TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt Technische Universität München

Jahresbericht 2020

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am Wissenschaftszentrum Weihenstephan

Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan

Jahresbericht 2020
über die milchwissenschaftliche Forschung
am Wissenschaftszentrum Weihenstephan
der Technischen Universität München
in der Zeit vom
1. Januar 2020 bis 31. Dezember 2020

63. Band 2020
Weihenstephan, März 2021

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, 2021

ISBN 978-3-947492-20-6

© 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
Forschung 3
I. Laktationsphysiologie 3
II. Reproduktionsbiologie 4
III. Doping und Leistungsförderer 5
IV. Bioanalytik 6
V. Biomarker 9
VI. Immunologie 14
VII. Sonstige Publikationen 16
Habilitationen, Master- und Bachelorarbeiten 16
Vorträge 17
Kurzfassungen (Abstracts & Proceedings) 18

Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie
ZIEL Institute for Food & Health (Abt. Mikrobiologie) 20
Personal 20
Forschung 22
Arbeitsgruppe: Hygiene und Mikrobiota von Rohmilch 22
Arbeitsgruppe: Hitzeresistente Sporenbildner 24
Arbeitsgruppe: Ökologie und hitzeresistente Peptidasen von *Pseudomonas* in Rohmilch 25
Arbeitsgruppe: Taxonomie und Biodiversität 31
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 33
Veröffentlichungen 33

Seite

Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik
ZIEL Institute for Food & Health (Abt. Technologie) ... 35
Personal ... 35
Vorwort ... 36
Auszeichnungen ... 37
Forschung ... 38
Forschungsgebiet Bioprozesstechnik ... 38
Forschungsgebiet mikrowellen- und schaumunterstützte Trocknungstechnik ... 42
Forschungsgebiet Strukturbildung und -charakterisierung ... 49
Forschungsgebiet Membran- und zentrifugale Trenntechnik ... 63
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten ... 76
Vorträge ... 78
Posterpräsentationen ... 79
Veröffentlichungen ... 79
Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen ... 83
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen ... 84

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler,
Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ... 85
Struktur des Verbandes ... 85
Zielsetzungen des Verbandes ... 86
Bericht aus Weihenstephan und dem Verbandsleben ... 87
Versammlungen und geförderte Exkursionen ... 90
Verleihungsrichtlinien ... 91

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen
Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. ... 92
Vorstand ... 92
Zweck und Ziele der Fördervereinigung ... 92
Beitragsordnung ... 94
Informationstransfer – Mitgliederinformation ... 94
Beitrittserklärung ... 95

Technischer Teil ... 96

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.

Dies muss auch das Ziel der kommenden Jahre bleiben. Gerade vor dem Hintergrund der personellen und möglicherweise strukturellen Änderungen der beteiligten Gruppen, bitten wir die Mitglieder und Unternehmen weiterhin an der Unterstützung der milchwirtschaftlichen Ausrichtung mitzuwirken.

Mit den Ergebnissen der Forschungstätigkeit 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	-3508
Sekretariat:	Sabine Saul-Hubrich (Teilzeit)	-3556
	Tanja Münchmeyer (Teilzeit)	-3508
	Gertraud Mayer (Minijob)	-3508
Wissenschaftler:	Prof. Dr. Michael W. Pfaffl	-3511
	Dr. Talyn Chu	-3314
	Dr. Anna Schulz	-3510
Doktoranden:	M.Sc. Jacqueline Berner	-5503
	Ronja Binder (Tierärztin)	-5520
	Sabine Farschtschi (Tierärztin)	-5550
	M.Sc. Markus Flosbach	-3867
	M.Sc. Julie Cullen bis 31.12.2019	-3314
	M. Sc. Christian Grätz	-5520
	M. Sc. Stefanie Hermann	-5550
	M. Sc. Alex Hildebrandt	-5520
	M. Sc. Madlaina von Hößlin	-5503
	M. Sc. Kristiyan Kanev	-3867
	M. Sc. Benedikt Kirchner	-4429
	M. Sc. Miriam Kuhlmann	-5503
	M. Sc. Veronika Mussack	-5550
	Granit Thaqi (Tierarzt)	-5520
	M. Sc. Ming Wu	-3314
Lehrbeauftragter:	Prof. Dr. Bajram Berisha, Universität Prishtina	-3510
Technische Mitarbeiter:	Charline Amette	-3510
	Josephine Baum	-3510
	Brigitte Dötterböck (Teilzeit)	-5556
	Waltraud Schmid	-5544
Gäste:	Dr. Dominik Buschmann	-4429
	Dapi Meng-Lin Chiang, Biovesicle Inc., Taiwan	-5550

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Postprandialer Transfer kolostraler extrazellulärer Vesikel und damit assoziierte Proteine und miRNAs bei neugeborenen Kälbern.

