in Verbindung mit den beiden Einzelschritten, der RT und der PCR, auf. Diese Übersicht analysiert daher die Möglichkeiten und Probleme in der mRNA- und microRNA-Quantifizierungsanalytik.

Nukleinsäuren: RNA Identifikation und Quantifizierung mittels Next-Generation Sequenzierung

Nucleic acids: RNA identification and quantification via Next Generation Sequencing.

D. Buschmann, V. Mussack, B. Kirchner, M.W. Pfaffl (2019)

Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition), Editors: Paul Worsfold, Colin Poole, Alan Townshend, Manuel Miró, Academic Press, 2019, Pages 29-34

Aufgrund ihres weitreichenden Anwendungsbereichs ist die Next-Generation Sequenzierung (NGS) gegenwärtig die Technologie der Wahl im Bereich der Systembiologie zur detaillierten Charakterisierung des Genoms. Die größten Vorteile sind nicht nur ein schnelles und kosteneffizientes Screening, sondern auch das Hochdurchsatzverfahren, welches zu einer enormen Generierung an Daten führt und ein gründliches Verständnis von genetischen Merkmalen vermittelt, die sowohl häufig als auch gering exprimiert werden. Darüber hinaus wird NGS im Vergleich zu Hybridisierungsbasierten Mikroarrays nur wenig von Hintergrundsignalen beeinflusst. Abhängig vom Umfang des bereits vorhandenen Wissens, bietet NGS die Möglichkeit entweder für einen ungerichteten oder einen gerichteten experimentellen Ansatz. Der ungerichtete Ansatz, einschließlich der Schrotschuss-sequenzierung, setzt kein *a priori* Wissen voraus, wodurch der Nachweis sowohl von bekannter als auch neuer Genome, Gene, Exome, Transkripten und Splicing Varianten, aber auch von Einzelnukleotidpolymorphismen und Allel-spezifischen Genexpressionen ermöglicht wird. Demnach können das gesamte genetische Netzwerk und Regulationswege umfassend erforscht werden. Im Gegensatz dazu verlangt der gerichtete Ansatz vorab nach einer spezifischen Gen-Auswahl.

In Bezug auf das an Bedeutung gewinnende gesamte Transkriptom können verschiedene Methoden angewendet werden. Im Allgemeinen bezieht sich RNA-Seq dabei auf das massive parallele Sequenzieren des Transkriptoms, welches je nach experimenteller Fragestellung spezifiziert wird. So kann das kodierende Transkriptom z.B. mittels mRNA-Seq untersucht werden, aber auch das nicht-kodierende Transkriptom mit sämtlichen Subklassen, welches im

Menschen in etwa 98 % des Gesamt-Transkriptoms ausmacht und aufgrund seiner post-transkriptionellen Regulation vieler biologischer Prozesse an Popularität gewinnt. Um RNA-Protein Interaktionen, vor allem die Bindestellen von RNA-bindenden Proteinen an der Ziel-RNA, zu evaluieren, wird die moderne Technik der Quervernetzung und Immunpräzipitation mit Sequenzierung (CLIP-Seq) angewendet. Die Nukleotid-Auflösung kann mit photoaktivierbaren Ribonukleotiden (PAR-CLIP) sogar noch verbessert werden. Wird RNA-Seq mit Chromatin-Immunpräzipitation kombiniert (ChIP-Seq), so können auch post-transkriptionelle RNA Modifikationen untersucht werden, wie z.B. der Methylierungsstatus (siehe auch MeRIP-Seq).

Ungeachtet der zu untersuchenden RNA Klasse sollte das RNA Probenmaterial die bestmögliche Qualität und Integrität aufweisen, um maximale Präzision zu gewährleisten. Gewöhnlich wird daher Kapillarelektrophorese zur Überprüfung der Qualität, Quantität und Degradierungsgrad der RNA eingesetzt. Auch numerische Parameter werden zur Qualitätsbestimmung herangezogen, so z.B. die „RNA Integrity Number“ (RIN), „RNA Integrity Score“ (RIS), „RNA Quality Score“ (RQS) oder „RNA Quality Number“ (RQN). Nach erfolgreicher Überprüfung der RNA wird diese in cDNA transkribiert und eine Sequenzbibliothek generiert. Dieser Prozess ist je nach Ziel-RNA und Sequenzierplattform spezifisch anzupassen, vor allem die Fragmentierung längerer Sequenzen sollte dabei berücksichtigt werden. Die grundlegenden Schritte sind allerdings vergleichbar und werden in diesem Kapitel genauer erläutert. Dabei wird insbesondere auch auf die Komplexität und die verschiedenen chemischen und instrumentellen Möglichkeiten der Sequenzierung und Datenanalyse eingegangen.

MIQE-konforme Validierung von durch Sequenzierung kleiner RNAs ermittelter microRNA Biomarker-Signaturen

MIQE compliant validation of microRNA biomarker signatures selected by small-RNA Sequencing.

V. Mussack, S. Hermann, D. Buschmann, B. Kirchner, M.W. Pfaffl (2019)

2nd edition, edited by Roberto Biassoni and Alessandro Raso, in Methods in Molecular Biology, Springer Methods Mol Biol. 2019 (2065): 23-38

MicroRNAs (miRNAs) gehören zur Kategorie kleiner nicht-kodierender RNAs, die die Genexpression auf dem post-translationalen Level modulieren, und bilden attraktive Ziele in vielen akademischen und diagnostischen Anwendungen. Darunter erwies sich die Bewertung von miRNA-Biomarkern in minimal invasiven Flüssigbiopsien als ein vielversprechendes Instrument zur Behandlung von Krankheiten, insbesondere von Krebs. Das initiale Screening krankheitsrelevanter Transkripte wird mittels Next-Generation Sequenzierung (NGS) mit hohem Durchsatz durchgeführt, in diesem speziellen Fall RNA Sequenzierung. Nach der komplexen Verarbeitung der Sequenzierungs-Daten kleiner RNA-Spezies, wird eine differenzielle Genexpressionsanalyse durchgeführt, um miRNA-Biomarker-Signaturen auszuwerten. Um die experimentelle Validität sicherzustellen, werden Biomarker-Kandidaten üblicherweise durch eine orthogonale Technologie validiert, wie z.B. Reverse Transkription gekoppelt mit Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (RT-qPCR). Dieses Kapitel beschreibt im Detail verwendete Materialien und Methoden, um miRNA-Biomarker-Signaturen im Blut aus der Gesamt-RNA reproduzierbar zu identifizieren. Nach der Untersuchung von miRNA-Profilen mittels RNA Sequenzierung werden die resultierenden Daten in Übereinstimmung mit den Richtlinien zur Minimalinformationen zur Publikation von RT-qPCR Experimenten (MIQE) validiert.

IV. Biomarker

Hochdurchsatz-Sequenzierung von zirkulierenden und in Extrazellulären Vesikeln verpackten microRNAs aus gepaarten arteriellen und venösen Serumproben

Transcriptomic profiling of cell-free and vesicular microRNAs from matched arterial and venous serum.

Stefanie Hermann[1], Dominik Buschmann[1], Benedikt Kirchner[1], Melanie Borrmann[2], Florian Brandes[2], Stefan Kotschote[3], Michael Bonin[3], Anja Lindemann[4], Marlene Reithmair[4], Gustav Schelling[2] & Michael W. Pfaffl[1]
[1]Division of Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Freising, Germany
[2]Department of Anesthesiology, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Munich, Germany
[3]IMGM Laboratories GmbH, Planegg, Germany
[4]Institute of Human Genetics, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Munich, Germany
Journal of Extracellular Vesicle (2019) 8(1): 1670935

Während vieler physiologischer und pathologischer Prozesse erfolgt die Zell-zu-Zell-Kommunikation durch den Austausch von Biomolekülen, welche von Extrazellulären Vesikeln (EVs) transportiert werden. Im Rahmen von Biomarker-Studien, welche beispielsweise auf kardiovaskulären Erkrankungen basieren, werden häufig microRNAs (miRNAs) für die Etablierung einer spezifischen Signatur gewählt. Abhängig von der Art der Erkrankung und den Abläufen im Klinikalltag, werden Blutproben über arterielle oder venöse Zugänge gewonnen. Es ist deshalb von großer Bedeutung zu testen, ob diese Proben vergleichbar sind, oder ob Unterschiede in der miRNA-Signatur auftreten.

In einer Kohorte herzchirurgischer Patienten (n = 20), wurden potentiell auftretende arterielle und venöse Unterschiede untersucht. Vor Operationsbeginn erfolgte die zeitgleiche Blutentnahme aus der *Arteria radialis* und der *Vena jugularis interna.* Nach Präzipitation unreiner EVs aus Serum, wurde eine Hochdurchsatz-Sequenzierung kleiner RNA Klassen (small-RNA Sequenzierung) durchgeführt.

Bei der differentiellen Genexpressions-Analyse, mit unseren Standardfilterkriterien (Expressionsstärke $\geq$ 50: baseMean, zweifache auf oder ab Regulation: $|\log2FC| \geq 1$, korrigierter p-Wert ≤ 0.05: padj) konnten wir zunächst keine Unterschiede in der miRNA-Signatur feststellen. Erst durch Filtern mit weniger strengen Kriterien (baseMean $\geq$ 50, $|\log2FC| \geq 0.5$, padj ≤ 0.1), wurden vier leicht arteriell hochregulierte miRNAs (miR-223-3p, miR-379-5p, miR-493-5p, miR-542-3p) detektiert. Diese Regulation konnte durch quantitative Real-Time PCR für miR-493-5p bestätigt werden. Die Anwendbarkeit der Ergebnisse wurde in gereinigten EVs einer Subgruppe von n = 14 der ursprünglichen Kohorte getestet. Der zusätzliche Aufreinigungsschritt mittels Größenausschlusschromatographie führte zur Reduktion der miRNA-Ausbeute verglichen mit unreinen EV-Proben. Es wurden keine differentiell regulierten miRNAs in reinen EVs detektiert. Durch Unsupervised Clustering Analysen konnten unreine und reine EV-Proben nicht auf Basis der arteriellen und venösen Blutentnahme klassifiziert werden. Die Partikelanalyse ergab annähernd gleiche Charakteristika für unreine und reine arterielle und venöse EV-Proben.

Folglich sollte die arterielle oder venöse Blutentnahme mit Ausnahme spezifischer Krankheitsbilder (z.B. schwere pulmonale Erkrankungen), keinen großen Störfaktor für die Untersuchung von differentiell exprimierten zirkulierenden miRNAs darstellen. Für die meisten Biomarker-Studien sollten durch arterielle oder venöser Serum EV-Proben annähernd gleiche miRNA-Expressionsdaten entstehen.

Die Expression des rekonstituierten Transformierenden Wachstumsfaktors Beta-Rezeptor Typ 2 (TGFBR2) verändert das microRNA-Profil von extrazellulären Vesikeln und parentalen Darmkrebszellen.

Reconstituted Transforming Growth Factor Beta Receptor Type 2 (TGFBR2) expression alters the microRNA profile of extracellular vesicles and parental colorectal cancer cells.

Fabia Fricke[1,2], Veronika Mussack[3], Dominik Buschmann[3], Ingrid Hausser[4], Michael W. Pfaffl[3], Jürgen Kopitz[1,2], Johannes Gebert[1,2] (2019)

[1]Dept. Applied Tumor Biology, Institute of Pathology, University Hospital Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 224, 69120 Heidelberg, Germany; [2]Clinical Cooperation Unit Applied Tumor Biology, German Cancer Research Centre (DKFZ), Im Neuenheimer Feld 224, 69120 Heidelberg, Germany; [3]Dept. Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University Munich, Weihenstephaner Berg 3, 85354 Freising, Germany; [4]Dept. General Pathology, Institute of Pathology, University Hospital Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 224, 69120 Heidelberg, Germany

International Journal of Oncology 2019 55(4): 925-937

Bei Darmkrebs (CRC) mit Mikrosatelliteninstabilität (MSI) sind > 90% der Fälle von einer Inaktivierung des Transformierenden Wachstumsfaktors Beta Rezeptor Typ 2 (TGFBR2) betroffen. Es wird angenommen, dass eine TGFBR2-Defizienz die MSI-Tumor Progression beschleunigt, indem der TGF-β-Signalweg moduliert wird. Dieser Signalweg kann die Expression von kodierenden und nicht-kodierenden RNAs, einschließlich microRNAs (miRNAs), beeinflussen, die auch in extrazellulären Vesikeln (EVs) als post-transkriptionale Modulatoren der Genexpression vorliegen. In unserer vorherigen Studie wurde gezeigt, dass eine TGFBR2-Defizienz das molekulare Profil und die Funktion von EVs bei MSI-Tumoren verändern kann. Mit dem Ziel zu beschreiben, inwiefern mutiertes TGFBR2 auch die miRNA-Ladung von EVs beeinflusst, untersucht die vorliegende Studie TGFBR2-abhängige miRNAs in EVs und deren MSI-Tumorzellen. Das MSI-Zelllinienmodell HCT116-TGFBR2 ermöglicht eine Doxycyclin (Dox)-induzierte Expression von TGFBR2 in einem isogenen Hintergrund (-Dox, TGFBR2-Defizienz; +Dox, TGFBR2-Profizienz). RNA-Sequenzierung von zellulären und EV-miRNAs zeigte, dass die Mehrheit der identifizierten miRNAs (263/471; 56%) sowohl in MSI-Tumorzellen als auch in deren MSI-EVs exprimiert wird. Eine explorative Datenanalyse ergab eine TGBFR2-abhängige Cluster-Trennung von miRNA-Profilen in EVs und MSI-Tumorzellen. Diese Segregation konnte auf 25 miRNAs zurückgeführt werden, deren Expression in TGFBR2-abhängiger Weise reguliert wird (EVs: n=10; MSI-Zellen: n=15). In den EVs wurden durch die TGFBR2-Defizienz 7/10 miRNAs herabreguliert und 3/10 hochreguliert. In den TGFBR2-defizienten Zellen wurden 13/15 miRNAs herunterreguliert und 2/15 hochreguliert. Die vorliegende Studie hebt die allgemeine Überlappung von miRNA-Profilen in MSI-Tumorzellen und ihren EVs hervor, betont aber auch den Einfluss einer einzelnen Tumortreibermutation auf die Expression einzelner miRNAs, wie beispielhaft die Herabregulation von miR-381-3p in TGFBR2-defizienten MSI-Tumorzellen und ihren sekretierten EVs.

Methodenvergleich zur Aufreinigung extrazellulärer Vesikel aus Urin im Hinblick auf RNA-Sequenzierung zur robusten und nicht-invasiven Biomarker-Forschung

Comparing small urinary extracellular vesicle purification methods with a view to RNA sequencing – enabling robust and non-invasive biomarker research.

Veronika Mussack[1], Georg Wittmann[2], Michael W. Pfaffl[1] (2019)
[1]Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Weihenstephaner Berg 3, 85354 Freising, Germany; [2]Department for Transfusion Medicine, Cell therapeutics and Haemostaseology, University Hospital LMU, Marchioninistraße 15, 81377 Munich, Germany
Biomolecular Detection and Quantification 2019 (vol 17)

Kleine extrazelluläre Vesikel (EVs) mit der Größe von 50 – 200 nm sind wichtige interzellulären Kommunikatoren. Sie spiegeln sowohl den physiologischen als auch den pathophysiologischen Zustand ihrer Ursprungszellen wider und sind daher sehr vielversprechend im Bereich der Biomarker-Detektion. Allerdings müssen zuerst verlässliche Methoden zur Aufreinigung von EVs aus Urin ermittelt werden, um die darin transportieren microRNAs (miRNAs) mittels RNA Sequenzierung überprüfen zu können. Dazu wurden fünf verschiedene in der Laborpraxis häufig angewandte Isolationsmethoden getestet: die Säulenchromatographie, Immunaffinität, Membranaffinität, Präzipitation und Ultrazentrifugation in Kombination mit einem Dichtegradienten. Die Charakterisierung der erhaltenen Urin-EVs mittels Nanopartikel-Tracking-Analyse, Western Blot und Transmissionselektronenmikroskopie ergab erhebliche Unterschiede in Größe und Konzentration sowie in der Zusammensetzung ausgewählter Proteine. Zwar konnte aus den Urin-EVs aller verwendeter Isolationsmethoden eine ausreichende Menge an RNA extrahiert werden, um nachfolgende Analysen zu ermöglichen, jedoch gab es deutliche Methoden-spezifische Unterschiede in der Größe der sequenzierten RNA-Bibliothek, der Mapping-Verteilung, sowie Anzahl und Diversität an miRNA-Transkripten. Zusammengefasst erschien die sauberste Einheit an Urin-EVs durch die immunaffinitätsbasierte Isolation erzielt zu werden. Vergleichbare Ergebnisse konnten mittels Ultrazentrifugation kombiniert mit Dichtegradient, Präzipitation und Membranaffinität erreicht werden. Lediglich die Isolation basierend auf Säulenchromatographie lies Diskrepanzen erkennen, die die Vermutung nahelegen, dass nicht nur eine andere Untergruppe an Urin-EVs aufgereinigt wurde, sondern diese auch ein unterschiedliches Set an miRNAs transportieren. Unsere Untersuchungen zeigten somit, dass unterschiedliche Aufreinigungsmethoden von Urin-EVs verschiedene Subtypen und Isolationseffizienzen aufweisen, welche sich ebenso auf die nachfolgenden Experimente und miRNA-Profile auswirken. Die Auswahl einer bestimmten Isolationsmethode sollte daher gut durchdacht und auf die entsprechende wissenschaftliche Fragestellung zugeschnitten sein. Im Speziellen wurde hiermit die Notwendigkeit einer umfassenden Analyse des jeweiligen Probenmaterials, z.B. biophysikalisch-, Protein- und Transkriptom-basiert, und der kombinierten Evaluation derer betont, wie es auch bereits in den aktuellen MISEV (Minimalinformationen zur Studie von extrazellulären Vesikeln) Richtlinien postuliert wird.

Isolierung und Charakterisierung extrazellulärer Vesikel - ein Überblick.

Isolation and Characterization of Extracellular Vesicles – an overview.

Fricke F., Buschmann D., Pfaffl M.W. (2019)
Trillium Extracellular Vesicles 2019 1(1): 18-26

Extrazellulärer Vesikel (EVs) haben in den letzten zehn Jahren eine große wissenschaftliche und medizinische Bedeutung erlangt. EVs wurden in einer Vielzahl von Studien erforscht, die von der Grundlagenbiologie bis zu einer diagnostischen und therapeutischen Anwendungen reichen.

Da solche EVs von den meisten, wenn nicht allen, eukaryotischen und prokaryotischen Zellen ausgeschieden werden, konnten die kleinen Nanopartikel bereits in unterschiedlichen Körperflüssigkeiten wie Blut, Urin und Speichel sowie in Zellkulturmedien nachgewiesen werden. In diesem Kapitel geben wir einen Überblick über Strategien zur Isolierung und Charakterisierung von EVs und beschreiben die Vor- und Nachteile der einzelnen Methoden.

Die microRNA Signatur von Extrazellulären Vesikeln des humanen Atemwegsepithels verändert sich bei der Asthma Entwicklung

Human airway epithelial extracellular vesicle miRNA signature is altered upon asthma development.

Sabine Bartel[1,2] , Stefania La Grutta[3], Giovanna Cilluffo[3], Giovanni Perconti[3], Antonella Bongiovanni[3], Agata Giallongo[3], Jochen Behrends[4], Jochen Kruppa[5,6], Stefanie Hermann[7], Dapi Chiang[7], Michael W. Pfaffl[7], Susanne Krauss-Etschmann[1,8]

[1]Early Life Origins of Chronic Lung Disease, Research Center Borstel, Leibniz Lung Center, Member of the German Center for Lung Research (DZL) and the Airway Research Center North (ARCN), Borstel, Germany; [2]Department of Pathology and Medical Biology, GRIAC Research Institute, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, The Netherlands; [3]Institute for Research and Biomedical Innovation (IRIB), National Research Council, Palermo, Italy; [4]Core Facility Fluorescence Cytometry, Research Center Borstel, Leibniz Lung Center, Borstel, Germany; [5]Institute of Biometry and Clinical Epidemiology, Charité-Universitätsmedizin; Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin Institute of Health, Berlin, Germany [6]Berlin Institute of Health (BIH), Berlin,Germany; [7]Division of Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Munich, Germany; [8]Institute for Experimental Medicine, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Kiel, Germany

Allergy (August 2019)

Einleitung: Als Hauptregulatoren von Signalwegen werden microRNAs (miRNAs) bei Asthma zwischen Zellen durch Extrazelluläre Vesikel (EVs) übertragen. Im Rahmen dieser Studie wurde untersucht, ob die miRNAs von primären normalen humanen Bronchialepithelzellen (NHBE) sekretierten EVs bei der Asthma-Entwicklung verändert sind.

Methoden: NHBE Zellen wurden an der Luft-Flüssigkeits-Grenze kultiviert und mit Interleukin (IL)-13 behandelt, um einen Asthma-ähnlichen Phänotyp zu induzieren. Präzipitierte EVs aus basalem Kulturmedium oder apikalem Oberflächen-Waschen wurden mittels der Nanopartikel-Tracking-Analyse, der Transmissions-Elektronen-Mikroskopie und der Western-Blot Methode charakterisiert. EV-assoziierte miRNAs wurden durch quantitative Real-Time PCR identifiziert. Anschließend wurden die signifikante miRNA-Kandidaten in durch Größenausschlusschromatographie isolierten EVs aus Nasenspülungen von Kindern mit leichtem Asthma (n = 8), schwerem Asthma (n = 9) und gesunden Kontrollen (n = 9) bestätigt.

Ergebnisse: NHBE Zellen sekretieren EVs zur apikalen und basalen Seite. Aus 47 exprimierten EV-miRNAs waren 16 miRNAs nach IL-13 Behandlung in basalen EVs signifikant verändert. Die miRNA-Expression konnte in EVs aus humanen Nasenwaschungen bestätigt werden. Bemerkenswerterweise gab es eine signifikante Korrelation der Expressionsstärke von miR-92b, miR-210, und miR-34a mit Lungenfunktionsparametern von Kindern (FEV1FVC%pred und FEF25-75%pred). Folglich waren geringere EV-miRNA Level in Nasenspülungen von Kinder mit Atemwegsobstruktionen assoziiert. Mittels der Ingenuity Pathway Analyse wurde für die miRNAs eine mögliche Funktion bei der Regulierung der Th2 Polarisation, sowie bei der dendritischen Zellreifung detektiert.

Schlussfolgerung: Unsere Daten deuten darauf hin, dass die Sekretion von miRNAs in EVs des Atemwegsepithels, insbesondere miR-34a, miR-92b und miR-210, bei der frühen Entwicklung einer Th2 Antwort in den Atemwegen, sowie bei Asthma eine Rolle spielt.

Stressbeurteilung bei Süßwassermuscheln – die Suche nach einem Biomarker
Does environmental stress affect cortisol biodistribution in bivalves?
A. Ronja D. Binder[1], Michael W. Pfaffl[1], Felix N. Hiltwein[2], Juergen Geist[3], Sebastian Beggel[3]*
[1]Animal Physiology & Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Weihenstephaner Berg 3, D-85354 Freising-Weihenstephan
[2]Independent scholar
[3]Aquatic Systems Biology Unit, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Mühlenweg 22, D-85354 Freising Weihenstephan
Conservation Physiology, Volume 7, Issue 1, 2019, coz101

Da nur wenig über Steroidhormone bei Wirbellosen bekannt ist, haben wir ein Protokoll zur Extraktion und Quantifizierung von Cortisol mittels ELISA in Muscheln, im Modellorganismus Anodonta anatina, etabliert. Zusätzlich haben wir die Verteilung von Cortisol in fünf verschiedenen Geweben, dieser Süßwassermuschel, quantifiziert und dessen Umverteilung nach einer Exposition mit Kupfer(II)-Chlorid, Natriumchlorid bzw. Algenfutter beurteilt.

V. Sonstige Publikationen

Zusammenfassung und Höhepunkte des ersten Minisymposium über extrazelluläre Vesikel in der inter-spezies Kommunikation
Highlights of the 1st mini-symposium on extracellular vesicles in inter-organismal communications
Bielska E[1], Birch P[2], Buck AH[3], Abreu-Goodger C[4], Innes RW[5], Jin H[6], Pfaffl MW[7], Robatzek S[8], Regev-Rudzki N[9], Weiberg A[10] (2019)
[1]Institute of Microbiology and Infection, School of Biosciences, University of Birmingham, Edgbaston, Birmingham, B15 2TT, UK; [2]Division of Plant Sciences, School of Life Science, University of Dundee (at James Hutton Institute), Errol Road, Invergowrie, Dundee, DD2 5DA, UK, [3]Institute of Immunology and Infection Research and Centre for Immunity, Infection & Evolution, School of Biological Sciences, University of Edinburgh, Edinburgh EH9 3FL, UK, [4]Unidad de Genómica Avanzada (Langebio), Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav), Km 9.6 Libramiento Norte, Irapuato, Guanajuato 36824, Mexico, [5]Department of Biology, Indiana University, Bloomington, IN 47405, USA, [6]Department of Microbiology and Plant Pathology, Center for Plant Cell Biology, Institute for Integrative Genome Biology, University of California, Riverside, 900 University Avenue, Riverside, CA 92521, USA, [7]Division of Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences, Weihenstephan, Technical University of Munich, 85354 Freising, Germany, [8] LMU Biocentre, Großhaderner Str. 4, 82152 Martinsried, Germany, [9]Faculty of Biochemistry, Department of Biomolecular Sciences, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel, [10]Faculty of Biology, Genetics, Biocenter Martinsried, LMU Munich, Großhaderner Str. 2-4, 82152 Martinsried, Germany
Journal of Extracellular Vesicle (2019) 8(1): 1590116

microRNA-Profil und adaptive Reaktion auf das sportliche Training - eine Zusammenfassung
Letter to the Editor: microRNA Profile and Adaptive Response to Exercise Training -- a Review
Rodolfo Velasque[1], Caleb G. M. dos Santos[1,2], Rafael Xavier[1], Dailson Paulucio[1], Michael W. Pfaffl[3], Fernando A.M.S Pompeu[1] (2019)
[1]Biometrics Laboratory (LADEBIO). Federal University of Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brazil; [2]Brazilian Army Institute of Biology. Rio de Janeiro, RJ, Brazil; [3]Institute of Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, Freising, Germany.
International Journal of Sports Medicine 2019 (40): 678-679

Bewertung von Aflatoxin M1 durch ELISA in Rohmilch im Kosovo im Jahr 2016
Evaluation of aflatoxin M1 by ELISA in raw milk in Kosovo during 2016
Camaj Ibrahimi A, Arbneshi T, Berisha B, Haziri A, Camaj A.
Bulgarian Journal of Agricultural Science, 25 (No 1) 2019, 124–128.

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Buschmann, Dominik, Dr. rer. nat., 29.07.2019, Technische Universität München,
„Assessment of extracellular vesicles, associated microRNAs, and of their utility as clinical biomarkers in liquid biopsies“

Alfei, Francesca, Dr. rer. nat., 18.09.2019, Technische Universität München,
„The transcription factor TOX controls differentiation and maintenance of $CD8^+$ T-cells in chronic infections“

Schmautz, Christiane, Dr. rer. nat., 01.10.2019, Technische Universität München,
„Investigation of the bovine immune response to repeated vaccinations against Clostridium difficile“

Scherer, Stefanie Sarah, Dr. rer. nat., 08.10.2019, Technische Universität München,
„Shaping effector and memory T cell differentiation through the immunosupppressive drug leflunomide“

Masterarbeiten

Grätz, Christian, Molekulare Biotechnologie: *„Charakterisierung von durch Free-Flow Elektrophorese aus Serum isolierten extrazellulären Vesikeln“*

Merz, Maximilian, Molekulare Biotechnologie: *„Optimierung des CRISPR/Cas9-Systems zur Manipulation primärer muriner T-Zellen“*

Baier, Selia, Molekulare Biotechnologie: *„Untersuchung der Effektormechanismen eines rekombinanten Antikörpers gerichtet gegen das Myelin-Oligodendrozyten Glykoprotein (MOG)“*

Bachelorarbeiten

Lena Halang, Molekulare Biotechnologie: *„Nachweis von Peptid-Epitopen aus dem PRRS-Virus, die vom Schweine-Leukozytenantigen 1 (SLA-1) gebunden werden“*

Kai-Ling Kelly Wang, Molekulare Biotechnologie: *„Validierung von sgRNAs für die Gen-Editierung von primären murinen T-Zellen“*

Vorträge

Pfaffl, Michael W.:

Exosomen und microRNA Signaturen als neue diagnostische Marker.
IGLD, 8.-9. März 2019, Liquid Biopsy, Frankfurt, Germany.

Liquid Biopsy – Exosomal microRNA Biomarker Signatures in Clinical Diagnostics.
9th Gene Quantification Event, 18-20 March 2019, Freising, Germany.

High resolution immune screening in milk and blood of dairy cattle.
29th April 2019, Kagoshima University, Faculty of Agricultural Science, Kagoshima, Japan.

MIQE Guidelines – Methodenoptimierung und Standardisierung.
Analytik Jena Days, 26-27 June 2019, Hochschule Idstein, Idstein, Germany.

Exosomal Biomarkers in Liquid Biopsies – How to identify valid and better "Biomarker Signatures" from micro vesicular small-RNA Sequencing.
EMBL Course – Liquid Biopsies
23.-28. September 2019, EMBL Heidelberg, Germany.

Liquid Biopsy – Exosomal microRNA Biomarker Signatures in Clinical Diagnostics.
Circulating Biomarkers, Exosomes & Liquid Biopsy Europe 2019
30 Oct-1 Nov 2019, Rotterdam, The Netherlands.

EV based Biomarkers in Liquid Biopsies: How to identify valid 'Biomarker Signatures' from micro-vesicular small RNA Sequencing.
European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) Task Force Meeting microRNAs in Asthma and Allergy, Center for Allergy and Environment
4.-5. Nov 2019, Seminar Room, ZAUM, Geb 653, Biedersteiner Str. 29, 80802 Munich, Germany.

Milchwirtschaft 4.0 – Neue Möglichkeiten für die Erfassung der Tiergesundheit und des Tierwohls.
Anlässlich der Verleihung des Milch-Wissenschaftlichen Innovationspreis 2019
44. Tagung des Wissenschaftlicher Beirat des MIV, 14.-16. Nov 2019, Lindner Park Hotel Hagenbeck, Hamburg, Germany.

miREV – a web-based tool for EV meta-analyses to find stable reference miRNAs.
ISEV Workshop 2019: Open, reproducible and standardized EV research; 2-3 December 2019, Het Pand, Ghent, Belgium.

Berisha, Bajram:

Higher Education and Research - General Trends and Challenges of Kosovo.
14th International Annual Meeting of Institute Albshkenca.
27-28 September 2019, Tirana, Albania (Invited speaker).

Angiogenesis in the ovary - the most important regulatory event for corpus luteum formation and function in Ruminants.
International Erciyes Agriculture, Animal and Food Sciences Conference (AgAnFoS-2019), 24-27 April 2019, Erciyes University, Kayseri-Turkey. (Keynote speaker).

TEMPUS project: PhD in Food Science & Technology & Creating Capacities for PhD Reform at the University of Prishtina/Kosovo.
ERASMUS+ Institutional monitoring visit to University of Prishtina,
03 December 2019, Prishtina, Kosovo (Invited speaker).

Buschmann, Dominik:

Anesthesia-induced changes in cell-free miRNA profiles during colorectal cancer surgery.
The 2nd Annual GSEV Meeting, March 2019, Frankfurt, Germany.

Anesthesia and its impact on circulating extracellular miRNA profiles during cancer surgery.9th Gene Quantification Event, 18-20 March 2019, Freising Germany.

Kirchner, Benedikt:

"Best Poster Presentation ISEV 2019 Annual Meeting" für Benedikt Kirchner
Universal reference transcripts for miRNA normalization – a meta-analysis on human blood EV RNA Seq data sets.

Extracellular Vesicles as a novel biomarker source.
18th April 2019, University of Hokkaido, Research Faculty of Agriculture, Sapporo, Japan.

Transfer of Extracellular Vesicles in bovine blood and milk.
13th Mai 2019, Tohoku University, Faculty of Agriculture, Sendai, Japan.

Hermann, Stefanie N.:

Diagnostic microRNA biomarkers from circulating extracellular vesicles for early detection of pneumonia and severe secondary complications.
ISEV Annual Meeting 2019, 24.-28. April, Miyakomesse, Kyoto, Japan.

Binder, Ronja:

Stressbeurteilung bei Süßwassermuscheln – die Suche nach einem Biomarker
6. September 2019, SETAC Tagung, „Biodiversität an Wasser und an Land – die Rolle chemischer Stressoren", Landau.

Exkursionen

Exkursion zum Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit am 27.03.2019 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Michael Pfaffl und Herrn Dr. Patrick Gürtler

Exkursion zur Besamungsstation CRV in Wasserburg am 23.07.2019 unter der Leitung von Frau Dr. Heike Kliem

Exkursion zum Milchprüfring Bayern, Wolnzach, am 03.07.2019 unter der Leitung von Frau Dr. Heike Kliem

Kurzfassungen (Abstracts & Proceedings)

Thomas Bahmer, Dominik Buschmann, Inke König, Henrik Watz, Anne Kirsten, Frauke Pedersen, Lukas Hundack, Michael W. Pfaffl, Erika von Mutius, Klaus Rabe, Gesine Hansen, Matthias Kopp, Susanne Krauss-Etschmann & Sabine Bartel
Investigation of extracellular vesicle associated microRNAs from human plasma as biomarker for asthma.
Deutsches Zentrum für Lungenforschung, Jahrestagung 2019, 7.–8. Februar, Kongress Center Rosengarten, Mannheim, Germany

Stefanie Hermann[1], Benedikt Kirchner[1], Dominik Buschmann[1], Melanie Märte[2], Florian Brandes[2], Stefan Kotschote[3], Michael Bonin[3], Marlene Reithmair[4], Matthias Klein[5], Gustav Schelling[2], Michael W. Pfaffl[1]
Diagnostic microRNA biomarkers from circulating extracellular vesicles for early detection of pneumonia and severe secondary complications.
[1]Division of Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Germany; [2]Department of Anesthesiology, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany; [3]IMGM Laboratories GmbH, Planegg, Germany; [4]Institute of Human Genetics, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany; [5]Department of Neurology, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany
ISEV Meeting 2019, Kyoto, Japan, ISEV 2019 Abstract Book, page 36-37, 76-77

Dominik Buschmann[1], Anja Lindemann[2], Florian Brandes[3], Gustav Schelling[3], Michael W. Pfaffl[1], Marlene Reithmair[2]
Anesthesia-dependent changes in vesicular miRNA profiles during colorectal cancer surgery.
[1]Division of Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, Germany; [2]Institute of Human Genetics, University Hospital, LMU Munich, Germany; [3]Department of Anesthesiology, University Hospital, LMU Munich, Germany
ISEV Meeting 2019, Kyoto, Japan, ISEV 2019 Abstract Book, page 190-191

Veronika Mussack[1], Dr. med. Georg Wittmann[2], and Prof. Dr. Michael W. Pfaffl[1]
Unveiling autologous blood doping: comparative analysis of different purification strategies for urinary extracellular vesicles pioneering miRNA biomarker research.
[1]Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Freising, Germany; [2] Department for Transfusion Medicine, Cell therapeutics and Haemostaseology, University Hospital LMU, Munich, Germany
ISEV Meeting 2019, Kyoto, Japan, ISEV 2019 Abstract Book, page 221

Fabia Fricke[1], Veronika Mussack[2], Dominik Buschmann[2], Michael W. Pfaffl[2], Jürgen Kopitz[1], and Johannes Gebert[1]

Tumor driver TGFBR2-dependent microRNA profiles in colorectal cancer cells and their EVs.

[1]Dept. Applied Tumor Biology, University Hospital Heidelberg, German Cancer Research Center (DKFZ); [2]TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Division of Animal Physiology and Immunology, Freising, Germany

ISEV Meeting 2019, Kyoto, Japan, ISEV 2019 Abstract Book, page 239

Dapi (Meng-Lin) Chiang[1,2], Weichien Chen[3], Michael W. Pfaffl[2] and Chin-Sheng Lin[3]

Exosomal LDLR as a potential biomarker in patients with coronary artery disease.

[1]Biovesicle Inc., Taipei, Taiwan; [2]Division of Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University Munich, Germany; [3]Division of Cardiology, Department of Medicine, Tri-Service General Hospital, National Defense Medical Center, Taipei, Taiwan

ISEV Meeting 2019, Kyoto, Japan, ISEV 2019 Abstract Book, page 302

Dapi (Meng-Lin) Chiang[1,2], Chin-Sheng Lin[3], Michael W. Pfaffl[2]

Benchmarking of established exosome isolation methods (density gradient centrifugation, size-exclusion chromatography and immune-bead separation) with glycan recognizing EXÖBead.

[1]Biovesicle Inc., Taipei, Taiwan; [2]Division of Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University Munich, Germany; [3]Division of Cardiology, Department of Medicine, Tri-Service General Hospital, National Defense Medical Center, Taipei, Taiwan.

ISEV Meeting 2019, Kyoto, Japan, ISEV 2019 Abstract Book, page 128-129

Alex Hildebrandt[1], Benedikt Kirchner[1], Chenna R. Galiveti[2], Esther N. Nolte-'t Hoen[2], Michael W. Pfaffl[1]

Universal reference transcripts for miRNA normalization – a meta-analysis on human blood EV RNA Seq data sets.

[1] Departments on Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, Freising, Germany; [2] Department of Biochemistry and Cell Biology, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.

ISEV Meeting 2019, Kyoto, Japan, ISEV 2019 Abstract Book, page 116-117

Dominik Buschmann[1], Anja Lindemann[2], Florian Brandes[3], Gustav Schelling[3], Michael W. Pfaffl[1], Marlene Reithmair[2]

Anesthesia-dependent changes in vesicular miRNA profiles during colorectal cancer surgery.

[1]Division of Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, Germany; [2]Institute of Human Genetics, University Hospital, LMU Munich, Germany; [3]Department of Anesthesiology, University Hospital, LMU Munich, Germany

GSEV Jahrestagung, Frankfurt, 7- 8 March 2019

Berisha, Bajram[1,2]; Schams, Dieter[2]; Rodler, Daniela[3]; Sinowatz, Fred[3]; Pfaffl, Michael[2]

The Expression of Prostaglandins during different Physiological stages in the Bovine Corpus Luteum

[1]University of Prishtina, Kosovo; [2]Animal Physiology & Immunology Weihenstephan, Technical University of Munich, Germany; [3]Department of Veterinary Sciences, Ludwig Maximilian University of Munich, Germany

Event Proceedings, p47, 9th Gene Quantification Event, TUM Freising Weihenstephan, Germany

Pfaffl, Michael
Liquid Biopsy -- Exosomal microRNA Biomarker Signatures in Clinical Diagnostics.
Animal Physiology & Immunology Weihenstephan, Technical University of Munich, Germany.
Event Proceedings, p10-11, 9th Gene Quantification Event, TUM Freising Weihenstephan, Germany

Buschmann, Dominik[1]; Brandes, Florian[2,3]; Lindemann, Anja[3]; Maerte, Melanie[2]; Ganschow, Petra[4]; Chouker, Alexander[2]; Schelling, Gustav[2]; Pfaffl, Michael W.[1]; Reithmair, Marlene
Anesthesia and Its Impact on miRNA Profiles in Circulating Extracellular Vesicles During Cancer Surgery.
[1]Division of Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, Freising, Germany; [2]Department of Anesthesiology, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Munich, Germany; [3]Institute of Human Genetics, University Hospital, LMU Munich, Munich, Germany; [4]Department of General, Visceral, and Transplant Surgery, LMU, Munich, Germany
Event Proceedings, p32, 9th Gene Quantification Event, TUM Weihenstephan, Germany

Hermann, Stefanie[1]; Buschmann, Dominik[1]; Kirchner, Benedikt[1]; Märte, Melanie[2]; Brandes, Florian[2]; Kotschote, Stefan[3]; Bonin, Michael[3]; Reithmair, Marlene[4]; Schelling, Gustav[2]; Pfaffl, Michael W.[1]
Systematic Comparison of Extracellular Vesicles from Human Arterial and Venous Blood: Highly Identical microRNA Expression Indicates Equal Use for Biomarker Applications.
[1]Division of Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Germany; [2]Department of Anesthesiology, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany; [3]IMGM Laboratories GmbH, Planegg, Germany; [4]Institute of Human Genetics, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany
Event Proceedings, p34, 9th Gene Quantification Event, TUM Weihenstephan, Germany

Mussack, Veronika[1]; Wittmann, Georg[2]; Pfaffl, Michael W[1]
Urinary Extracellular Vesicles: Unveiling the Most Appropriate Purification Method with a View to RNA Sequencing and Biomarker Profiling.
[1]Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Freising, Germany; [2]Department for Transfusion Medicine, Cell therapeutics and Haemostaseology, University Hospital LMU, Munich, Germany
Event Proceedings, p33, 9th Gene Quantification Event, TUM Weihenstephan, Germany

Kanev, Kristiyan[1]; Roelli, Patrick[1,3]; Wu, Ming[1]; Wurmser, Christine[2]; Delorenzi, Mauro[3]; Pfaffl, Michael W.[1]; Zehn, Dietmar[1]
Tailoring scRNA-Seq to meet the Challenges of Primary Cytotoxic T-cells.
[1]Division of Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, 85354 Freising, Germany; [2]Division of Animal Breeding, School of Life Sciences Weihenstephan, TUM, 85354 Freising, Germany; [3]BCF, Swiss Institute of Bioinformatics, University of Lausanne 1015 Lausanne, Switzerland.
Event Proceedings, p7, 9th Gene Quantification Event, TUM Freising Weihenstephan, Germany

Simone Moertl[1], Dominik Buschmann[2], Lisa Mutschelknaus[1], Michael Schneider[1], Soile Tapio[1], Omid Azimzadeh[1], Michael W. Pfaffl[2], Michael J. Atkinson[1]
Exosomes from irradiated peripheral blood mononuclear cells suppress apoptosis in recipient cells.
[1]Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Institute of Radiation Biology, Neuherberg, Germany; [2]Division of Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University Munich, Munich, Germany
ICPR Konferenz (International Congress of Radiation Research) August 2019, Manchester, UK

Melanie Märte[1], Florian Brandes[1,2], Dominik Buschmann[2/3], Marlene Reithmair[2], Benedikt Kirchner[3], Michael W. Pfaffl[3] and Gustav Schelling[1]
Differential Effects of Propofol and Sevoflurane on extracellular vesicle derived miRNAs during cancer surgery.
[1]Department of Anaesthesiology, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany; [2]Institute of Human Genetics, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany; [3]Division of Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University Munich, Germany;
ASA Meeting 2019

Sabine Farschtschi and Michael W. Pfaffl
High-resolution Immunophenotyping in bovine blood and milk.
3. - 6. September 2019, International Symposium on Ruminant Physiology, Leipzig, Germany

Sabine Farschtschi and Michael W. Pfaffl
High-resolution Immunophenotyping in bovine blood and milk.
IDF Mastitis Conference 2019, Copenhagen, Denmark

Sabine Farschtschi, Michael W. Pfaffl
Hochauflösende Immunphänotypisierung von bovinen Zellen in Blut und Rohmilch.
DVG Rindertagung 2019, DVG-Vet-Congress 2019, 14.-16. November 2019, Estrel Convention Center, Berlin, Germany

Florian Brandes[1,3], Melanie Maerte[1], Dominik Buschmann[2], Marlene Reithmair[3], Benedikt Kirchner[2], Alexander Chouker[1], Jean-Noel Billaud[4], Thomas Felbinger[5], Michael W Pfaffl[2], Gustav Schelling[1], Ines Kaufmann[5]
Progranulin is Part of a Gene Network activated during the Early Antimicrobial Response and Serves as Novel Diagnostic Marker for Sepsis in Humans.
[1]Department of Anaesthesiology, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University of Munich, Germany; [2]Division of Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Germany; [3]Institute of Human Genetics, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany; [4]QIAGEN Bioinformatics, Redwood City, USA; [5]Department of Anaesthesiology, Neuperlach Hospital, City Hospitals of Munich, Germany
Weimar Sepsis Update 2019 – Tribute to Translation; 9. Internationaler Kongress „Sepsis & Multiorganversagen“ 11. Intensivpflegekongress der DGF, Weimar, Germany
INFECTION 47, S29-S30

Alex Hildebrandt[1], Benedikt Kirchner[1], Chenna R. Galiveti[2], Esther N. Nolte-'t Hoen[2], Michael W. Pfaffl[1]
miREV: A tool for reference miRNAs of human blood EV studies with different experimental setups.
[1]Division on Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, Freising, Germany; [2]Department of Biochemistry and Cell Biology, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.
Proceedings GSEV & ASEV Joint Autumn Meeting 2019, 28.-30. November 2019, Freising-Weihenstephan, Germany

Sabine Farschtschi, Michael W. Pfaffl
Biomarker Immunmonitoring in Milchkühen.
Milchwirtschaftliche Herbsttagung, 10.-11. Oktober 2019, Freising-Weihenstephan, Germany

Ronja D. Binder[1], Michael W. Pfaffl[1], Felix N. Hiltwein[2], Jürgen Geist[3], Sebastian Beggel[3]
Stressbeurteilung an Süßwassermuscheln – die Suche nach einem Biomarker.
[1]Animal Physiology & Immunology, Life Science Center Weihenstephan Technical University of Munich, Weihenstephaner Berg 3, 85354 Freising-Weihenstephan; [2]Experimental Unit I, CSL Behring, Emil-von-Behring-Straße 76, D-35041 Marburg; [3]Aquatic Systems Biology Unit, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Mühlenweg 22, 85354 Freising
23. SETAC GBL Tagung 4.-6. September 2019, Landau, Germany

Christian Grätz[1], Dominik Buschmann[1], Stefanie Hermann[1], Anja Lindemann[2], Genia Lücking[3], Michael W. Pfaffl[1], Gustav Schelling[4], Marlene Reithmair[5]
Characterisation of membrane vesicles in bacterial sepsis pathogens.
[1] Division of Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, German; [2]Institute of Human Genetics, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany; [3]Division of Microbiology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Germany; [4]Department of Anesthesiology, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Germany, [5]Institute of Human Genetics, University Hospital, LMU Munich, Germany;
Proceedings GSEV & ASEV Joint Autumn Meeting 2019, 28.-30. November 2019, Freising-Weihenstephan, Germany

Dapi Menglin Chiang[1,2], Chin-Sheng Lin[3], Michael W. Pfaffl[1]
Single step galectin-base glycan recognition particles, EXÖBead® for extracellular vesicles (EV) isolation with low lipoprotein contamination.
[1]Division of Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University Munich, Germany; [2]Biovesicle Inc., Taipei, Taiwan; 3 Division of Cardiology, Department of Medicine, Tri-Service General Hospital, National Defense Medical Center, Taipei, Taiwan;
Proceedings GSEV & ASEV Joint Autumn Meeting 2019, 28.-30. November 2019, Freising-Weihenstephan, Germany

Veronika Mussack[1], Georg Wittmann[2], Michael W. Pfaffl[1]
Identifying appropriate urinary extracellular vesicle purifications for downstream transcriptomics.
[1]TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Dept. Animal Physiology and Immunology, Freising, Germany; [2]Department of Transfusion Medicine, Cell therapeutics and Haemostaseology, University Hospital LMU, Munich, Germany;
Proceedings GSEV & ASEV Joint Autumn Meeting 2019, 28.-30. November 2019, Freising-Weihenstephan, Germany

Alex Hildebrandt[1], Benedikt Kirchner[1], Chenna R. Galiveti[2], Esther N. Nolte-'t Hoen[2], Michael W. Pfaffl[1]
miREV: a web-based tool for EV meta-analyses to find stable reference miRNAs
[1]Division on Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, Freising, Germany; [2]Department of Biochemistry and Cell Biology, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands.
ISEV Workshop 2019: Open, reproducible and standardized EV research;
2-3 December 2019, Het Pand, Ghent, Belgium

Veronika Mussack
Evaluation of differentially isolated small urinary EVs and its effect on downstream transcriptomics.
ISEV Workshop 2019: Open, reproducible and standardized EV research; 2-3 December 2019, Het Pand, Ghent, Belgium

Berisha Bajram
The Expression of Prostaglandins during different Physiological stages in the Bovine CorpusLuteum.
14th International Annual Meeting of Institute Albshkenca. 27-28 September 2019, Tirana, Albania Book of Proceedings p. 12-13.

Shehu E, Manaj H, Gecaj R, Bytyçi R, Muji S, Berisha B.
The impact of physical activity on several quantitative semen parameters of bulls kept for reproduction.
The 14th International Annual Meeting of Institute Alb-Scienca. Tirana, 27-28 September 2019. Albaniua Book of Proceedings, p 59-60.

Manaj H, Gecaj R, Bytyqi X, Muji S, Bersha B.
The impact of physical activity on several qualitative semen parameters of bulls kept for reproduction.
Third International Conference Challenges in Biotechnological and Environmental Approaches at Agricultural University of Tirana, Albania. Book of Abstract p. 30-31.

Berisha Bajram
Angiogenesis in the ovary - the most important regulatory event for corpus luteum formation and function in Ruminants.
International Erciyes Agriculture, Animal and Food Sciences Conference (AgAnFoS-2019) that will be held in 24-27 April 2019 in Erciyes University (https://en.erciyes.edu.tr/). Kayseri, Turkey. Book of proceedings p.10.

Manovi L, Muji S, Berisha B, Ajazi F, Gecaj R.
Application of ELISA and RT-PCR for the detection of pork adulterated in beef meat products marked in Kosovo.
IC-AFST 2019. International Conference on Agriculture, Food Science and Technology UBT. October 25-27, 2019. Pristina, Kosovo.

Berisha B, Schams D, Rodler D, Sinowatz F, Pfaffl MW.
The Expression of Prostaglandins during different Physiological stages in the Bovine Corpus Luteum.
GQ2019 Event – qPCR dPCR & NGS 2019, 18-21 March 2019, TUM Freising-Weihenstephan Germany.

Lehrstuhl für Marketing und Konsumforschung

Adresse

Alte Akademie 16
D- 85354 Freising-Weihenstephan
Telefon: 08161 / 71 3316
Telefax: 08161 / 71 4501

Homepage: http://www.mcr.wi.tum.de
E-Mail: HBrandstetter@tum.de

Personal

Leitung:	Prof. Dr. Jutta Roosen	-3318
Sekretariat:	Helga Brandstetter	-3316
Wissenschaftler:	Dr. Irina Dolgopolova	-3317
	Dr. Matthias Staudigel	-3869
	Megan Waldrop, PhD	-5086
Doktoranden:	Hannah Danner, M.Sc.	-5024
	Andrea Dehoff, M.Sc.	-3972
	Silke Fischer, M.Sc.	-4215
	Sabine Groß, M.Sc.	-3297
	Christine Haßauer, M.Sc.	-4360
	Christina Neubig, M.Sc.	-5087
Emeritus:	Prof. Dr. Georg Karg (i.R.)	
Ext. Dozenten:	Prof. Dr. Richard Balling (apl.)	
Ext. Doktoranden:	Rebecca Geisler, M.A.	
	Christoph Lingl, M.Sc.	

Forschung

Angebot gesunder Lebensmittel – Positionierung und Nährstoffgehalte neu eingeführter Milchprodukte

Matthias Staudigel

Staudigel, M. (2019): Angebot gesunder Lebensmittel – Positionierung und Nährstoffgehalte neu eingeführter Milchprodukte. FoodLab 4/2019, 30-34.

Einleitung

Gesundheitseigenschaften verarbeiteter Lebensmittel sind auf modernen Märkten von zentraler Bedeutung. Die Megatrends „Gesundheit“ und „Natürlichkeit“ befeuern die Nachfrage nach Produkten mit gesundem Nährstoffprofil oder funktionellen Eigenschaften. Die Ernährungswirtschaft sieht sich aber auch zunehmend politischem Druck gegenüber, Produkte mit hohen Gehalten an Salz, Fett und Zucker zu reformulieren. So verabschiedeten das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft und beteiligte Branchenverbände im letzten Jahr eine „Nationale Reduktions- und Interventionsstrategie für Zucker, Fette und Salz in Fertigprodukten“ (BMEL 2018). Der Milchindustrieverband strebt zum Beispiel eine Reduktion des Gesamtzuckergehalts in gesüßten Milchprodukten mit Kinderoptik um 15 % im Median bis 2025 an (MIV 2018).

Die Gestaltung und der Umfang von Reformulierungsbemühungen ist aber weiterhin Gegenstand von Debatten. Wirtschaftsvertreter weisen darauf hin, dass eine Reformulierung bei möglichst unverändertem Geschmack sehr kostspielig und nur inkrementell über längere Zeit durchführbar ist. Weicht das sensorische Profil zu sehr ab, besteht das Risiko eines Verlusts an Marktanteilen. Studien zum Verhalten von Konsumenten zeigen, dass diese für mehr Gesundheit nicht auf Geschmack verzichten (Verbeke 2006) und dass eine Auslobung als „gesund“ oft zu einer verminderten Geschmackserwartung des Produktes führt. Dies gilt selbst dann, wenn objektiv keine sensorischen Unterschiede bestehen (sogenannte „Unhealthy = Tasty“-Intuition, Ragunathan et al. 2006). Ergebnisse zu den Einstellungen von Verbrauchern auf Basis des GfK-Panels zeigen, dass 57 % der Teilnehmer „viel für ihre Gesundheit machen“, aber 61 % gleichzeitig angeben, dass sie sich „gerne mit gutem Essen verwöhnen“. Nur 33 % „achten auf ihre Figur, wenn sie essen oder trinken“, ebenso 33 % „achten auf den Zuckergehalt von Lebensmitteln“ und nur 21 % sehen „Süßstoffe als echte Alternative zu Zucker“ (GfK 2019).

Im Wettbewerb führt diese Konstellation zu geringen Anreizen für Unternehmen ihre „Standardprodukte“ einseitig zu reformulieren (Réquillart und Soler 2014). Wenn viele Konsumenten der „Unhealthy = Tasty – Intuition“ unterliegen, können Firmen Reformulierung nicht als Instrument zur Differenzierung einsetzen. Sie müssten mit Nachfrageverlusten rechnen, wenn sie Fett- oder Zuckerreduktion explizit ausloben. Allein für gesundheitsbewusste Zielgruppen mit höherer Zahlungsbereitschaft ließen sich dann maßgeschneiderte Produkte vermarkten.

Bislang liegt zu diesen theoretischen Argumenten wenig empirische Evidenz vor. Ein Grund hierfür ist die Verfügbarkeit repräsentativer Daten zu Nährwerten für verarbeitete Lebensmittel auf Barcodeebene. Die voliegende Analyse nutzt Daten der Mintel Global New Produkt Database (GNPD), die in der betrieblichen Marktforschung verbreitet sind, bislang jedoch kaum in der wissenschaftlichen Forschung. Die GNPD sammelt monatlich Informationen zu mehr als 80 Attributen von 33.000 weltweit neu eingeführten FMCG. Die erhobenen Produktmerkmale umfassen etwa Geschmacksrichtung, Zutatenliste und Rohstoffe, Nährstoffprofile, sowie Verpackung und Positionierung.

Auf Basis dieses reichhaltigen Datensatzes untersucht der vorliegende Beitrag Wettbewerbsstrategien bei Produktneueinführungen auf dem deutschen Markt für Milchprodukte für die Jahre 2008 – 2018 mit dem Fokus auf Gesundheitsaspekte. Konkrete Fragen richten sich nach der Art der Produktneueinführung, der Positionierung der Produkte und nach der Verteilung der Gehalte von Zucker, Fett und Protein in Joghurtprodukten.

Sortimentserweiterungen bei Produktneueinführungen

Im Vergleich über alle Warengruppen im Markt für Lebensmittel liegen Milchprodukte mit einem Anteil von 13 % an allen Produktneueinführungen gemeinsam mit Backwaren auf dem Spitzenplatz. Es folgen Soßen und Gewürze sowie Fisch-, Fleisch- und Eierprodukte (je 11 %), Schokoladenhaltige Süßwaren (9 %) und Snacks (8 %). Innerhalb der Milchprodukte, dargestellt in Abb. 1, weist Joghurt die höchste Rate an Produktneueinführungen auf (24 %), gefolgt von Hartkäse (16 %), Weichkäse (13 %) und Frischkäse (7 %). Erwähnenswert ist der Anstieg bei Drinks auf Pflanzenbasis als Milchsubstitut von etwa 1 % in 2018.

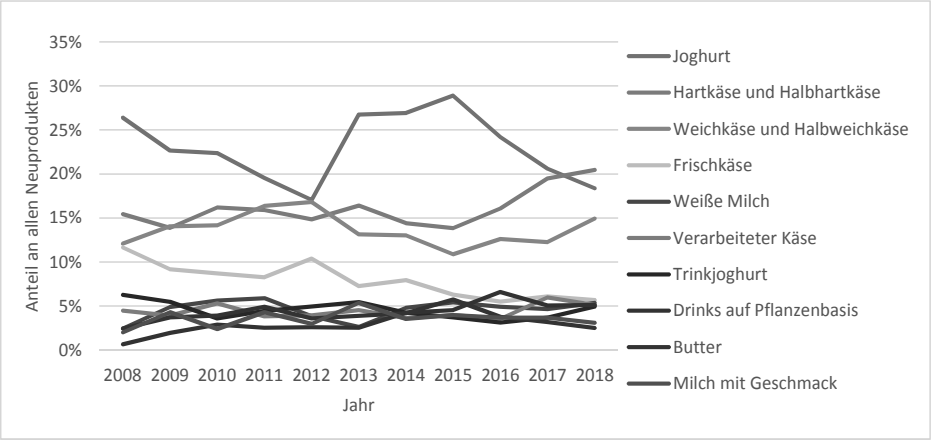


Abb. 1: Anteil der Top 10 Subkategorien im Bereich Milchprodukte

Hinsichtlich der Art der Produkteinführung zeigt sich eine herausragende Rolle von „Sortimentserweiterungen“ bestehender Produktlinien auf einem konstanten Niveau von 40 %. Einführungen komplett neuer Produkte lagen in 2008 noch bei 42 %, haben seitdem aber mit 21 % in 2018 an Bedeutung verloren. Produkteinführungen, bei denen sich ausschließlich die Verpackung geändert hat (klassifiziert durch visuelle Inspektion oder durch Aussagen wie „neues Design“, „neue Verpackung“) steigen von 11 % in 2008 auf 34 % in 2018. Der Anteil von Produkteinführungen mit „Neuer Rezeptur“ (kategorisiert durch Aussagen wie “neue Rezeptur”, “jetzt mit weniger Fett“, nicht jedoch auf Basis der Zutatenliste) geht in 2018 nahe Null. „Relaunches“ (Kombination aus Verpackungs- und Rezepturänderung und neuem Produktnamen) gewinnen an Bedeutung von 2 % in 2008 auf 10 % in 2018. Diese Ergebnisse weisen auf die Hürden und Kosten von Reformulierung hin. Bei Änderungen der Rezeptur scheint es strategisch geschickter zu sein, ein leicht verändertes „neues“ Produkt als Relaunch auf den Markt zu bringen, statt Änderungen eines bestehenden zu vermarkten.

Häufige Positionierung als „natürlich“ und „gesund“

Abb. 2 zeigt die Entwicklung von Positionierungsclaims auf Milchprodukten über die Zeit. An der Spitze stehen Auslobungen für die „Natürlichkeit“ eines Produkts, die stark gewachsen sind und in 2018 auf jedem zweiten neueingeführten Produkt zu finden sind.

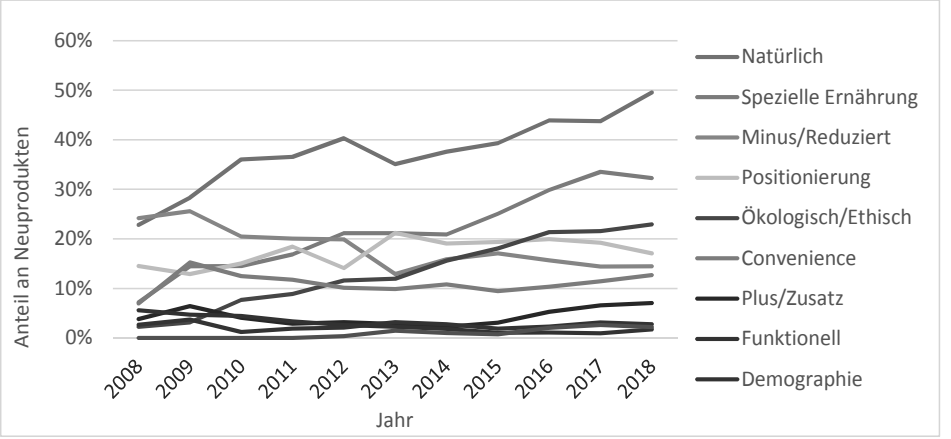


Abb. 2: Anteil von Produkten mit bestimmten Auslobungen an allen Neuprodukten

Stark angestiegen ist auch der Anteil an Produkten, die ihre Eignung für „Spezielle Ernährungsweisen“ (vegan, vegetarisch, lactosefrei, glutenfrei) ausloben, der in 2018 etwa auf ein Drittel der Neueinführungen zutrifft. Auch Produkte mit Claims zu ökologischer und/oder ethischer Ausrichtung (umweltfreundliche Verpackung, artgerechte Haltung, höheres Tierwohl) gewinnen an Bedeutung von 2 % in 2008 auf 23 % in 2018. Auslobungen zum Gehalt bestimmter Nährstoffe oder funktionellen Eigenschaften sind rückläufig oder verharren auf niedrigem Niveau. Lag der Anteil von Claims zur Reduktion von Fett oder Zucker („Minus/Reduziert“) in 2008 noch bei 24 %, fiel dieser auf 14 % in 2018. Claims zu einem erhöhten Gehalt an Nährstoffen („Plus“, 4 % im Mittel) oder zu funktionellen Eigenschaften (durchschnittlich 3 %) sind in geringerem Maße zu finden.

Abbildung 3 schlüsselt Art und Anzahl an Claims für ausgewählte Unterkategorien auf. Drinks auf Pflanzenbasis verzeichnen mit etwa vier Claims pro Produkt die höchste Intensität, gefolgt von Weißer Milch (ca. zwei Claims/Produkt) und Trinkjoghurt (1,9 Claims/Produkt). Eine Analyse welche Claims in welchen Untergruppen auftreten, lässt Rückschlüsse auf die Strategien bei der Vermarktung „gesunder“ Lebensmittel zu. Auslobungen zu speziellen Ernährungsweisen finden sich vor allem bei Hartkäse (auf 58 % der Produkte), Weichkäse (29 %), Drinks auf Pflanzenbasis (94 %) und verarbeitetem Käse (43 %). Diese Produkte haben von Natur aus einen niedrigen Laktosegehalt und können dementsprechend einfach damit werben. Die Eigenschaft „ökologisch/ethisch“ ist besonders bei Weißer Milch (79 %) und Pflanzlichen Drinks (84 %) präsent, in geringerem Maße auch bei (Trink-) Joghurt (21 %) und Milch mit Geschmack (37 %). Auslobungen zum reduzierten Gehalt bestimmter Nährstoffe finden sich bei Milch (39 %), Joghurt (15 %), Pflanzlichen Drinks (27 %) und Quark-/Frischkäsedesserts (28 %).

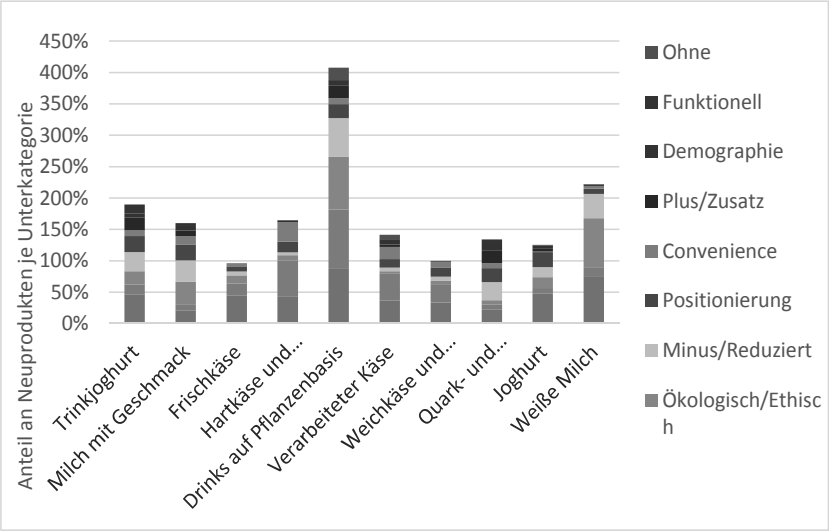


Abb. 3: Anteil an Produkten mit spezifischen Claims an Neuprodukten je Unterkategorie

Diese Zahlen weisen auf eine klare Unterscheidung in den Marketingstrategien hin in Produkte der weißen Linie, die einen größeren Gesundheitsappeal haben und in Produkte der gelben Linie bei denen der Geschmack im Vordergrund steht. Bei Letzteren scheinen Hinweise auf „gesund“ oder „fettreduziert“ kontraproduktiv.

Bei Milchprodukten beschränken sich „minus“- oder „reduziert“-Claims fast ausschließlich auf den Fettgehalt (Abb. 4), für den unterschiedliche Verbraucherwünsche eine Differenzierung attraktiv machen, allerdings meist nur in den oben als „gesund“ diskutierten Unterkategorien. Auslobungen zu reduziertem oder geringem Zuckergehalt finden mit Ausnahme von pflanzlichen Drinks nicht.

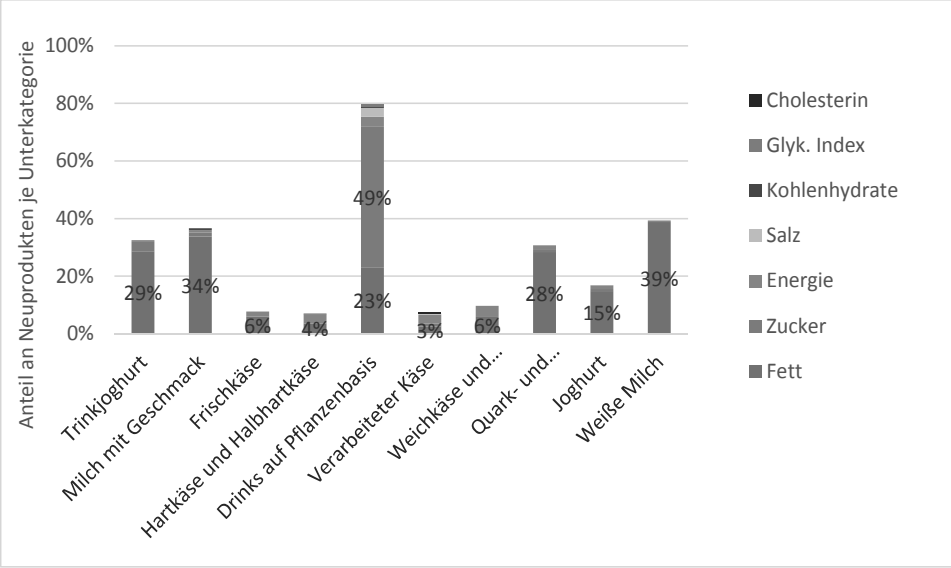


Abb. 4: Anteil Produkte mit „Minus/Reduziert“-Claim innerhalb der Unterkategorien

Joghurt bei Fett und Protein differenziert

Neben den im Markt beobachteten Auslobungen, gibt die Verteilung der Gehalte verschiedener Nährstoffe Aufschluss über Unternehmensstrategien. Da der Milchindustrie-Verband Joghurt als Zielkategorie für Reformulierungsbemühungen identifiziert hat, zeigt Abb. 5 die Verteilung von Fett, Zucker und Protein für neu eingeführte Joghurts für die Jahre 2008-11 und 2015-18.

Beim Fettgehalt zeigt sich eine Spitze bei 3,5 %, mit einer breiten Streuung von 0 % bis 13 %. Markant ist eine Häufung bei sehr geringen Fettgehalten, die sich aber in den Jahren 2015-18 im Vergleich zur früheren Periode ausdünnt. Im Gegensatz dazu erscheinen nun häufiger Produkte mit einem hohen Fettgehalt im Bereich zwischen 7 % und 10 %, die den Trend zu Premiumprodukten mit hohem Genusswert widerspiegeln. Die Proteingehalte bewegen sich in einem sehr begrenzten Bereich zwischen 3 % und 5 % und waren im Zeitraum 2008-11 nur vereinzelt Gegenstand von Differenzierung. In den Jahren 2015-18 treten zunehmend Produkte mit einem sehr hohen Proteingehalt auf, die den Trend zu einer proteinreichen Ernährungsweise aufgenommen haben.

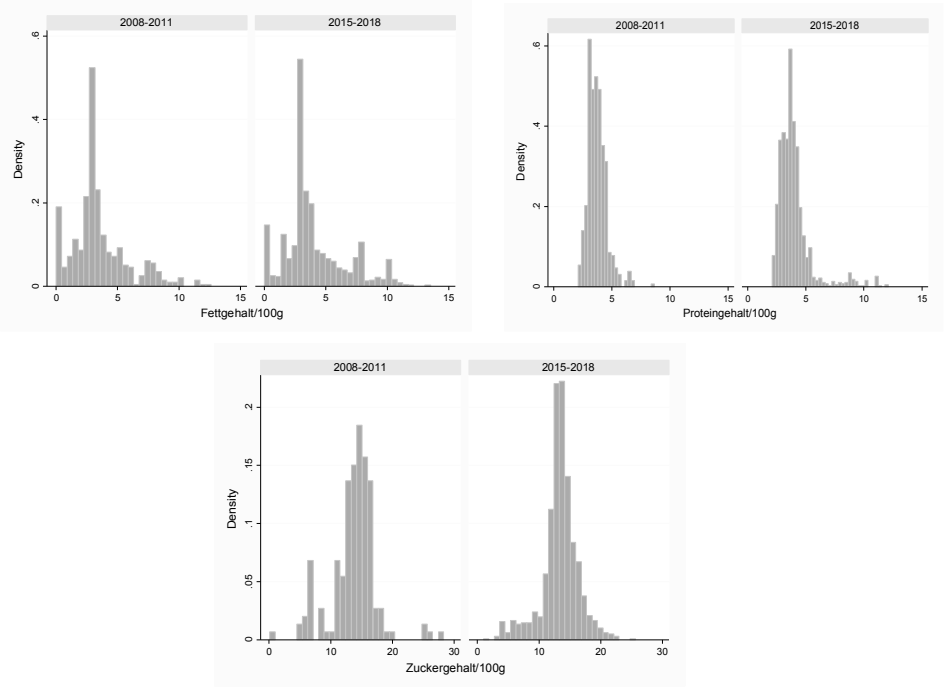


Abb. 5: Verteilung des Gehalts an Fett, Protein und Zucker je 100 g in Joghurtprodukten

Ein Blick auf den Zuckergehalt zeigt im Gegensatz zu Fett und Protein in den Jahren 2015-18 keine markanten Segmente, sondern ein Kontinuum im Zuckergehalt von 2-3 % bis 23 %. Dies war wesentlich stärker ausdifferenziert in den Jahren 2008-11, in denen einige Produkte bei 0 % Zuckergehalt auftraten, ein höherer Anteil bei 5-6 % zu verzeichnen war und einige Ausreißer sehr hohe Zuckergehalte über 25 % hatten. Diese Ausreißer treten in 2015-18 nicht mehr in dieser Form auf, allerdings haben viele neueingeführte Joghurts hohe Zuckergehalte rechts des Modus von 13 %.

Zusammenfassung

Die vorliegende Analyse auf Basis der GNPD bietet einen ersten Einblick in das Angebotsverhalten zu Auslobung von Gesundheitseigenschaften und Nährstoffgehalten. Obwohl die Stichprobe nur Neueinführungen beinhaltet, liegen die Lage- und Streumaße für Nährstoffgehalte in Joghurt nahe an den vom MRI berichteten (MRI 2016).

Für die eingangs abgeleiteten Fragestellungen lassen sich auf Basis dieser Analyse folgende Haupterkenntnisse zusammenfassen. Generell stellt sich der Milchsektor in seinen Produktneueinführungen als sehr ausdifferenziert dar, insbesondere auch in der Dimension Gesundheit. Dies belegt die Häufigkeit von Auslobungen, die neue Produkte als „natürlich", „für spezielle Ernährungsweisen geeignet" oder auch mit reduziertem Gehalt an bestimmten Nährstoffen kennzeichnen. In der Formulierung von Joghurtprodukten äußern sich diese Differenzierungsstrategien in Produktgruppen mit deutlich geringerem Fettgehalt, aber zunehmend auch in solchen mit deutlich höherem Gehalt an Fett, sowie Produkten mit einem hohen Proteingehalt. Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass Anbieter in ihren Marketingstrategien und ihrer Produktentwicklung zügig auf neue Bedürfnisse reagieren können, wenn sich Marktchancen durch neues Absatzpotenzial oder höhere Zahlungsbereitschaft in bestimmten Konsumentensegmenten ergeben.

Gleichzeitig finden sich fettreduzierte Produkte fast ausschließlich in der weißen Linie wieder, Auslobungen zu Zuckerreduktionen sind selten und der Zuckergehalt bei Joghurt zeigt sich weniger differenziert als der von Fett oder Protein. Dies deutet darauf hin, dass Unternehmen in ihrer Produktentwicklung einen Zielkonflikt zwischen Geschmack und Gesundheit antizipieren. Vor allem beim Zuckergehalt bestehen offensichtlich Hürden für eine gesunde Reformulierung. Ob technische Restriktionen, Konsumentenverhalten oder Regulierung (etwa die angeregte Senkung der für eine Auslobung nötigen prozentualen Zuckerreduktion von derzeit 30 %), geeignete Lösungen sind, ist durch eine offene Diskussion zwischen Wirtschaft, Politik und Wissenschaft zu identifizieren.

Danksagung

Dank gilt der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München in Weihenstephan e.V. für die einjährige Förderung des Zugangs zur Mintel GNPD sowie Herrn Thomas Kützemeier, Herausgeber von FOOD-Lab, für die Genehmigung des Wiederabdrucks dieses Beitrags.

Literatur & Quellen

Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) (2018): Nationale Reduktions- und Innovationsstrategie für Zucker, Fette und Salz in Fertigprodukten. https://www.bmel.de/DE/Ernaehrung/_Texte/ReduktionsstrategieZuckerSalzFette.html. Zuletzt abgerufen am 27.11.2019.

Gesellschaft für Konsumforschung (GfK) (2019): Eigene Auswertungen auf Basis von GfK-ConsumerScan-Daten 2016-2017, Lehrstuhl für Marketing und Konsumforschung, Technische Universität München.

Max Rubner-Institut (MRI) (2016): Häufig im Lebensmitteleinzelhandel gekaufte industriell vorgefertigte Produkte und ihre Energie- und Nährwertgehalte, insbesondere Fett, Zucker und Salz. Max Rubner-Institut (MRI), Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel, Institut für Ernährungsverhalten. https://www.mri.bund.de/fileadmin/MRI/Themen/Reformulierung/Reformulierung_Energie_und_Naehrwertgehalte.pdf. Zuletzt abgerufen am 27.11.2019.

Milchindustrie-Verband (MIV)(2018): Beitrag der Milchindustrie zur nationalen Reduktions- und Innovationsstrategie. https://milchindustrie.de/wp-content/uploads/2020/12/Beitrag-der-Milchindustrie-zur-Reduktions-und-Innovatiosstrategie-Stand-17.07.2019.pdf. Zuletzt abgerufen am 27.11.2019.

Oqali (2019): Observatoire de la Qualité de l'Alimentation (French Food Quality Observatory). https://www.oqali.fr/oqali_eng/. Zuletzt abgerufen am 27.11.2019.

Raghunathan, R., R. Walker Naylor and W.D. Hoyer (2006): The unhealthy = tasty intuition and its effects on taste inferences, enjoyment, and choice of food products. *Journal of Marketing* 70(4), 170-184.

Réquillart, V. and L.-G. Soler (2014): Is the reduction of chronic diseases related to food consumption in the hands of the food industry? *European Review of Agricultural Economics* 41(3), 375-403.

Verbeke, W. (2006): Functional foods: Consumer willingness to compromise on taste for health? *Food Quality and Preference* 17(1-2), 126-131.

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertation

Dr. rer. pol. Bernhard Mohr: Improving Consumer Choices using Dynamic Feedback on Digital Devices. Mündl. Prüfung am 11.11.2019.

Masterarbeiten

Berg, Christina: Consumer Beliefs about Organic Food - Towards a Belief Scale

Cleffmann, Tina: Identification and Evaluation of Food Safety Criteria Employed by German Consumers on the Example of Food Irradiation

Cosack, Yvonne: Linking Consumer Perception and Material Properties of Textiles Used in Sport Footwear Production

Dillmann, Leopold: A Discrete Choice Experiment Analyzing Consumer Choices of Regulary Purchased Products and the Role of Reference Prices

Eichhorn, Magdalena: Identification and Development of a Conceptual Framework of Consumer´s Food Safety Criteria regarding Microbiological Food Hazards

Hagen, Mirjam: Public Risk Perception of Autonomous Driving. A Cross-Culturual Consumer Study Using a Mixed-Method Approach

Hagg, Marie-Theres: Functional food innovation in Germany under the EU Health and Nutrition Claims Regulation

Heinle, Alexander: The Influence of Psychological Factors and Nudges on Calorie Intake among Young Adults

Kiesel, Jana: German Consumers and the Attitude-Behavior Gap in Sustainable Fashion Consumption

Knöpfle, Sandra: Information as a Determinant of Consumers` Intention to Reduce Food Waste

Kriegel Anna-Christina: Purchasing Food without Packaging: An Examination of the Role of Psychological Barriers and Environmental Knowledge

Krüger, Laura: The Influence of Emotions, Impulsivity, and Time Preference on Food Choice in the Presence of Default Options

Matus, Helena: Kulturunterschiede zwischen Deutschland und Estland und deren Einfluss auf den Online-Einkauf von Lebensmitteln

Matus, Helena: Motive für den Online-Einkauf von Lebensmitteln - Eine Vergleichsstudie zwischen Deutschland und Estland

Neumeyer, Johannes: Einflussfaktoren auf die Bekanntheit sowie den Kauf von Produkten mit Bayerischen Bio-Siegel

Önce, Serhat: Patterns and Success Factors of New Product Introductions - An Analysis of Household Scanner Data for Yogurt in Germany

Oswald, Cindy: Customer Acceptance of E-Commerce for Fresh Food in Germany

Rüdenauer, Seline: Does the Changing Portrayal of Gender, Etnicities, and Sexual Orientation in Advertisement Influence Consumer Behavior?

Steinbacher, Haruthai: Food manufacturers´ responses to price trends of agricultural raw materials

Toscano, Alessia: Do digital nudges promote lower calorie intake among young adults? The role of emotions, social norms, self-control, gender, and BMI

Triebler, Annemarie: Brand Trust and Brand Loyalty: A deep insight into Customer-Brand Relationships

Tumenbayar, Bat-Orgil: Factors influencing meat consumption in Mongolia

von Zwehl, Maximiliane: Nutzenanalyse des bayerischen Lebensmittelsiegels "Geprüfte Qualität-Bayern"

Bachelorarbeiten

Fröhner, Tabea: Label-Bewusstsein - eine empirische Studie über die Einstellung der Konsumenten gegenüber bestimmten Tierwohllabels

Grüb, Annika: Analyse der Wahrnehmung des Öko-Produkt-portfolios der BayWa AG bei deren ökologisch wirtschaftenden Kunden

Houdal, Nicolas: Werbung für Gütezeichen - Unterschiedliche Verbraucherwahrnehmungen

Hülsmann, Ann-Christin: Zufriedenheit mit dem Leben und der Gesundheit: Soziodemographische Untersschiede und Auswirkung auf das Ernährungsverhalten

Lepiarczyk, Laura: Motive des Essverhaltens: Konsumentensegmente und differenzierte Verhaltensweisen

Merkert, Helen: Die Frau in der deutschen Landwirtschaft - Eine Darstellung unternehmerischer Perspektiven

Mitina, Helena: Vergleich zwischen Zeichennutzern des Bayerischen Bio-Siegels mit Produzenten, die dieses Zeichen nicht verwenden

Schubert, Manuel: Bayerische Milchprodukte in Italien - Analyse des Marketing Mix

Torggler, Lisa: Bekanntheitsgrad ausgewählter Regionalssiegel und ihr Einfluss auf das Kaufverhalten von Konsumenten

Totzauer, Celine: Bewusstsein der italienischen Verbraucher im Hinblick auf bayerische Milchprodukte

Wissenschaftliche Veröffentlichungen in referierten Zeitschriften

Kalkbrenner, B. (2019): Residential vs. community battery storage systems - Consumer preferences in Germany. Energy Policy 129, 1355-1363.

Mohr, B., I. Dolgopolova and J. Roosen (2019): The influence of sex and self-control on the efficacy of nudges in lowering the energy content of food during a fast food order. Appetite 141, Article 104314.

Staudigel, M., C. Lingl and J. Roosen (2019): Preferences versus environment. How do school fruit and vegetable programs affect children's fresh produce consumption? Applied Economic Perspectives and Policy 41, 742-763.

Van Loo, E. J., C. Grebitus and J. Roosen (2019): Explaining attention and choice for origin labeled cheese by means of consumer ethnocentrism. Food Quality and Preference 78, Article 103716.

Weitere Veröffentlichungen

Buchkapitel

Haßauer, C., S. Ehlers and J. Roosen (2019): Bewerten und Gewichten: Evidenz als Entscheidungshilfe in der Gesundheits- und Entwicklungspolitik. In: K. Zachmann, S. Ehlers (Hrsg.). Wissen und Begründen: Evidenz als umkämpfte Ressource in der Wissensgesellschaft, pp. 109-136. Baden-Baden: Nomos.

Roosen, J., I. Dolgopolova and M. Staudigel (2019): Health and nutrition: Policy, consumer and industry perspectives. In: L. Dries, W. Heijman, R. Jongeneel, K. Purnhagen, J. Wesseler (eds.). EU Bioeconomy - Economics and Policies: Volume II, 63-82. New York: Palgrave Macmillan.

Forschungsberichte

SocialLab Konsortium (2019). SocialLab – Nutztierhaltung im Spiegel der Gesellschaft. Braunschweig: Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung.

Konferenzbeiträge mit Begutachtungsprozess

Dolgopolova, I. and J. Roosen (2019): See What You Eat: Fast-food Choices of Young Adults in an Experiment with Dynamic Feedback. Presentation at 2019 Agricultural & Applied Economics Association Annual Meeting, July 21 – 23, Atlanta, GA.

Gross, S., Waldrop, M., and J. Roosen (2019): How does animal welfare taste? Combining sensory and choice experiments to evaluate willingness to pay for animal welfare pork. 168th EAAE Seminar “Behavioural Perspectives in Agricultural Economics and Management”, 2019 in Uppsala, Sweden.

Haßauer, C. and J. Roosen (2019): Which criteria do consumers use to evaluate the safety of food? Presentation at 2019 Agricultural & Applied Economics Association Annual Meeting, July 21 – 23, Atlanta, GA.

Neubig, C. M., Van Cauter, M., Hieke, S., Grasso, S., Knöpfle, S., Macready, A., Masento, N., Massri, C., Omoarukhe, E., Roosen, J., and L. Vranken (2019): The influence of information on consumers' intention to reduce food waste in three European countries. Poster presented at the 2019 Agricultural & Applied Economics Association Annual Meeting. July 21-23, Atlanta, GA.