Postprandial transfer of colostral extracellular vesicles and their protein and miRNA cargo in neonatal calves.

Benedikt Kirchner[1,2], Dominik Buschmann[2,3], Vijay Paul[4], Michael W. Pfaffl[1]
[1]Division of Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Germany; [2]Dr. von Hauner Childrens's Hospital, LMU Munich, Germany; [3]Institute of Human Genetics, University Hospital, LMU Munich, Germany; [4]National Research Centre on Yak, ICAR, India.
Plos One (2020) 15(2): e0229606

Extrazelluläre Vesikel (EVs) wie zum Beispiel Exosomen sind Schlüsselregulatoren der interzellulären Kommunikation, die in fast allen Körperflüssigkeiten zu finden sind. Obwohl im letzten Jahrzehnt große Fortschritte bei der Ermittlung des Einflusses von EVs in vielen physiologischen und pathophysiologischen Vorgängen gemacht wurden, müssen Bioverfügbarkeit und Auswirkungen von EVs und ihrem Inhalt aus der Nahrung noch geklärt werden. Aufgrund des weit verbreiteten Konsums und des hohen Gehalts an EV-assoziierten microRNAs und Proteinen wurde in diesem Forschungsfeld ein Schwerpunkt auf EVs auf Milch und Kolostrum von Rindern gelegt. Trotz vielversprechender in-vitro Studien in den letzten Jahren, die eine hohe Widerstandsfähigkeit von Milch-EVs gegenüber Degradation und Aufnahme von Milch-EV-Inhaltstoffen in einer Vielzahl von Darm- und Blutzelltypen zeigen, bleiben in-vivo Experimente weiterhin oft nicht aussagekräftig oder kommen sogar zu widersprüchlichen Ergebnissen. Um diese Diskrepanz zu beheben, untersuchten wir den möglichen postprandialen Transfer von kolostralen EVs in die Blutzirkulation neugeborener Kälber durch Analyse von kolostrum-spezifischem Proteinen und miRNAs, einschließlich spezifischer Isoformen (isomiRs) in Zellen, EV-Isolierungen und unfraktionierten Proben aus Blut und Kolostrum. Unsere Ergebnisse zeigen unterscheidbare Populationen von EVs in Kolostrum und Blut von Kühen, die durch Dichte, Partikelkonzentration und Proteingehalt (BTN1A1, MFGE8) klar getrennt werden können. Postprandiale Blutproben von Kälbern zeigen einen zeitabhängigen Anstieg von EVs, die sich in Morphologie und Proteinkomposition kolostralen EVs ähneln. Die Analyse der miRNA-Expressionsprofile durch Next-Generation-Sequencing ergab jedoch ein anderes Bild. Obwohl signifikante postprandiale Expressionsänderungen nur für Kälber EV-Proben nachgewiesen werden konnten, zeigen Expressionsprofile eine sehr geringe Überschneidung mit hoch exprimierten miRNAs in kolostralen EVs oder Kolostrum im Allgemeinen. Zusammengenommen weisen unsere Ergebnisse auf eine selektive Aufnahme von membranassoziierter Proteinen hin, jedoch nicht von luminalen miRNAs aus kolostralen EVs in den Kreislauf neugeborener Kälber.

Die vorteilhafte Auswirkung des Milchkonsums in landwirtschaftlichen Betrieben auf Asthma, Allergien und Infektionen - von der Metaanalyse bis zur klinischen Überprüfung.