Roosen, J. and C. Grebitus (2019): The role of attention in predicting choice. DCE Colloquium, TU-Berlin. July 2, 2019.

Roosen, J. and I. Dolgopolova (2019): The influence of self-control and social-norm espousal on the effectiveness of information to lower calorie content of meal orders among young adults. Presentation at the ISMS Marketing Science Conference, June 20-22, Rome, Italy.

Waldrop, M. (2019): Consumer acceptance and willingness to pay for cow housing systems in eight EU countries. EAAP 2019 Conference, August 26-30, Ghent, Belgium.

Waldrop, M. (2019): Consumer acceptance and willingness to pay for cow housing systems in eight EU countries. EAAE Seminar 174, October 10-12, Matera, Italy.

Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie
ZIEL Institute for Food & Health (Abt. 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:	Dr. Etienne Doll	-2258
	Dr. Genia Lücking (Teilzeit)	-2257
	Dr. Lena Staib (Teilzeit)	-5570
Doktoranden:	M.Sc. Anna Dettling	-3859
	M.Sc. Katharina Hofmann	-5570
	M.Sc. Christopher Maier	-3859
	M.Sc. Annemarie Siebert	-3859
	M.Sc. Sonja Vanderhaeghen (bis 30.04.2019)	-5091
Technische Mitarbeiter:	Celler Inge	-5563
	Angela Felsl	-2191
	Charon Fuhrmann (bis 30.11.2019)	-5098
	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 bearbeiten wir Schadmikroben im Produktionsprozess, v.a. Pseudomonaden und thermophile Sporenbildner.

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. Etienne Doll geleitet (Tel. 71-2258).

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

Lebensmittelmikrobiologische Diagnostik

Leiterin: Dr. Etienne Doll

Der Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie, ZIEL - Institute for Food and Health, steht seit langem in engem Kontakt zur Lebensmittelindustrie und hat einen Forschungsfokus auf anwendungsbezogene Themen, die unmittelbar Probleme aus der Praxis mit mikrobiologischen Bezug aufgreifen.

Unser Expertenwissen in den Bereichen Diagnostik und Lebensmittelverderb setzen wir ein und leisten Hilfe bei der Analyse von mikrobiologischen Produktionsproblemen. Der Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie ist einschlägig bekannt für hochkompetente, schnelle und diskrete Hilfestellungen.

Zur Beurteilung mikrobiologischer Schäden in der Lebensmittelproduktion und deren Behebung ist eine möglichst genaue Kenntnis der verursachenden Mikroorganismen notwendig. In der Identifizierung von Schadfloren haben wir langjährige Erfahrung. Viele Identifizierungen können durch die in unserem Haus entwickelten und routinemäßig angewendeten FTIR-Spektrenbibliotheken schnell und kostengünstig durchgeführt werden.

Leistungsspektrum

- Umfassende Analyse der Kontaminationsflora bei schadhaften Produkten
  - Identifizierung von Bakterien und Hefen mittels FTIR-Spektroskopie oder molekularbiologischen Methoden
  - Identifizierung von Schimmelpilzen, morphologisch oder molekularbiologisch
- Kontaminationsrouten-Analyse über Stammvergleiche mittels molekularbiologische Typisierung (RAPR-PCR)
- *Trouble Shooting*-Service für die Lebensmittelindustrie
- Beratung bei mikrobiologischen Produktionsproblemen

Forschung

Arbeitsgruppe: Hygiene und Mikrobiota von Rohmilch

Gruppenleiterin: Dr. Etienne Doll

Die Wertschöpfung milchwirtschaftlicher Erzeugnisse basiert auf ihrer hygienischen Beschaffenheit. Stellschraube für eine möglichst hohe, mikrobielle Qualität ist dabei neben der Betriebshygiene vor allem die Zusammensetzung der Rohmilchmikrobiota. Im Rahmen des NextMilQ-Verbundprojektes wird diese mittels NGS-Ampliconsequenzierung im Hochdurchsatz erfasst und Einflussfaktoren, wie z.B. konventionelle vs. organische Herstellungsweise, geographische Lage oder die Herdengröße evaluiert. Darüber hinaus werden passgenaue Schnellnachweismethoden für hygienische relevante (Verderbs-) Mikroorganismen aus der Rohmilch entwickelt.

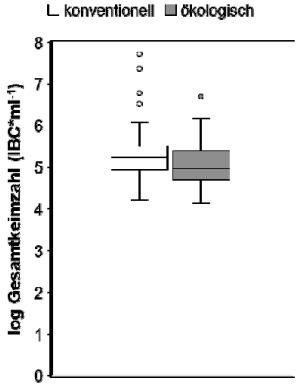
Quantifizierung von hygienisch relevanten Gattungen in Rohmilch mittels Amplicon-Sequenzierung

Quantification of hygiene indicators in raw milk using amplicon-sequencing

Annemarie Siebert

Die mikrobielle Zusammensetzung von Rohmilch hat einen bedeutenden Einfluss auf die hygienische und sensorische Beschaffenheit sowie Qualität der resultierenden Milchprodukte. In diesem Projekt dient die Ampliconsequenzierung zur Analyse des Rohmilchmikrobioms deutscher Erzeugerhöfe. Dabei wird der Einfluss der Produktionsart (konventionell bzw. ökologisch) auf die Quantität von Hygiene assoziierten Keimgruppen untersucht, um die damit verbundene mikrobiologische Milchqualität zu bewerten.

Die bakterielle Zellzahl ist ein wichtiger Parameter, über den eine erste Einschätzung der mikrobiologischen Rohmilchqualität erfolgt. Während bei dem klassischen Plattierungsverfahren die aerobe, mesophile Gesamtkeimzahl erfasst wird, können mit der Durchflusszytometrie (BactoCount™) zusätzlich nicht kultivierbare Bakterien, wie z.B. anaerobe Spezies, detektiert werden. Da die Gesamtkeimzahlen für die quantitative Auswertung der Sequenzierdaten herangezogen werden, wurden die Rohdaten (IBC*ml^{-1}) des Durchflusszytometers für die ersten 237 Proben ausgewertet (Abb. 1).



Diese absoluten Zellzahlen sind entsprechend höher als die für Rohmilch gewöhnlichen Keimzahlen von 10^3 - 10^5 KbE*ml^{-1}. Mit einem Median von $2x10^5$ IBC*ml^{-1} zeigte sich bei den konventionellen Proben gegenüber dem der ökologischen Proben (Median von $9x10^4$ IBC*ml^{-1}) eine leicht erhöhte bakterielle Belastung. Die höchsten Keimzahlen mit vier Ausreißern von bis zu 10^8 IBC*ml^{-1} wurden ebenso in der konventionellen Rohmilch gemessen. Die weitere Probenahme wird zukünftig Aufschluss über einen möglichen signifikanten Unterschied der Produktionsarten hinsichtlich der absoluten Gesamtkeimzahlen gehen.

Abb. 1: Per BactoCount™ ermittelte absolute Gesamtkeimzahlen (IBC*ml^{-1}) Rohmilch (konventionell n=189, ökologisch n=48).

Die Mikrobiomdaten der 237 Rohmilchproben wurden zunächst in Hinblick auf die quantitative Verteilung einzelner Keimgruppen (*Enterobacteriaceae*, *Staphylococcaceae* und *Streptococcaceae*) mit hygienischer Relevanz betrachtet (Abb. 2). Dafür wurde ihr prozentualer Anteil in der Sequenzierung mit den absoluten Zellzahlen (IBC*ml^{-1}) des BactoCount™ verrechnet. Maximale Werte von 10^6-10^7 IBC*ml^{-1} wurden für die Familie der *Streptococcaceae* detektiert, während die *Staphylococcaceae*-Keimzahlen maximal zwischen 10^5 und 10^6 IBC*ml^{-1} erreichten. Auch auf Gattungsebene ist *Streptococcus* mit einem Median von $7x10^3$ IBC*ml^{-1} im Schnitt gegenüber den Staphylokokken (Median von $3x10^3$ IBC*ml^{-1}) stärker vertreten. Beide Gattungen wurden ausnahmslos in allen Proben gefunden, wobei *Staphylococcus* in 96% der Proben mit einer relativen Abundanz von ≤10% vorkam. Die Streptokokken erreichten dagegen in einem Viertel der Proben zwischen 11%-50% und sogar in 8% der Proben zwischen 51%-98%. Spezies beider Familien stehen im Zusammenhang mit der Euterentzündung Mastitis und sind daher bedeutende Hygieneindikatoren. Die hohe Abundanz der Gattung Streptococcus könnte ein Hinweis darauf sein, dass Mastitis regelmäßig über alle Betriebe verteilt auftritt. Zur Familie der Enterobakterien (*Enterobacteriaceae*) zählen potenzielle Krankheitserreger, weshalb sie für die Lebensmittelsicherheit eine große Rolle spielen. Die analysierten Proben zeigten geringe Keimzahlen, was mit einem Median der unter 10^2 IBC*ml^{-1} liegt sehr deutlich wird. Problematisch hohe Keimzahlen von über 10^5 IBC*ml^{-1} wurden ausschließlich in zwei Proben detektiert. Auf Gattungsebene wurde *Escherichia*/*Shigella* in nur 58% der Proben mit einem Median von unter 10 IBC*ml^{-1} gefunden. Die äußerst geringen Keimzahlen sind in Bezug auf die Lebensmittelsicherheit positiv zu bewerten und zeigen den sehr hohen Hygienestandard bei der Milchproduktion deutscher Erzeugerhöfe. Sowohl auf Familienebene als auch auf Gattungsebene konnten noch keine eindeutigen Unterschiede festgestellt werden, die ausschließlich auf die Produktionsweise zurückzuführen sind. Für eine aussagekräftige Statuserhebung und die anschließenden Korrelationsanalysen zur Aufdeckung von Einflussfaktoren auf einzelne Keimgruppen sind noch weitere Mikrobiomanalysen notwendig.

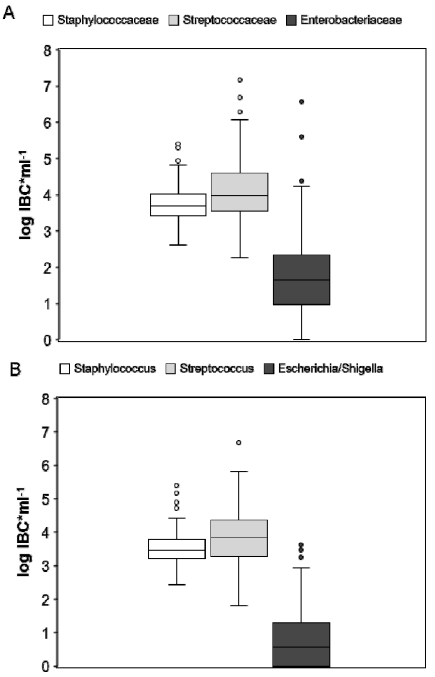


Abb. 2:
Verteilung der absoluten Zellzahlen (IBC*ml^{-1}) hygienisch relevanter Keimgruppen, detektiert in Rohmilchproben auf Familienebene (A) und auf Gattungsebene (B), n=237.

Weiterhin wurden erste Untersuchungen hinsichtlich der alpha-Diversität mit den beiden Biodiversitäts-Indizes Richness und Shannon durchgeführt (Abbildung 3). Während die Richness die Anzahl der verschiedenen OTUs einer Probe angibt, berücksichtigt der Shannon-Index zusätzlich deren relative Abundanz. Die minimale Spezies Richness für die konventionellen Proben liegt bei 107, wohingegen für die ökologischen Proben ein Minimum von 206 OTUs detektiert wurde. Auch mit 323 OTUs im Median zeigte die ökologische Rohmilch insgesamt eine etwas höhere Biodiversität gegenüber der Konventionellen (Median von 305 OTUs). Dieser Unterschied zwischen den Produktionsweisen wurde auch über die Medianen im Shannon-Index festgestellt. Insgesamt zeigt sich eine hohe Varianz der Biodiversität zwischen den unterschiedlichen Höfen. Im weiteren Projektverlauf soll getestet werden, ob bei der Mehrfachbeprobung einzelner Höfe eine stabile, hofspezifische Mikrobiota vorliegt und eine mögliche Veränderung der Prävalenz einzelner Gattungen über die Zeit mit z.B. jahreszeitlichen Schwankungen korreliert.

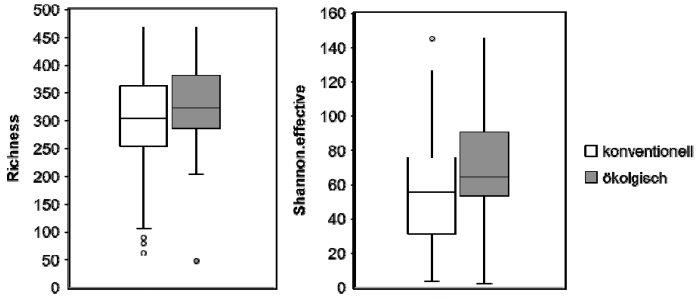


Abb. 3: Alpha-Diversität Indizes (Richness und Shannon.effective) zur Biodiversitätsanalyse der Mikrobiota von Rohmilchproben (konventionell n=182, ökologisch n=50).

Im Anschluss an die Datenerhebung wird berechnet, ob die Abundanz bzw. Quantität einzelner Gattungen und Keimgruppen mit der Art der Milcherzeugung oder der regionalen Lage korreliert. Zukünftig sollen die Daten dazu dienen, Handlungsanweisungen bezüglich Produktions- und Haltungsbedingungen zu geben, die eine Verbesserung der mikrobiologischen Milchqualität gewährleisten.

Das Forschungsvorhaben (281A105516) wird von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) gefördert.

Arbeitsgruppe: Hitzeresistente Sporenbildner
Gruppenleiter: Siegfried Scherer

Thermophile Sporenbildner persistieren in Milchpulveranlagen und zeichnen sich durch verbesserte Überlebens- und Wachstumseigenschaften aus
Thermophilic spore formers persist in milk powder plants and are characterized by enhanced survival and growth

Anna Dettling

Das Erreichen niedriger thermophiler Sporenzahlen in Milchpulvern wurde in den letzten Jahren zu einer immer größer werdenden Herausforderung für Pulverhersteller. Gleichzeitig steigt die Nachfrage an sogenanntem „low-spore“ Pulver stetig weiter an, wodurch die Produktion großer Probenmengen bei möglichst langen Standzeiten wünschenswert ist. Eine umfassende Analyse von Prozessproben hat gezeigt, dass der Eintrag an thermophilen Sporen, die in großer Zahl von bis zu 10^5 Sporen/g im Pulver vorkommen, nicht durch die Rohware erfolgt (Tabelle 1). Neben der thermophilen Sporenzahl unterscheiden sich Rohmilch und Pulverproben auch vor allem in der Zusammensetzung der thermophilen Mikrobiota. Der Sporenzahlanstieg geht einher mit der Verschiebung der Biodiversität von hauptsächlich *Bacillus licheniformis* in Rohmilch hin zu obligat thermophilen Sporenbildnern (v.a. *Anoxybacillus flavithermus*) in Pulver (Tabelle 1). Mehrere Stufenkontrollen haben zudem gezeigt, dass in Anlagen persistierende Sporen schon in frühen Prozessschritten (z.B. Rahm-Separation, Anwärmphasen im thermophilen Wachstumsbereich) schnell und zu großer Zahl hochwachsen und dadurch die Rohmilchmikrobiota verdrängt wird. Dies begründet die hohe Sporenfracht im Endprodukt.

Tabelle 1: Thermophile Sporenzahl und Mikrobiota in 33 Rohmilch- und 23 Milchpulverproben

	Rohmilch	Milchpulver
Sporenzahl		
[KbE/mL(g)]	$2 - 1{,}4 \cdot 10^2$	$1{,}0 \cdot 10^2 - 1{,}9 \cdot 10^5$
Spezieshäufigkeit		
B. licheniformis	82,8 %	7,1 %
Anoxybacillus spp.	1,0 %	86,2 %
Geobacillus spp.	0,4 %	5,6 %
Sonstige	15,8 %	1,1 %

Die Verbreitung von in Anlagen persistierenden Sporen in Milchpulver-Betrieben in Deutschland wurde innerhalb von AiF-FV 19825 N für 8 Molkereien untersucht. Spezifische Produktionslinien wurden über einen Zeitraum von bis zu 24 Monaten in regelmäßigen Abständen beprobt und Isolate der in Pulver prävalenten Spezies *A. flavithermus* und *G. stearothermo-philus* auf Stammebene miteinander verglichen. Mittels RAPD-PCR zur Stammtypisierung konnten für alle 8 Molkereien Stämme identifiziert werden, die über einen Zeitraum zwischen 1 und 24 Monaten wiederkehrend isoliert wurden (Abbildung 1). Je nach Unternehmen variierte die Anzahl an isolierten persistierenden Stämmen zwischen 2 und 10 Stämmen, wobei der Produkttyp (u.a. Magermilch-, Molken-, Vollmilchpulver) darauf keinen Einfluss hatte (Abb. 1). Die Persistenz thermophiler Sporenbildner in Pulveranlagen ist somit in der Tat ein weit verbreitetes Phänomen. Folglich reichen angewandte Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen nicht aus, diese Stämme nachhaltig aus der Produktionsanlage zu entfernen und dadurch ein erneutes Hochwachsen in folgenden Produktionschargen zu verhindern.

Molkerei / Monat	1 SMP-C	2 SMP	3 SMP, WMP	4 WP	5 SMP	6 SMP	7 WMP	8 SMP, WPC50
1	1	6		4			1	5
2		2				2	3	
3				1	1		1	1
4							2	
5							1	
6							2	
8					1			
9			1					
14	2		1					
24	1							
∑ Stämme	4	8	2	5	2	2	10	6

[1]SMP = Magermilchpulver, [2]SMP-C = Magermilchkonzentrat, [3]WMP = Vollmilchpulver, [4]WP = Molkenpulver, [5]WPC50 = Molkenprotein Konzentrat

Abb. 1: Wiederfindung identischer Stämme thermophiler Sporenbildner in 8 Molkereien über einen Zeitraum von 24 Monaten

In einer vergleichenden Analyse von Stämmen aus Rohmilch und Milchpulver, wobei die Pulvergruppe auch persistierende Stämme enthielt, wurde untersucht ob sich Unterschiede in physiologischen Eigenschaften durch deren Herkunft ergeben und sich dadurch das persistie rende Verhalten beschreiben lässt. Dabei wurden Eigenschaften, die in Zusammenhang mit den Umgebungsbedingungen einer Pulveranlage, sowie der Anlagenreinigung stehen untersucht, welche es persistierenden Sporen ermöglicht dort über längere Zeit zu überleben. Pulverstämme zeigten ein deutlich stabileres und reproduzierbareres Wachstum, wobei sie unter identischen Bedingungen im Vergleich zu den Rohmilchstämmen signifikant schneller wachsen und eine höhere Anzahl an Sporen bilden. Zudem wurde in der Sensitivität der Sporen gegenüber Hitze bei 95°C und einer Behandlung mit Lauge ähnlich der Anlagenreinigung (1 % NaOH, 65 °C, 10 min) deutliche Unterschiede beobachtet. In der Gesamtheit der Pulverstämme zeigte sich eine geringere Sensitivität der Sporen für beide Bedingungen und im Vergleich zu den Rohmilchstämmen war der Unterschied der Pulverstämme untereinander geringer (Abb. 2). Die Untergruppe an persistierenden Pulverstämmen grenzte sich durch eine hohe Resistenz beider Merkmale von den restlichen Pulverstämmen ab (Abb. 2). Interessanterweise finden sich im selben Bereich auch 2 Rohmilchstämme mit im Vergleich zu den restlichen Rohmilchstämmen deutlich erhöhter Resistenz.

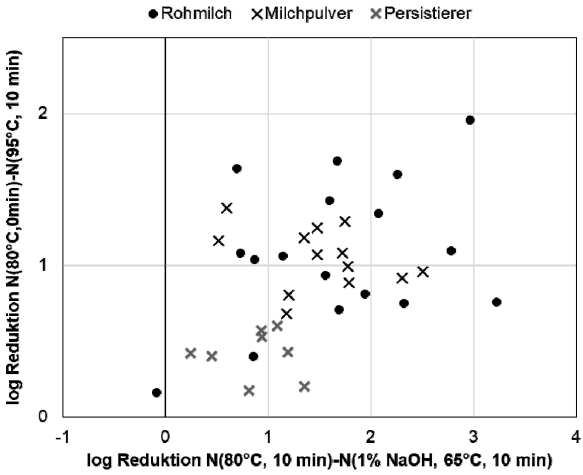


Abb. 2: Sensitivität thermophiler Sporen gegenüber Hitze (95°C) und einer Behandlung mit Reinigungslösung (1 % NaOH, 65°C, 10 min). Getestet wurden 17 Stämme aus Rohmilch und 21 Stämme aus Milchpulver, wovon 8 Stämme in Pulveranlagen persistieren.

Zusammengefasst zeigten bisherige Analysen sehr deutlich, dass sich persistierende Stämme in Anlagen ansiedeln und dort über längere Zeit überleben. Persistierende Stämme zeichnen sich durch eine hohe Resistenz gebildeter Sporen und ein sehr gutes Wachstums- und Sporulationsverhalten aus, wodurch deren Überdauern und erneutes Anwachsen begünstigt wird. Offen ist allerdings die Frage, worin sich die spezialisierte Merkmalsausprägung, die im persistierenden Verhalten in der Anlage beobachtet wird, begründet. Einerseits kann es durch Adaptionsvorgänge bestimmter Stämme beim Ansiedeln in Anlagen zur Merkmalsausprägung kommen. Andererseits wurde für 2 Rohmilchstämme eine den Persistierern ähnliche Resistenz beobachtet. Dies würde bedeuten die Spezialisierung besteht schon vor Ansiedelung in der Anlage und lediglich diese Stämme sind in der Lage sich in Anlagen niederzulassen.

Die Hypothese einer Anlagen-bedingten Adaption nicht-spezialisierter Rohmilchstämme an die Prozessbedingungen zur Ausbildung des persistierenden Verhaltens wird aktuell geprüft. Zur Klärung der Adaptionsfrage im Pulverprozess werden ausgewählte, sensitive Rohmilchstämme über mehrere 100 Generationen kultiviert und in regelmäßigen Abständen einer Behandlung mit Lauge unterzogen. Anschließend wird analysiert, ob sich das Verhalten der Rohmilchstämme durch widerholten Stress ändert und sich an das der persistierenden Stämme anpasst. Dies würde dann einer Adaption an die Produktionsanlage entsprechen.

Das Forschungsvorhaben (AiF 19825 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. Dieses Vorhaben wurde z.T. aus Mitteln der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V. gefördert.

Arbeitsgruppe: Ökologie und hitzeresistente Peptidasen von Pseudomonas in Rohmilch

Gruppenleiterin: Genia Lücking

Hitzeresistente bakterielle Peptidasen in Rohmilch sind häufig am vorzeitigen Verderb von Milchprodukten beteiligt und stellen ein großes Problem für die Qualität von Dauermilcherzeugnissen wie z. B. H-Milch dar. Studien zeigten, dass *Pseudomonas* die häufigste bakterielle Gattung in kühl gelagerter Rohmilch darstellt und zudem über die höchste proteolytische Kapazität verfügt. Unsere aktuellen Forschungsarbeiten beschäftigen sich mit der Regulation der Peptidaseproduktion und der Entwicklung eines spezifischen Nachweissystems für Milchrelevante *Pseudomonas*-Spezies. Ein weiterer Forschungsschwerpunkt liegt auf der Aufklärung der Haupteintragsrouten und hofseitigen Einflussfaktoren, die zu hohen *Pseudomonas*-Keimzahlen in Rohmilch führen.

Vergleich verschiedener Methoden zur Quantifizierung von *Pseudomonas* in Rohmilch

Comparison of different methods for quantification of Pseudomonas in raw milk

Katharina Hofmann

Ziel dieses Projektes ist die Identifizierung von hofspezifischen Faktoren und möglichen Eintragsrouten, die ursächlich für hohe *Pseudomonas*-Zahlen in der Rohmilch sind. Hierzu werden Rohmilchproben von unterschiedlichen Höfen aus ganz Deutschland hinsichtlich ihrer Gesamtkeimzahl, der *Pseudomonas*-Keimzahl sowie per Hochdurchsatzsequenzierung auf die relative Zusammensetzung auf Gattungsebene hin analysiert.

Klassischerweise wird zur Quantifizierung einer bestimmten Gattung die Kultivierung auf Selektivagar (z.B. CFC-Agar) herangezogen, dessen Zusammensetzung das Wachstum anderer Gattungen beeinträchtigt, sowie das der erwünschten Mikroorganismen fördert. Dieses Verfahren ist insbesondere bei großen Probenzahlen sehr zeit- und materialintensiv. Die Quantifizierung von *Pseudomonas*-spezifischer DNA in der Rohmilch mittels quantitativer Real-time PCR (qPCR) hat dagegen zum Vorteil, dass die Messungen unabhängig vom Probeneingang erfolgen können und viele Proben mit einem geringen Zeitaufwand in einer Messung analysiert werden. Hierfür werden Primer, die spezifisch *Pseudomonas*-DNA binden, in Kombination mit einer ebenfalls sequenzspezifischen TaqMan-Sonde verwendet, die einen Fluoreszenzfarbstoff trägt. Zur absoluten Quantifizierung der *Pseudomonas*-Keimzahlen wurde eine Standardkurve entwickelt, mithilfe derer man vom qPCR-Signal direkt auf die entsprechende *Pseudomonas*-Keimzahl schließen kann. Zur Validierung des Assays wurde von 43 Rohmilchproben zusätzlich die *Pseudomonas*-Keimzahl auf Selektivagar ermittelt (Abb. 1). Dabei zeigte sich eine gute Korrelation zwischen den per qPCR berechneten und den per Kultivierung bestimmten *Pseudomonas*-Keimzahlen, insbesondere bei Werten über 10^4 KbE/ml. Bei niedrigeren Keimzahlen ist das Ergebnis der qPCR häufig um bis zu 2 log-Stufen höher, was die unterschiedlichen Detektionslimits beider Methoden zur Ursache haben könnte. Insgesamt dient der qPCR-Assay jedoch sehr gut zur schnellen Identifikation von Rohmilchproben, die auffällig hohe *Pseudomonas*-Belastungen aufweisen.

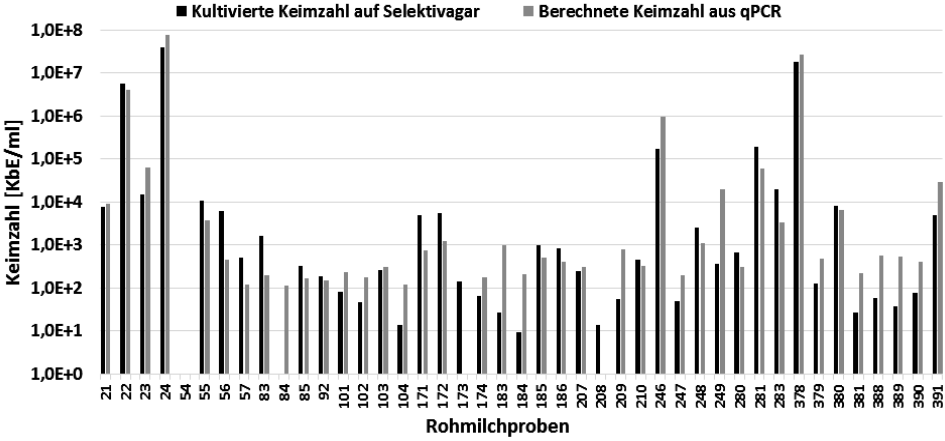


Abb. 1: Vergleich der per qPCR berechneten *Pseudomonas*-Keimzahlen mit den per Kultivierung auf CFC-Agar ermittelten Werten von 43 Rohmilchproben

Die letzte der drei verwendeten Methoden zur Detektion der *Pseudomonas*-Belastung in den Rohmilchproben stellt die Quantifizierung basierend auf der 16S rRNA Amplikon Sequenzierung dar. Diese liefert die relative Zusammensetzung der in den einzelnen Milchproben vorhandenen Bakterien auf Gattungsebene. Multipliziert man nun den prozentualen Anteil der Pseudomonaden in der Probe mit der dazugehörigen Gesamtkeimzahl, die per Durchflusszytometrie bestimmt wurde, erhält man ebenfalls die absolute *Pseudomonas*-Keimzahl der Probe. Zum Vergleich der drei Methoden wurden diese an 34 Rohmilchproben parallel getestet (Abb. 2).

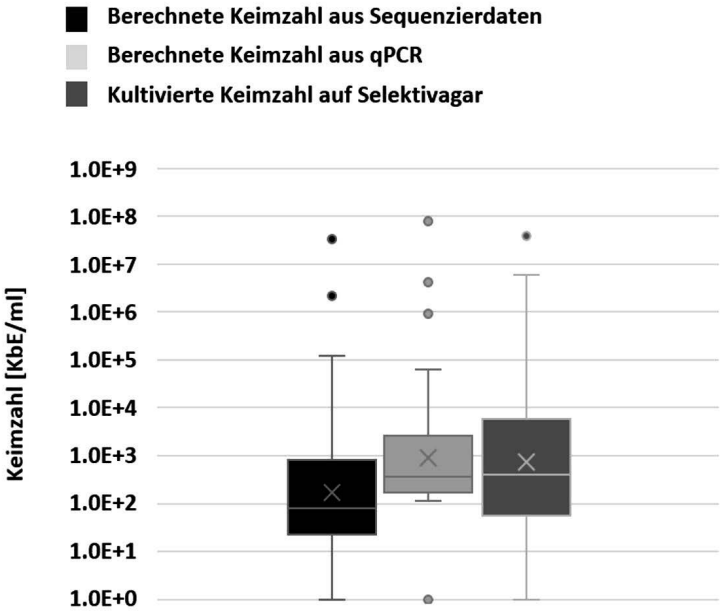


Abb. 2: Vergleich der drei verwendeten Methoden zur Bestimmung der *Pseudomonas*-Keimzahl in 34 Rohmilchproben

Insbesondere die Gegenüberstellung der per qPCR bestimmten Keimzahlen mit den aus der Kultivierung gewonnenen Werten zeigte, dass sowohl Mittelwert ($9.0*10^2$ bzw. $7.5*10^2$ KbE/ml) als auch Median ($4.1*10^2$ bzw. $4.5*10^2$ KbE/ml) gut übereinstimmen. Die aus den Sequenzierdaten berechneten Werte waren etwas geringer, mit einem Mittelwert von $1.7*10^2$ KbE/ml und einem Median von $8.2*10^1$ KbE/ml. Grund hierfür könnte sein, dass Pseudomonaden in der Sequenzierung z.B. auf Grund von Mismatches mit den universellen 16S-Primern unterrepräsentiert werden.

Zusammenfassend wird die Quantifizierung der *Pseudomonas*-Belastung per qPCR für den weiteren Projektverlauf als am geeignetsten angesehen, da die Methode mit einem geringen Aufwand verbunden ist und die Ergebnisse am besten mit den per Kultivierung bestimmten Werten korreliert. Zudem können die per qPCR ermittelten Werte zur Qualitätskontrolle der Sequenzierung dienen. Größere Divergenzen zu den aus der Sequenzierung berechneten Keimzahlen könnten beispielsweise auf Fehler in der Sequenzierung hinweisen.

Zukünftige Arbeiten beschäftigen sich mit der Analyse des Rohmilchmikrobioms. Hierbei sollen die Sequenzierdaten hinsichtlich signifikanter Zusammenhänge zwischen hohen *Pseudomonas*-Prävalenzen und hofseitigen Einflussfaktoren wie z. B. Art des Melksystems oder der Tierhaltung analysiert werden. Zudem wird die relative Probenzusammensetzung zukünftig auch dazu genutzt, um zu untersuchen, ob *Pseudomonas* gehäuft zusammen mit anderen Gattungen auftritt, um weitere Hinweise hinsichtlich der Eintragsrouten zu erlangen.

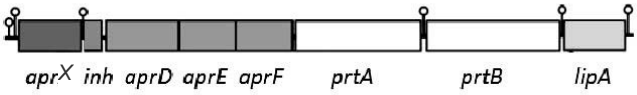
Das Forschungsvorhaben (AiF 20027 N) wird im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)" vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.

Regulation der Peptidaseproduktion bei *Pseudomonas*

Regulation of peptidase production in Pseudomonas

Christopher Maier

Pseudomonas produziert nur eine sekretierte Peptidase, die alkalische Metallopeptidase AprX. Das *aprX*-Gen ist in einem Operon (*aprX-lipA2*) lokalisiert, das je nach Spezies weitere Gene enthält, z.B. Gene für einen Proteaseinhibitor *(inh*), ein Typ I Sekretionssystem (*aprDEF*), zwei putative Autotransporter (*prtA und prtB*) und eine Lipase (*lipA*). Abb. 1 zeigt schematisch den genetischen Aufbau dieses Genclusters für die Spezies *P. fluorescens*, bei der das Operon erstmalig beschrieben wurde.



Um den Einfluss verschiedener *Pseudomonas* Spezies auf Dauermilchprodukte beurteilen zu können, wurden 16 verschiedene Rohmilchisolate für vier Tage in H-Milch kultiviert und deren Peptidaseaktivität mittels Azocasein-Assay bestimmt (Abb. 2). Das proteolytische Potenzial der Isolate fiel dabei stark spezies- und z.T. stammspezifisch aus. Generell war dabei die proteolytische Aktivität von *P. gessardii*, *P. azotoformans, P. lactis*, *P. proteolytica*, *P. paralactis* und *P. meridiana* hoch und die von *P. fragi*, sowie einigen Vertreter von *P. lundensis* gering.

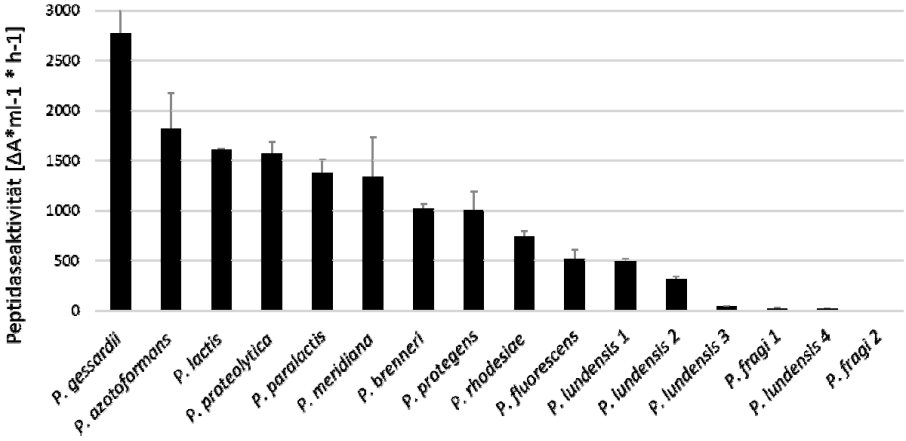


Abb. 2: Proteolytische Aktivität von 16 verschiedenen *Pseudomonas*-Isolaten, die 4 Tage in H-Milch kultiviert wurden

Ein Grund für die große Varianz der Peptidaseproduktion innerhalb der Gattung *Pseudomonas* könnten genetische Unterschiede im *aprX-lipA2* Operon sein. Um dies zu testen wurde eine phylogenomische Analyse von 81 *Pseudomonas* Typstämmen und weiteren 86 Rohmilchisolaten durchgeführt. Dabei konnten große Abweichungen in der Anzahl und Reihenfolge der Operongene nachgewiesen werden. Es zeigte sich, dass das *aprX-lipA2* Operon aus einer konservierten (*aprXIDEF*) und einer variable Region besteht (Abb. 3). Die variable Region kann dabei bis zu zwei putative Autotransportergenen (*prtA*/*prtB*) und zwei Lipasegene (*lipA1/lipA2*) beinhalten. Zusätzlich sind Genloci außerhalb des Operons, wie z.B. die Gene *prtA* und *prtB* bei einigen Vertretern von *P. lundensis*, möglich.

Am häufigsten wurden vier verschiedene Operontypen (Typ1-4) identifiziert, welche sich in der Zusammen-setzung der variablen Operonregion unterschieden (Abb. 3). Darüberhinaus wurde ein Zusammenhang des Operontyps mit der proteolytischen Aktivität gezeigt. Hierbei korrelierten Typ 1 und 2 vor allem mit hoher, Typ 3 mit moderat bis geringer und Typ 4 mit geringer proteolytischer Aktivität

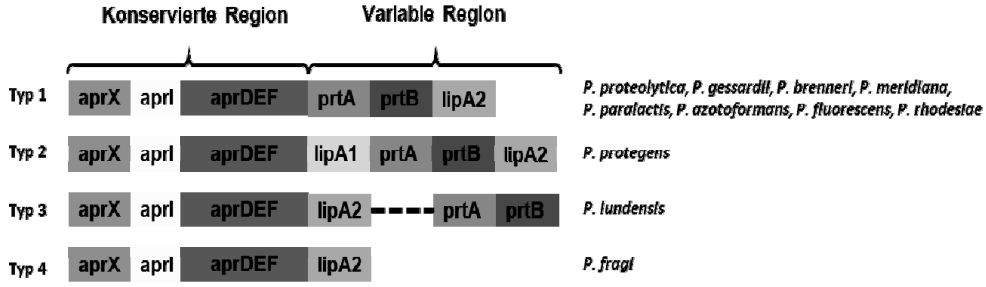


Abb. 3: Phylogenomisch identifizierte Haupttypen des *aprX-lipA2* Operons und deren Vorkommen in verschiedenen *Pseudomonas* Spezies.

Neben der *aprX-lipA2* Operonstruktur hat die Kultivierungstemperatur einen großen Einfluss auf die proteolytische Aktivität. Abb. 4 zeigt die proteolytische Aktivität eines Vertreters von *P. proteolytica* nach 3- und 4-tägiger Kultivierung in H-Milch bei verschiedenen Temperaturen (6 °C, 12 °C und 30°C). Hierbei ist die höchste Peptidaseaktivität nach 4 Tagen und niedrigen Temperaturen zu beobachten, obwohl die Temperaturoptima für das Wachstum des Stammes sowie für die Peptidase AprX wesentlich höher sind (30 - 40°C).

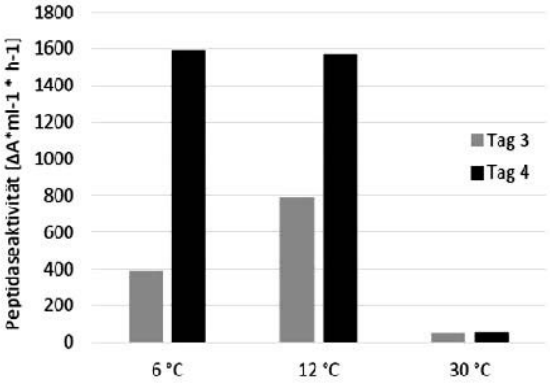


Abb.4: Proteolytische Aktivität eines *P. proteolytica*-Isolates nach 3- und 4-tägiger Inkubation in H-Milch bei 6 °C, 12 °C und 30 °C

Die regulatorischen Mechanismen, welche diesen Beobachtungen zu Grunde liegen, sind im Detail noch unbekannt. Folglich sollen Deletionsmutanten des *P. proteolytica*-Stammes bezüglich der wichtigen Operongene (*aprX, prtA, prtB, lipA2*) hergestellt werden. Diese sollen unter verschiedenen Kultivierungsbedingungen (Zeit, Temperatur) hinsichtlich Transkription der Operongene, Peptidaseproduktion und proteolytischer Aktivität charakterisiert werden. Die gewonnenen Erkenntnisse sollen, neben dem besseren Verständnis der regulatorischen Zusammenhänge, langfristig zur Reduzierung der Peptidaseproduktion in Rohmilch und folglich zur qualitativen Verbesserung von Dauermilchprodukten beitragen.

Dieses Vorhaben wurde z.T. aus Mitteln der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V. gefördert.

Arbeitsgruppe: Taxonomie und Biodiversität

Gruppenleiter: Siegfried Scherer

Lebensmittelassoziierte Habitate sind ein enormes Reservoir verschiedenster Bakterien-, Hefen- und Schimmelstämme. Der Fokus der Gruppe liegt auf der Erfassung, Beschreibung und Konservierung dieser intra- und interspezifischen Biodiversität. Mit der Weihenstephaner Stammsammlung wurde dafür eine umfassende Kollektion lebensmittelrelevanter Isolate geschaffen. Im Rahmen der Biodiversitätsstudien wurde zudem eine Vielzahl bislang unbekannter, mikrobieller Spezies und Gattungen isoliert, die wir formell neu beschreiben.

Weihenstephaner Stammsammlung

Weihenstephan Microbial Strain Collection

Etienne Doll

Im Zuge unsrer vielseitigen Projekte entstand eine umfangreiche Stammsammlung mit aktuell etwa 11.000 gefriergetrockneten Isolaten, die in allgemeinen Sammlungen von Bakterien-, Hefen- und Schimmelstämmen, sowie in speziellen Forschungssammlungen erfasst sind (Tabelle 1). Ein Großteil der Isolate stammt aus umfangreichen Biodiversitätsstudien lebensmittelassoziierter Habitate und pharmazeutischer Umfeldproben, sowie aus den laufenden Arbeiten unsrer Routinediagnostik. So enthält die Sammlung neben verderbsrelevanten Spezies auch wichtige Pathogene und wird durch eine Vielzahl von Typ- und anderen Sammlungsstämmen der DSMZ oder ATCC ergänzt. Die Isolate dienen dabei als Referenz zur Beschreibung neuer Taxa, der Pflege und Verbesserung unsrer FTIR-Datenbank und als wertvolle Grundlage verschiedenster Forschungsprojekte.

Tabelle 1: Übersicht der Weihenstephaner Stammsammlungen

Sammlung		Anzahl Stämme
WS	Allgemeine Bakteriensammlung	ca. 4000
WSYC	Allgemeine Hefensammlung	ca. 750
WSMC	Allgemeine Schimmelsammlung	ca. 350
WSLC	Forschungssammlung Gattung *Listeria*	ca.1900
WSBC	Forschungssammlung *Bacillus cereus* Gruppe	ca.1100
	Forschungssammlung Hefen	ca.3000
	Forschungssammlung "Coryneforme Bakterien"	ca.1200

Beschreibung neuer, bakterieller Taxa aus Rohmilch und Milchprodukten

Description of novel, bacterial taxa from raw and processed milk

Etienne Doll

Milch ist mit ihrem neutralen pH, dem hohen Grad an verfügbarem Wasser und Nährstoffen ein ideales Wachstumsmedium. Ihre Mikrobiota stammt aus unterschiedlichsten Quellen im Stall- und Produktionsumfeld wie Luft, Wasser, Erdboden, Einstreu, Fäzes, Euterhaut, oder Rückständen in Melk- oder Rohrsystemen. Entsprechend groß ist die resultierende, bakterielle Diversität.

Im kulturellen Ansatz wurden in unsrer Gruppe mehrere Hundert verschiedener Spezies identifiziert, darunter eine große Zahl bislang unbekannter Taxa. So konnten wir unter 3000 Stämmen aus 40 Rohmilch und Milchhalbfabrikatproben 33 potenziell neue Spezies und eine bislang nicht beschriebene Gattung nachweisen. Noch interessanter sind die Ergebnisse besonders tiefer Biodiversitätsansätze bei denen aus einzelnen Proben 500-1500 Isolate gewonnen und damit noch seltenere Taxa detektiert werden. Unter 4000 Stämmen aus vier Rohmilchproben waren dabei 71 potenziell neue Spezies und sogar 10 potenziell neue Gattungen vertreten.

Aus dieser Vielzahl unbekannter Taxa wurden eine Gattung der Familie *Propionibacteriaceae* sowie zwei *Pseudomonas* Spezies für die formelle Beschreibung ausgewählt. Die Charakterisierung erfolgt dafür im polyphasischen Ansatz, d.h. es werden sowohl genomische als auch physiologische und chemotaxonomische Merkmale erfasst. So ermöglicht die Neubeschreibung einerseits eine Abgrenzung von bereits bestehenden Taxa und andererseits die zuverlässige Identifizierung später gewonnener Isolate.

***Pseudomonas saxonica* sp. nov.**[(1)]

Namensgebung: *Pseudomonas* Spezies, die in Sachsen isoliert wurde
(*saxonica*: aus Sachsen stammend)

Zwei Isolate der Spezies *Pseudomonas saxonica* wurden aus Rohmilch und einem Milchhalbfabrikat gewonnen. Die Gattung *Pseudomonas* gilt aufgrund ihres psychrotoleranten Wachstums und ihrer hohen enzymatischen Aktivität als wichtiger Verderber von Rohmilch. Auch *P. saxonica* proliferiert bei Temperaturen von ≤6 °C und produziert potente Lipasen. Eine Besonderheit des Typstamms WS 5072^T ist seine heterogene Koloniemorphologie mit kleinen weißen und großen durchsichtigen Kolonien (Abb. 1). Die Abgrenzung von bestehenden Spezies beruht hier vor allem auf den Genomdaten. Die ANIm (Average Nucleotide Identity) zur nächstverwandten Spezies *Pseudomonas fragi* beträgt 86 % und liegt damit weit unter der Artgrenze von 95 %.

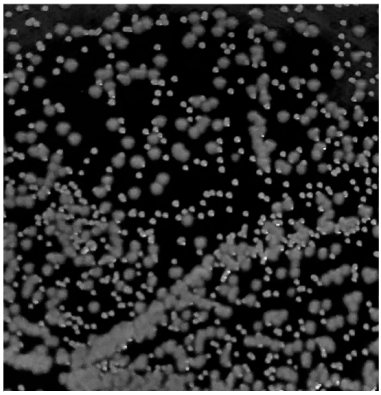


Abb. 1: *Pseudomonas saxonica* WS 5072^T zeigt auf TSA eine stark heterogene Morphologie mit kleinen weißen und großen durchsichtigen Kolonien.

Charakteristika: Gram-negativ; bewegliche Stäbchen (1,6–3,5x1,0–2,0 µm); obligat aerob; Katalase positiv; Oxidase positiv; keine fluoreszierenden Pigmente auf King A und King B; Wachstum auf Cetrimid, R2A, bei 4-34 °C (Optimum 25-29 °C), pH 5,5-8,0 (Optimum pH 6,0-7,0), 0,5-7,0 % NaCl (Optimum 0,5-1,0 % NaCl); Säurebildung positiv: Arabinose, Ara-

bitol, Cellobiose, Fructose, Fucose, Galactose, Glucose, Glycerin, Gentiobiose, Lactose, Lyxose, Mannose, Mannitol, Maltose, Melibiose, Ribose, Rhamnose, Sorbitol, Xylose; positive Reaktionen: Lipolyse, Citratverwertung, Arginin-Dihydrolase, Aesculinhydrolyse; wichtigste Fettsäure: $C_{16:0}$; wichtigste polare Lipide: Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylglycerol, Diphosphatidylglycerol; wichtigstes respiratorisches Chinon: Q-9; Genomgröße: 5,3 Mb; G+C Gehalt: 56.3 mol%.

***Pseudomonas haemolytica* sp. nov.**[2]
Namensgebung: *Pseudomonas* Spezies, die zur ß-Hämolyse fähig ist
(*haima:* Blut; *lytikos*: lösend/auflösend)

Zwei *Pseudomonas haemolytica* Stämme wurden aus Rohmilch und einem Milchhalbfabrikat isoliert. Das auffälligste und namensgebende Merkmal der Spezies ist ihre Fähigkeit zur ausgeprägten ß-Hämolyse, die als Pathogenitätsfaktor gilt und in der Gattung *Pseudomonaden* kaum dokumentiert ist (Abb. 2). *P. haemolytica* ist eine psychrotolerante Art, die aufgrund ihrer ausgeprägten Enzymatik (v.a. Proteolyse) zum Verderb von Milch und Milchprodukten führen kann. Die am nächsten verwandte Spezies ist *Pseudomonas synxantha*.

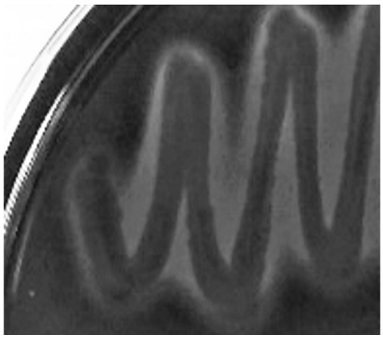


Abb. 2: *Pseudomonas haemolytica* auf Columbia-Agar mit 5% Schafsblut. Die arttypische ß-Hämolyse zeigt sich am Klärungshof um den Ausstrich.

Eine Abgrenzung ist neben verschiedenen physiologischen Merkmalen vor allem aufgrund des geringen ANI-Wertes von 91.4 %. möglich.

Charakteristika: Gram-negativ; bewegliche Stäbchen (1,5–3,2x0,6–1.2 µm); obligat aerob; Katalase positiv; Oxidase positiv; fluoreszierenden Pigmente auf King B, nicht auf King A; Wachstum auf Cetrimid, R2A, bei 4-34 °C (Optimum 29-31 °C), pH 5,5-8,0 (Optimum pH 6,5-7,5), 0,5-7,0 % NaCl (Optimum 0,5-1,0 % NaCl); Säurebildung positiv: Arabinose, Arabitol, Cellobiose, Erythritol, Fructose, Fucose, Galactose, Glucose, Glyzerin, Gentiobiose, Inositol, Laktose, Xylose, Mannose, Mannitol, Melibiose, Ribose, Rhamnose, Trehalose, Xylitol, Xylose; positive Reaktionen: Proteolyse, Gelatinehydrolyse, Citratverwertung, Arginin-Dihydrolase; wichtigste Fettsäure: $C_{16:0}$; wichtigste polare Lipide: Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylglycerol, Diphosphatidylglycerol; wichtigstes respiratorisches Chinon: Q-9; Genomgröße: 6,0 Mb; G+C Gehalt: 60.0 mol%.

Das Forschungsvorhaben (281A105516) wird vom Bundesministerium für *Ernährung* und *Landwirtschaft gefördert.* Die Forschungsvorhaben (AiF 16588 N und AiF 20027 N) werden 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.

Literatur

1) Hofmann K, Huptas C, Doll EV, Scherer S, Wenning M (2019): *Pseudomonas saxonica* sp. nov., isolated from raw milk and skimmed milk concentrate. Int J Syst Evol Microbiol. doi: 10.1099/ijsem.0.003851.

2) Hofmann K, Huptas C, Doll EV, Scherer S, Wenning M (2020): *Pseudomonas haemolytica* sp. nov., isolated from raw milk and skimmed milk concentrate. Int J Syst Evol Microbiol

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Vanderhaeghen, Sonja, Dr. rer.nat., 19.03.2019, Technische Universität München
„Overlapping genes in *E. coli* EDL933 (EHEC) - Phylostratigraphy of alternative reading frames and functional analysis of the candidate gene asa“

Von Neubeck, Mario, Dr. rer. nat., 06.11.2019, Technische Universität München
„Biodiversität und enzymatisches Verderbspotential von Rohmilch-Mikrobiota“

Masterarbeiten

Graf, Franziska: „Analyse der Translationsstarts von überlappenden Genen in *Escherichia coli* LF82 mittels ribosome profiling“

Grünwald, Ella: „Einfluss niedriger Temperaturen auf die AprA Peptidaseaktivität und Gentranskrption in *Pseudomonas* spp“

Singer, Michael: „Hochdurchsatzsequenzierung von vollständigen 16S rRNS Genen aus Bakterien“

Stöhr, Thabea: „Identifizierung überlappender Gene in *Pseudomonas aeruginosa* mittels Transkriptom und Translatomsequenzierung“

Zeller, Anna-Christina: „Development of a resazurin-based bacterial growth assay for screening of carbapenemase inhibitors“

Bachelorarbeiten

Drews, Natascha: „Experimentelle Analyse ausgewählter Promotorsequenzen von überlappenden Genen aus *Escherichia coli* O157:H7 EDL933“

Grimm, Maximilian: „Full-length 16S rRNA Sequencing Using Oxrofd Nanopre´s MinION Volllängen-16S rRNA-Sequenzierung mittels Oxford Nanopores MinION“

Veröffentlichungen

Busse H-J, Huptas C, Baumgardt S, Loncaric I, Spergser J, Scherer S, Wenning M, Kämpfer P (2019) Proposal of *Lysobacter pythonis* sp.nov. isolated from royal pythons (Python regius) Systematic and Applied Microbiology 42:326-333.
doi.org/10.1016/j.syapm.2019.02.002

Dettling A, Doll E, Wedel C, Hinrichs J, Scherer S, Wenning M (2019) Accurate quantification of thermophilic spores in dairy powders. International Dairy Journal 98:64-71

Hofmann K, Huptas C, Doll EV, Scherer S, Wenning M (2019) *Pseudomonas saxonica* sp. nov., isolated from raw milk and skimmed milk concentrate. Int J Syst Evol Microbiol.
doi: 10.1099/ijsem.0.003851

Neubeck, von M, Huptas C, Glück C, Krewinkel M, Stoeckel M, Stressler T, Fischer L, Hinrichs J, Scherer S, Wenning M *Pseudomonas lactis* sp. nov. and *Pseudomonas paralactis* sp. nov., isolated from bovine raw milk. Int. J Syst Evol Microbiol 67:1656-1664. doi 10.1099/ijsem.0.001836

Wedel C, Wenning M, Dettling A, Scherer S, Hinrichs J (2019) Resistance of thermophilic spore formers isolated from milk and whey products towards cleaning-in-place conditions: Influence of pH, temperature and milk residues. Food Microbiology 83:150-158. doi.org/10.1016/j.fm.2019.05.002

Wedel C, Konschelle T, Dettling A, Wenning M, Scherer S, Hinrichs J (2019) Thermally induced milk fouling: Survival of thermophilic spore formers and potential of contamination. International Dairy Journal 101: 104582

Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik / ZIEL Institute for Food & Health (Abt. 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. habil. Ulrich Kulozik	-3535
Sekretariat:	Sabine Becker	-4205
	Friederike Schöpflin	-5851
Mitarbeiter:	Sabine Ambros, Dr. rer. nat.	-3536
	David Andlinger, M.Sc.	-3856
	Annette Brümmer-Rolf	-3937
	Christian Ederer	-3537
	Franz Fraunhofer	-3537
	Sabine Grabbe, Dipl.-Ing. (FH)	-3534
	Christine Haas	-3855
	Regina Haindl, M.Sc.	-3534
	Hans-Jürgen Heidebrecht, Dr.-Ing.	-3719
	Claudia Hengst	-3937
	Martin Hilz	-3937
	Ingrun Kieferle, M.Sc.	-5032
	Peter Kubbutat, M.Sc.	-5317
	Franz Kuhnert, B.Sc.	-3481
	Franziska Kurz, M.Sc.	-3939
	Mine Özcelik, M.Sc.	-5056
	Priska Pröll, M.Sc.	-5056
	Marius Reiter, M.Sc.	-3856
	Michael Reitmaier, Dipl.-Ing. (FH)	-3481
	Hermine Roßgoderer	-3937
	Eva Scheidler, M.Sc.	-5032
	Simon Schiffer, M.Sc.	-3939
	Erich Schneider	-3537
	Roland Schopf, M.Sc.	-2474

Philipp Stier, M.Sc.	-5032
Somayeh, Taghian Dinani, PhD	-3855
Caren Tanger; M.Sc.	-3534
Günther Unterbuchberger	-3942
Malou Warncke, M.Sc.	-2474
Maria Weinberger, M.Sc.	-3856
Heidi Wohlschläger	-3941

2019 neu dazugekommen:

Christian Kürzl, M.Sc. (ab 01.02.2019)	-3719
Isabel Kalinke, M.Sc. (ab 15.10.2019)	-5317
Andreas Matyssek, B.Sc. (ab 01.03.2019)	-3939

2019 ausgeschieden:

Agnetha Behrendt (bis 31.05.2019)
Judith Delius, Dr. rer. nat. (bis 14.06.2019)
Jannika Dombrowski, Dr.-Ing. (bis 31.01.2019)
Oliver Gmach, M.Sc. (bis 31.03.2019)
Eva Guyot, Dr.-Ing. (bis 31.08.2019)
Martin Hartinger, M.Sc. (bis 31.12.2019)
Yuhong Mao, Dr. rer. nat. (bis 30.09.2019)
Stefanie Sedlmeier, LM-Chem. (bis 31.05.2019)

Gäste

- Boris Darzhaniya, North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russland, 01.11.2019 – 31.03.2020
- Takashi Tanizawa, Sapporo Research Laboratory, Milk Science Research Institute, Megmilk Snow Brand Co., Ltd., Japan, 01.10.2019 – 30.09.2020
- Prof. Almut Vollmer, Department of Nutrition, Dietetics and Food Sciences, Utah State University, USA 16.-20.12.2019

Vorwort

Mit dem 31.12.2019 ergibt sich für den Lehrstuhl ein Jubiläum: Vor 20 Jahren übernahm Prof. Ulrich Kulozik am 1.1.2000 die Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie. Bedingt durch Ausweitung der Arbeitsgebiete wurde der Lehrstuhl vor einigen Jahren in Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik umbenannt. Abgesehen davon wurde Kontinuität zur vorangegangenen Periode ab 1974 (Gründung des Lehrstuhls) gewahrt, indem die Arbeitsgebiete als solche weiter gepflegt, aber inhaltlich stetig erneuert wurden. Zur Forschung am weiterhin prägenden Substrat Milch kamen andere komplexe Lebensmittel sowie das Verhalten von biogenen Systemen im Prozess mit pharmazeutischem Hintergrund hinzu, z.B. Proteine als Therapeutika. Unsere Ausstattung im Technikum und in den Laboren wurde stetig erneuert und erweitert und befindet sich in einem Zustand, um den uns Wissenschaftler weltweit beneiden, wenn sie uns besuchen.

Das Jubiläum ist Anlass auf die letzten 20 Jahre zurückzublicken und einige Fakten zusammenstellen, die vielleicht der Erwähnung wert sind.

So wurden seit Anfang 2000 313 Bachelor-Arbeiten, 273 Master- und Diplomarbeiten betreut, integriert in die wissenschaftliche Ausbildung im Zuge von Forschungsvorhaben bzw. Promotionsarbeiten. 50 Promotionen und 4 Habilitationen wurden abgeschlossen, weitere 20 Promotionsarbeiten befinden sich in der Schlussphase und werden in den nächsten 1-2 Jahren in die Zielgerade einlaufen. Forschungsmittel in Höhe von ca. 25 Mio. Euro konnten eingeworben werden, die über 74 Forschungsvorhaben auch einen entsprechenden Forschungsoutput ergaben. 266 wissenschaftliche Originalarbeiten im sog. Peer-Review-Verfahren, 53 Congress-Proceedings, 14 Buchkapitel sowie 102 an die Praxis gerichtete Fachpublikationen stehen zu Buche. Zusätzlich gibt die regelmäßige und umfängliche Teilnahme an internationalen Kongressen und Fachtagungen gibt unseren Doktoranden die angestrebte Exposition zur wissenschaftlichen und industriellen Fachwelt und die Gelegenheit, unsere Sichtbarkeit zu erhöhen.

Viele Absolventen des Lehrstuhls bzw. der maßgeblich mitbetreuten Studiengänge Weihenstephans (vorrangig Lebensmitteltechnologie, Bioprozesstechnik, z.T. Brauwesen und Getränketechnologie sowie Ernährungswissenschaftler) bekleiden leitende Funktionen in der Milchindustrie, in den verschiedensten Bereichen der Lebensmittelindustrie und in damit verbundenen Maschinen- und Anlagenbau-Unternehmen. `Employability´ unserer Absolventen zählt nicht nur für uns am Lehrstuhl mit zu den größten Anliegen der Qualifizierung unserer Studierenden, was durch schnelles Finden der ersten Anstellung und viele erfolgreiche Karrierewege bestens belegt ist.

Der Blick nach vorne trifft auf einige anstehende Veränderungen in Weihenstephan in den nächsten wenigen Jahren, v.a. bedingt durch anstehende Neubesetzungen von Professuren. Die Weichen dazu sind gestellt. Wir sind sehr zuversichtlich, auch zukünftig über eine sehr gute Entwicklung sprechen zu können und verweisen auf zukünftige Berichte.

Auszeichnungen 2019

Dr.-Ing. Hans-Jürgen Heidebrecht, **Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik**, Finalisten im Wettbewerb um den AIF Otto-von-Guericke Preis 2019 mit dem Projekt: Gewinnung von Immunoglobulinen aus Milch vakkzinierter Kühe als Medikament gegen multiresistente Keime mittels neuer Mikrofiltrationsmembranen, am 13.11.2019 in Berlin.

Dr.-Ing. Hans-Jürgen Heidebrecht, 2. Platz, 13th European PhD Competition on Food Engineering and Technology der European Federation of Chemical Engineering´ (EFCE), ausgezeichnet am 15. Mai in Wien. Mitwettbewerber waren 16 national vorausgewählte Promotionsprojekte aus anderen europäischen Ländern und Israel.

Dr.-Ing. Hans-Jürgen Heidebrecht, Gewinner des Wettbewerbs "DLG Junge Ideen 2019" der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft (geplante Verleihung am 18. März 2020 in Frankfurt am Main auf einen späteren Zeitpunkt verschoben).

Dr.-Ing. Hans-Jürgen Heidebrecht, Reisestipendium für einen hervorragenden Beitrag zum 29th, European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, ECCMID 19, Amsterdam, Niederlande verliehen am 13.04.2019.

Peter Kubbutat, Gewinner des Nachwuchsförderpreises der Ulrich-Florin-Stiftung, verliehen am 5.11.2019 in Frankfurt.

Eva Scheidler, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. (WMBL) für ihre herausragende Masterarbeit mit dem Titel: Diffusion of micelle bound casein monomers into the serum phase depending on temperature under variation of pH and ionic strength, ausgezeichnet am 10.10.2019 in Weihenstephan.

Ulrich Kulozik erhielt den `ADSA Distinguished Service Award 2019´ der American Dairy Science Association® (ADSA®), ausgezeichnet am 23. Juni 2019 in Cinncinati, USA.

Forschung

Forschungsgebiet Bioprozesstechnik
Working Area Bioprocess Engineering

Einfluss verschiedener Medienbestandteile auf das Wachstum von *Bacteroides vulgatus*
Influence of different media ingredients on the growth of Bacteroides vulgatus
Regina Haindl

Bacteroides vulgatus (*B. vulgatus*) ist ein stäbchenförmiges, anaerobes Darmbakterium, welches vor allem im humanen intestinalen Mikrobiom von Erwachsenen vorgefunden wird (Eggerth & Gagnon, 1933). Im humanen Darm stellt das Phylum der Bacteroidetes, zu welchem *B. vulgatus* taxonomisch zugeordnet wird, mit die größte Bakteriengruppe dar. Dieser Mikroorganismus übernimmt neben verschiedenen Aufgaben wie Abbau von Nahrungsbestandteilen auch den Schutz gegen Darmentzündungen (Waidmann et al., 2003). Basierend auf diesen Erkenntnissen ist *B. vulgatus* interessant für die Auswahl eines Minimalkonsortiums, das das humane Mikrobiom abbildet, um dieses als Ersatz für das Konzept des Stuhltransfers verfügbar zu machen, aber auch als potentielles neues Probiotikum. Ziel des Teilprojektes ist die Anzucht *in vitro*. Zur Kultivierung von Anaerobiern werden in der Fachliteratur Medien wie das Wilkins-Chalgren-Medium verwendet (Wilkins & Chalgren, 1976). Dies ist ein Komplexmedium, welches neben Energiequellen in Form von Kohlenhydraten verschiedene Wachstumsfaktoren enthält (vgl. Tabelle 1). Dabei handelt es sich allerdings um ein Standardmedium, auf welchem eine breite Anzahl verschiedener Anaerobier wachsen können und nicht um ein speziell auf die Bedürfnisse von *B. vulgatus* zugeschnittenes Medium.

Tabelle 1: Zusammensetzung des Wilkins Chalgren Medium

	Bestandteil	**Konzentration [g/l]**
Energie-quellen	Casein Pepton	10
	Fleischextrakt	10
	Hefeextrakt	5
	Glucose	1
Wachstums-faktoren	Natriumchlorid	5
	L-Argininhydrochlorid	1
	Natriumpyruvat	1
	L-Cysteinhydrochlorid	0,3
	Hämin-Lösung	1
	Vitamin K-Lösung	1

Zur Optimierung der Effizienz und der erreichbaren Zellzahl einer solchen in-vitro-Anzucht wurde ein Screening durchgeführt, um Bestandteile zu identifizieren, welche für das Wachstum von *B. vulgatus* keinen oder einen besonders förderlichen Einfluss haben.

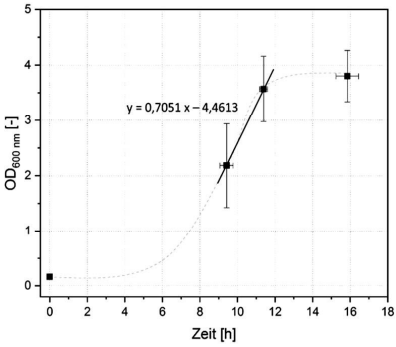


Abb. 1: Bestimmung der Wachstumsgeschwindigkeit im Standard-WCA Medium (Steigung der Kurve in der exponentiellen Phase)

Das Projekt beschäftigt sich also mit dem Einfluss dieser Wachstumsfaktoren auf die Wachstumsrate μ_{max}, also auf die Zellzunahme während der exponentiellen Phase. Dazu wurden die einzelnen Bestandteile einzeln eliminiert und die Wachstumsrate mit der des Standard-WCA-Mediums verglichen. Anhand der Zunahme der Zellzahl, gemessen über die optische Dichte, kann μ_{max} über der Steigung der Kurve in der exponentiellen Wachstumsphase ermittelt werden (Abb. 1).

Die Wachstumsrate von *B. vulgatus* im Standardmedium betrug dabei 0,7051. In Tabelle 2 sind die Werte für μ_{max} für die unterschiedlichen Wachstumsfaktoren dargestellt. Eine Erhöhung von μ_{max} durch Weglassen des Bestandteils identifiziert den Stoff als wachstumshinderlich. Eine Erniedrigung des Wertes hingegen zeigt an, dass dieser Stoff essentiell für die Zellvermehrung von *B. vulgatus* ist und dem Medium in angepasster Konzentration zugefügt werden sollte, um ein bestmögliches Wachstum zu generieren.

Tabelle 2: Bewertung der Wachstumsfaktoren bzgl. Wachstumsgeschwindigkeit im Vergleich zum Standardmedium

Variation	**Art**	**μ_{max}**	**Bewertung**
Standardmedium	-	0,7051	-
L-Argininhydrochlorid	Aminosäure	0,8888	wachstumshinderlich
L-Cysteinhydrochlorid	Aminosäure	0,3857	essentiell
Hämin-Lsg.	Zusatzstoff	0,1052	essentiell
Vitamin-K.-Lsg.	Vitamin	0,7332	wachstumshinderlich
Natriumpyruvat	Salz	0,7054	kein Einfluss
NaCl	Salz	0,7816	wachstumshinderlich

Bei Betrachtung der Wachstumsrate können Unterschiede in der Notwendigkeit des Vorhandenseins der jeweiligen Stoffe festgestellt werden. Während das Weglassen von L-Argininhydrochlorid die Wachstumsrate und damit die Zellzunahme signifikant erhöht, ist die Aminosäure L-Cysteinhydrochlorid essentiell. Arginin ist Bestandteil des WCA-Mediums, da viele Bakterienarten dieses über den Arginindihydrolase-Stoffwechselweg zur Energiegewinnung nutzen können (Sperry et al., 1977). *B. vulgatus* scheint nicht in der Lage zu sein, diesen Stoffwechselweg zu betreiben. Hämin und Vitamin K sind enthalten, da andere Bacteroidetes-Spezies diese Stoffe für ihr Wachstum benötigen (Gibbons & Macdonald, 1960). Für *B. vulgatus* zeigte sich allerdings, dass nur Hämin als Eisenlieferant benötigt wird, während Vitamin K als wachstumshinderlich identifiziert wurde. Natriumpyruvat, das Salz der Brenztraubensäure, zeigte keinen Einfluss auf das Wachstum. Ein Weglassen des Salzes Natriumchlorid konnte eine leichte Steigerung der Wachstumsrate bewirken. Es könnte demnach die Konzentration von 5 g l^{-1} zu hoch sein und ein weiteres Screening soll angeschlossen werden, um die optimale Konzentration von NaCl zu identifizieren.

Zusammenfassend betrachtet sind die Bestandteile L-Argininhydrochlorid, Vitamin K sowie Natriumchlorid des WCA-Mediums nicht essentiell für das Wachstum von *B. vulgatus* und wurden für weitere Arbeiten aus der Formulierung des Nährmediums entfernt.

Literatur:

Eggerth, A.H.; Gagnon, B.H. (1933): The Bacteroides of Human Feces. J. Bacteriology. 25 (4): 389–413.
Gibbons, R.J.; Macdonald, J.B. (1960): Hemin and Vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of Bacteroides melaninogenicus. J. Bacteriology. 80 (2): 164–170.
Sperry, J.F.; Appleman, M.D.; Wilkins, T.D. (1977): Requirement of heme for growth of Bacteroides fragilis. Appl. Environmental Microbiology. 34 (4): 386–390.
Waidmann, M.; Bechtold, O.; Frick, J.-S.; Lehr, H.-A.; Schubert, S.; Dobrindt, U.; Loeffler, J.; Bohn, E.; Autenrieth, I.B. (2003): Bacteroides vulgatus protects against escherichia coli-induced colitis in gnotobiotic interleukin-2-deficient mice. Gastroenterology. 125 (1): 162–177.
Wilkins, T.D.; Chalgren, S. (1976): Medium for Use in Antibiotic Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 10 (6): 926–928.

Einfluss der Sporulationsbedingungen auf die Resistenz bakterieller Sporen für die Verwendung als Bioindikatoren

Influence of sporulation conditions on the resistance of bacterial spores for the use as bioindicators

Philipp Stier

Um Konsumenten vor pathogenen Keimen in Lebensmitteln und Arzneiprodukten zu schützen, werden in der Produktion hohe Anforderungen an die Keimfreiheit und rekontaminationsfreie Verpackung gestellt. Hierfür werden die Sterilbereiche der Anlagen und die eingesetzten Packmittel sterilisiert. Zur Überprüfung der Sterilisationsleistung mit Wasserstoffperoxid werden Bioindikatoren, kurz BI, bestehend aus Sporen der Bakterienstämme *Bacillus atrophaeus* und *Geobacillus stearothermophilus*, eingesetzt. Es ist allgemein bekannt, dass die Resistenz der Sporen in Abhängigkeit der Kultivierungs- und Sporulationsbedingungen variiert. Versuche haben gezeigt, dass diese Varianz bei kommerziellen Bioindikatoren sehr groß sein kann – zwischen verschiedenen Herstellern, aber auch zwischen Chargen desselben Herstellers. Hierdurch ergeben sich große Unsicherheiten für die Validierung aseptischer Anlagen, da falsch positive und falsch negative Validierungsergebnisse nicht ausgeschlossen werden können.

Eine standardisierte Herstellung solcher BI würde Unsicherheiten dieser Art auf ein Minimum reduzieren. Deshalb wurden Untersuchungen in Form eines vollfaktoriellen Versuchdesigns durchgeführt, um den Einfluss der Sporulationsbedingungen auf die Resistenz der Sporen von *G. stearothermophilus* aufzuklären und darauf aufbauend ein Modell zur Vorhersage der Resistenz zu entwickeln. Hierzu wurden vegetative Zellen von *G. stearothermophilus* auf Agarplatten mit einem speziellen Sporulationsmedium kultiviert, wobei der initiale pH-Wert und die Inkubationstemperatur variiert wurden. Nach der Ernte und Reinigung der Sporen (Abb. 1)

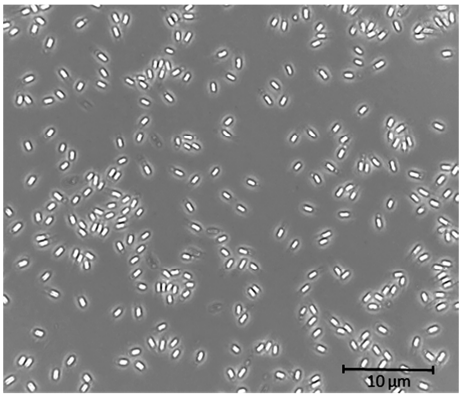


Abb. 1: Bakterielle Sporen von *G. stearothermophilus* nach der Ernte und Reinigung von Agarplatten.

wurde der D-Wert bei 25 °C in 35%igem, flüssigem Wasserstoffperoxid bestimmt, um einen messbaren Wert für die Resistenz der Sporen zu erhalten. Der D-Wert gibt die Zeit in Sekunden an, in der die Sporenpopulation um log 1 reduziert wird. Die erlangten Daten wurden schließlich zusammengefasst und daraus ein (Vorhersage-)Modell entwickelt, das die Messdaten repräsentiert und die Wertbereiche zwischen den Messwerten ergänzt. Hierdurch wird die Vorhersage aller Wertbereiche innerhalb des Modells möglich.

Die Ergebnisse zeigen eine signifikante Abhängigkeit der Resistenz sowohl von der Inkubationstemperatur, als auch vom initialen pH-Wert (Abb. 2 und 3). Bei Letzterem liegt eine lineare Abhängigkeit vor: je niedriger der pH-Wert des Nährbodens zu Inkubationsbeginn ist, desto höher ist der zu erwartende D-Wert der Sporen. Die Temperatur hingegen zeigt eine quadratische Abhängigkeit des D-Wertes. Den größten D-Wert erhält man bei einer Inkubationstemperatur von 57 °C. Hin zu höheren und niedrigeren Temperaturen sinkt der zu erwartende D-Wert. Entsprechend lässt sich ein D-Wert von 279 s für den mittleren pH-Wert von 7 bei der optimalen Temperatur von 57 °C vorhersagen (Abb. 2, gestrichelte Linien). Eine Interaktion der Faktoren liegt nicht vor. Die Größen beeinflussen sich also nicht gegenseitig.

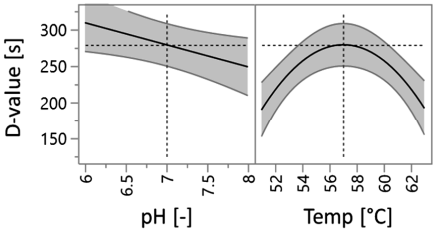


Abb. 2: Abhängigkeit des D-Wertes von pH-Wert und Temperatur. Bei pH 7 und 57 °C wird ein D-Wert von 279 s erwartet. Graue Bereiche stellen den Konfidenzintervall dar.

Da der pH-Wert während der Inkubation aufgrund des Stoffwechsels weiter sinkt, scheint beim Blick auf die Ergebnisse ein besonders saurer pH-Wert für eine starke Resistenzausbildung essentiell zu sein. Je niedriger der pH-Wert bereits zu Beginn ist, desto höher wird der D-Wert. Der Einfluss des pH-Wertes auf molekularer Ebene ist jedoch noch nicht aufgeklärt. Bei einem besonders sauren initialen pH-Wert von 6 bei 57 °C ist so ein D-Wert von über 309 s zu erreichen. Was die Temperatur anbelangt, so liegt der Wert von 57 °C, bei dem die größten Resistenzen beobachtet werden, genau im Wachstumsoptimum von *G. stearothermophilus*. Weicht die Temperatur von diesem Optimum ab, sinkt auch die zu erwartende Resistenz der Sporen. Interessanterweise macht es hierbei keinen signifikanten Unterschied, ob die Temperatur um 6 °C erhöht oder gesenkt wird. In beiden Fällen (51 °C / 63 °C) erreicht man bei einem mittleren pH-Wert von 7 den gleichen D-Wert von ~190 s. Die

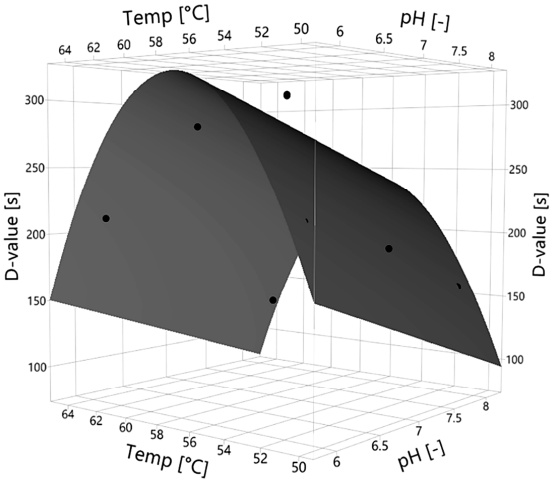


Abb. 3: Wirkungsflächendiagramm der Abhängigkeit des D-Wertes von pH-Wert und Temperatur. Schwarze Punkte repräsentieren Messwerte (einige Messwerte sind von der Fläche verdeckt).

niedrigsten D-Werte von jeweils ~160 s weisen die Sporen im Basischen bei pH 8 und 51 °C bzw. 63 °C auf.

Aufgrund der erlangten Erkenntnisse kann der Einfluss der Sporulationsbedingungen auf die Resistenz nun besser nachvollzogen werden. Die genauen Kenntnisse der Abhängigkeiten des D-Wertes vom pH-Wert und der Temperatur machen es möglich, den Prozess der Sporenherstellung gezielt zu steuern. Dies erhöht die Zuverlässigkeit der Sporenherstellung und wirkt Resistenzschwankungen entgegen. In Zukunft wird es so möglich sein, Bioindikatoren mit vordefinierter und einheitlicher Resistenz herzustellen. Dies wirkt Unsicherheiten bei der Verwendung von BI zur Validierung aseptischer Abfüllmaschinen und bei der Packstoffentkeimung entgegen und fördert die Sicherheit von Produkten in der Lebensmittel- und Pharmaindustrie.

Dank: Das IGF-Vorhaben 19358 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 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 Strukturbildung und -charakterisierung
Working Area Structure formation and characterization

Entwicklung eines Patatin-Standards zur quantitativen HPLC-Analytik aus kommerziellem Kartoffelproteinisolat

Development of a patatin standard from commercial potato protein isolate

David Andlinger, Claudia Hengst, Melania Pilz

In Europa entwickelt sich Patatin aus der Kartoffel zu einer interessanten Proteinalternative. Es wird aus „potato fruit juice“ (PFJ), einem Beiprodukt der Stärkeherstellung gewonnen. Dabei wird das Kartoffelfruchtwasser chromatographisch aufgereinigt und sprühgetrocknet. Das so gewonnene patatinhaltige Kartoffelproteinisolat (PPI) zeichnet sich durch eine hohe Nativität aus und ist fähig, Gele zu bilden und Schäume zu stabilisieren.

Um die Einzelbestandteile des Isolats besser charakterisieren und feine Analytikmethoden entwickeln zu können, sollte ein Patatinstandard erzeugt werden. Bei ausreichender Reinheit kann dieser Standard eingesetzt werden, um RP-HPLC und SEC-Säulen zu kalibrieren und diese zur quantitativen Bestimmung von Patatin in verschiedenen Proben zu benutzen.

Es werden drei Hauptfraktionen im Kartoffelprotein unterschieden: Patatin (bis zu 40 %), Protease-Inhibitoren (bis zu 50%) und unspezifizierte höher molekulare Proteine [1].

Patatin ist ein globuläres Glycoprotein mit einer Molekülgröße von 40-45 kDa und einem isoelektrischen Punkt (IEP) zwischen 4.8 und 5.2. In der Literatur werden 4-10 Isoforme des Proteins beschrieben. Diese Isoforme sind jedoch sehr ähnlich in ihrer Auffaltungskinetik und können deshalb für die meisten technologischen Anwendungen als eine Proteingruppe aufgefasst werden [2]. Patatin ist außerdem enzymatisch aktiv und kann Fettsäureester spalten.

Eine weitere große Proteinfraktion in PFJ sind sogenannte Protease-Inhibitoren (PI). Die PI sind eine heterogene Gruppe an Proteinen mit Molekülgrößen zwischen 7 und 21 kDa und IEPs zwischen 5.0-8.0. Sie neutralisieren proteolytische Enzyme von verschiedenen Mikroorganismen und Insekten und sind Teil des Abwehrmechanismus der Kartoffel. Das kommerzielle Kartoffelproteinisolat ist bereits stark mit Patatin angereichert aber es liegen noch Verunreinigungen vor, vor allem durch PI. Außerdem weist die Braunfärbung des Pulvers und der Lösung auf das Vorhandensein von oxidierten Polyphenolen hin.

Da die beiden wichtigsten Proteinfraktionen aus der Kartoffel sich besonders in ihrer Größe unterscheiden, wurde sich für eine Auftrennung mittels Größenausschlusschromatographie (SEC) entschieden. In der SEC eluieren große Moleküle schneller, da sie weniger tief in die Poren des Säulenmaterials eindringen können. Kleinere Moleküle hingegen wandern tief in die Poren und brauchen somit wesentlich länger, um von der Säule zu eluieren. Als Laufpuffer kann ein einfacher 0,1 molarer Natriumhydrogenphosphat-Puffer verwendet werden. Die Fraktionen wurden gesammelt und das Salz des Puffers mittels Dialyseschläuchen entfernt. Die entsalzten Proteinlösungen wurden eingefroren und mithilfe eines Gefriertrockners lyophilisiert. Das so getrocknete Pulver wurde anschließend auf seine Reinheit, den Proteingehalt und auf seine Enzymaktivität untersucht, diese Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Eigenschaften des erzeugten Standards verglichen zu dem kommerziellen Kartoffelproteinisolat

Eigenschaften	Kommerzielles Pulver	Patatin-Reinfraktion
Anteil Patatin in % (SDS-PAGE)	59,5	88,8
Enzymaktivität bezogen auf Patatin in OD/min	4045	4136
Proteingehalt in % (Dumas)	> 85 %	> 85 %
Farbe	Beige-braun	weiß

Die Untersuchung auf die Enzymaktivität zeigte, dass der gesamte Prozess des Fraktionierens keinen negativen Einfluss auf das Protein hatte. Der Anteil an Patatin in dem Isolat, gemessen mit SDS-PAGE, konnte deutlich erhöht werden.

Abb. 1 zeigt die SDS-Profile der gesammelten Fraktionen. Es ist deutlich zu sehen, dass die Fraktionierung den Patatinpeak stark anreichern konnte. Der Vorpeak des Patatins, mit ungefähr 100 kDa, konnte ebenfalls untersucht werden. Da sich die Bande bei 100 kDa nicht vollständig auflöste, kann angenommen werden, dass es sich hierbei um ein höher molekulares Protein und nicht um dimeres Patatin handelt. Es zeigte sich außerdem, dass die Fraktionierung dazu führte, dass die Braunfärbungen aus dem Patatinpulver verschwanden. Somit kann angenommen werden, dass die Polyphenol-Verun-reinigungen nicht mehr im Pulver vorhanden sind.