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]
[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 2020 (8)3: 878-889

Die geringe Prävalenz von Asthma und Allergien bei Bauernkindern wurde teilweise auf den Verzehr von roher Kuhmilch zurückgeführt. Eine Literaturrecherche identifizierte 12 Veröffentlichungen zu 8 einschlägigen Ernährungsstudien. Eine Metaanalyse dieser Studien bestätigte die Schutzwirkung des Rohmilchkonsums im frühen Kindesalter (<1 bis 5 Jahre, laut Studie) auf Asthma (Odds Ratio [OR], 0,58; 95% CI, 0,49-0,69) und bestehende Kurzatmigkeit (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). Die Wirkung insbesondere auf Asthma wurde nicht nur bei Kindern beobachtet, die in landwirtschaftlichen Betrieben aufgezogen wurden (OR, 0,62; 95% CI, 0,58-0,82), sondern auch bei Kindern, die in ländlichen Gebieten lebten, jedoch nicht direkt auf einem Bauernhof (OR, 0,60; 95% CI, 0,48) -0,74). Dies zeigt, dass der Effekt des Milchkonsums auf dem Bauernhof unabhängig von anderen landwirtschaftlichen Einflüssen ist und dass Kinder, die nicht auf einem Bauernhof leben, theoretisch von diesem Effekt profitieren können. Aufgrund des minimalen, aber realen Risikos lebensbedrohlicher Infektionen wird jedoch dringend vom Verzehr von Rohmilch und deren Produkten abgeraten. Rohe Bauernhofmilch und industriell verarbeitete Milch unterscheiden sich in vielen Punkten, einschließlich der Entfernung von Zellbestandteilen, der Manipulation der Fettfraktion und verschiedener Erwärmungsgrade. Vorläufige Ergebnisse führen den Effekt auf hitzelabile Moleküle und Komponenten zurück, die sich in der Fettfraktion befinden. In der MARTHA-Studie (Milk Against Respiratory Tract Infections and Asthma) wird derzeit die Schutzwirkung von mikrobiologisch sicherer, minimal verarbeiteter Kuhmilch gegen standardmäßige ultra-hoch erhitzte Milch bei Kindern im Alter von 6 Monaten bis 3 Jahren mit einer primären Asthmadiagnose getestet und bis zum Alter von 5 Jahren verfolgt. Bei Erfolg könnte dieser Ansatz eine einfache, aber wirksame Präventionsstrategie darstellen.

II. Reproduktionsphysiologie

Hypoxia-inducible factor-1alpha und NO Synthasen in bovinen Follikeln kurz vor der Ovulation und während der frühen lutealenAngiogenese

Hypoxia-inducible factor-1alpha and nitric oxide synthases in bovine follicles close to ovulation and early luteal angiogenesis

Bajram Berisha[1,2], Dieter Schams[2], Fred Sinowatz[3], Daniela Rodler[3], Michael W. Pfaffl[2]
[1]Animal Biotechnology, Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Prishtina, Prishtinë, Kosovo; [2]Animal Physiology and Immunology, Weihenstephan, Technical University of Munich, Freising, Germany; [3]Department of Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilian University of Munich, Munich, Germany.

Reproduction in Domestic Animals (2020): 55: 1573–1584

Das Ziel der Studie war es, die bovinen Expressionsmuster von Hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF1A), induzierbarer Stickoxidsynthase (iNOS) und deren Isoformen im Endothel (eNOS) in zeitlich definierten Follikelklassen vor und nach Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) Gabe zu charakterisieren. Die Ovarien, die prä-ovulatorische Follikel und Corporaluteaenthielen, wurden durch transvaginale Ovariektomie (n = 5 Kühe / Gruppe) wie folgt gewonnen: (I) vor GnRH Verabreichung; (II) 4h nach GnRH; (III) 10h nach GnRH; (IV) 20h nach GnRH; (V) 25 nach GnRH und (VI) 60h nach GnRH (frühes Corpus luteum). Der Gesamt mRNA Gehalt in der Follikelgruppe vor der GnRH Gabe war hoch, danach jedoch erfolgte eine signifikante Herunterregulierung, die ein Minimum bei 25h nach GnRH Gabe (kurz vor der Ovulation) erkennen ließ. Ein signifikanter Anstieg konnte erst nach der Ovulation festgestellt werden. Der RNA Gehalt von iNOS vor der GnRH Gabe war hoch, aber verringerte sich bedeutend während des LH Anstiegs und zeigte danach Minimalwerte. Im Gegensatz dazu verringerte sich der mRNA Gehalt von eNOS zunächst in der Follikelgruppe die 20h nach GnRH Gabe untersucht wurde, um dann schnell und signifikant kurz nach der Ovulation hochreguliert zu werden. Immunhistochemisch zeigten die Granulosazellen der prä-ovulatorischen Follikel und die eosinophilen Granulozyten, auch jene des frühen Corpus luteums, eine stark positive Reaktion mit dem HIF1A Antikörper. Die Lokalisation der eosinophilen Granulozyten konnte immunhistochemisch schon früh durch einen Eosinophilenmarker (eosinophil-major-basic-protein, EMBP) und durch Transmissionselektronenmikroskopie bestimmt werden. Abschließend zeigen die parallelen und akut regulierten Expressionsmuster von HIF1A und den Isoformen der NO Synthase, besonders während des Intervalls zwischen LH Gipfel und Ovulation, dass diese parakrinen Faktoren in lokale Mechanismen involviert sind, welche die finale Follikelreifung, Ovulation und die frühe lutealeAngiogenese regulieren.