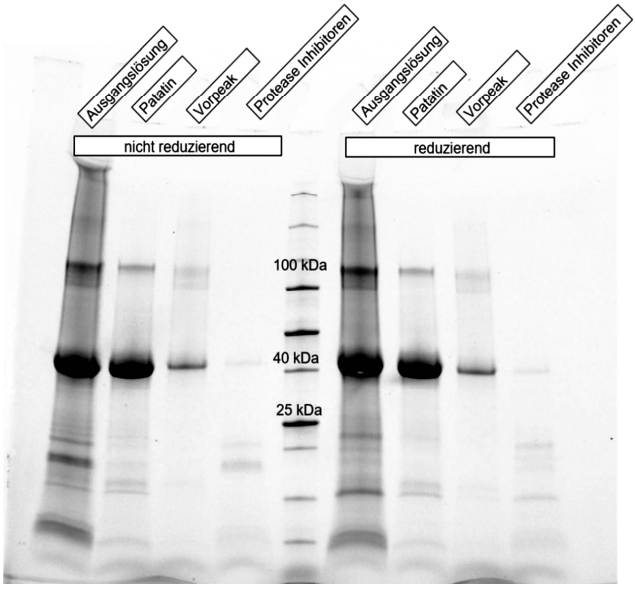


Abb. 1: SDS-Page der Ausgangslösung und der verschiedenen Fraktionen unter reduzierenden und nicht reduzierenden Bedingungen

Die so gewonnenen Patatin-Reinfraktionen konnten bereits erfolgreich zur Kalibrierung von analytischen SEC-Säulen verwendet werden. Um in Zukunft auch Experimente an reinen Patatin und PI Fraktionen durchführen zu können, sollen größere Mengen auf einer spezial angefertigten Säule fraktioniert werden. Dabei kann das aufgegebene Probenvolumen von 1 auf 70 ml erhöht werden.

Literatur:

[1] Schmidt JM, Damgaard H, Greve-Poulsen M, Sunds AV, Larsen LB, Hammershøj M. Gel proper-ties of potato protein and the isolated fractions of patatins and protease inhibitors – Impact of drying method, protein concentration, pH and ionic strength. Food Hydrocolloids. 2019; 96:246–58.

[2] Creusot N, Wierenga PA, Laus MC, Giuseppin MLF, Gruppen H. Rheological properties of patatin gels compared with β-lactoglobulin, ovalbumin, and glycinin. J Sci. Food and Agriculture. 2011; 91:253–61.

Dank: Das IGF-Vorhaben 19712 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 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.

Erhöhung der Stabilität von Proteinen durch den Einsatz von Zuckern während und nach der mikrowellenunterstützten Gefriertrocknung

Increasing protein stability through the use of sugars during and after microwave-supported freeze drying

Peter Kubbutat, Isabel Kalinke

Proteine werden immer häufiger als Biopharmazeutika und Therapeutika in der Gesundheitsversorgung und pharmazeutischen Industrie eingesetzt (Grasmeijer et al. 2013). Allerdings weisen die sensitiven Moleküle bei Raumtemperatur in flüssiger Form nur eine geringe Haltbarkeit auf. Durch physikalische und chemische Veränderungen wird die Wirksamkeit verringert oder es kommt sogar zu ungewollten Nebenwirkungen. Viele Proteine, Enzyme oder Pharmazeutika müssen daher für die spätere Applikation haltbar gemacht werden. Eine Möglichkeit stellt hierbei die Trocknung der Zielstoffe dar (Chang und Pikal 2009; Tonnis et al. 2015). Eine der am meisten verwendeten Methoden zur Trocknung der Proteine ist die Lyophilisation oder Gefriertrocknung.

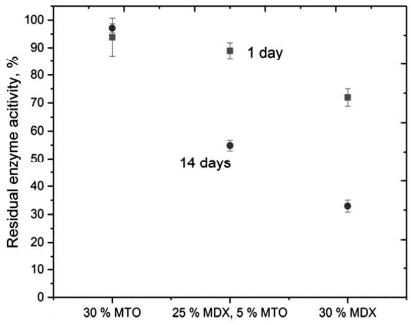


Abb.1: Lagerstabilität von mit Maltodextrin und Maltose versetzter β-Galactosidase nach der MW-unterstützten Gefriertrocknung

Zwar werden die Proteine dabei verschiedenen Stresssituationen durch das Gefrieren sowie das Sublimieren von Wasser ausgesetzt, dennoch ist die erzielte Produktqualität im Vergleich zu anderen Trocknungsmethoden hoch. Um daraus resultierende Produktschädigungen vorzubeugen, werden spezifische Stabilisatoren wie Salze, Zucker oder Polymere eingesetzt. Diese schützen die Proteine als Kryoprotektanten während des Einfrierens, als Lyoprotektanten während des Trocknens oder als Glasbilder während der Lagerung.

Insgesamt kommt diesen Stoffen eine hohe wirtschaftliche Bedeutung zu, da eine Erhöhung der Restwirksamkeit nach der Trocknung in einer höheren Endproduktmenge resultiert. Zudem kann die Haltbarkeit der Präparate erhöht werden (Wang 2000; Hedoux et al. 2013; Tonnis et al. 2015). Um die Schutzeigenschaften von Zuckern zu untersuchen, wurde β-Galactosidase mit 30 % Maltose (MTO), 30 % Maltodextrin (MDX) und 25 % MDX + 5 % MTO versetzt und mittels Mikrowellen(MW)-Gefriertrocknung getrocknet. Die Restaktivität nach einem und 14 Tagen bei 20 °C Lagertemperatur ist in Abb. 1 dargestellt. Es zeigt sich, dass reine Maltose im Vergleich zu Maltodextrin das Enzym besser schützt. Gleichzeitig kann durch den Einsatz von 5 % Maltose in einer Maltodextrinformulierung die Stabilität deutlich verbessert werden. Maltose als Disaccharid kann sich während des Gefrierens besser um das Protein legen als Maltodextrin. Somit ist die Enzymaktivität nach der Trocknung deutlich höher als bei Maltodextrinproben. Das größere und unflexible Polysaccharid ist nicht in der Lage das Enzym vollständig einzuschließen, wodurch das Enzym nicht ausreichend vor Schädigung geschützt werden kann. Während der Lagerzeit zeigte sich eine stärkere Enzymschädigung in den maltodextrinenthaltenden Proben. Somit sind kleine, flexible Moleküle besser in der Lage, Proteine während der Lagerung zu stabilisieren als unflexible, große Moleküle. Der Anteil von 5 % Maltose ist nicht ausreichend, um Maltodextrin von der Enzymoberfläche zu verdrängen und das Enzym vergleichbar gut zu stabilisieren.

Diese Hypothese wird durch die Ergebnisse von Tonnis et al. (2015) über die Stabilisierung von Lactosedehydrogenase mit verschiedenen Zuckern untermauert. Erst durch eine hohe Flexibilität der Molekülketten kann sich der Zucker an die Form des Proteins anpassen und diese stabilisieren. Da der Einsatz von niedermolekularen Zuckern allerdings eine Senkung der Glasübergangstemperatur bedeutet, muss der anzustrebende Anteil in der Formulierung in Hinblick auf den Wassergehalt des Produkts ermittelt werden. Die Glasübergangstemperatur kann durch die Zugabe von Salzen oder hochmolekularen Zuckern erhöht und somit stabilisiert werden.

Beim Einsatz von Zuckern als Schutzstoff in der Trocknung von Proteinen zeigt sich folglich ein komplexer Zusammenhang einzelner Formulierungsbestandteile. Der Schutzeffekt des jeweiligen Zuckers ist von der zu stabilisierenden Phase der Verarbeitung abhängig. Eine allgemeingültige Empfehlung ist aufgrund des Einflusses weiterer Produktkomponenten, wie etwa der von Phosphatsalzen, nicht möglich. Abgestimmt auf die individuellen Produktionsbedingungen kann jedoch eine Erhöhung der Produktionsausbeute und der Lagerstabilität erzielt werden, woraus die wirtschaftliche Bedeutung eines gezielten Zuckereinsatzes hervorgeht.

Literatur

Chang, L.L.; Pikal, M.J. (2009): Mechanisms of protein stabilization in the solid state. *J. Pharmaceutical Sci.* 98 (9), 2886–2908.

Grasmeijer, N.; Stankovic, M.; Waard, H. de; Frijlink, H.; Hinrichs, W.L.J. (2013): Unraveling protein stabilization mechanisms. Vitrification and water replacement in a glass transition temperature controlled system. *Biochim. Biophys. Acta* 1834 (4), 763–769.

Hedoux, A.; Paccou, L.; Achir, S.; Guinet, Y. (2013): Mechanism of protein stabilization by trehalose during freeze-drying analyzed by in situ micro-raman spectroscopy. *J. Pharmaceutical Sci.* 102 (8), 2484–2494.

Tonnis, W.F.; Mensink, M.A.; Jager, A. de; van der Voort Maarschalk, K.; Frijlink, H.W.; Hinrichs, W.L.J. (2015): Size and molecular flexibility of sugars determine the storage stability of freeze-dried proteins. *Mol. Pharmaceutics* 12 (3), 684–694.

Wang, W. (2000): Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals. *Int. J. Pharmaceutics* 203 (1-2), 1–60.

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 18819N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 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.

Schäumungseigenschaften von Eigelbfraktionen

Foaming properties of egg yolk fractions

Franziska Kurz, Julia Engel

Neben klassischen grenzflächenaktiven Substanzen wie Tensiden oder Proteinen haben organische Partikel zur Stabilisierung von Schäumen in den letzten Jahren unter anderem wegen ihrer „Clean Label“ Eigenschaften an Bedeutung gewonnen [1]. Die gebildeten Schäume werden als „Pickering“-Schäume bezeichnet. Nach Pickering (1907) ist die Größe bei anorganischen Partikeln der Haupteinflussfaktor auf die Schaumstabilität [2]. Biogene Partikel unterscheiden sich allerdings in ihren Struktur-Funktions-Beziehungen deutlich von den von Pickering (1907) beschriebenen Partikeln. Dennoch führt der Einsatz sowohl anorganischer als auch organischer Partikel zu einer hohen Stabilität des Schaums [1;3]. Daraus leitet sich der Ansatz ab, bereits vorhandene biogene Partikel aus Lebensmittelsystemen, wie beispielsweise aus dem Eigelb, zu isolieren und diese zur Stabilisierung von Grenzflächen einzusetzen.

Zur Untersuchung von Struktur-Funktions-Beziehungen wurde eine homogene Eigelbsuspension (22 % TM, 0,15M NaCl, pH 6,5) bei 5.000 g für 45 min zentrifugiert, um Eigelb in seine zwei Hauptgrößenfraktionen Granula (Sediment) und Plasma (Überstand) zu trennen. Abb. 1 zeigt die Partikelgrößenverteilung von Eigelb sowie der Granula- und Plasmafraktion in Form einer Volumenprozentverteilung als Funktion der Größe. Daraus geht hervor, dass sowohl Aggregate mit volumenbezogenen Medianwerten im Größenbereich von 0,1 µm als auch im Bereich von 2 µm gewonnen werden können.

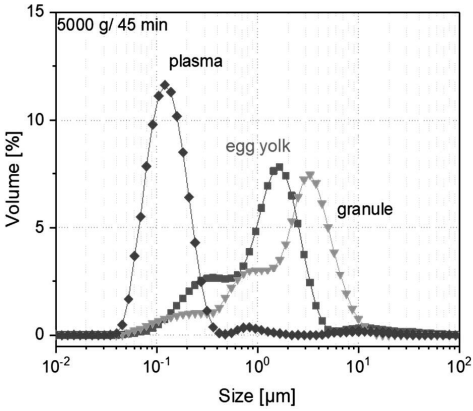


Abb. 1: Partikelgrößenverteilung ($c_{Protein}$: 1%, 0,15 M NaCl, pH 6,5) nach Zentrifugation einer homogenen Eigelbsuspension (22 % TM, 0,15 M NaCl, pH 6,5).

Nach der Zentrifugation wurden die Suspensionen auf einen Proteingehalt von 1 % eingestellt und in einer Glassäule (DFA 100, Krüss GmbH) bei 20 °C auf eine Höhe von 180 mm aufgeschäumt. Die Schaumhöhe sowie die Schaumstruktur wurden über 90 min erfasst.

Abb. 2 zeigt die normalisierte Schaumhöhe relativ zum Startwert als Funktion der Messdauer für Eigelb bzw. die gewonnene Granula- und Plasmafraktion. Daraus geht hervor, dass zunächst sowohl die Granula- als auch die Plasmafraktion eine hohe Schaumstabilität aufweisen, da die Schaumhöhe über eine Messdauer von 40 min nur auf 90 % (Granula) bzw. über 50 min auf 80 % (Plasma) absinkt. Anschließend lässt sich allerdings ein starker Einbruch der Schaumhöhe feststellen, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Partikelgrößen bzw. den eingesetzten Fraktionen erkennbar sind. Das unfraktionierte Eigelb hingegen weist für die späteren Messpunkte die höchste Schaumstabilität auf. Die Ergebnisse der zugehörigen Schaumstrukturanalyse sind in Abb. 3 dargestellt. Hierbei lässt sich direkt im Anschluss an das Aufschäumen für alle drei Systeme eine sehr geringe mittlere Blasenfläche feststellen,

welche jedoch im weiteren Messverlauf deutlich zunimmt. Daraus lässt sich schließen, dass Schaumdestabilisierungsphänomene wie Koaleszenz und/oder Disproportionierung („Ostwald-Reifung“) auftreten. Abb. 4 fasst die Ergebnisse der Schaumstrukturanalyse in bildlicher Form zusammen. Mit zunehmender Messdauer nimmt die Anzahl der Blasen deutlich ab, wohingegen die Größe einzelner Blasen signifikant zunimmt.

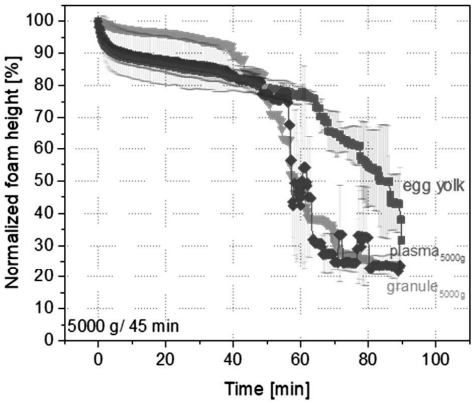


Abb. 2: Normalisierte Schaumhöhe als Funktion der Zeit der Eigelbfraktionen Granula und Plasma sowie des Gesamteigelbs ($c_{protein}$: 1%; pH 6,5; 20 °C).

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass sich keine signifikanten Unterschiede im Hinblick auf die Schaumstabilität bei Verwendung der Granula- und der Plasmafraktion feststellen lassen, obwohl sich beide Fraktionen deutlich in ihrer Größe unterscheiden (vgl. Abb. 2). Die höchste Stabilität wird bei Verwendung von Gesamteigelb erreicht. Daraus lässt sich schließen, dass die Partikelgröße entgegen der klassischen „Pickering“-Theorie für anorganische Partikel bei biogenen Eigelbpartikeln nicht maßgeblich von Bedeutung zu sein scheint.

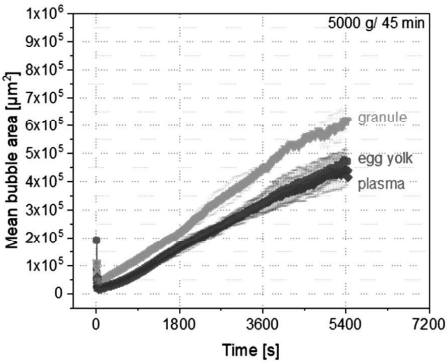


Abb. 3: Mittlere Blasenfläche als Funktion der Zeit der Eigelbfraktionen Granula und Plasma sowie des Gesamteigelbs ($c_{protein}$: 1%; pH 6,5; 20 °C)..

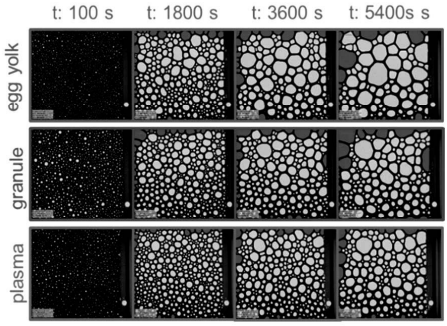


Abb. 4: Schaumstruktur als Funktion der Zeit der Eigelbfraktionen Granula und Plasma sowie des Gesamteigelbs ($c_{protein}$: 1%; pH 6,5; 20 °C).

Literatur:

[1] Berton-Carabin, C.; Schroën, K. (2015): Pickering emulsions for food applications. Background, trends, and challenges. *Annual Rev. Food Sci. Technology* 6, 263–297.

[2] Pickering, S. U. (1907): CXCVI.-Emulsions. *J. Chem. Soc., Trans.* 91 (0), 2001–2021

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

Dank: Das IGF-Vorhaben 18621 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 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.

Method for determining ascorbic acid content by using reversed-phase high-performance liquid chromatography in raspberry fruit preparations consisting protein

Verfahren zur Bestimmung des Ascorbinsäuregehaltes mittels Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography in Himbeerfruchtzubereitungen mit Protein

Mine Özcelik, Claudia Hengst

Ascorbic acid (L-ascorbic acid) (AA), also known as vitamin C, is one of the most important natural water-soluble vitamins that are present in most fruits, including raspberries. The AA content is often used as an indicator of the overall nutritional quality of fruits and vegetables because it has a better heat-labile nature compared with other nutrients. If AA is retained, then other nutrients are expected to be preserved as well. AA and dehydroascorbic acid (DHA) are the reduced and oxidized forms of vitamin C. Under oxidative stress, AA is converted to DHA by losing two protons (Fig. 1). Spectrophotometry analysis used to be a common method for determining AA and DHA. However, the absence of conjugated double bonds of DHA minimizes its absorption in UV spectra. High-performance liquid chromatography (HPLC) has gained popularity due to its high throughput, accuracy, and sensitivity over spectrophotometry. Fruits have a complex structure that causes difficulty in quantifying AA and DHA. Moreover, AA and DHA are unstable under mild conditions (pH 7 and room temperature). Quantifying AA in fruit pulp preparations with added hydrocolloids through the use of HPLC is difficult. Fruit pulp preparations can be used for fruit foam, and these foamed pulp can be dried and consumed as snacks [1]. The problem of the method was unpredictable variations in the AA content of the samples which might be caused by the used membrane filters. Filtration of the samples is essential to separate insoluble solids that could lead to blocking of the HPLC column. The interactions between the substance and the membrane filter might have various causes which causes significant variations. Therefore, a method was developed for assessing AA and DHA content in raspberry pulp preparation with potato protein (PP) by using reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC). The method described by Chebrolu et al. (2012) was modified.

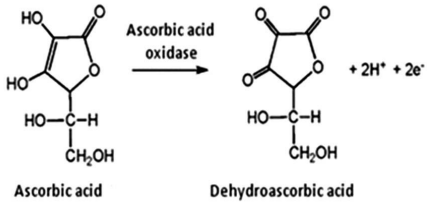


Fig. 1. Chemical structure of AA and DHA.

The AA content was determined chromatographically using the RP-HPLC Agilent 1100 series chromatograph (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) equipped with a binary pump, an auto sampler, and a VW detector. AA was isolated using a Zorbax 300 SB-C18 column (Agilent Technologies). Samples were homogenized using the Ultra-Turrax T 25 (IKA Werke, Staufen, Germany) with MPA (3% solution) (Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Germany) at room temperature for 30 s and then shaken at room temperature for 90 min. The solutions were then centrifuged for 10 min at 6000×g. To determine free AA, the supernatants were added directly into vials through a 0.45 µm RC-45/25 syringe filter and analyzed by RP chromatography (RP-HPLC C18 column). Samples containing PP were centrifuged through 10 kDa centrifuge filters for 30 min at 10000×g, and the filtrates were added to the HPLC vials. AA was detected at 243 nm. The schematic of the analysis procedure is shown in Fig. 2. The results indicate that the applied filters have a significant impact on the recovery of AA content. The filters used in the sample preparation are regenerated cellulose (RC) and 10 kDa polyethersulfone (PES) membrane filters. Nonspecific bonds between the substance and the

membrane filter might have various causes, including the physical properties, chemical structure, or molecular weight of the analyte, as well as the purity, chemical structure, hydrophobicity, or polymer composition of the membrane filter.

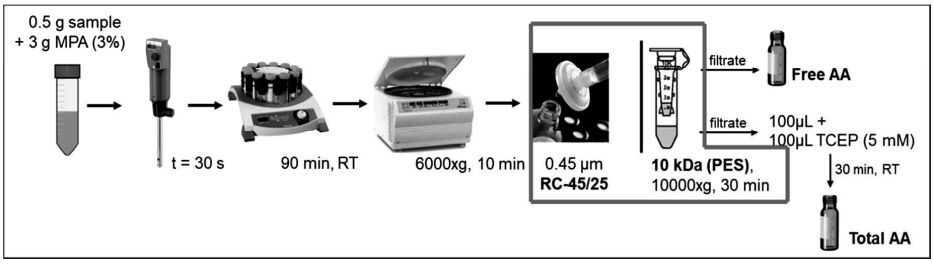


Fig. 2: Schematic representation of sample preparation procedures for the determination of AA and DHA in raspberry preparations.

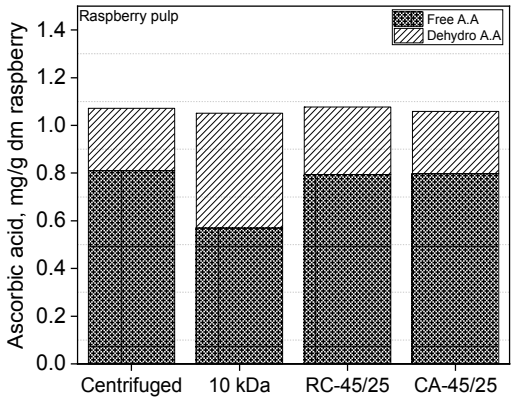


Fig. 3: Free AA and DHA contents of raspberry pulp using different type of syringe filters.

Given the difficulty of predicting deleterious interactions between membrane filter and analyte, hydrophilic cellulose acetate (CA) membranes that are recommended for aqueous samples were also tested to investigate the influence of the membrane filters (RC, PES, CA) used for sample preparation on the recovery rate of AA. The raspberry pulp was filtered through those membrane filters, and free AA and DHA contents were determined. The supernatant obtained by centrifugation (10000× g, 10 min) of the pulp was considered as reference. Fig. 3 depicts the free AA and DHA results obtained from the different types of syringe filters.

The PES membrane filters used for protein separation showed the highest losses of free AA. The protein did not show any precipitation in the solvent (acetonitrile). Thus, the protein-containing samples did not need to be filtered using PES centrifuge filters prior to HPLC analysis. The CA membrane filters had no impact on the AA content. Filtration of the samples is essential to separate insoluble solids that could lead to blocking of the HPLC column. Thus, CA membrane filters were selected for sample preparation due to the high recovery rate of AA. The method involved modifying not only the filters but also the dilution ratios, extraction, and centrifugation times. The modified sample preparation procedure that is applicable for the preparation of raspberry pulp that includes PP is schematically depicted in Fig. 4.

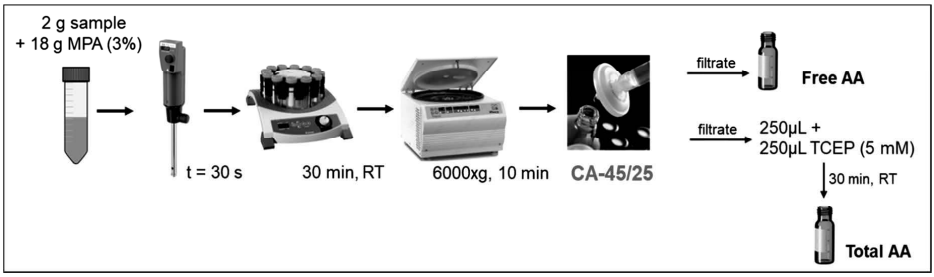


Fig. 4: Schematic representation of the modified method for the determination of free AA and DHA of the raspberry pulp preparation. The method is also applicable for raspberry pulp with potato protein.

Literatur:

[1] M. Ozcelik, A. Heigl, U. Kulozik, S. Ambros, Effect of hydrocolloid addition and microwave-assisted freeze drying on the characteristics of foamed raspberry puree. Innov. Food Sci. Emerging Technol. 56 (2019), 102183.

[2] K.K. Chebrolu, G.K. Jayaprakasha, K.S. Yoo, J.L. Jifon, B.S. Patil, An improved sample preparation method for quantification of ascorbic acid and dehydroascorbic acid by HPLC, LWT - Food Sci. Technol. 47 (2012), 443–449.

Thanks: This IGF Project AiF 19015 N of the FEI was supported by AiF under the program for promoting the Industrial Collective Research (IGF) of the German Ministry of Economic Affairs and Energy (BMWi), based on a resolution of the German Parliament.

Einfluss der Proteinkonzentration auf die Serumcaseinzusammensetzung in konzentrierten Milchsystemen bei Zugabe von Natriumchlorid

Influence of protein concentration on serum casein composition in concentrated milk systems with sodium chloride addition

Marius Reiter

In den letzten Jahrzehnten konzentrierten sich die Bemühungen zur effizienteren Nutzung von Rohstoffen darauf, Proteinstrukturen mit einem ernährungsphysiologischen Nutzen zu erzeugen. Der Fokus wurde vor allem auf die Reduzierung von Fett in Lebensmitteln gelegt, wobei die Proteinfunktionalität dazu genutzt wurde, die strukturellen Auswirkungen von Fett zu ersetzen. Hierfür wurde vornehmlich an der Verwendung des in vielen Käsereiprozessen anfallenden Produktnebenstroms Molke geforscht. Durch die gegenwärtige industrielle Verwendung von Milchkonzentraten aus der majoren Milchproteinfraktion der Caseine in vielen Milchprodukten, verschiebt sich der Fokus der aktuellen Forschung immer mehr in Richtung der Caseinfraktion.

Die vier Caseinmoleküle α_{S1}-, α_{S2}-, β- und κ-Casein formen zusammen die Caseinmizelle. Die Moleküle interagieren untereinander über hydrophobe Wechselwirkungen, Wasserstoffbrücken und elektrostatische Bindungen. Ein weiterer Faktor, der zur Ausbildung der Caseinmizelle maßgeblich beiträgt, ist die Interaktion der Caseinmoleküle mit kolloidalem Calciumphosphat (CCP). Im Laufe der Jahre wurden verschiedene Modelle erarbeitet, die den mizellaren Zusammenhalt beschreiben. Das zuletzt vorgeschlagene Modell beschreibt die Caseinmizelle als eine schwammartige Struktur, in der die Caseinmoleküle mit dem CCP sowie Salzen und löslichen Caseinmolekülen in Wasserkanälen, wechselwirken. Die an der Oberfläche der Caseinmizelle befindlichen κ-Caseinmoleküle formen eine „hairy layer“, welche aufgrund der negativen Ladung und sterischer Effekte zur Stabilisierung der Mizelle beiträgt. Die Caseinmizellen stehen dabei in einem stetigen Gleichgewicht mit der wässrigen Phase bzw. dem umgebenden Milieu (Dalgleish und Corredig, 2012) . Durch die Zugabe von Salzen wie Natriumchlorid (NaCl), wird dieses Gleichgewicht gestört und ein neues Gleichgewicht stellt sich

ein, welches maßgebliche Auswirkungen auf die Caseinmizellfraktion besitzt. Über das Verhalten der Caseinfraktion in Milch durch NaCl Zugabe wurden bereits umfangreiche Untersuchungen angestellt (Broyard und Gaucheron, 2015). Der Einfluss einer solchen Milieuänderung auf die Caseinfraktion in einem Caseinkonzentrat mit deutlich erhöhtem Proteingehalt und einem verschobenen Casein zu Molkenprotein Verhältnis wurde nach dem aktuellen Stand des Wissens nur wenig erforscht.

Zur Untersuchung des Einflusses der Proteinkonzentration auf die Caseinfraktion in konzentrierten Milchsystemen bei Zugabe von NaCl, wurde die Serumphase mittels RP-HPLC Analyse auf deren Caseinmonomerzusammensetzung untersucht. Hierfür wurde zunächst ein Caseinkonzentrat mit einem Proteingehalt von 30 g/kg und ein weiteres Caseinkonzentrat mit einem Proteingehalt von 90 g/kg aus mizellarem Caseinpulver rekonstituiert. Anschließend wurden beide Konzentrate mit unterschiedlichen Mengen NaCl versetzt (0-10 mM) und über Nacht bei 4 °C zur Einstellung eines Gleichgewichtszustands gelagert. Die Proben wurden aus der Kühlung entnommen und mittels eines Wärmeschranks auf 20 °C vortemperiert und daraufhin einer Ultrazentrifugation unterzogen. Die Bedingungen der Ultrazentrifugation wurden so gewählt, dass die enthaltene Serumphase praktisch frei von mizellarem Casein ist, jedoch die in den Konzentraten enthaltenen Molkenproteine nicht mit dem Pellet sedimentiert wurden. Bei einem Proteingehalt von 30 g/kg wurden die Proben bei 10^5 g für 1,5 h und bei einem Proteingehalt von 90 g/kg für 2,5 h zentrifugiert. Ein Aliquot wurde zur Analyse der Serumphase auf den Gehalt einzelner Caseine mittels RP-HPLC entnommen. Abb. 1 zeigt die Serumcaseinzusammensetzung in Abhängigkeit von der zugegebenen Menge an NaCl bei einem Proteingehalt von 30 g/kg.

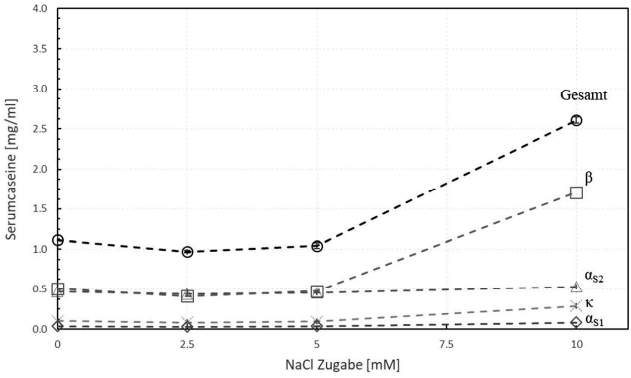


Abb. 1: Serumcaseinzusammensetzung bei einem Proteingehalt von 30 g/kg

Bis zu einer Zugabemenge von 5 mM NaCl in das Caseinkonzentrat mit einem Proteingehalt von 3 g/kg konnte keine signifikante Änderung der Serumcaseinzusammensetzung detektiert werden. Bei einer Zugabe von 10 mM NaCl wurde ein starker Anstieg der Gesamtcaseine in der Serumphase um 135 % detektiert, bezogen auf die Referenz (ohne NaCl Zugabe). Dies lässt den Schluss zu, dass in einem Caseinsystem auf Milchniveau bereits die geringe Zugabe von 10 mM NaCl zu einer beginnenden starken Veränderung der Caseinmizellen führt. Der Anstieg der Gesamtserumcaseinkonzentration wurde hauptsächlich durch die starke Freisetzung von β-Casein hervorgerufen. Durch die Zugabe von zusätzlichem NaCl in Milch oder Milchkonzentraten, sinkt der pH-Wert leicht und die lösliche Calciumkonzentration steigt (Huppertz and Fox, 2006). Diese Freisetzung würde dem Austausch zwischen zugesetztem Natrium und Calcium und Protonen entsprechen, die direkt an Phosphoserylreste von Caseinmolekülen gebunden sind. Durch die dadurch erhöhte Ionenstärke in der Serumphase, könnten ursprünglich elektrostatisch gebundene Caseinmonomere in der Mizelle elektrostatisch abgeschirmt werden und somit in die Serumphase übergehen.

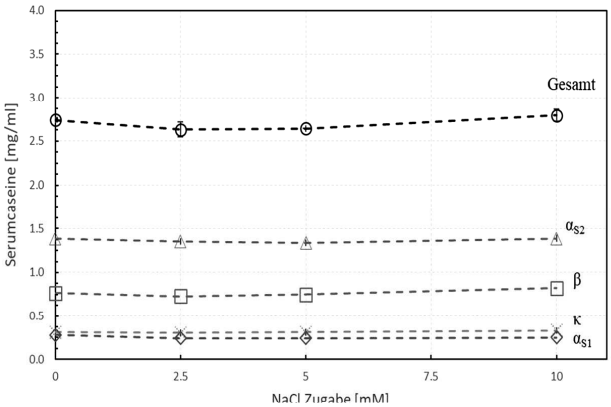


Abb. 2: Serumcaseinzusammensetzung bei einem Proteingehalt von 90 g/kg

Abb. 2 zeigt die Serumcaseinzusammensetzung in Abhängigkeit von der zugegebenen Menge an NaCl in einem Caseinkonzentrat mit einem Proteingehalt von 90 g/kg. Bei Zugabe Mengen von bis zu 10 mM NaCl konnte kein signifikanter Unterschied in der Serumcaseinzusammensetzung festgestellt werden.

Der dreifach höhere Proteingehalt in diesem höher konzentrierten System trägt vermutlich dazu bei, dass der in Milch beschriebene Effekt von NaCl auf die Caseinmizellen nicht zum Tragen kommt. Der Austausch von Calciumionen durch Natriumionen findet vermutlich nicht bzw. deutlich weniger statt. Dies lässt darauf schließen, dass die kritische Konzentration an zugesetztem NaCl in diesem System noch nicht erreicht wurde und die mizellare Caseinfraktion nicht nennenswert beeinflusst wurde.

Es wurde gezeigt, dass die bekannten Auswirkungen einer Milieuänderung auf die Serumcaseinzusammensetzung auch in einem Caseinsystem mit verschobenen Casein zu Molkenprotein Verhältnis gelten, insofern sich die Proteinkonzentration auf Milchniveau befindet. Ein dreifach erhöhter Proteingehalt führt in derselben untersuchten Zugabe Menge zu keiner signifikanten Änderung. Die aus dem System Milch bekannten Einflüsse auf die Serumphase konnten in dem hier untersuchten Konzentrationsbereich nicht beobachtet werden. Ob höhere Zugabemengen an NaCl auch bei einem Proteingehalt von 90 g/kg zu den aus Milch bekannten Effekten führt, soll Gegenstand zukünftiger Forschungen sein.

Literatur:

Broyard, C.; Gaucheron, F. (2015): Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge. *Dairy Sci. & Technol.* 95 (6), 831–862.

Dalgleish, D. G.; Corredig, M. (2012): The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. *AnnualRev. Food Sci. Technol.* 3, 449–467.

Huppertz, T.; Fox, P. F. (2006): Effect of NaCl on some physico-chemical properties of concentrated bovine milk. *Int. Dairy J.* 16 (10), 1142–1148.

Morphologie hochkonzentrierter Proteinextrudate

Morphology of highly concentrated protein extrudates

Eva Scheidler, Franz Kuhnert

Proteinbasierte Produkte, wie etwa Fleischersatzprodukte (FEP), können durch Extrusion von Proteinisolat und Wasser unter definierten thermomechanischen Bedingungen erzeugt werden. Die angestrebte anisotrope Struktur beruht dabei auf der Interaktion von Mehrphasen- oder Mehrkomponentensystemen, in diesem Fall aus vorstrukturierten Soja- und Milchproteinen. Die Hypothese ist, dass das Hinzufügen einer vorstrukturierten dispersen Phase (Milchprotein) zur Extrusion der kontinuierlichen Phase (Sojaproteinisolat) die Morphologieentwicklung des Gesamtproduktes maßgeblich beeinflusst. Dabei sollen die Einflüsse verschiedener Vorstrukturen (Partikel, Fibrillen, Aggregate) getestet werden.

Aus β-Lactoglobulin (β-Lg) können faserartige Strukturen durch mehrstündige Hitzeeinwirkung (>80 °C) unter stark sauren Bedingungen erzeugt werden.

Dabei kommt es zunächst zur hitzeinduzierten Auffaltung der nativen Proteinstruktur, wobei sich die stark positiv geladenen Proteine gegenseitig abstoßen.

Zusätzlich werden die Proteine durch die saure Umgebung (pH 2) hydrolysiert, und sie liegen in Form von Peptiden vor. Diese lagern sich über hydrophobe Wechselwirkung in senkrechter Richtung aneinander und bilden sog. amyloide Strukturen [1; 3]. Solch faserartige Strukturen weisen einen Durchmesser weniger nm, aber eine Länge von bis zu 10 µm auf. Diese Art der Strukturbildung ist von der reinen β-Lg-Fraktion auf Molkenproteinisolat (WPI) übertragbar. Unter der Erhitzung (85 °C) von WPI bei pH 2 nimmt der Anteil nativ vorliegender Molkenproteine langsam ab. Nach etwa 8 h der Erhitzung liegen die Proteine komplett denaturiert vor und deutet somit auf eine abgeschlossene Strukturbildung hin (Abb. 1).

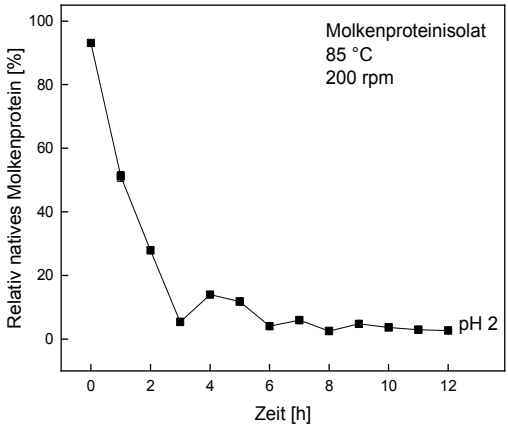


Abb. 1: Abnahme der relativen nativen Konzentration der Molkenproteine bei 85 °C.

Diese entstehenden Fibrillen können außerdem mit Hilfe des Fluoreszenzfarbstoffes Thioflavin-T (ThT) quantitativ bestimmt werden [2; 4]. Wird Molkenproteinisolat (pH 2) bei 85 °C erhitzt, so nimmt die ThT-Fluoreszenz bis zu einer Inkubationszeit von 9 h zu und bleibt unter weiterem Hitzeeinfluss auf diesem Niveau (Abb. 2).

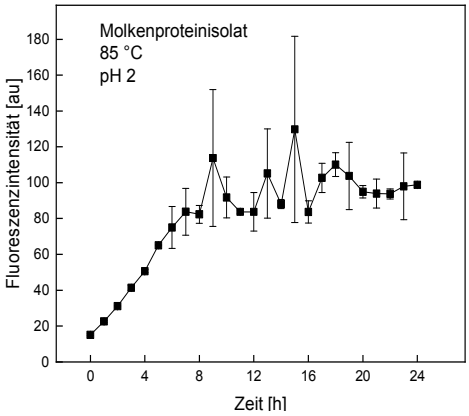


Abb. 2: Zunahme der Fluoreszenzintensität von ThT

Dies deutet darauf hin, dass die Konzentration der Fibrillen zunächst ansteigt und anschließend konstant bleibt. Weiterhin weisen diese faserartigen Strukturen eine hohe Stabilität auf und könnten während der weiteren Co-Extrusion mit Sojaproteinisolat die Morphologieentwicklung zu FEP beeinflussen.

Literatur:

[1] Bolder, SG, Hendrickx, H, Sagis, LMC, van der Linden, E (2006): Fibril assemblies in aqueous whey protein mixtures. J. Agric. Food Chem, 54(12): 4229–4234.

[2] Bolder, SG, Vasbinder, AJ, Sagis, LMC, van der Linden, E (2007): Heat-induced whey protein isolate fibrils: Conversion, hydrolysis, and disulphide bond formation. Int. Dairy J., 17(7): 846–853.

[3] Dave, AC, Loveday, SM, Anema, SG, Loo, TS, Norris, GE, Jameson, GB, Singh, H (2013): B-lactoglobulin self-assembly: structural changes in early stages and disulfide bonding in fibrils. J. Agric. Food Chem., 61(32): 7817–7828.

[4] Xue, C, Lin, TY, Chang, D, Guo, Z (2017): Thioflavin T as an amyloid dye: fibril quantification, optimal concentration and effect on aggregation. Royal Society Open Sci., 4(1): 160696.

Dank: Das IGF-Vorhaben 20249 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 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.

The Heating Profiles in Brick-Shaped Model Systems Processed by Innovative Solid-state and Conventional Magnetron Microwave Systems

Somayeh Taghian Dinani

The microwave thermal processing provides fast volumetric heating. Therefore, it provides great advantages over the slow conventional thermal processes. However, microwave thermal processing has a major drawback of non-uniform heating which prevents the developing of this thermal processing in the food industry [1]. The mentioned drawback of microwave thermal processing is associated with the low controllability of traditional microwave power generators of magnetrons. Therefore, the novel solid-state (semiconductor) microwave generators have been developed as a productive alternative for magnetrons with respect to the product quality attributes. In addition, they provide more advantages over the magnetron systems because of more control of the frequency, power and phase of microwaves, operating for long time at the same performance levels, requiring very less driving voltages, and having less weight and volume [2]. Therefore, replacing magnetrons with solid-state microwave generators especially for the food industry is a fascinating replacement for the traditional magnetron generators [3]. The solid-state generators have easily access to the novel feedback mechanism from the applied and reflected power signals for controlling power, frequency, and phase of

microwaves [2]. Therefore, using solid-state power generators is expected to provide more uniform heat processing than magnetron power generators [3].

In this study to compare the magnetron and solid-state microwave systems, their heating patterns were investigated on the low-acyl gellan gel bricks (3.2 cm × 3.2 cm × 6 cm height) containing the Maillard substrates of D-ribose and L-lysine [4]. The bricks were processed in both magnetron and solid-state microwave systems for 80 s in three sample positions of South, East, and West in the rim of the turntable inside the microwave cavity without turntable rotation (Figure 1A) at five different parallel power levels (Table 1).

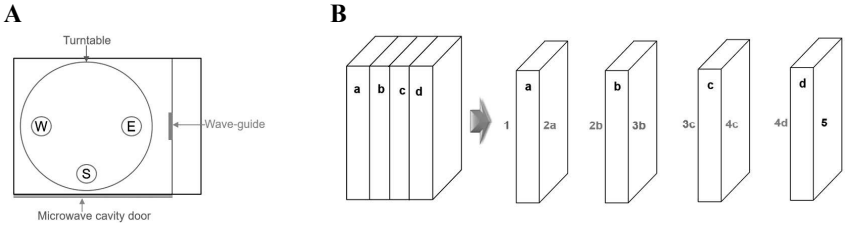


Fig. 1: **A)** Three positions of the sample in the microwave cavities without turntable activation (South (S), East (E), and West (W) and **B)** surface numbers of four slices of gellan gel bricks.

Then, the bricks were vertically cut into 4 slices of a, b, c, and d from left to rightz (Figure 1B) and were quickly cooled. The L, a, and b color parameters of all sample surfaces from left to right sides and their total color changes (ΔE) were measured. The following posters in Figure 2 will contain the pictures of 1, 2b, 3b, 4c, and 5 surfaces (Figure 1A) of the gellan gel bricks. The ΔE data in Figure 3 were reported as surfaces 1 (left surface), 2 (average values of surfaces 2a and 2b), 3 (average values of surfaces 3b and 3c), 4 (average values of surfaces 4c and 4d), and 5 (right surface).

Tab 1: Parallel applied power levels in the magnetron and solid-state microwave systems.

Defining the different power levels	Applied powers (W) in the magnetron system	Equivalent applied powers (W) of the solid-state system
P1	100	71
P2	270	77
P3	300	135
P4	440	224
P5	600	302

Regarding the position of South-TT off, the ΔE color changes increase from right (5th surface) to the left (1st surface) part of samples processed in both magnetron and solid-state systems (Figures 2A and B). However, it can be observed in Figures 2A and B that the solid-state microwave system resulted in more uniform heat processing and less color changes than the magnetron microwave system does. In additoin, Figure 3A shows that at power levels of P3, P4 and P5 for both magnetron and solid-state microwave systems, the ΔE increases from right (5th surface) towards the left part of the samples (1st surface) but with less severity in the solid-state microwave system.

Based on Figure 2C and Figure 2D, it can be concluded that in the position of East-TT off, the magnetron system resulted in less uniform heat processing of samples compared to the solid-state system in this position.

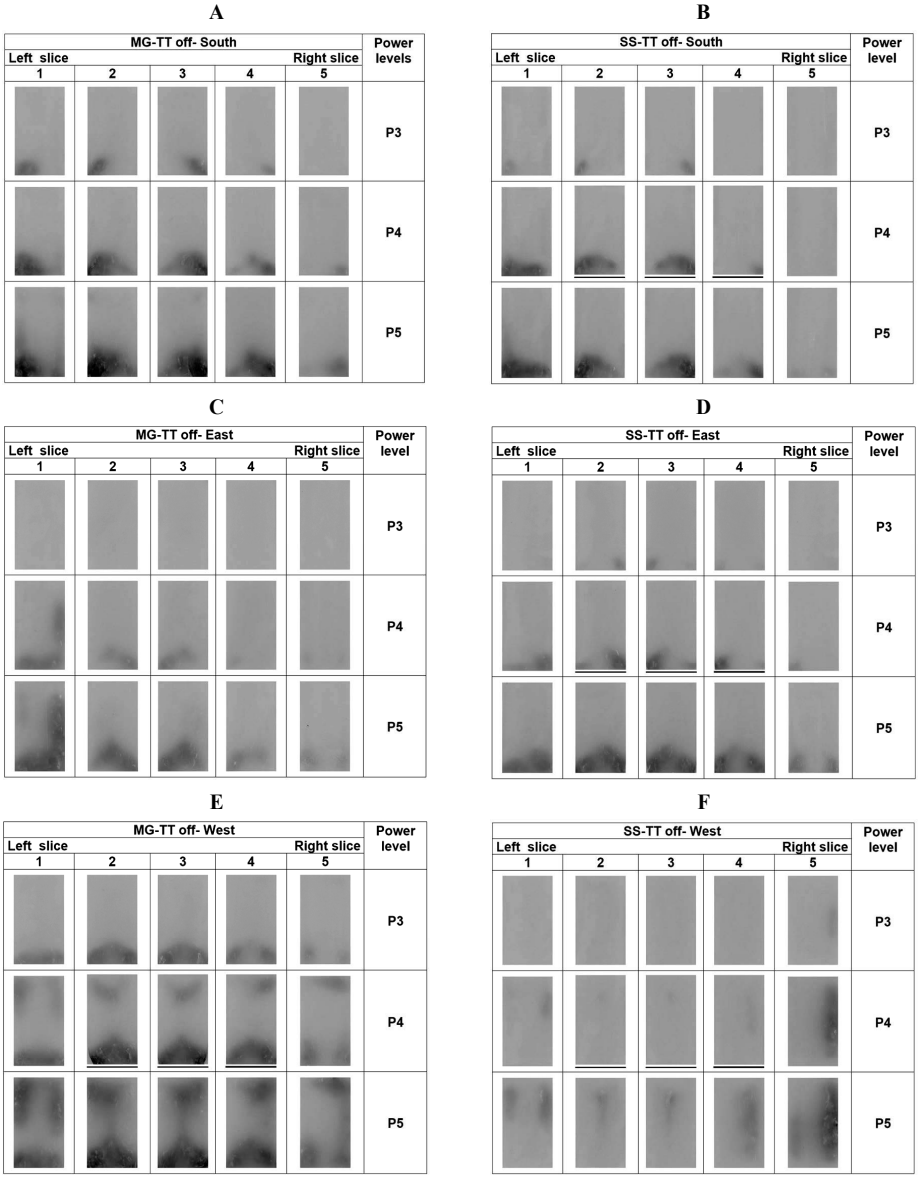


Fig. 2: Posters of sample surfaces from 1 to 5 processed at the five equivalent power levels processed in solid-state (SS) and magnetron (MG) microwave systems at positions TT off- South, T off-East, and TT off-West.

In addition, the solid-state system at position of East-TT off show higher reproducibility which is reflected in the lower standard deviations of the ΔE data (Figure 3B). Figure 6B shows that the most intense color changes of samples processed in the South and East positions of both microwave systems appear to be at the bottom of the samples. The lower color changes of the top surfaces of samples can be attributed to the higher evaporative boundary conditions and thus, higher cooling effect along the top surface of sample [5]. It was reported that at the temperature around 70°C, surface cooling effect is dominant in the samples with more than 80% moisture content [6].Figure 2 shows that the heating patterns of samples processed in the solid-state system in position of West-TT off are not similar to those of samples processed in the other positions of solid-state microwave system. Furthermore, Figures 2E and F show that the solid-state microwave system resulted in less overall color changes and more uniform heat prosessing than magnetron microwave system. It is interesting to notice that Figure 3C shows that the samples processed in the West-TT off in the solid-state system at power levels of P4 and P5 presented the intense ΔE color changes compared to samples processed in other positions. This result can be attributed to the cutting direction from north to south of bricks (shown in Figure 1B) which resulted in more color changes in the right surface of samples. In other words, if the bricks were sliced east to west orientation instead of north to south orientation, the sharp right-hand color changes of samples was divided more evenly into four slices.

In summary, the results show that the heating patterns of samples processed in the solid-state microwave system in all three positions of South, East and West are more similar together than those of samples processed in the magnetron microwave system.

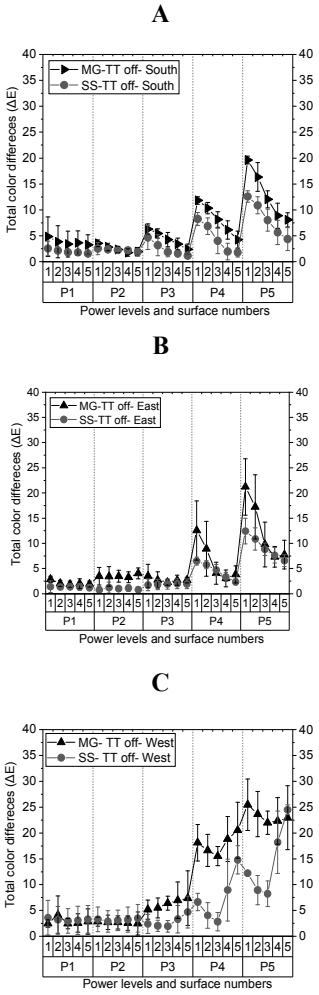


Fig: 3: The total colour difference (ΔE) of different surface numbers (1 to 5) of gellan gel bricks versus different applied power levels (**P1:** 100 W in MG and 71 W in SC, **P2:** 270 W in MG and 77 W in SC, **P3:** 300 W in MG and 135 W in SC, **P4:** 440 W in MG and 224 W in SC, and **P5:** 600 W in MG and 302 W in SC.

Literature:

[1] Zhang W, Liu F, Nindo C, Tang J. Physical properties of egg whites and whole eggs relevant to microwave pasteurization. J Food Eng 2013;118:62–9.

[2] Atuonwu JC, Tassou SA. Quality assurance in microwave food processing and the enabling potentials of solid-state power generators : A review. J Food Eng 2018;234:1–15.

[3] Imtiaz A. Solid-State Microwave Heating for Biomedical Applications. PhD Thesis, Department of Electrical and Electronic Engineering, Cardiff University, United Kingdom, 2015.

[4] Wang J, Tang J, Liu F, Bohnet S. A new chemical marker-model food system for heating pattern determination of microwave-assisted pasteurization processes. Food Bioprocess Technol 2018;11:1274–85.

[5] Vilayannur RS, Puri VM, Anantheswaran RC. Size and shape effect on nonuniformity of temperature and moisture distributions in microwave heated food materials: Part II experimental validation. J Food Process Eng 1998;21:235–48.

[6] Pitchai K, Birla SL, Subbiah J, Jones D, Thippareddi H. Coupled electromagnetic and heat transfer model for microwave heating in domestic ovens. J Food Eng 2012;112:100–11.

Einfluss von Molkenproteingehalt und –denaturierung auf das Labgelbildungsverhalten von Milchkonzentraten

Impact of whey protein content and denaturation on rennet gelation properties of milk protein concentrates

Malou Warncke

Bei der traditionellen Käseherstellung werden etwa 30 % der Milch zu Käse verarbeitet. Die restlichen 70 % sind Molke, die anschließend aufbereitet und weiterverarbeitet werden können. Alternativ können die Molkenproteine strukturell in die Käsematrix integriert werden und so die Käseausbeute steigern.

Native Molkenproteine sind nicht an der Labgelbildung beteiligt. Sie können jedoch in denaturierter Form in das Gelnetzwerk miteingebunden werden. Molkenproteine hitzedenaturieren ab ~65-70 °C. Dann binden sie an das κ-Casein an der Micelloberfläche und bilden Casein/Molkenproteinkomplexe. Sie besetzen somit die Bindungstellen für das Chymosin (Abb. 1). Chymosin spaltet das κ-Casein in para-κ-Casein und Caseinmakropeptid und induziert infolgedessen die Aggregation der Caseinmicellen indem sich ihre Ladung neutralisiert.

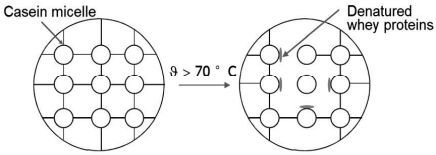


Abb. 1: Schematische Darstellung der Caseinmicellenbesetzung durch denaturierte Molkenproteine.

Ziel dieser Arbeit ist es, die Labgelbildungseigenschaften von Magermilchkonzentraten in Abhängigkeit von Molkenproteinkonzentration und –denaturierung zu untersuchen. Als Beurteilungskriterien wurden die Gelstärke, das Serumbindevermögen und die Molkenproteinkonzentration in der Serumphase herangezogen. Alle Gele bestanden aus 9,6% Casein und jeweils 1,5, 0,45, 0,3 und 0,15% Molkenprotein. Die Konzentrate wurden nativ eingelabt oder vorher hitzebehandelt (80 °C/30 min) und anschließend eingelabt.

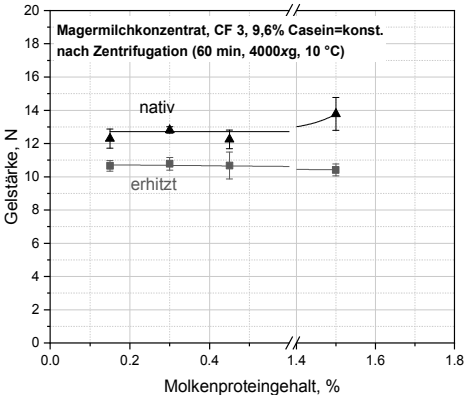


Abb. 2: Gelstärke nativer und erhitzter Konzentrate.

Die resultierenden Gelstärken sind in Abb. 2 dargestellt. Es zeigte sich, dass bei allen Casein/Molkenprotein-Verhältnissen eine Erhitzung zu weicheren Gelen führte. Während bei den nativen Gelen die Gelstärke durch den höheren Molkenproteingehalt zunahm, blieb sie bei den erhitzten Proben konstant. Bei den erhitzten Proben führten die gebundenen Molkenproteine zu einer weicheren, offenporigen Gelstruktur. Bei den nativen Konzentraten bildeten die Caseine ein festes, engmaschiges Labgelnetzwerk.

Die Molkenproteine befanden sich in der Serumphase und drainierten bei der anschließenden Zentrifugation. Eine offenporige Gelstruktur geht mit einer erhöhten Serumbindung in den Poren einher, was das Gel wiederum weicher macht.

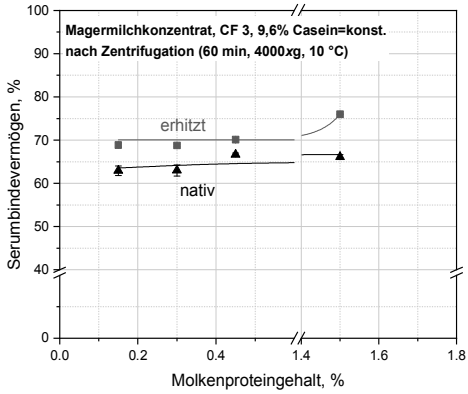


Abb. 3: Serumbindevermögen nativer und erhitzter Konzentrate.

Das ermittelte Serumbindevermögen der Gele bestätigte dies: Alle erhitzten Proben zeigten ein höheres Serumbindevermögen (Abb. 3). Die durch die Erhitzung gebildeten Casein/Molkenprotein-Komplexe erlaubten keine maximale Aggregation der Caseinmicellen – und somit kein engmaschiges Netzwerk, wie es für Käse mit einem festen Bruch erwünscht ist – sondern eine offenporige Struktur mit mehr Serumbindung bzw. einem weicheren Bruch. In beiden Fällen sorgte ein niedriger Molkenproteingehalt für eine erhöhte Serumlässigkeit jedoch nicht für ein festeres Gel.

Mittels RP-HPLC-Analyse der Seren konnte die Menge an integriertem Molkenprotein bestimmt werden. Die Frage war: Wie viel natives im Vergleich zu denaturiertem Molkenprotein kann in das Gelnetzwerk eingebunden werden, wenn der Molkenproteingehalt variiert wird? Wie erwartet stieg die Molkenproteindrainage mit steigendem Molkenproteingehalt im nativen Konzentrat. Es wurde außerdem erwartet, dass die Drainage aufgrund der Denaturierung durch die Erhitzung sinkt. Die Molkenproteine werden entweder durch Bindung an die Caseinmicelloberfläche oder durch Rückhaltung in den Poren in das Gel integriert. Die Molkenproteingehalte sind Abbildung 4 zu entnehmen. Die Molkenproteinkonzentration im Serum wurde auf den Gesamtproteingehalt standardisiert. Bei einem Molkenproteingehalt von 0,15 % fanden sich ~52 % davon in der Serumphase wieder. Wurde das Konzentrat erhitzt, betrug der Gehalt im Serum lediglich ~32 % (≙0,072 % bzw. 0,102 % des Gesamtmolkenproteingehaltes war im Gel gebunden). Im nativen Konzentrat mit 1,5 % Molkenproteingehalt wurden ~77 % der Molkenproteine in der Serumphase nachgewiesen und in der erhitzten Lösung ~23 % (≙0,345 % bzw. 1,155 % des Gesamtmolkenproteingehaltes war im Gel gebunden).

Es zeigte sich, dass standardisiert auf den Gesamtproteingehalt, mehr native Molkenproteine integriert werden konnten je geringer deren Konzentration in der Ausgangslösung war.

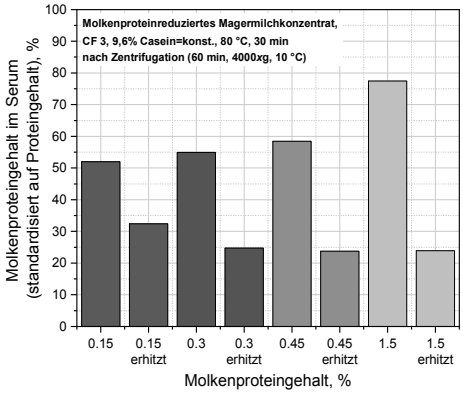


Abb. 4: Molkenproteindrainage nativer und erhitzter Konzentrate.

Für die denaturierten Molkenproteine gilt: Je höher der Molkenproteingehalt im Konzentrat, desto niedriger die Drainage. Der standardisierte Molkenproteingehalt war nahezu unabhängig vom Molkenproteingehalt im Ausgangskonzentrat: Je mehr Molkenprotein dieses enthielt, desto mehr konnte auch in das Gelnetzwerk integriert werden. Durch die Hitzebehandlung konnte die Molkenproteindrainage mehr als halbiert werden: 70-77 % des Gesamtmolkenproteingehaltes konnten in das Gelnetzwerk integriert werden.

Die gewonnenen Erkenntnisse zeigen, dass der Herstellungsprozess von Käse entsprechend den gewünschten Endproduktattributen wie z. B. Ausbeute, Festigkeit/Cremigkeit mit Anpassung des Molkenproteingehaltes und entsprechender Vorerhitzung gesteuert werden kann.

Forschungsgebiet Trenntechnik
Working Area Separation Techniques

Stabilität von Spiralwickelmembranen gegen permeatseitigen Überdruck
Stability of spiral-wound membranes against permeate pressure

Martin Hartinger

Spiralwickelmembranen kommen in der Lebensmittelindustrie in einer Vielzahl von Prozessen, vom Konzentrieren bis hin zum Fraktionieren, zum Einsatz. Da die Verbindung zwischen den einzelnen Flachmembranen im Modul über Klebung erfolgt, kann die Integrität von Modulen bei unzulässig hoher mechanischer Beanspruchung leiden. Es wird aus der Industrie von mehreren Versagensmechanismen berichtet, wobei neben Teleskopieren, einer axialen Verschiebung der Membrantaschen in Strömungsrichtung, ein Aufreißen der Permeattaschen sehr häufig ist. Dies kann durch einen permeatseitig höheren Druck ausgelöst werden, wenn der Druck retentatseitig auf ein geringes Niveau abgefallen ist. Um dies zu verhindern, ist bei vielen Herstellern der maximale permeatseitiger Überdruck auf 0,3 bar beschränkt. Es blieb aber bisher offen, bei welchen Drücken das Versagen durch Aufreißen der Permeattaschen zustande kommt und welche Prozessschritte als besonders kritisch anzusehen sind.

In diesem Zusammenhang ist insbesondere der Einfluss der Betriebstemperatur von entscheidender Bedeutung, da von einer Abnahme der mechanischen Stabilität von Polymerverbindungen mit zunehmender Temperatur auszugehen ist. Aus diesem Grund wurde die Stabilität und das Versagensmuster bei permeatseitiger Druckbeaufschlagung von Spiralwickelmembranen für den gesamten Temperaturbereich von 10 – 50 °C untersucht.

Dazu wurden die Membranen im Druckrohr permeatseitig mit Wasser beaufschlagt, woraus sich ein permeatseitiger Überdruck bzw. ein negativer Transmembrandruck ergaben. Dies hatte zur Folge, dass Wasser entgegen der normalen Fließrichtung vom Permeatbereich in den Retentatbereich gedrückt wurde. Am Berstdruck trat ein Versagen der Membrantasche auf.

Bei den Untersuchungen konnten zwei verschiedene Versagensmechanismen beobachtet werden. Abb. 1a zeigt das Versagen durch Zerstörung der Klebenaht, Abb. 1b das Versagen durch Reißen der Membran.

Abb. 1a: Modulversagen durch Klebenahtriss

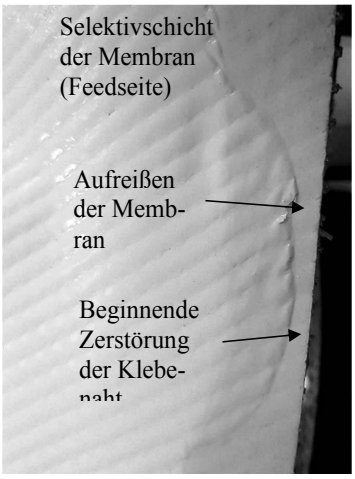


Abb. 1b: Modulversagen durch Reißen der Membran

Beim Versagen durch Zerstörung der Klebenaht (Abb. 1a) führte die Verformung der Membrantasche aufgrund des permeatseitigen Überdrucks zu einer übermäßigen Schälbeanspruchung der Klebenaht, in dessen Folge ein Versagen auftrat. Das Ablösen der Membran erfolgte in einer charakteristischen Keilform. Sobald die Keilspitze das andere Ende der Klebenaht erreicht, tritt Permeat aus der Tasche aus beziehungsweise kann Feed im Bypass zur Selektivschicht der Membran in den Permeatbereich des Moduls eindringen.

Beim Versagen durch Reißen der Membran trat ebenfalls eine teilweise Schälung der Klebenaht auf. Allerdings erreichte die Keilspitze nicht die gegenüberliegende Seite der Klebung, sondern es kam zu einem Reißen der Membran (sowohl Selektiv- als auch Stützschicht).

Durch das Aufreißen der Klebenaht oder der Membran ist die Selektivität des Moduls erheblich verschlechtert und ein Austausch des Moduls ist zwingend erforderlich. Das Aufreißen der Membran stellte dabei mit ca. 15 % den weitaus selteneren Zerstörungsfall dar. Darüber hinaus war das Auftreten beider Fälle unabhängig von der Betriebstemperatur, wohingegen der Berstdruck einer erheblichen Temperaturabhängigkeit unterliegt.

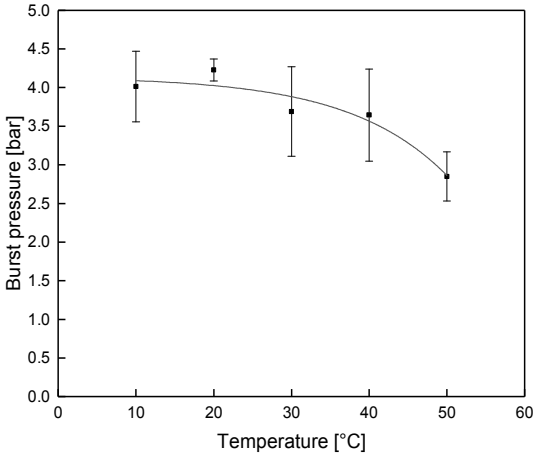


Abb. 2: Berstdruck als Funktion der Betriebstemperatur.

Aus Abb. 2 geht hervor, dass der Berstdruck mit zunehmender Temperatur abnimmt. Bei 10 °C lag er bei 4,1 bar, ging aber bei 50 °C auf 2,9 bar zurück. Dies ist durch eine Verringerung der Stabilität der Klebeverbindung bei ansteigender Temperatur zurückzuführen. Dadurch kommt es zu einer Schälung der Klebung oder dem Reißen der Membran in der teilabgeschälten Klebenaht.

Mit >2,9 bar sind die Berstdrücke aber wesentlich höher als die maximal von den Herstellern zugelassenen 0,3 bar.

Dies lässt den Schluss zu, dass Modulversagen im normalen Betrieb der Anlage ein geringeres Problem darstellen. Bei Druckstößen, beispielsweise durch schlagartiges Schließen eines Ventils im Permeatbereich einer Membranfiltrationsanlage, kann der Berstdruck allerdings überschritten werden. Davon sind insbesondere Prozesstemperaturen um 50 °C sowie die Reinigung betroffen, die üblicherweise ebenfalls bei etwa 50 °C erfolgt. Es bleibt zu beachten, dass Klebenähte und Kunststoffe zum Kriechen (allmähliche plastische Verformung bei lange andauernder Beanspruchung) neigen und daher der Berstdruck für eine langfristige Beanspruchung durchaus niedriger liegen kann. Für kurzzeitige Beanspruchungen zeigen die Ergebnisse, dass Druckschläge am kritischsten für die Stabilität von Spiralwickelmembranen bei permeatseitigem Überdruck sind.

Dank: Das IGF-Vorhaben 18553 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 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.

Veränderung der intestinalen Mikrobiota von *Clostridium difficile* infizierten Hamstern während der Behandlung mit spezifischen bovinen Antikörpern

Alteration of the intestinal microbiota of Clostridium difficile infected hamsters during treatment with specific bovine antibodies

Hans-Jürgen Heidebrecht

Die Zahl der durch antibiotikaresistente Bakterien verursachten Todesfälle hat sich in den letzten Jahren alle drei Jahre verdoppelt und betrug in der EU 2015 etwa 33.000 Menschen [1]. Wenn sich dieser Trend fortsetzt, könnte es bis 2050 in der EU etwa 10 Millionen assoziierte Todesfälle geben. Neben der Bildung von Resistenzen, ist ein weiterer Nachteil der meisten Antibiotika, dass sie unspezifisch sind und daher nicht nur das entsprechende Pathogen inaktivieren, sondern, bei oralem Einsatz, auch das intestinale Mikrobiota Gleichgewicht stören. Ziel dieser Arbeit war es daher, neue Produkte auf der Basis spezifischer boviner Antikörper zu entwickeln, die als Ersatz für unspezifische Antibiotika als Arzneimittel zur Behandlung bakterieller Infektionen eingesetzt werden können.

Dafür wurde eine Filtrationskaskade optimiert und Molkenprotein-Isolate (anti-CD-WPI) mit spezifischen polyklonalen Antikörpern hergestellt [2], um eine neue und innovative therapeutische Alternative für die oft tödlich verlaufende Darminfektion mit *Clostridium difficile* (CDI) zu entwickeln. Die Spezifität der polyklonalen Antikörper wurde durch die Immunisierung von Kühe mit den *C. difficile* Virulenzfaktoren, Toxin A, Toxin B, Zellen und Sporen in Zusammenarbeit mit Prof. Pfaffl vom Lehrstuhl für Tierphysiologie & Immunologie erzeugt. Das ungelöste Gesundheitsproblem bei einer CDI ist die hohe Rezidivrate bei 30-40% der Patienten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass die bisher eingesetzten Antibiotika unspezifisch sind und auch das gesunde Darmmikrobiom schädigen, so dass nach Absetzen der Therapie die resistenten Sporen in dieser anfälligen Umgebung wieder auskeimen.

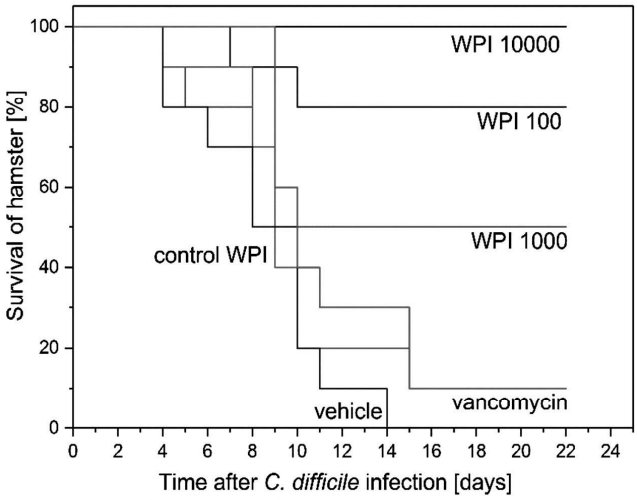


Abb. 1: Kaplan-Meier-Überlebenskurven von Hamstern nach Infektion mit Clostridium-difficile und anschließender Behandlung. Die WPI 10.000 Überlebenskurve unterschied sich signifikant (log-rank) von der der Kontrolle WPI ($p < 0{,}0001$), Vancomycin ($p < 0{,}0001$) und Pufferlösung ($p < 0{,}00001$). Die WPI 100 Überlebenskurve unterschied sich signifikant (log-rank) von der Kontroll-WPI ($p < 0{,}01$), Vancomycin $p < 0{,}01$) und Pufferlösung ($p < 0{,}001$).

Die Wirksamkeit des anti-CD-WPI wurde in vivo im Tiermodell getestet. Das primäre Bewertungskriterium war das Überleben der Hamster und betrug 50%, 80% und 100% im Vergleich zu 10%, 10% und 0% für die Kontrollgruppen (Abb. 1). Das Standardtherapieantibiotikum Vancomycin unterdrückte das Wachstum von C. difficile und schützte so die Hamster zum Zeitpunkt der Verabreichung, aber 90% dieser Hamster starben trotzdem kurz nach Beendigung der Behandlung.

Der Grund dafür ist, dass Vancomycin bis zu diesem Zeitpunkt unter seine aktive Dosis verstoffwechselt wird, sodass die resistenten Sporen wieder auskeimen (analog dem Rezidiv beim Menschen) und im vegetativen Zustand Toxine produzieren, was dann zum Tod der Hamster führt. Im Gegensatz dazu inaktivierte das anti-CD-WPI nicht nur die Toxine für die anfängliche Unterdrückung von CDI, sondern bewirkte auch die Hemmung des Wachstums von *C. difficile* und verhinderte so ein Wiederauftreten. Kontroll-WPI, welches aus der Milch derselben Kühe vor der Immunisierung gewonnen wurde, zeigte keinen Effekt (nur ein Hamster überlebte), was bedeutet, dass die Immunisierung notwendig ist, um die Antikörperspezifität zu erzeugen und nicht einfach normale Milch verwendet werden kann [3].

Um ein tieferes Verständnis der Ursachen für den Rückgang der Zell- und Sporenzahl zu erhalten, wurde die zeitliche Veränderung des Darmmikrobioms untersucht, gemessen über 16S RNA-Sequenzierungen von Stuhl- und Darmproben. Die entsprechenden Analysen wurde an der Core Facility Mikrobiom der TUM durchgeführt. Richness ist ein Maß für die Anzahl der verschiedenen Arten in einer Probe und wird durch Addition der verschiedenen Bakterien bzw. OTUs (Operational Taxonomic Unit) berechnet.

Aus Abb. 2 A ist ersichtlich, dass vor der Therapie etwa 200 verschiedene OTUs in den Stuhlproben nachgewiesen wurden, welche bis zum Tag 3 in allen Gruppen signifikant auf etwa 60-80 abnahmen. Der Rückgang von Tag -1 bis Tag 3 ist auf die Verabreichung des Suszeptibilitätsantibiotikums Clindamycin in dem Tiermodell zurückzuführen. Das Antibiotikum bewirkt, analog zur Vorbehandlung mit Antibiotika beim Menschen, eine Reduktion der intestinalen Mikroorganismen, was dann das Auskeimen der C. difficile-Sporen erleichtert. Die Kennzahl Richness gibt jedoch keine Auskunft über die relative Häufigkeit der unterschiedlichen OTUs, weswegen der Simpson effektiv in Abb.2 B dargestellt ist. Er ist eine Maßzahl dafür wie gleichmäßig divers eine Population ist. Analog zur Richness nimmt die intestinale Mikrobiotadiversität in den mit anti-CD-WPI behandelten bis zum Tag 3 signifikant

ab, allerdings gibt es bereits ab Tag 6 keinen signifikanten Unterschied mehr im Vergleich zu vor der Behandlung (keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen, mit Ausnahme der mit Vancomycin behandelten Gruppe, die noch eine signifikant geringere Diversität aufwies, nicht dargestellt). Dies bedeutet, dass das intestinale Mikrobiom ab dem sechsten Tag gleich divers ist wie vor der Therapie. Werden die Ergebnisse der Richness und des Simpson effective kombiniert, so ist die Artenanzahl nach der Behandlung nicht mehr so hoch wie zuvor, wahrscheinlich, weil seltene/anfällige Arten vollständig durch Clindamycin eliminiert wurden oder unter der Nachweisgrenze liegen, aber das Mikrobiom hat sich ab dem sechsten Tag in Bezug auf seine Diversität regeneriert.

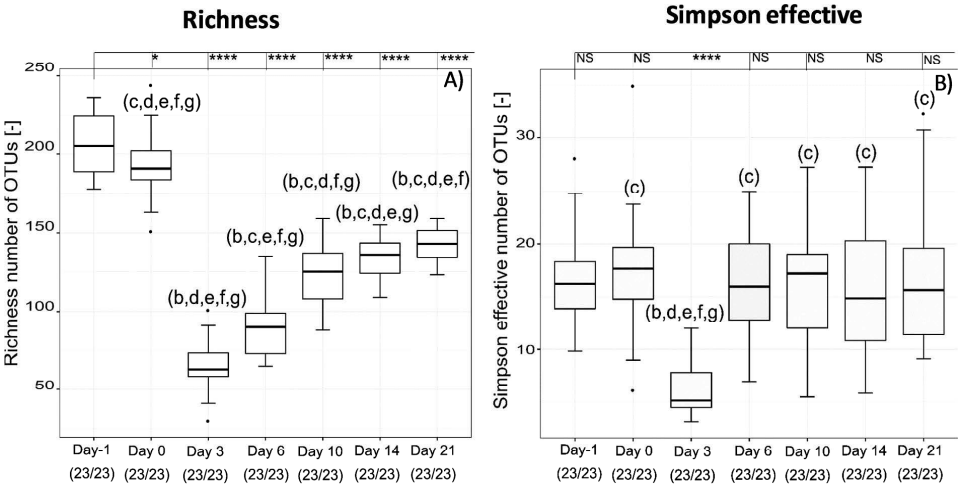


Abb. 2: Richness (A) und Simpson effective der 23 Hamster, die aufgrund der Behandlung mit anti-CD-WPI (WPI 100, 1000, 10000) überlebt haben. Signifikanzwerte sind p <0,05 =*, p <0,01 =**, p <0,001 =***, p <0,001 =****, NS= nicht signifikant. Gegebene Signifikanzwerte sind im Vergleich zu vor der Behandlung, signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen werden durch kleine Buchstaben gekennzeichnet.

Aus dem Vergleich der 16S RNA-Sequenzierungs-, Zellzahl- und der Überlebensdaten der verschiedenen Behandlungsgruppen untereinander und mit der mit Vancomycin behandelten Gruppe wurde der Schluss gezogen, dass die Regeneration des Mikrobioms wahrscheinlich keine aktive Regeneration ist. Stattdessen basiert sie auf der Tatsache, dass keine inaktivierenden Substanzen verabreicht werden, was zu einer natürlichen Regulierung des Mikrobioms führt, z.B. durch Nahrungsaufnahme. Der Vergleich zeigte aber auch, dass die Regeneration des Mikrobioms allein nicht ausreicht, da fast alle Hamster in den Kontrollgruppen starben. Das bedeutet, dass es einen aktiven und antikörperinduzierten Mechanismus geben muss, der den Rückgang des Zellwachstums verursacht und damit das Rezidiv verhindert.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich ein neuer Therapievorschlag für den Menschen ableiten, nämlich, die parallele Verabreichung von Vancomycin und anti-CD-WPI. Vancomycin hat sich bei der Inaktivierung von vegetativen Zellen zunächst als deutlich wirksamer erwiesen als die verwendeten Antikörper. Daher sollte nach der Diagnose von CDI die akute Phase z.B. mit einem Puls von Vancomycin für 2-3 Tage (statt 10 Tage wie derzeit im Krankenhaus) und gleichzeitig mit anti-CD-WPI behandelt werden.

Vancomycin bewirkt eine schnelle Inaktivierung der vegetativen Zellen von *C. difficile*, während die Antikörper die Toxine binden, die nach der Antibiotikagabe durch den induzierten Stress zunächst freigesetzt werden.

Nach dem Ende der Vancomycin-Applikation (Tag 2-3) wird nur noch mit der WPI-Behandlung fortgefahren. Eine solche Behandlung kann vor späten CDI-Effekten schützen und die Sporen inaktivieren, was nicht bei Vancomycin der Fall ist. Dadurch kann die Dosis von Antibiotika deutlich reduziert werden, wodurch die Mikrobiota Schädigung reduziert und die Regeneration der mikrobiellen Vielfalt beschleunigt wird, wodurch die Rezidivraten gesenkt werden könnte.

Details sowie weitere Erkenntnisse zu bovinen Antikörpern können in der Dissertation "From food to medicine: Process development and use of functionalized polyclonal antibodies from cow's milk for the treatment of infections caused by multi-resistant bacteria (ISBN 978-3-8439-4268-3)" nachgelesen werden. Das Projekt wurde mit dem Preis "DLG Junge Ideen 2019" ausgezeichnet.

Literatur:

[1] Cassini, A., Högberg, L. D., Plachouras, D., Quattrocchi, A. et al., Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. The Lancet Infectious Diseases 2019, 19, 56–66.

[2] Heidebrecht, H.-J.; Kulozik, U. (2019): Fractionation of casein micelles and minor proteins by microfiltration in diafiltration mode. Study of the transmission and yield of the immunoglobulins IgG, IgA and IgM. In: International Dairy Journal 93, pp. 1–10. DOI: 10.1016/j.idairyj.2019.01.009.

[3] Heidebrecht, Hans-Jürgen; Weiss, William J.; Pulse, Mark; Lange, Anton; Gisch, Karina; Kliem, Heike et al. (2019): Treatment and Prevention of Recurrent Clostridium difficile Infection with Functionalized Bovine Anti-body-Enriched Whey in a Hamster Primary Infection Model. In: Toxins (Basel) 11 (2). DOI: 10.3390/toxins11020098.

Bypass-Strömungen um Spiralwickelmembranen beeinflussen das Verweilzeitverhalten

Bypass flows around spiral-wound membranes affect the residence time behavior

Ingrun Kieferle

Das Strömungsmuster, welches sich im Fließkanal einer Spiralwickelmembran (SWM) ausbildet, wird in erster Linie durch den Spacer bestimmt (Abb. 1).

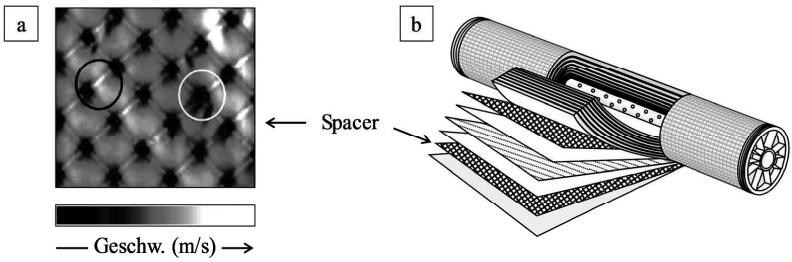


Abb. 1: a) NMR-Aufnahme eines mit Flüssigkeit durchströmten Spacers nach [1] und b) schematische Darstellung einer Spiralwickelmembran nach [2].

Charakteristischer Weise existieren hinter den Kreuzungspunkten der Spacerfilamente Strömungsschatten (Abb. 1a, weiße Markierung), während die Strömungsgeschwindigkeit gegenüber eines Spacerfilaments einen verhältnismäßig hohen Wert annimmt (Abb. 1a, schwarze Markierung). Die Komplexität der Strömung spiegelt sich im Verweilzeitverhalten von Pro-

dukten in SWM wider und macht dessen Beschreibung basierend auf physikalischen Modellen schwierig. Alternativ bieten sich mechanistische Modelle an, da diese die exakte Abbildung der geometrischen Komplexität durch starke Abstraktion umgehen.

Als Grundlage für die Beschreibung des Verweilzeitverhaltens eines viskosen Produktes in SWM während des Ausschiebens des Produktes aus der Membrananlage mit Wasser wurden zunächst Versuche im Pilotmaßstab mit 6338-Membranen durchgeführt. Hierbei wurden Milchproteinkonzentrate unterschiedlicher Proteingehalte mit Wasser ausgeschoben und die Verweilzeitverteilung mit Hilfe eines Inline-Trübungssensors aufgezeichnet. Die Beschreibung der resultierenden Verweilzeit-Summenkurven erfolgte anschließend durch semi-empirische mechanistische Modelle.

Als erste Näherung wurde angenommen, dass die SWM hydrodynamisch als Rohrreaktor mit Vermischung in Längsrichtung betrachtet werden kann, wobei das Ausmaß der Vermischung des Produktes mit dem Wasser durch den sogenannten Dispersionskoeffizienten angepasst wird (Modell I). Abb. 2a und b zeigen das Ergebnis der Anpassung (Modell I) für zwei unterschiedliche Messungen. Für einen Proteingehalt von 9,5 % und eine Flussrate von 13,6 m^3/h (Abb. 2a) ist die Übereinstimmung zwischen Messung und Modell sehr gut. Dies bedeutet, dass die SWM mit zufriedenstellender Genauigkeit als Rohrreaktor mit Vermischung in Längsrichtung beschrieben werden kann. Anders verhält es sich hingegen für einen Proteingehalt von 13,8 % und eine Flussrate von 14,9 m^3/h – hier weicht die Modellkurve von der gemessenen Verweilzeitkurve deutlich ab (Abb. 2b, Modell I). Dies deutet darauf hin, dass Modell I die hydrodynamischen Vorgänge für diese Messung nicht ausreichend repräsentiert. Offensichtliche Unterschiede zwischen den beiden Versuchen liegen zunächst in der Flussrate und in der Viskosität der beiden Milchproteinkonzentrate, welche mit zunehmendem Proteingehalt exponentiell ansteigt. Unter Berücksichtigung des Versuchsaufbaus (Abb. 3) können diese Unterschiede zur Erklärung der Abweichungen zwischen der Messkurve und der Modellkurve herangezogen werden.