III. Doping und Leistungsförderer

Dem Blutdoping auf der Spur – microRNA-Fingerabdrücke zum Nachweis von Eigenblutdoping *in vivo*

On the trail of blood doping - microRNA fingerprints to detect autologous blood transfusions in vivo.

Veronika Mussack[1], Georg Wittmann[2], Michael W. Pfaffl[1] (2020)
[1]Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technische Universität München, Freising, Deutschland; [2]Abteilung für Transfusionsmedizin, Zelltherapeutika und Hämostaseologie, Universitätsklinikum der Ludwig-Maximilians-Universität, München, Deutschland;
American Journal of Hematology 2020 Dec 16. doi: 10.1002/ajh.26078

Autologes Blutdoping entspricht einer illegalen Rücktransfusion jeglicher Blutbestandteile und -mengen, wobei es sich beim Blutspender und dem Empfänger um dieselbe Person handelt. Die Rücktransfusion von gelagerten Erythrozytenkonzentraten scheint besonders für Hochleistungssportlern interessant zu sein, da sich dadurch die Sauerstoffkapazität erheblich verbessern lässt. Obwohl der Einsatz von autologem Blutdoping verboten ist, gibt es bisher noch keine eindeutige Nachweismethode. Ein vielversprechender Ansatzpunkt zur Etablierung neuer Nachweisverfahren von Eigenblutdoping stützt sich auf zirkulierende microRNA Profile. Um den tatsächlichen Einfluss von Rücktransfusion(en) gelagerter Erythrozytenkonzentrate auf microRNA Profile zu analysieren, wurden 30 gesunde und sportliche Männer untersucht. Die Probanden wurden nach Zufallsprinzip in drei Gruppen aufgeteilt: einer Kontrollgruppe und zwei Behandlungsgruppen, mit einer bzw. zwei Vollblutspenden mit anschließender Rücktransfusion der gelagerten Erythrozytenkonzentrate.

Vollblutproben wurden vor Blutspende(n) und Transfusion(en) genommen sowie an mehreren Zeitpunkten nach der Transfusion. Im Weiteren wurden die Veränderungen in den microRNA Profilen mittels small-RNA Sequenzierung und umfassender multivariater Analysen bestimmt, woraus sich miRNA Signaturen ergaben, die das Transfusionsvolumen sowie den Zeitpunkt der Probenahme wieder spiegelten. Die maximale Detektionsrate ausgewählter miRNAs war am höchsten sechs Stunden nach einer Transfusion (Spezifität 100 %, Sensitivität 11 %). Im direkten Vergleich zur Detektionsrate des biologischen Sportlerpasses (Spezifität 100 %, Sensitivität 44 % zwei Tage nach Transfusion), welcher gegenwärtig den Goldstandard in der Detektion jeglichen Blutdopings darstellt, und ein individuelles und langfristiges Profil ausgewählter hämatologischer Parameter umfasst, schnitten jedoch weder einzelne miRNAs noch eine miRNA Signatur besser ab. Zwar scheint es so, als ob das Detektionsfenster für Eigenblutdoping durch die ergänzende Analyse von miRNAs vergrößert werden kann, jedoch muss das tatsächliche Potential von miRNA Profilen in der Erkennung von autologem Blutdoping noch in routinemäßig durchgeführten Dopingkontrollen validiert werden.