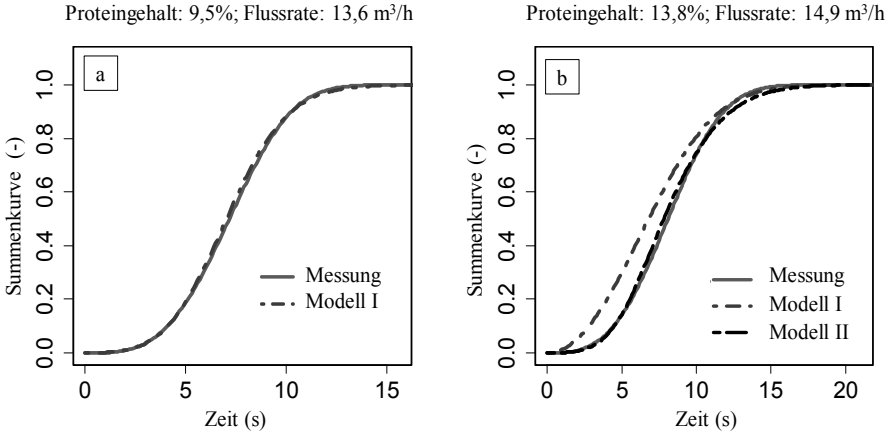


Abb. 2: Annäherung der gemessenen Verweilzeitkurve (durchgezogene Linie) mit Hilfe semi-empirischer Modelle (gestrichelte Linien).

Abb. 3 zeigt die frontale Ansicht einer SWM in einem runden Gehäuse. Aufgrund der Wicklung sind die SWM nicht vollständig rund und schließen deshalb nicht bündig mit dem Gehäuse ab. Weiterhin sind die verwendeten SWM mit einem speziellen Spacernetz umhüllt, welches dazu dient, den Zusammenhalt der Wicklung und die Passung im Gehäuse zu verbessern. Wie in Abb. 3 zu sehen ist, ergibt sich trotz der Spacerhülle ein Spalt zwischen Membranmodul und Gehäuse. Weiterhin besitzt die Spacerhülle eine höhere Porosität als die Spacer im Kernbereich der Membran.

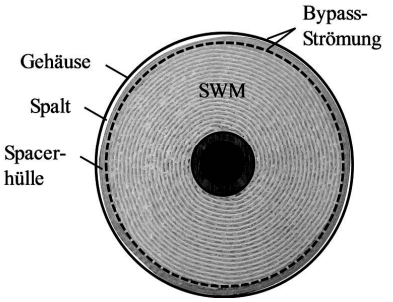


Abb. 3: Frontale Ansicht einer Spiralwickelmembran im Industriemaßstab (6338).

Diese Umstände begünstigen eine Strömung im Außenbereich, welche den Kernbereich der SWM umgeht und deshalb als Bypass-Strömung bezeichnet wird. Folglich wurde der Bypass in zweiter Näherung (Modell II) durch einen zusätzlichen Rohrreaktor mit Vermischung parallel zu dem Rohrreaktor mit Vermischung, der den Kernbereich repräsentiert, berücksichtigt. Die Übereinstimmung der experimentellen Kurve mit der durch Modell II angenäherten Kurve (Abb. 2b) deutet darauf hin, dass sich unter den gegebenen Prozessbedingungen tatsächlich eine beträchtliche Bypass-Strömung ausbildet. Basierend auf der Annahme, dass die Fluide dem Strömungsweg des geringsten Widerstandes folgen, ergibt sich folgende Schlussfolgerung: Die Strömungswiderstände im Rand- und Kernbereich sind bei weniger viskosen Produkten ähnlich, während sie bei hochviskosen Produkten und hoher Strömungsgeschwindigkeit stark abweichen. Folglich genügt es im Fall von Abb. 2a, von einer gleichmäßigen Durchströmung in radialer Richtung auszugehen (Modell I), während es im Fall von Abb. 2b notwendig ist, die Bypass-Strömung und damit einen radialen Geschwindigkeitsgradienten explizit zu berücksichtigen (Modell II).

Die praktische Relevanz dieser Betrachtungen ergibt sich daraus, dass sie die Existenz einer nicht zu vernachlässigenden Bypass-Strömung belegen, welche sich deutlich auf das Filtrations-, Verweilzeit- bzw. Freispülverhalten eines viskosen Produkts in SWM auswirkt. Im Hinblick auf die Ablösung der Deckschicht von der Membran mit Wasser während der Reinigung und im Hinblick auf die Filtration selbst muss davon ausgegangen werden, dass die Überströmungsgeschwindigkeit der Membran geringer ist als angenommen. Folglich ist auch die Abreinigungswirkung der Querströmung vermindert. Daraus ergibt sich zum einen ein erhöhter Wasserbedarf bei der Reinigung und zum anderen eine Verlängerung der benötigten Filtrationszeit wegen geringerer Fluxwerte.

Literatur:

[1] Schulenburg, D. A. Graf von der, Vrouwenvelder, J. S., Creber, S., Loosdrecht, M. v., Jing, Y., Johns, M. L. (2008). Nuclear magnetic resonance microscopy studies of membrane biofouling. J. Membrane Sci., 323(1), 37–44.

[2] Wagner, J. (2001). Membrane Filtration Handbook: Practical Tips and Hints, 2nd edition. Osmonics, Inc., http://www.soulwaterfilter.com/images/pro6/pdf3/MORE%20INFO.pdf, accessdate 03.07.2019

Dank: Das IGF-Vorhaben 18770 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Einfluss kleinster Produktrückstände auf den Wasserflux bei der Membranfiltration
Influence of traces of product residues on the waterflux for membrane filtration
Christian Kürzl

Im Rahmen eines genehmigten Forschungsvorhabens soll die Reinigung von Membranen unter Einsatz alternativer Crossflow-Strömungsarten (oszillierende Vorwärtsströmung/alternierende Strömungsrichtung) untersucht werden. Die zugrundeliegende Hypothese ist dabei, dass eine pulsierende Strömung mit ständigem Wechsel zwischen einer hohen und niedrigen Überströmgeschwindigkeit durch eine zeitweise höhere Wandschubspannung sowie niedrigeren Transmembrandruck einen verbesserten Abtrag bewirkt. Bei der alternierenden Strömung, also einem zusätzlichen Wechsel der feed-seitigen Anströmrichtung der Membran, wird ein zusätzlicher positiver Effekt durch verstärkte Verwirbelungen und eine wechselnde Beanspruchung der Deckschicht erwartet. Ziel ist festzustellen, inwieweit sich über diese Methoden der Übertragung von Strömungsenergie auf abzutragende Deckschichten aus Protein auf der Oberfläche von Membranen die für eine CIP-Reinigung (Cleaning in place) nötige Zeit von mindestens 3 h (bis zu 6 h werden aus der Industrie berichtet) reduzieren lässt. Voraussichtlicher Projektstart ist der 1. März 2020.

Zur Beurteilung des Erfolgs von CIP-Reinigungsprozessen von Membranen wird üblicherweise die Messung des Wasserfluxes der gereinigten Membran herangezogen. Hierbei wird nach erfolgter Reinigung bei einem oder mehreren Transmembrandrücken der Wasserflux bzw. die Wasserpermeabilität gemessen und mit dem Wasserflux der sauberen Anlage vor der Filtration verglichen. Der Vorteil dieser Methodik ist, dass der Wasserflux ohne analytischen Aufwand kontinuierlich und inline ermittelt werden kann.

Auch in diesem Vorhaben ist geplant so vorzugehen. Im Hinblick auf eine wissenschaftliche Betrachtung, die sich mit dem Einfluss verschiedener Reinigungsparameter wie Überströmgeschwindigkeit oder Transmembrandruck sowie alternativer Strömungsformen auf die Reinigungseffizienz bzw. die Flux-Wiederherstellung nach erfolgter Reinigung befassen wird, ist die Reproduzierbarkeit der Messung entscheidend. Erfahrungen der letzten Jahre sowie Berichte in der Literatur zeigen aber, dass der Wasserflux der über Lauge-/Säure-/enzymatische Reinigungsschritte von Produktresten befreiten Membran trotz Durchführung bewährter Reinigungsmethoden eine erhebliche Variabilität aufweist. Bei sonst immer gleicher Vorbehandlung der Membranen liegt die Vermutung nahe, dass diese Schwankungen trotz vorangegangener Reinigung u.a. durch Produktrückstände hervorgerufen werden. Auch Veränderungen im Reinigungsmittel bzw. Reinigungsmittelreste wie Tenside kommen neben anderen nicht identifizierten Faktoren als Variabilitätsursache in Frage.

Um eine belastbare Basis für die Messung des Wasserfluxes zu schaffen, wurde zunächst geprüft, welche Veränderungen im Wasserflux kleinste Produktmengen auf der Membran hervorrufen können. Eine Möglichkeit ist nämlich, dass es je nach vorangegangenen Filtrationsbedingungen trotz etablierter CIP-Verfahren nur zur unvollständigen Ablösung von Produktresten auf oder in der Membranstruktur kommt. Um dies im Rahmen eines Ursachen-Screenings zu prüfen, wurde eine gereinigte Membran, die einen Standardwasserflux zeigte, nachfolgend mit Wasser beaufschlagt, dem geringste Mengen von Milch zugegeben wurde. Um so eine schwer zu detektierende Restverschmutzung zu simulieren, wurde zunächst der reine Wasserflux gemessen und anschließend dem Wasser geringste Mengen Magermilch zugesetzt.

Die Annahme war, dass sich dies durch adsorptive Vorgänge oder Deckschichtbildung auf den Flux auswirken sollte und das daraus Rückschlüsse auch auf den Zustand einer Membran mit darin eventuell enthaltenen Produktresten gezogen werden können, die aus einem CIP-Zyklus hervorgegangen ist.

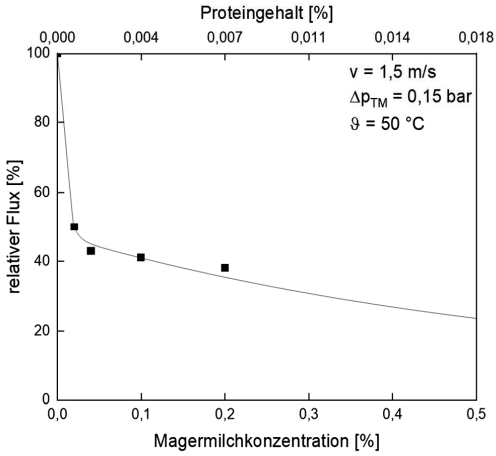


Abb. 1: Einfluss der Zugabe von Magermilch auf den Wasserflux. Der relative Flux ist bezogen auf den reinen Wasserflux ohne Magermilchzusatz

Abb. 1 zeigt deutlich, dass bereits geringste Mengen an Magermilch ausreichen, um den Wasserflux einer relativ offenporigen Mikrofiltrationsmembran drastisch zu reduzieren. Berücksichtigt man zusätzlich, dass die Magermilch nur zu etwa 3,5 % aus Proteinen besteht, von denen wiederum nur 80 % Caseine sind, so ist der Anteil der Komponente, die vornehmlich von der Membran zurückgehalten wird und somit für die Deckschichtbildung und den daraus resultierenden Fluxrückgang verantwortlich ist, verschwindend gering. Die Tatsache, dass bereits Proteingehalte von 0,001 % ausreichen, um den Wasserflux um mehr als 50 % zu reduzieren, zeigt also, dass über den Wasserflux möglicherweise kleinste Spuren von Produktrückständen detektiert werden können.

Die möglichen Ursachen für eventuell in der Membrananlage oder in der Membran verbliebene Produktreste sollen als nächster Schritt näher untersucht werden. Weiterhin sei angemerkt, dass dieses Ergebnis auch zeigt, dass die Wasserfluxmessung eine sehr sensitive Methode ist, mit der selbst kleinste Verunreinigungen detektiert werden können. Dies ist über die direkte Erfassung von Produktresten in bzw. auf der Membran zu verifizieren. U.U. kommen auch andere Ursachen wie R+D-Reste in Frage.

Rührprozessierung im Labormaßstab: In-situ-Charakterisierung des Strukturverhaltens von Milchsäuregelen sowie der Rehydratisierung von mizellarem Caseinpulver

Stirring processing on a laboratory scale: In-situ characterization of the structural behavior of dairy acid gels and the rehydration of micellar casein powder

Michael Reitmaier

Rheologische Untersuchungen finden in der Charakterisierung von Lebensmitteln hinsichtlich Viskositätseigenschaften breite Anwendung. Der Einsatz der sogenannten Flügel-Rheometrie, welche als Messgeometrien einen Flügel-Rührer und einen Messbecher vorsieht, hat das Potential, industrielle Rührprozesse unter Variation von Temperatur- und Scherbedingungen im Labormaßstab nachzubilden. Während der Scherung einer Probe findet parallel die Ermittlung des dem Rührer durch die Probe entgegengebrachten Widerstandes statt, wodurch die Reaktion der Matrix in Hinblick auf Viskositätseigenschaften direkt vor Ort („in situ“) ermittelt werden kann. Dies kann genutzt werden, um Reaktionen der Matrix bei Variation der Rührbedingungen abzubilden oder Effektunterschiede einer vorgegebenen Prozessführung bei unterschiedlichen Proben zu ermitteln. Als Beispiele der Anwendung einer Flügelgeometrie zur

Nachbildung von Rührprozessen sind im Folgenden die Untersuchung einer Scherbehandlung von Säuregelen sowie der Rehydratisierbarkeit von schwerlöslichem mizellarem Casein dargestellt, für welche am Lehrstuhl Messverfahren etabliert wurden.

Um Veränderungen während einer Rührprozessierung zu erfassen, ist häufig die zeitversetzte Ermittlung der Viskositätseigenschaften von mehreren aus dem Prozess entnommenen Produktproben notwendig. Strukturveränderungen über der Vorhaltezeit, durch mechanische Belastung bei Entnahme und Einbringen der Probe in einen Geometriespalt oder durch die Messgeometrie selbst sind dabei unerwünscht. Diese lassen sich jedoch vor allem für Gelstrukturen bei Verwendung klassischer Spaltgeometrien oder einem konzentrischen Zylinder nicht vermeiden. Bei Anwendung einer Flügelgeometrie wird die Textur der zu untersuchenden Probe vor Messbeginn hingegen nicht maßgeblich verändert [1]. Durch Abfüllung der Probe in den Messbehälter vor Ausbildung der Gelstruktur kann eine mechanisch induzierte Matrixveränderung durch Probeentnahme verhindert werden. Zur Beurteilung der Streichfähigkeit einer gebrauchsfertigen Gelmatrix kann mittels 4-Blatt-Rührer die zur Ausführung einer leichten Rührbewegung (0,5 U/min)) maximal aufzuwendende Schubspannung ermittelt werden. Das bei Rührbeginn zum Aufbrechen der Struktur maximal erforderliche Drehmoment ist dabei mit dem aufzubringenden Kraftaufwand beim Streichen mit einem Messer vergleichbar [2]. Abb. 1 gibt im linken Abschnitt beispielhaft den Verlauf des Drehmoments bei einer solchen Messung über 30 s für unterschiedliche Milchsäuregele wieder. Nach 30 s wurde ein Rührprozess zum Überführen der Gelstruktur in eine Mikrogelpartikel-Suspension angeschlossen wie er häufig für gerührten Joghurt oder Frischkäse zur Strukturglättung angewendet wird. Hierbei kommt es aufgrund der Drehzahlsteigerung nach einem ersten Anstieg zu einem deutlichen Abfall des Drehmoments und damit der scheinbaren Viskosität durch Auflösung und kontinuierliche Zerkleinerung der Gelstruktur. Unterschiede verschiedener Probenfestigkeiten spiegeln sich dabei im Endniveau wieder, was für den Erhalt der Unterschiede der Proben auf Mikrostrukturebene spricht. Wie die Kurven verdeutlichen, eignet sich diese Methode, um Auswirkungen unterschiedlicher Probenvorbehandlung (Erhitzung bei 63 °C/30 min gegenüber 85 °C/15 min) oder -zusammensetzung (hoher gegenüber niedrigem Protein- bzw. Fettgehalt) auf die Produktstruktur im Verlauf eines Rührprozesses zu ermitteln.

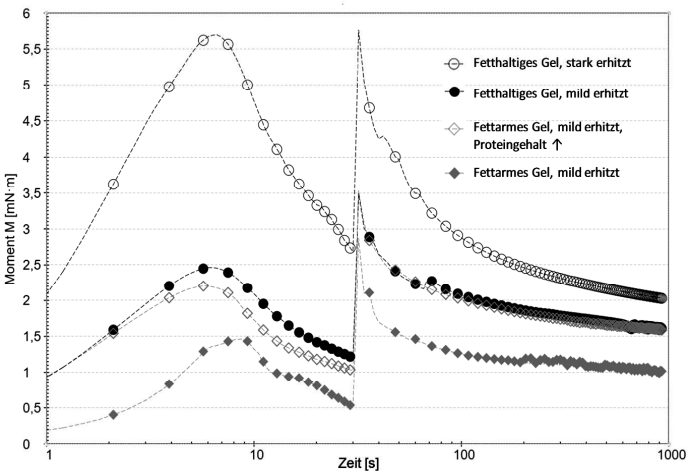


Abb. 1: Drehmomentverlauf während des Rührens von Säuregelstrukturen, 30 s bei 0,5 U/min gefolgt von 900 s bei 1000 U/min.

Aufgrund der schlechten Löslichkeit findet sich für Standarduntersuchungsmethoden zur Ermittlung der Rehydratisierungseigenschaften von Milchpulvern nur eine geringe Anwend- und Reproduzierbarkeit für stark proteinhaltige Pulver. In der Literatur konnte die in der Praxis nur mit hoher Temperaturführung und starker Scherung erreichbare vollständige Rehydra-

tisierung von mizellarem Caseinpulver mittels Rührprozess am Rheometer nachvollzogen werden [3]. Begleitende Partikelgrößenmessungen konnten einen Zusammenhang zwischen unterschiedlichen Abschnitten im Viskositätsverlauf und dem Rehydratisierungszustand des Partikelsystems belegen. Hierbei wurde unter Verwendung einer in Sonderanfertigung hergestellten Rührgeometrie der komplexe Rehydratisierungsprozess in mehreren Phasen dargestellt. Am Lehrstuhl kann ein solcher Löseprozess nach Adaption der Methode nun mittels Standardrührgeometrie (ST-22-4, Anton Paar GmbH) und mit sehr feiner Messauflösung (1 s^{-1}) verfolgt werden. Hierdurch kann auch das Einziehen einzelner Verklumpungen an der Oberfläche zu Prozessbeginn oder das Lösen von Partikelzusammenlagerungen im Fluid detektiert werden, welche nur sehr kurzzeitig die Rührerbewegung beeinflussen. In Abb. 2 ist der Viskositätsverlauf im Löseprozess zweier unterschiedlich hergestellter Pulver dargestellt.

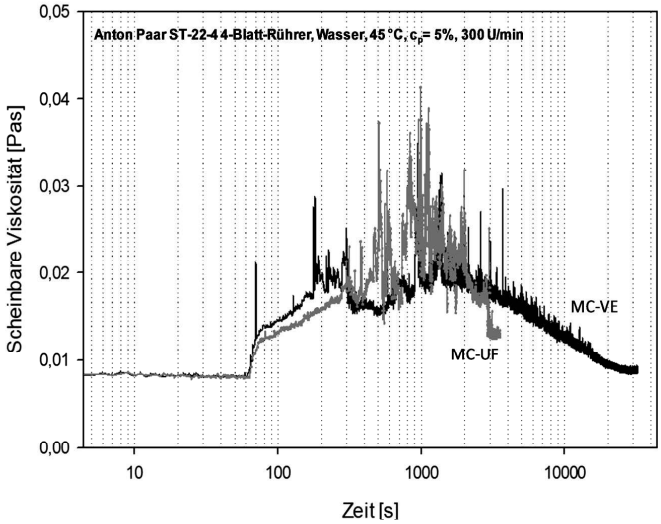


Abb. 2: Viskositätsverlauf während der Rehydratisierung untersch. Caseinpulver.

Der Vergleich der Verläufe von am Lehrstuhl selbst gewonnenem mizellaren Casein, welches vor Sprühtrocknung gegen UF-Per-meat (MC-UF) bzw. vollentsalztes Wasser (MC-VE) diafiltriert wurde, zeigt hierbei deutliche Unterschiede im Löslichkeitsverhalten bei Zugabe der gleichen Proteinmenge von 5 % auf. Es wurde zunächst eine definierte Rührbewegung (300 U/min) im Lösemittel Wasser begonnen, nach 60 s eine adäquate Menge an Pulver auf die Oberfläche gegeben und der Verlauf der ermittelten scheinbaren Viskosität über mehrere Stunden verfolgt. Zunächst trat bei MC-VE durch Einziehen und Benetzung der Probe ein kurzzeitiger positiver Peak auf, welcher nach kurzem Abfallen auf ein Zwischenniveau von einem Anstieg der ermittelten scheinbaren Viskosität gefolgt wurde. Hierbei findet das Anschwellen von Pulverpartikeln durch Aufnahme von Wasser statt. Diese Phase war von einem Abfall der Kurve gefolgt, welche den Zerfall von hydratisierten Pulverpartikeln zu Einzelpartikeln bis hin zur Vereinzelung zu Caseinmizellen bei Erreichen eines stabilen Niveaus nach vollständiger Rehydratisierung wiedergibt. MC-VE zeigt damit einen für mizellares Casein typischen Kurvenerlauf [3], ergänzt um eine Vielzahl einzelner Peaks, welche das Einziehen bzw. Lösen von Partikelverklumpungen über den Verlauf aufzeigen. MC-UF zeigt aufgrund eines höheren Lactosegehaltes eine deutlich kürzere Lösezeit sowie höhere Endviskosität als MC-VE.

Bei MC-UF kommt es zu einer diffusen Überlagerung der unterschiedlichen Prozessabschnitte, was vor allem einem deutlich beschleunigten Zerfallsprozess geschuldet ist und in einer Gesamtlösezeit von weniger als einer Stunde gegenüber ca. 8 Stunden bei MC-VE mündet. In Summe eignet sich diese Methode, um bei definierter Einstellung Pulverprodukte bzgl. Unterschieden im Löslichkeitsverhalten detailliert darzustellen oder durch Variation der Temperatur und Scherrate verschiedene Lösebedingungen zu simulieren.

Diese zwei Beispielanwendungen zeigen, dass unterschiedliche industrierelevante Rühr- und Scherprozesse mittels dieser rheologischen Sonderanwendung im Labormaßstab abgebildet werden können. Die zeitgleich stattfindende hochsensitive Drehmoments- bzw. Auslenkungserfassung ermöglicht dabei eine präzise Charakterisierung induzierter Strukturveränderungen.

Literatur:

[1] Mezger, T., "Das Rheologie-Handbuch", 4. Auflage, Vincentz Network, Hannover, 2012.

[2] Daubert, C.; Tkachuk, J.; Truong, V., Quantitative measurement of food spreadability using the vane method, J. Texture Studies 29(4): 427-435, 1998.

[3] Gaiani, C.; Scher, J.; Schuck, P.; Hardy, J.; Desobry, S.; Banon, S., The dissolution behaviour of native phosphocaseinate as a function of concentration and temperature using a rheological approach, Int. Dairy J. 16, 1427-1434, 2006.

Einfluss des pH-Wertes auf die Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration bei niedrigen Temperaturen

Influence of the pH value on the milk protein fractionation in terms of microfiltration at low temperatures

Simon Schiffer, Chrisanty Susianto

Caseinmizellen (Ø ~ 50–400 nm) und Molkenproteine (Ø ~ 4–8 nm) können durch Mikrofiltration (MO) mit einer nominellen Porengrößenverteilung von 0,1 µm separiert werden. Aufgrund eines geringeren mikrobiellen Wachstums und den daraus resultierenden längeren Filtrationszeiten wird die MO in den letzten Jahren statt bei ca. 55 °C vermehrt bei niedrigen Prozesstemperaturen von ca. 10 °C durchgeführt. Wegen veränderter Protein-Protein-Wechselwirkungen ist im Bereich niedriger Temperaturen jedoch die Reinheit der Molkenproteinfraktion reduziert, da die Konzentration an Serumcaseinen (Ø ~ 10 nm) erhöht ist, welche mit den Molkenproteinen durch die Membran permeieren können. Des Weiteren ist durch eine erhöhte Viskosität im Bereich niedriger Temperaturen der Flux reduziert, sodass der Massenstrom an Molkenproteinen erniedrigt ist. Neben einer Veränderung der Protein-Protein-Interaktionen und der Viskosität kann ebenso eine Abhängigkeit des pH-Wertes als Funktion der Filtrationstemperatur beobachtet werden. Es resultiert eine Erhöhung der Temperatur von 10 °C auf 55 °C in einer Reduktion des pH-Wertes von ca. pH 6,8 auf pH 6,4. Aufgrund einer Einflussnahme des pH-Wertes auf die Oberflächenladung der Proteine kann sowohl der Gehalt der Serumcaseinkonzentration als auch der Flux beeinflusst werden, da die Struktur der abgelagerten Proteine in der Deckschicht auf der Membran verändert wird. Auf dieser Grundlage ergibt sich die Hypothese, dass durch eine Reduktion des pH-Wertes bei niedrigen Temperaturen durch eine Veränderung der Protein-Wechselwirkungen die Filtrationseffizienz beeinflusst werden kann, resultierend aus einer veränderten Oberflächenladung. Hierzu wurde der pH-Wert bei der Mikrofiltration von pasteurisierter Magermilch mit einer keramischen Mehrkanalmembran (ZrO_2; nps = 0,1 µm) bei einer Prozesstemperatur von 10 °C im Bereich von 6,8 (nativ) bis 6,2 variiert (nativer pH-Wert von bei 55 °C).

In Abb. 1 ist der Flux als Funktion des pH-Wertes in einem Bereich von pH 6,2 bis pH 6,8 (nativ) aufgezeigt. Eine Absenkung des pH-Wertes von 6,2 auf 6,8 resultiert in einer Reduktion des Fluxes von ca. 26 L m^{-2} h^{-1} auf ca. 22 L m^{-2} h^{-1}. Dieser Effekt kann auf eine Abnahme

der negativen Oberflächenladung der Proteine zurückgeführt werden. Durch eine zunehmend neutralere Netto-Ladung im Bereich geringer pH-Werte wird die elektrostatische Abstoßung der Proteine reduziert und eine kompaktere Deckschicht kann ausgebildet werden. Es resultiert eine kompaktere Deckschicht in einem erhöhten Deckschichtwiederstand und somit in einer Reduktion des Fluxes.

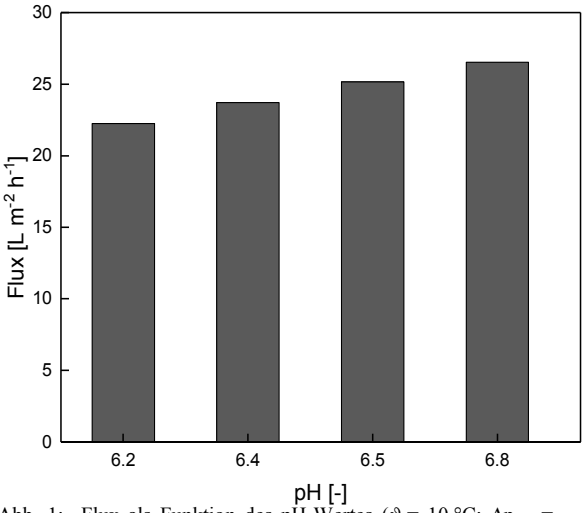


Abb. 1: Flux als Funktion des pH-Wertes (ϑ = 10 °C; Δp_{TM} = 1,75 bar; Δp_L = 0,84 bar)

Neben dem Flux dient die Permeation als Bewertungskriterium der Filtrationseffizienz. Zum einen soll die Permeation der Molkenproteine möglichst hoch sein, um einen hohen Massenstrom der Zielkomponente zu erreichen. Zum anderen muss die Caseinpermeation möglichst gering sein, wenn eine hohe Reinheit der Molkenproteinfraktion zu gewährleisten ist. In Abb. 1 ist die Permeation des majoren Molkenproteins β-Lactoglobulin (β-Lg) ebenso wie die der Caseine als Funktion des pH-Wertes aufgetragen.

Für die beiden Proteinfraktionen ist eine Abnahme der Permeation mit Anstieg des pH-Wertes zu beobachten. Bezogen auf die Caseine kann dieses Verhalten auf eine erhöhte Löslichkeit von mizellar gebundenen Caseinen zurückgeführt werden. Durch eine Abnahme des pH-Wertes wird die Konzentration an Serumcaseinen erhöht, welche die Membran trotz der Ausbildung einer kompakteren Deckschicht bei niedrigeren pH-Werten passieren können. Die nahezu lineare Abnahme der Molkenproteine in Abhängigkeit vom pH konnte noch nicht vollständig aufgeklärt werden und ist Bestandteil aktueller Untersuchungen.

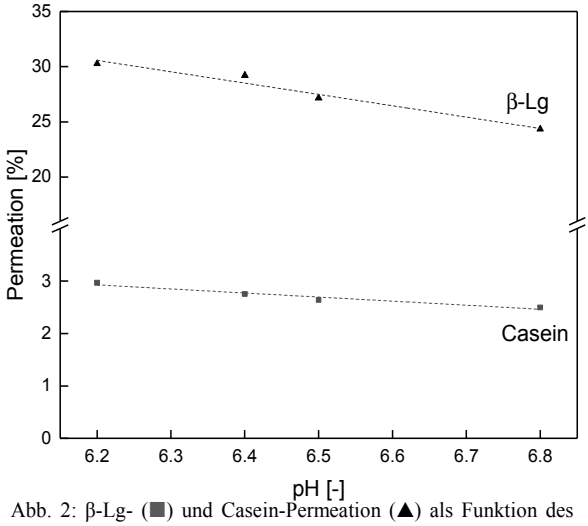


Abb. 2: β-Lg- (■) und Casein-Permeation (▲) als Funktion des pH-Wertes (ϑ = 10 °C; Δp_{TM} = 1,75 bar; Δp_L = 0,84 bar)

Zusammenfassend konnte die Hypothese bestätigt werden, dass durch eine Veränderung des pH-Wertes die Filtrationseffizienz beeinflusst werden kann. Eine Absenkung des nativen pH-Wertes von Milch bei 10 °C auf den pH-Wert von Milch bei 55 °C verschlechterte die Filtrationseffizienz jedoch.

Bei einer Erniedrigung des pH-Wertes konnten eine Verringerung des Fluxes und eine Erhöhung der Caseinpermeation festgestellt werden. Allerdings konnte die Molkenproteinpermeation gesteigert werden.

Zur Optimierung der Milchproteinfraktionierung bei niedrigen Temperaturen müssen weitere Faktoren untersucht werden, wie zum Beispiel die gezielte Zugabe mehrwertiger Ionen.

Dank: Das IGF-Vorhaben 19254 N der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 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.

Längenabhängigkeit der Filtration und des Druckverlusts in Hohlfasermembranen

Length dependence of the filtration and the pressure drop in hollow fiber membranes

Roland Schopf

Für die Milchproteinfraktionierung in Caseine und Molkenproteine werden bisher hauptsächlich keramischen Röhrenmembranen oder polymeren Spiralwickelmembranen (SWM) eingesetzt. Im Vergleich dazu bietet der Einsatz von Hohlfasermembranen (HFM) eine neue und bisher in der Milchindustrie kaum verbreitete verfahrenstechnische Möglichkeit. HFM-Module weisen eine höhere spezifische Membranfläche pro Modulvolumen sowie eine homogene Modulkonfiguration auf. Durch die Möglichkeit der Rückspülung können Standzeitverlängerungen erreicht werden, was bei SWM nicht möglich ist. Durch stärkere Strömungseffekte in der Grenzschicht nahe der Membranoberfläche wird bei HFM ein stärkerer Deckschichtabtrag als bei anderen Membrantypen erwartet.

Aufgrund der Caseinretention bei der Mikrofiltration kommt es zur Deckschichtbildung auf der Membranoberfläche, die zu einer Fluxreduktion sowie zu einer Abnahme der Trennleistung führt. Eine Möglichkeit, der Deckschichtbildung entgegenzuwirken ist, die Querstromfiltration. Aufgrund von dabei auftretenden Reibungseffekten zwischen Fluid und Membran kommt es entlang der Membranlänge zu einem Druckverlust (Δp_L). Dieser Druckverlust führt zu unterschiedlichen lokalen Druck- und Strömungsverhältnissen, die die Deckschichtstruktur entlang der Membranlänge ändern (Piry, 2011). Dadurch werden die Deckschichtbildung und damit die Filtrationsleistung inhomogen. Δp_L kann in keramischen Rohrmembranen (Bottino et al., 1994) und in polymeren SWM (Hartinger et al., 2019) durch den Druckverlust in Rohrströmungen nach Gl. (1) beschrieben werden.

$$\Delta p = \frac{1}{2} \cdot \lambda \cdot \frac{L}{d} \cdot \rho \cdot v^2 \qquad (1)$$

Dabei ist λ der Rohrreibungsfaktor, L die Rohrlänge, d der Innendurchmesser, ρ die Dichte und v die Strömungsgeschwindigkeit. Allerdings wurde bisher noch nicht experimentell untersucht, ob Δp als Funktion der Modullänge sich in HFM nach Gl. (1) ähnlich verhält wie in keramische Rohrmembranen oder SWM. Hierzu wurden vier HFM-Module (0.2 µm PES, d_i = 1.5 mm) unterschiedlicher Länge (0.3, 0.6, 0.9 und 1.2 m) hergestellt. Bei zwei Volumenströmen von 1.8 m^3h^{-1} und 3.7 m^3h^{-1} wurde Δp entlang der jeweiligen Membranlänge L für pasteurisierte Magermilch bei geschlossenem Permeatablauf über die Differenz im Druck vor bzw. nach der Membran bestimmt.

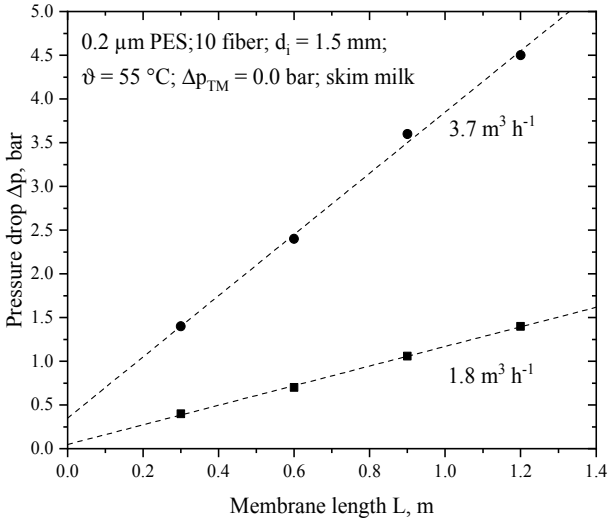


Abb. 1: Druckverlust Δp_L in Abhängigkeit von der Membranlänge

Aus Abb. 1 ist ersichtlich, dass Δp_L mit der Membranlänge wie erwartet linear zunimmt. Eine Erhöhung des Volumenstroms hat eine Erhöhung von Δp_L zur Folge. Bei 1.8 m^3h^{-1} liegt der Druckverlust für L = 1.2 m bei 1,4 bar, bei 3.7 m^3h^{-1} hingegen bei 4,5 bar. Eine Erhöhung der Überströmgeschwindigkeit führt gemäß Gl. (1) zu einer Erhöhung von Δp_L. Berücksichtigt werden muss allerdings, dass unabhängig von L die für Δp gemessenen Werte höher als die tatsächlichen liegen, was im Schnittpunkt der Geraden mit den Ordinaten zum Ausdruck kommt.

Die Kurven verlaufen nicht durch den Ursprung. Dies ist auf Ein- und Ausströmeffekte sowie Strömungsverluste zwischen den Druckaufnehmern, die nicht unmittelbar am Membraneinbzw. –austritt installiert sein können, und der Membran zurückzuführen. Der Ordinatenwert gibt Aufschluss über die sekundären Strömungsverluste. Bei 3.7 m^3h^{-1} liegt dieser Druckverlust bei 0.35 bar, bei 1.8 m^3h^{-1} hingegen bei 0.05 bar. Dies führt jedoch nur zu einer Verschiebung der Absolutwerte.

Damit kann die Gültigkeit der Gl. (1) auch für HFM gezeigt werden, da die selben physikalischen Gegebenheiten wie bei Rohrströmungen vorliegt. Dies bedeutet, dass die selben Zusammenhänge von Δp in HFM sowie in keramischen Membranen und SWM herrschen. 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.; Capannelli, G.; Grosso, A.; Monticelli, O.; Cavalleri, O.; Rolandi, R.; Soria, R. (1994): Surface characterization of ceramic membranes by atomic force microscopy. J. Membrane Sci., 95 (3), 289–296.

Hartinger, M.; Heidebrecht, H.-J.; Schiffer, S.; Dumpler, J.; Kulozik, U. (2019): Technical Concepts for the Investigation of Spatial Effects in Spiral-Wound Microfiltration Membranes. Membranes 9 (7). DOI: 10.3390/membranes9070080.

Piry, A. (2011): Untersuchung zur Längenabhängigkeit der Filtrationsleistung bei der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration. Dissertation. TU München, Verlag Dr. Hut, München.

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 10 EWN der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Einfluss von Frequenz und Amplitude auf die Prozesseffizienz bei der pulsierenden Crossflow filtration einer zellhaltigen Modellsuspension

Influence of frequency and amplitude on process efficiency during pulsatile crossflow filtration of a cell culture model suspension

Maria Weinberger

Bei der Herstellung von Biopharmazeutika muss nach der Fermentation das gewünschte Zielprotein mit pharmazeutischer Wirkung von den produzierenden Zellen bzw. Zelltrümmern getrennt werden. Ein schonendes Verfahren dafür ist die Crossflow-Mikrofiltration, wobei die Zellen durch die Membran zurückgehalten werden während das Protein die Membran passieren kann. Aufgrund von Fouling kommt es dabei mit der Zeit zu einer Reduktion des Flux, also eines verringerten Durchgangs an Permeat. Außerdem kommt es zu einer zunehmenden Rückhaltung des Zielproteins, was zu einer schlechten Ausbeute führt.

Mithilfe pulsierender Überströmung kann während der Crossflow-Filtration der langfristige Flux deutlich verbessert werden [1]. Daneben konnten wir mit einem Modellsystem aus Zellen der Spezies *Saccharomyces cerevisiae* und dem Modellprotein Rinderserumalbumin (BSA) zeigen, dass auch die Transmission, also der Durchgang durch die Membran, des BSA durch die pulsierenden Bedingungen verbessert werden kann. Unklar blieb bisher der genaue Einfluss von Frequenz und Amplitude der Pulsation auf die Prozesseffizienz. Bisherige Literatur verwendet fast ausschließlich hochfrequente Pulse (> 1 Hz) [2]. Wir konnten nun jedoch auch im niederfrequenten Pulsationsbereich positive Effekte auf Flux und Proteintransmission aufgrund der pulsierenden Überströmung zeigen. Darüber hinaus konnten wir feststellen, dass nicht die Frequenz der Pulsation, sondern die Amplitude der Pulsation den größeren Einfluss auf die Prozesseffizienz hat (siehe auch Abb. 1).

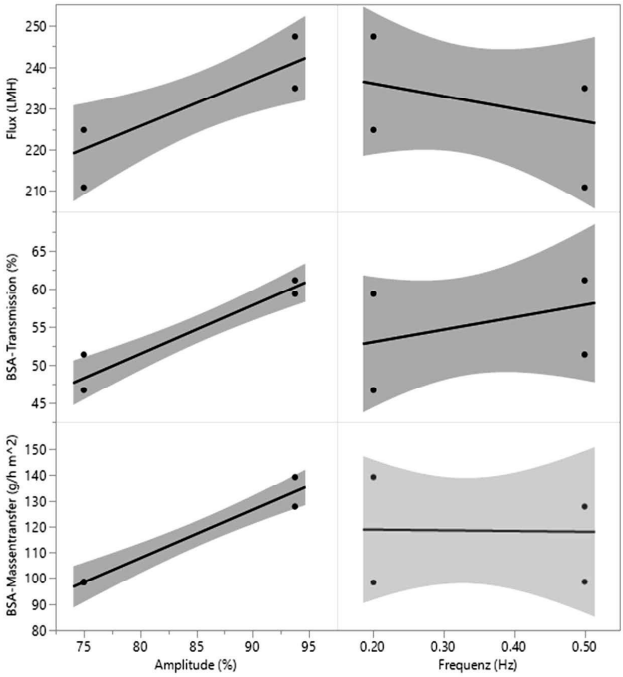


Abb. 1: Einfluss von Frequenz und Amplitude auf die Prozesseffizienz (im Sinne von Flux, Transmission und Massentransfer) der pulsierenden Crossflow-Mikrofiltration einer Zell-Protein-Modellsuspension.

Besonders hervorzuheben dabei ist, dass bei einer Amplitude von 93,75 % sogar eine geringere mittlere Überströmgeschwindigkeit und ein niedrigerer mittlerer Transmembrandruck vorherrscht und sich dennoch ein höherer Flux ergibt. Zusätzlich dazu konnte die Transmission des BSA um weitere 10 % gesteigert werden, was im Rahmen des Massentransfers als kombinierenden Prozesseffizienzkriterium zu einer Steigerung um weitere 30 % führt. Im Vergleich zur stetigen Überströmung führt dies sogar zu einer Erhöhung des Massentransfers um das Zwei- bis Dreifache (Daten hier nicht dargestellt).

Neben diesen ersten Ergebnissen soll die minimale Frequenz, bei der noch ein Effekt der Pulsation erkennbar ist, ermittelt werden. Darüber hinaus sollen weitere Prozessvariablen wie der Transmembrandruck optimiert werden. In Summe ergibt sich daraus für die in der pharmazeutischen Industrie weit verbreiteten Membranprozesse ein großes Optimierungspotential. Die Übertragung auf andere Systeme, wie beispielsweise auf die Milchproteinfraktionierung, erwies sich im Vergleich zu den Hefezellen als weniger effektiv, vermutlich aufgrund der kolloidalen Eigenschaften der Caseinmizellen und ihrer Neigung zur Quervernetzung. Die unterschiedlichen Wirkungen pulsierender Strömung auf Systeme dieser Art mit verschiedenen Eigenschaften sind Gegenstand weiterer Arbeiten.

Literatur:

[1] D. E. Hadzismajlovic and C. D. Bertram, Flux enhancement in laminar crossflow microfiltration using a collapsible-tube pulsation generator, *J. Membrane Sci.*142 (2), 173-189, 1998.

[2] J. A. Howell, R. W. Field, and D. Wu, Yeast cell microfiltration: Flux enhancement in baffled and pulsatile flow systems" *J. Membrane Sci. 8*0 (1), 59-71, 1993.

Das IGF-Vorhaben AiF 31 EWN der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 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.

Typprüfungen im Jahr 2019

Salečić Eistechnik - Pasteur Speiseeismix Sweety 180 TTi Eurotherm,

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Eschlbeck, Elisabeth: Influence of spore and surface hydrophobicity on decontamination with hydrogen peroxide vapor, am 01.03.2019

Mao, Yuhong: Immobilized enzyme technology for the production of whey protein hydrolysates - Design of flow-through immobilized trypsin reactors, influence of hydrolytic environment, and comparison with free trypsin, am 01.04.2019

Marx, Melanie: Reaction kinetics of heat induced protein denaturation and microbial inactivation in whey concentrates, am 22.10.2019

Heidebrecht, Hans-Jürgen: From food to medicine: Process development and use of functionalized polyclonal antibodies from cow's milk for the treatment of infections caused by multi-resistant bacteria. am 22.10.2019

Ambros, Sabine: Microwave-assisted drying of lactic acid-producing bacteria, am 07.11.2019

Masterarbeiten

Bello, Teslim Adekunle: Influence of a preheating step on the temperature dependent diffusion of micellar bound casein.

Braig, Julia: Influence of cultivation and sporulation conditions on the suitability of bacterial spores as biological indicators for the sterilisation with hydrogen peroxide.

Hartinger, Martin: Investigation on the Mechanical Stability of Spiral-Wound Membranes.

Kalinke, Isabel Felicia: Methoden zur Visualisierung der elektromagnetischen Feldverteilung in Halbleiter- und Magnetronmikrowellenöfen.

Leitao, Maria Luısa: Impact of the addition of different sugar types on both non-ionic small surfactant– and protein-based foams for the purpose of vacuum drying.

Müller, Anna Katherina: Analyse des Sprühtrocknungsprozesses zur Ermittlung des optimalen Betriebspunktes am Beispiel von Kaffeesurrogaten.

Obermüller, Katrin: Continuous Production of ß-Galactosidase in a *Kluyveromyces marxianus* XCell™ ATF-Perfusion Culture.

Pelz, Lars: Optimization of yellow fever virus production with BHK-21 cells.

Schick, Simon: Next Generation Sequencing Analyse der mikrobiellen Zusammensetzung und Diversität bei der kontinuierlichen Kultivierung und Konservierung des humanen intestinalen Mikrobioms.

Seitz, Johanna: Vergleich der Inaktivierungskinetik von *Bacillus atrophaeus*-Sporen mittels gasförmigem und flüssigem Wasserstoffperoxid.

Bachelorarbeiten

Arar, Dilara: Untersuchung der Längenabhängigkeit der Mikrofiltration bei der Milchproteinfraktionierung mittels keramischen Membranen mit Variation des Transmembrandrucks, der Wandschubspannung und der Kanalanzahl.

Auer, Matthias: Comparison of Solid State and Magnetron Microwave Systems for the Heat Processing of Sphere Models

Bauer, Veronika: Einfluss von Proteinkonzentration, Heißhaltezeit und Scherrate auf die Mikropartikulierung von Kartoffelprotein.

Biesenthal, Nora: Hitzeinduziertes Denaturierungs- und Aggregationsverhalten von Kartoffelproteinisolat.

Desch, Felix: Einfluss auf die längenabhängige Mikrofiltration von konzentrierter Magermilch mittels keramischen Mehrkanalrohrmembranen bei variierenden Geometrien.

Gref, Patrick: Einfluss der Temperatur auf die Mikropartikulierung von Kartoffelprotein.

Hasic, Mersiha: Investigation of homogeneity of microwave field in magnetron system.

Heitler, Viktoria: Untersuchung der Öl/Wasser-Grenzfläche in dispersen, hochkonzentrierten Proteinsystemen.

Jahn, Maike: Einfluss der Milieubedingungen auf die Zusammensetzung der Caseinmizelle in konzentrierten Caseinsuspensionen und auf daraus erzeugte Säuregele.

Kiefer, Tim: Diffusion von mizellar gebundenem Casein in die Serumphase bei unterschiedlichen pH-Werten unter Variation der Calciumkonzentration.

Linner, Johanna: Deckschichtbildung bei der Milchproteinfraktionierung mittels polymerer Hohlfasermembranen: Einfluss von Transmembrandruck, Wandschubspannung und Temperatur.

Matyssek, Andreas: Charakterisierung von keramischen Röhrenmembranen für die Fraktionierung von Molkenproteinen.

Scheibenzuber, Simon: Niederfrequente Pulsation bei der Crossflow-Mikrofiltration am Beispiel der kalten Milchproteinfraktionierung.

Susianto, Chrisanty: Einfluss von pH-Wert und Calciumkonzentration auf die Fraktionierung von Molkenproteinen bei niedrigen Temperaturen.

Vorträge

DPTC Knowledge Day, Portlaoise, Irland, 22.-23.01.2019

Kulozik, U.: Towards more sustainable dairy technology by means of novel thermal and membrane processes.

Seminar „Gefriertrocknung mit System“, Osterode am Harz, Deutschland, 20.02.2019

Haindl, R., Kulozik, U.: Gefriertrocknung von Mikroorganismen: Erfahrungen aus der Praxis.

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 05.-07.03.2019

Reitmaier, M., Kulozik, U.: Influence of different diafiltration media on milk protein fractionation and functionality of micellar casein.

Schiffer, S., Kulozik, U.: Impact of pH and ionic strength on temperature dependent diffusion of micellar bound casein monomers into the serum phase.

Öczelik, M., Ambros, S., Kulozik, U.: Microwave-freeze-drying of fruit foams for the production of dried snacks.

8. Frühjahrstagung des Weihenstephaner Instituts für Getreideforschung (WIG), 26.-27.03.2019

Kulozik, U.: Lebensmittel heute – Wo kommen wir her, wo stehen wir, wohin geht die Reise?

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppen Fluidverfahrenstechnik und Membrantechnik, Potsdam, 27.-29.03.2019

Hartinger, M., Kulozik, U.: Ortsabhängigkeit des Filtrationsverhaltens polymerer Spiralwickelmembranen.

Reitmaier, M., Kulozik, U.: Einfluss unterschiedlicher Diafiltrationsmedien auf die Milchproteinfraktionierung und Funktionalität von mizellarem Casein.

Schopf, R., Kulozik, U.: Beurteilung der in Hohlfasermembranen auftretenden längenabhängigen Milchprotein-Deckschicht.

Weinberger, M., Kulozik, U.: Niederfrequente Pulsation in der Crossflow-Mikrofiltration – innovative Ansätze zur Erhöhung der Proteintransmission in der Milchproteinfraktionierung.

13th European PhD Workshop, Wien, Österreich, 14.-15.05.2019

Heidebrecht, H-J., Kulozik, U.: From food to medicine: Process development and use of functionalized polyclonal antibodies from cow's milk for the treatment of infections caused by multi-resistant bacteria.

GDL – Lebensmittelschäume, Quakenbrück, 04.-05.06.2019

Kubbutat, P., Kulozik, U.: Effekte und Mechanismen der Beschleunigung von mikrowellenunterstützten Vakuum- und Gefriertrocknungsprozessen durch Schaumstrukturen.

Studienfakultätstag, Freising, 24.06.2019

Hartinger, M., Kulozik, U.: Ortsabhängigkeit des Filtrationsverhaltens polymerer Spiralwickelmembranen.

International Congress on Engineering and Food ICEF13, Melbourne, Australien, 23.-26.09.2019

Hartinger, M., Kulozik, U.: Influence of spatial dependency on filtration performance of spiral-wound membranes.

Heidebrecht, H-J., Kulozik, U.: From food to medicine: Use of functionalized polyclonal antibodies from cow's milk for the treatment of bacterial infections.

Kulozik, U., Sedlmeier, S.: Identification of mechanisms of multistage structure-formation in processed cheese model products.

Kurz, F., Kulozik, U.: A novel mechanistic understanding for the stabilization of emulsions and foams by native or aggregated whey proteins.

Schiffer, S., Kulozik, U.: Impact of pH and ionic strength on temperature dependent diffusion of micellar bound casein monomers into the serum phase during microfiltration.

Schopf, R., Kulozik, U.: On the length-dependent milk protein deposit layer, in hollow fiber membranes.

Weinberger, M., Kulozik, U.: Milk protein fractionation by crossflow microfiltration – how low-frequency pulsation can ease the fouling dilemma.

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising, 10.-11.10.2019

Delius, J.: Einblicke in die molekularen Mechanismen der Adstringenz.

Förster, B., Heidebrecht, H.J., Kulozik, U.: Immunglobuline aus Kolostrum zur Behandlung von antibiotikaresistenten Hautinfektionen.

Kieferle, I., Kulozik, U.: On the displacement of viscous products from industrial-scale spiral-wound membranes.

Kulozik, U.: Caseinomakropeptid (CMP): Eine fast übersehene Milchkomponente mit Potential für Spezialeinsätze in Säuglings- und medizinischer Spezialernährung.

Schopf, R., Schiffer, S., Kulozik, U.: Optimization in milk protein fractionation – process engineering approach.

Stier, P., Kulozik, U.: Validierung von Sterilisationsprozessen durch Sporen mit standardisierter Resistenz als Bioindikatoren.

Forum for Membrane Filtration Technology in Food Processing, Silkeborg, Dänemark, 24.10.2019

Kulozik, U.: Recent insights in the performance of membrane systems in concentration and fractionation of dairy liquids using various module types.

Posterpräsentationen

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Lausanne, Schweiz, 05.-07.03.2019

Andlinger, D., Kucynski, T., Smirnova, I., Kulozik, U.: Development of an encapsulation system based on potato and whey protein.

Schopf, R., Kulozik, U.: Evaluation of length-dependent milk protein deposit layer in hollow fiber membranes.

Warncke, M., Kulozik, U.: Impact of heat treatment and whey protein content on rennet gelation properties of milk protein concentrates.

Weinberger, M., Scheibenzuber, S., Kulozik, U.: Milk protein fractionation by crossflow microfiltration – how low-frequency pulsation can ease the fouling dilemma.

European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, Amsterdam, Niederlande, 13.-16.04.2019

Heidebrecht, H-J., Weiss, W., Pulse, M., Lange, A., Gisch, K., Kliem, H., Mann, S., Pfaffl, M., Kulozik, U., von Eichel-Streiber, C.: Concurrent treatment and prevention of recurrent Clostridium difficile infection with specific antibodies obtained from bovine milk in a hamster primary infection model.

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppen Fluidverfahrenstechnik und Membrantechnik, Potsdam, 27.-29.03.2019

Heidebrecht, H.J., Kulozik, U.: Microfiltration and ultrafiltration in diafiltration mode to obtain bioactive immunoglobulin rich whey from immune milk.

Veröffentlichungen

(Die aktuelle Gesamtpublikationsliste ist unter http://www.lmvt.wzw.tum.de einsehbar)

Peer review-Verfahren

1. **Ambros, S, Dombrowski, J, Boettger, D, Kulozik, U**: Structure-function-process relationship for microwave vacuum drying of lactic acid bacteria in aerated matrices. Food Bioprocess Technol, 12 (3) 395–408
2. **Ambros, S, Dombrowski, J, Boettger, D, Kulozik, U**: The concept of microwave foam drying under vacuum: A gentle preservation method for sensitive biological material. J Food Sci, 84 (7) 1682-1691
3. **Ambros, S, Hofer, F, Kulozik, U**: Impact of protectants on drying kinetics and viability of microwave freeze-dried *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* F19. J Food Processing Preservation, 43 (2), 1-11
4. **Dang, B, Wolfschoon-Pombo, A, Kulozik, U**: Physico-chemical changes during the so-called creaming reaction in acid curd fresh cheese: Water mobility and forced syneresis. Int J Dairy Technol, 72 (2) 295-302
5. **Goslinska, M, Selmer, I, Kleemann, C, Kulozik, U, Smirnova, I, Heinrich, S**: A novel technique for measurement of coating layer thickness of fine and porous particles using focused ion beam (FIB), Particuology, 42, 190-198
6. **Haller, N, Kulozik, U**: Separation of Whey Protein Aggregates by Means of Continuous Centrifugation. Food Bioprocess Technol 12 (6) 1052-1067
7. **Hartinger, M, Heidebrecht, H-J, Dumpler, J, Schiffer, Kulozik, U**: Technical concepts for the investigation on spatial flux distribution and deposit formation in spiral-wound membranes. Membranes, 9, 80, 1-17
8. **Hartinger, M, Heidebrecht, HJ, Schiffer, S, Dumpler, J, Kulozik, U**: Milk protein fractionation by means of spiral-wound microfiltration membranes: Effect of the pressure adjustment mode and temperature on flux and protein permeation. Foods, 8 (6) 180, 1-19
9. **Heidebrecht, H-J, Kulozik, U**: Fractionation of casein micelles and immunoglobulins IgG, IgA and IgM with microfiltration in diafiltration mode. Int Dairy J, 93, 1-10
10. **Heidebrecht, H-J, Weiss, WJ, Pulse, M, Lange, A, Gisch, K, Kliem, H, Mann, S, Pfaffl, M, Kulozik, U, von Eichel-Streiber, C**: Treatment and prevention of recurrence of *Clostridium difficile* infection with functionalized bovine antibody-enriched whey in a hamster primary infection model. Toxins, 11 (2) 98, 1-19
11. **Kieferle, I, Hiller, K, Kulozik, U, Germann, N**: Comparison of fresh and reconstituted milk concentrates with regard to their rheological and viscoelastic properties during processing. J. Colloid Interface Sci. 537, 458-464
12. **Kieferle, I, Meintrup, D, Kulozik, U**: Interrelations between subsequent process steps using the example of the displacement of dispersions subsequently to the filtration. J Food Eng, 263, 155-164
13. **Lenze, S, Wolfschoon-Pombo, A, Schrader, K, Kulozik, U**: Effect of compositional factors and processing conditions on the creaming reaction during process cheese manufacture. Food Bioprocess Technol, 12 (4) 575-586
14. **Lisak-Jakopović, K, Cheison, S, Kulozik, U, Božanić, R**: Comparison of selective hydrolysis of α-lactalbumin by acid Protease A and Protease M as alternative to pepsin: potential for β-lactoglobulin purification in whey proteins. J Dairy Research, 86 (1) 114-119
15. **Mao, Y, Krischke, M, Hengst, C, Kulozik, U**: Influence of salts on β-lactoglobulin hydrolysis by free and immobilized trypsin. Int Dairy J, 93, 106-115
16. **Mao, Y, Krischke, M, Kulozik, U**: β-lactoglobulin hydrolysis by immobilized trypsin in ethanol/aqueous solvents. Process Biochem, 82, 84-93

17. **Marx, M, Sixt, A, Hofsommer, J, Wörthmann, M, Kulozik, U**: Manufacturing of demineralized ESL whey concentrates by means of nanofiltration combined with diafiltration - Impact of the degree of demineralization on functional and microbial quality criteria. Food Bioproducts Processing, 114, 1-11
18. **Özcelik, M, Ambros, S, Heigl, E, Dachmann, E, Kulozik, U**: Impact of hydrocolloid addition and microwave processing condition on drying behavior of foamed raspberry fruit puree. J Food Eng, 240, 83-98
19. **Quevedo, M, Jandt, U, Kulozik, U, Karbstein, HP, Emin, MA**: Investigation on the influence of extremely high protein concentrations on the thermal reaction behavior of β-lactoglobulin by experimental and numerical analyses. Int Dairy J, 97, 99-110
20. **Selmer, I, Karnetzke, J, Kleemann, C, Lehtonen, M, Mikkonen, K, Kulozik, U, Smirnova, I**: Sorption of fish oil and ascorbic acid on protein aerogel micro-particles for food applications. J Food Eng, 260, 1-11
21. **Weidlich, D, Honecker, J, Gmach, O, Wu, M, Burgkart, R, Ruschke, S, Franz, D, Menze, BH, Skurk, T, Hauner, H, Kulozik, U, Karampinos, DC**: Measurement of large lipid droplet size by probing lipid diffusion restriction effects using DW-MRS at 3T. J Magnetic Resonance in Medicine, 81, 3427-39
22. **Würth, R, Lonfat, J, Kulozik, U**: Gelation of pre-renneted milk concentrate during spray drying and rehydration for capsule formation. Food Bioprocess Technol, 12 (2) 211–219

Bereits akzeptierte und in 2019 online verfügbare Publikationen

1. **Gmach, O, Bertsch, A, Bilke-Krause, C, Kulozik, U**: Impact of oil type and pH value on oil-in-water emulsions stabilized by egg yolk granules. Colloids and Surfaces A, 581, 123788, online 14.08.2019
2. **Haller, N, Kulozik, U**: Continuous centrifugal separation of selectively precipitated α-lactalbumin. Int Dairy J, online 23.09.2019
3. **Hartinger, M, Kulozik, U**: Milk protein fractionation by spiral-wound microfiltration membranes in diafiltration mode - Influence of feed protein concentration and composition on the filtration performance. Int Dairy J, online 22 11 2019
4. **Hartinger, M, Schiffer, S, Heidebrecht, H-J, Dumpler, J, Kulozik, U**: Investigation on the spatial filtration performance in spiral-wound membranes – Influence and length-dependent adjustment of the transmembrane pressure. J Membrane Sci, 591, 117311, online 27.08.2019
5. **Heidebrecht, H-J, Kulozik, U**: Data concerning the fractionation of individual whey proteins and casein micelles by microfiltration with ceramic gradient membranes Data in Brief, 25, online 05.06.2019
6. **Kleemann, C, Schuster, R, Rosenecker, E, Selmer, I, Smirnova, I, Kulozik, U**: In-vitro-digestion and swelling kinetics of whey protein, egg white protein and sodium caseinate aerogels. Food Hydrocolloids, online 21.11.2019
7. **Özcelik, M, Heigl, E, Kulozik, U, Ambros, S**: Effect of hydrocolloid addition and microwave-assisted freeze drying on the characteristics of foamed raspberry puree. Innov Food Sci Emerging Technol, 56, online 22.06.2019
8. **Özcelik, M, Ambros; S, Freitas Morais, SI, Kulozik, U**: Storage stability of dried raspberry foam as a snack product: Effect of foam structure and microwave-assisted freeze drying on the stability of plant bioactives and ascorbic acid. J Food Eng, 270, online 24.10.2019

Book chapter

- **Kulozik, U**: Ultra- and Microfiltration in Dairy Technology. Ch. 1 in: Current Trends and Future Developments on (Bio-) Membranes, 1st Ed. - Membrane Processes in the Pharmaceutical and Biotechnological Field. A Basile, C Charcosset (eds.), Elsevier, 2019

Technologietransfer/Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V., 10.-11.10.2019, Freising-Weihenstephan.

Projektausschusssitzungen zu den Vorhaben Nr. 1-10 in nachstehender Liste aktiver Forschungsvorhaben.

Im Berichtszeitraum aktive, öffentlich und bilateral geförderte Forschungsvorhaben

Öffentlich geförderte Vorhaben

1. Aufklärung von Mechanismen bei Strukturbildungsvorgängen und von Prozess-Struktur Wechselwirkungen in mehrphasigen, hochkonzentrierten Proteinsystemen, 01.08.2016 - 31.07.2019
2. Stabilisierung von Emulsionen durch proteinbasierte Partikel, 01.08.2016 - 31.01.2019
3. Optimierung der Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration Einfluss von Temperatur, pH-Wert und Ionenstärke auf die Effizienz des Verfahrens, 01.01.2017 - 31.12.2019
4. Standardisierte Herstellung von biologischen Indikatoren für die Beurteilung der Oberflächenentkeimung mit Wasserstoffperoxid und Minimierung ihrer Varianz, 01.03.2017 - 28.02.2020
5. Untersuchung der Deckschichtbildung auf Hohlfaser- und Mehrkanalrohrmembran bei der Milchproteinfraktionierung, 01.04.2017 - 31.12.2019
6. Anreicherung und Fraktionierung von Protein- und Zellsuspensionen mit alternativen Verfahrensweisen in der Crossflow-Filtration, 01.11.2017 - 31.07.2020
7. Hochporöse Aerogele in Partikel- und Riegelform aus Molken- und Kartoffelprotein, 01.01.2018 - 31.12.2020
8. Entwicklung neuer Konzepte zur Optimierung von Struktur und Sensorik fettreduzierter Lebensmittel durch Proteinfunktionalisierung und molekular-sensorische Methoden, 01.07. 2018 - 31.12.2020
9. Separate Komponentenbehandlung als innovative Prozessführungsstrategie für die Strukturierung proteinbasierter Produkte am Beispiel extrudierter Produkte auf Soja- und Milchproteinbasis, 01.09.2018 - 28.02.2021
10. Gewinnung cholesterin-abgereicherter Eigelbfraktionen und innovative Ansätze zur Produktgestaltung 01.01.2019 - 30.06.2021
11. Energieeffiziente und produktschonende Erhitzungs- und Trocknungsverfahren für Lebensmittel durch Einsatz neuartiger Mikrowellentechnologie (NEWWAVE) 01.03.2018 - 31.07.2021

Anderweitig finanzierte Forschungsprojekte:

1. Technologische Optionen zur Funktionalitätssteigerung der Caseinfraktion für die Herstellung gesäuerter Milchproteingele 01.04.2018 - 31.03.2021
2. Process development for the manufacture of dried renneted/acidified milk powder containing probiotics as base for yoghurt and fresh cheese production 01.05.2017 - 30.04.2020

Exkursionen

10.06. – 14.06.2019	Fachexkursion mit 27 Studenten des Studiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben (Niederlande und Aachen).
11.06. – 14.06.2019	Fachexkursion mit 27 Studenten des Studiengangs Bioprozesstechnik/Molekulare Biotechnologie zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben (Raum Innsbruck - Bozen).

Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen bzw. Mitarbeit in Hochschulgremien

Kulozik, U.

- Co-Editor des Journal of Food and Bioproducts Processing
- Mitglied im Editorial Board der Zeitschriften Int. Dairy Journal (IDJ) und Food Science and Technology (LWT)
- International Dairy Federation, Member of the Standing Committee of Dairy Science and Technology
- 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)

Hartinger, Martin; Reiter, Marius; Andlinger, David

- Prüfstelle für milchwirtschaftliche Maschinen und Anlagen

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

Adresse

Geschäftsführung:
Eva Guyot, Philipp Stier, Maria Weinberger
Vorstand:
Prof. H.C. Langowski

Weihenstephaner Berg 1
D–85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-2507
Telefax: 08161-71-4384

Email: info@verband-weihenstephan.de
Internet: www.verband-weihenstephan.de

Struktur des Verbandes

Neuentwicklungen bei den Verbandsmitgliedern

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ist ein unabhängiger Berufsverband für die Lebensmittel- und Bioprozesstechnikbranche mit derzeit 2080 Mitgliedern (Stand 01.01.2020). Im Geschäftsjahr 2019 konnten wir 104 neue Mitglieder für den Verband begeistern. 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 beträgt € 20,- im Jahr.

Neuentwicklungen bei den Verbandsverantwortlichen

Im Jahr 2019 endete die Wahlperiode der Vorstandsmitglieder Herr Dr.-Ing. Michael Betz, Herr Dr.-Ing. Thomas Strixner und Herr Dr.-Ing. Johannes Schraml. Alle Vorstandsmitglieder haben der Wiederwahl zugestimmt und wurden in der Mitgliederversammlung einstimmig in ihrem Amt bestätigt. Daneben wurde in diesem Jahr Herr Dr. Tim Steinhauer von der Vorstandschaft als beratender Gast berufen. Herr Steinhauer hat sich als langjähriges Verbandsmitglied und ehemaliger Geschäftsführer des Verbandes verdient gemacht.

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 2000 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

Eva Guyot, Maria Weinberger, Philipp Stier

Ehrung der besten Bachelorarbeit anlässlich des Hochschultages

Anlässlich des Studienfakultätstages Ende Juni 2019 hat der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. wieder einen Preis für die beste Bachelorarbeit verliehen.
Der mit € 500,- dotierte Preis für die beste Bachelorarbeit wurde in diesem Jahr an Frau Maria Scholz für ihre mit der Note 1,0 bewertete Bachelorarbeit zum Thema „Extraktion von Birkenpollen Allergenen mithilfe eutektischer Lösungsmittel“ verliehen.

Übergabe des Preises für herausragende Bachelorarbeiten an Frau Maria Scholz durch die Geschäftsführung des Verbands Maria Weinberger und Philipp Stier. (© TUM-SFBL)

Herbsttagung 2019

Die traditionsreiche Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung fand im Jahr 2019 am 10. und 11. Oktober statt. Wie im Vorjahr fanden die Vorträge in den neuen Räumlichkeiten der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf statt. Ein interessantes Vortragsprogramm aus Forschung und Wirtschaft hat über 200 Verbandsmitglieder nach Weihenstephan gelockt, die die Gelegenheit nutzten, sich untereinander fachlich auszutauschen. Im Rahmen des Ehemaligentreffens mit dem traditionellen 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 Christine Reimers, sowie Frau Eva Scheidler. Frau Reimers Masterarbeit mit dem Thema „The association between single nucleotide polymorphisms (SNP) and energy expenditure (EE) in humans: A systematic review of observational studies“ wurde am Institut für Ernährungsmedizin angefertigt. Frau Scheidler hat ihre Arbeit mit dem Titel „Diffusion of micelle bound casein monomers into the serum phase depending on temperature under variation of pH and ionic strength“ am Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik angefertigt. Beide Masterarbeiten wurden mit der Note 1,0 bewertet.

Den mit 2.000 € dotierten Preis für die beste Doktorarbeit erhielt in diesem Jahr Frau Verena Depping. Sie hat ihre Doktorarbeit mit dem Thema „Quantitative environmental and economic sustainability analyses of food supply chains: The case of novel dairy products“ am Lehrstuhl für Produktion und Supply Chain Management unter Leitung von Prof. Grunow abgeschlossen.

Übergabe des Preises für herausragende Masterarbeiten an Frau Eva Scheidler, sowie für herausragende Doktorarbeiten an Frau Verena Depping durch den Vorstandsvorsitzenden des Verbandes Professor Langowski sowie die Bayerische Milchkönigin Beatrice Scheitz. (Foto: Kuhnert)

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 2019 wurden Herr Dr. Richard Birkl, Herr Dr. Franz-Xaver Breit, Herr Dr. Hermann Eibel, Herr Dr. Josef Fiedler, Herr Gerhard Groß, Herr Hubert Hafenmayer, Herr Josef Kammerlehner, Herr Prof. Dr. Henning Klostermeyer, Herr Prof. Dr. Jakob Stöckl und Frau Dr. Elisabeth Viechtl für 40 Jahre Mitgliedschaft gewürdigt. Herr Wolfgang Nehrig wurde für 50 Jahre Mitgliedschaft ausgezeichnet. Der Verband konnte außerdem Herrn Dr. Karl-Heinrich Haisch, Herrn Ludwig Stölzle und Herrn Ernst Paul Wagner zur 60-jährigen Mitgliedschaft gratulieren.

Ehrung von Frau Elisabeth Viechtl, Herrn Hermann Eibel, Herrn Ernst Paul Wagner, Jakob Stöckl, Herrn Karl-Heinrich Haisch, Herrn Wolfgang Nehrig und Herrn Josef Kammerlehner für ihre langjährige Mitgliedschaft im Verband durch die bayrische Milchkönigin Beatrice Scheitz und Prof. Langowski. (Foto: Kuhnert)

Deutschlandstipendium - Der Verband als Förderer

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen tritt nach Beschluss der Vorstandschaft im Herbst 2016 bereits seit 2017 als Förderer im Rahmen des Deutschlandstipendiums auf. Die Stipendien kommen jeweils zur Hälfte Studenten der Technischen Universität München und der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf zugute, die sich durch besondere Leistungen im Studium und durch ehrenamtliches Engagement im universitären und privaten Bereich hervorgetan haben, 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 Studenten der Lebensmitteltechnologie, der Bioprozesstechnik und der Brau- und Getränketechnologie zu fördern.

Herr Gian-Luca Albano	Student des Bachelorstudiengangs Biotechnologie (HSWT)
Frau Sandra Diener	Studentin des Bachelorstudiengangs Biotechnologie (HSWT)
Herr Sebastian Öttl	Student des Bachelorstudiengangs Agrar- und Gartenbauwissenschaften (TUM)
Frau Johanna-Theresia Parzinger	Studentin des Bachelorstudiengangs Lebensmitteltechnologie (HSWT)
Herr Martin Pistel	Student des Masterstudiengangs Brauwesen und Getränketechnologie (TUM)
Herr Alexander Rusche	Student des Bachelorstudiengangs Lebensmitteltechnologie (HSWT)
Frau Melanie Schuster	Studentin des Bachelorstudiengangs Lebensmitteltechnologie (HSWT)
Frau Agnes Sixt	Studentin des Bachelorstudiengangs Agrar- und Gartenbauwissenschaften (TUM)
Frau Isabella Weber	Studentin des Bachelorstudiengangs Biotechnologie (HSWT)

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

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

Herr Gian-Luca Albano, Frau Sandra Diener, Frau Johanna-Theresia Parzinger, Herr Alexander Rusche, Frau Melanie Schuster und Frau Isabella Weber zusammen mit den Geschäftsführern des Verbands und dem Präsidenten der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf Dr. Eric Veulliet bei der offiziellen Verleihung der Deutschlandstipendien in Weihenstephan. (© HSWT)

Die Stipendiaten des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler sowie der Fördervereinigung zusammen mit Prof. Horst-Christian Langowski, dem Vorstandsvorsitzenden des Verbands bei der offiziellen Verleihung der Stipendien im Rahmen des Fördermodells Deutschland Stipendium in Garching. (© TUM)

Versammlungen und geförderte Exkursionen

Versammlungen:

Vorstandssitzung am	02.04.2019
Vorstandssitzung am	09.10.2019
Mitgliederversammlung am	10.10.2019

Lehrstuhlexkursionen:

13.05.-16.05.2019 unter der Leitung von Prof. Özlem Özmutlu Karslioglu mit 78 Studenten (46 WMBL) des Studiengangs Lebensmitteltechnologie der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Sachsen, Bayern und Baden-Württemberg.

22.05.-24.05.2019 unter der Leitung der Weihenstephaner IndustrieRunde (WIR) der TUM mit 18 Studenten (9 WMBL) ins Rhein-Neckar-Gebiet.

10.06.-14.06.2019 unter der Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 27 Studenten (27 WMBL) in die Niederlande.

11.06.-14.06.2019 unter der Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 27 Studenten (23 WMBL) nach Südtirol.

11.06.-14.06.2019 unter der Leitung des Lehrstuhls für Systemverfahrenstechnik (Prof. Dr.-Ing. Heiko Briesen) der TUM mit 21 Studenten (13 WMBL) an den Bodensee.

11.06.-14.06.2019 unter der Leitung der Studienfakultät Brau- und Lebensmitteltechnologie der TUM mit 30 Studenten (1 WMBL) in Süddeutschland.

01.07.-05.07.2019 unter der Leitung von Prof. Sabine Grüner-Lempart mit Studenten des Studiengangs Biotechnologie (1 WMBL) in Bayern.

16.07.2019 unter der Leitung der Weihenstephaner IndustrieRunde (WIR) der TUM mit 10 Studenten (6 WMBL) nach Geisenhausen.

Privatexkursionen:

Neben den universitär organisierten Fachexkursionen wurden im Jahr 2019 auch 56 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 Wachstum 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 im weiteren Sinne aus dem Themenbereich der Lebensmittelforschung kommen und einen Bezug zum Campus Weihenstephan aufweisen.

Bewerbungsverfahren

Die Arbeit muss vom betreuenden Institut bzw. Lehrstuhl nominiert werden. Die Arbeit wird in gedruckter und digitaler Form zusammen mit einem Bewerbungsformular bei der Geschäftsstelle des Verbands Weihenstephaner Milchwirtschaftler Bio- und Lebensmitteltechno-logen e.V. spätestens zum 31. April eines Jahres eingereicht. Die Arbeit darf als ältestes Datum (Einreichungsdatum beim Lehrstuhl) den 30. März des Vorjahres tragen und muss zum Zeitpunkt der Einreichung bereits verteidigt sein.

Preisverleihung

Der Preis für die Bachelorarbeit wird zum Weihenstephaner Hochschultag verliehen. Die Preise für die Master- und Doktorarbeit werden vom Vorstand des Verbands jährlich bei der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung verliehen. Nur der Vorstand des Verbands ist berechtigt, die Preisträger öffentlich bekannt zu geben.

Jury

Die Jury besteht aus 5 Professoren der Technischen Universität München 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.

Bewerbungsformulare können bei der Geschäftsführung des Verbandes angefordert werden.

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V.

Adresse

c/o Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik
Univ.-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 Gebiet 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.

Die im Jahr 2019 geförderten Projekte sind nachfolgend aufgeführt:

Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie

- *Aufbau DigiFarm Veitshof im Bereich Rindergesundheit*

Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie /
ZIEL Institute for Food & Health (Abteilung Mikrobiologie)

- *Experimentelle Untersuchung der Anpassung von thermophilen Anoxybacillus flavithermus aus Rohmilchen an das Überleben in Milchpulver-Produktionsanlagen*

Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik /
ZIEL Institute for Food & Health (Abteilung Technologie)

- *Infrastruktur zur Weiterentwicklung von mikrowellenunterstützten Trocknungs- und Erhitzungsprozessen*
- *Stiftung von 3 Deutschlandstipendien für Studierende der Lebensmitteltechnologie*

Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang die öffentlichen, durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) geförderten Forschungsprojekte im Rahmen der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“, die über den Arbeitskreis der industrielle Gemeinschaftsforschung (AiF) bzw. den Forschungskreis der Ernährungsindustrie (FEI) genehmigt werden. An diesen 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 Informa-tionspolitik 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 auch 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.

Vereinigung zur Förderung der
Milchwissenschaftlichen Forschung e.V.
c/o Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik
Weihenstephaner Berg 1
85354 Freising

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.

Ansprechpartner:	
Firma:	
Anschrift:	
Datum, Ort:	
Unterschrift: (Firmenstempel)	

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	124
2. Bayerische Milchindustrie eG, Landshut	125
3. B&L Mediengesellschaft mbH & Co. KG, Bad Breisig	123
4. DSM Food Specialities Germany GmbH, Düsseldorf	128
5. Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH, Cham	125
6. GQM mbH, Landshut	129
7. Milchindustrie-Verband e.V., Berlin	127
8. Molkerei Weihenstephan GmbH & Co. KG, Freising	130
9. Zentis GmbH & Co. KG, Aachen	126

B&L MedienGesellschaft mbH & Co. KG

Unsere 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 Hilden • Verlagsniederlassung Bad Breisig
Zehnerstr. 22b • 53498 Bad Breisig • Postfach 1363
Telefon: 0 26 33/45 40-0 • info@moproweb.de • www.moproweb.de

Profitieren Sie von der ganzheitlichen Wertschöpfungskette von ALPMA

Mit unseren Geschäftsbereichen Prozesstechnik, Käsereitechnik sowie Schneide- und Verpackungstechnik bieten wir unseren Kunden und Partnern eine einzigartige Angebotspalette aus einer Hand – von technisch und technologisch führenden Maschinen zur Verarbeitung und Verpackung von Lebensmitteln bis hin zu kompletten Systemlösungen für Käsereien.

www.alpma.de

ALPMA

Prozesstechnik
Käsereitechnik
Schneidetechnik
Verpackungstechnik

ALPMA SULBANA

Mozzarella
Schnittkäse
Hartkäse

GOLDSTEIG
KÄSESPEZIALITÄTEN
www.goldsteig.bayern
Bayerns feiner Käse
Almdammer
hauchdünn
Emmentaler
hauchdünn
Mozzarella
Protinella

BMi
Beste Milch Ideen
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

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

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 26 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, Wissenschaft, Forschung und Qualität, rechtliche Fragestellungen, 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: die Chance für Milchindustrie und Wissenschaft

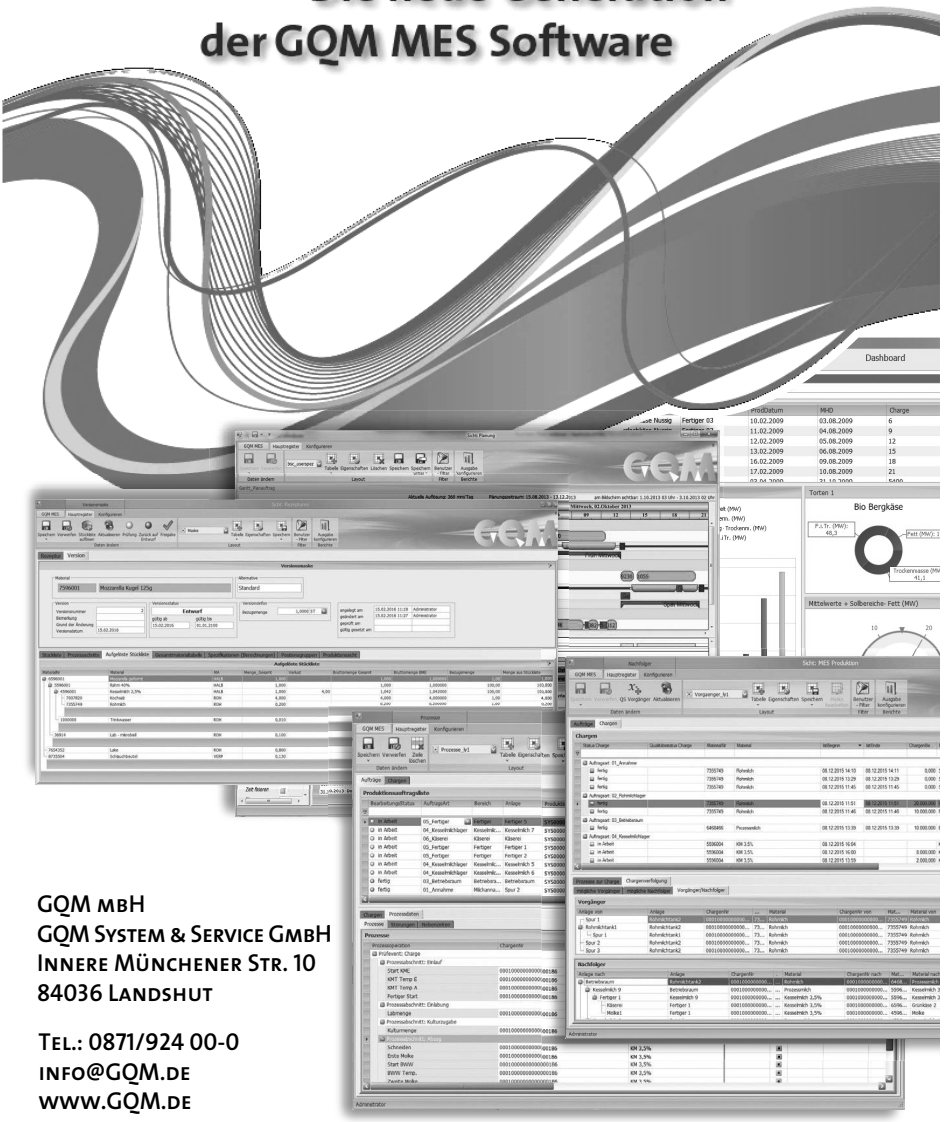
Milchindustrie-Verband e.V. | Jägerstraße 51 | 10117 Berlin
Ansprechpartnerin Wissenschaft: Dr. Gisela Runge
Tel.: +49 30 4030445-19 | Fax: +49 30 4030445-57 | E-Mail: runge@milchindustrie.de
www.milchindustrie.de | www.meine-milch.de | www.milch-im-blut.de

Creating better dairy products. Together.
Inspiriert durch Menschen und die Notwendigkeit nach nachhaltigen Lösungen tragen wir zu der Herstellung von gesunden, frischen, köstlichen und leicht zu verzehrenden Käse-, Milch- und fermentierten Milchprodukten bei. Gemeinsam gelingt es uns, die Milchwirtschaft auf sinnvolle Weise voranzutreiben.
Lassen Sie uns gemeinsam neue und verbesserte Milch- und Molkereiprodukte kreieren, die die Verbraucher lieben werden. Unsere Innovationsteams und Produktanwendungsexperten unterstützen Sie dabei gerne.
ENZYME FÜR DIE MILCHWIRTSCHAFT | KULTUREN | NATÜRLICHE KONSERVIERUNGSMITTEL | ANTIBIOTIKA-RÜCKSTANDSTESTS
Kontaktieren Sie uns unter info.food@dsm.com für weitere Informationen oder besuchen Sie unsere Website: www.dsm.com/food.
NUTRITION · HEALTH · SUSTAINABLE LIVING
DSM
BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.

GQM

PRODUKTIONSPLANUNG ··· REZEPTUREN ··· PRODUKTION ··· QM/LIMS ··· LVS

Die neue Generation
der GQM MES Software



GQM mbH
GQM System & Service GmbH
Innere Münchener Str. 10
84036 Landshut

Tel.: 0871/924 00-0
info@GQM.de
www.GQM.de

DIE SOFTWARE EXPERTEN FÜR DYNAMISCHE LÖSUNGEN IN DER MILCH- & LEBENSMITTELINDUSTRIE

Weihenstephan
Frischer Geschmack
Jetzt noch leichter zu öffnen!
Weihenstephan
Haltbare
Milch
1,5 % Fett
1 Liter
Weihenstephan
Haltbare
Milch
3,5 % Fett
www.molkerei-weihenstephan.de