IV. Bioanalytik

Aktualisierung der digitalen MIQE-Richtlinien: Mindestanforderungen für die Veröffentlichung quantitativer digitaler PCR-Experimente – ein aktuelles Update 2020 (dMIQE2020)

The digital MIQE guidelines update: minimum information for publication of quantitative digital PCR experiments for 2020 (dMIQE2020)

Jim F Huggett[1,2], Alexandra S Whale[1], Ward De Spiegelaere[3], Wim Trypsteen[3,8], Afif Abdel Nour[4], Young-Kyung Bae[5], Vladimir Benes[6], Daniel Burke[7], Megan Cleveland[8, 9], Philippe Corbisier[9], Alison S Devonshire[1], Lianhua Dong[10], Daniela Drandi[11,10], Carole A Foy[1], Jeremy A Garson[12], Hua-Jun He[8], Jan Hellemans[13], Mikael Kubista[14,11], Antoon Lievens[9], Mike G. Makrigiorgos[15], Mojca Milavec[16], Reinhold D Mueller[17,12], Tania Nolan[18,19], Denise M O'Sullivan[1], Michael W. Pfaffl[20], Stefan Rödiger[21], Erica L. Romsos[8,13], Gregory L Shipley[22], Valerie Taly[23], Andreas Untergasser[6,24], Carl T. Wittwer[25,14], Stephen A Bustin[26] & Jo Vandesompele[3,13,15]

[1]National Measurement Laboratory (NML) at LGC, Queens Rd, Teddington, TW11, 18 0LY, United Kingdom; [2]School of Biosciences & Medicine, Faculty of Health & Medical Science, University of Surrey, Guildford, GU2 7XH, United Kingdom; [3]Ghent University, Belgium; [4]School of Engineering, Holy Spirit University of Kaslik, Jounieh, Lebanon; [5]Center for Bioanalysis, KRISS, Yuseong-gu, Daejeon, Republic of Korea; [6]Genomics Core Facility, EMBL Heidelberg, Heidelberg, Germany; [7]National Measurement Institute, Bradfield Road, Lindfield, NSW 2070, Australia; [8]National Institute of Standards and Technology, 100 Bureau Dr, Gaithersburg, MD, 20899, USA; [9]European Commission, Joint Research Centre (JRC), Geel, Belgium; [10]National Institute of Metrology, Beijing, P. R. China; [11]Department of Molecular Biotechnologies and Health Sciences, University of Torino, Italy; [12]Research Department of Infection, Division of Infection and Immunity, UCL, London, United Kingdom; [13]Biogazelle, Technologiepark 82, B-9052 Zwijnaarde, Belgium; [14]TATAA Biocenter, Sweden and Institute of Biotechnology of the Czech Academy of Sciences; [15]Dana Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, USA; [16]National Institute of Biology, Department of Biotechnology and Systems Biology, Ljubljana, Slovenia; [17]RM Consulting, 10309 Pinecastle Street, San Diego, CA 92131, USA; [18]Institute of Population Health, Faculty of Medical and Human Sciences, University of Manchester, UK; [19]The Gene Team, UK; [20]Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, School of Life Sciences Weihenstephan, Freising, Germany; [21]Faculty of Health Sciences, joint Faculty of the Brandenburg University of Technology Cottbus – Senftenberg, the Brandenburg Medical School Theodor Fontane and the University of Potsdam, Berlin, German; [22]Shipley Consulting, LLC, Houston, TX, USA; [23]Centre de Recherche des Cordeliers, INSERM, Sorbonne Université, Université de Paris, Equipe labellisée Ligue Nationale contre le cancer, F-75006 Paris, France; [24]Zentrum für Molekulare Biologie, University of Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 2, 69120 Heidelberg, Germany; [25]Department of Pathology, University of Utah 30 N 1900 E Salt Lake City, UT 84132, USA; [26]Medical Technologies Research Centre, Faculty of Health, Education, Medicine & Social Care, Anglia Ruskin University, Essex, United Kingdom;

Clinical Chemistry – Special report 2020 66(8): 1012-1029

Die Methodik der digitalen PCR (dPCR) sowie die dPCR Publikationsrichtlinien (dMIQE) haben sich in den letzten Jahren dynamisch weiterentwickelt. Seit der Erstveröffentlichung der dMIQE im Kalenderjahr 2013 hat es maßgebliche Fortschritte bei der Hardware, den Software-Tools, der Anwendungsbreite sowie beim grundsätzlichen Verständnis des technologischen Potenzials der dPCR in der Analytik gegeben. Diese rasanten methodischen Entwicklungen sind auch mit neuen Herausforderungen zum richtigen und nachvollziehbaren Publizieren verbunden. Um nur einzelne Punkte zu erwähnen wo es häufig zu Missverständnissen in der wissenschaftlichen Literatur kommen kann, sind bei der Beschreibung der prä-analytischen Schritte, beim Isolieren und Quantifizieren der eingesetzten DNA/RNA, sowie bei den Datenanalyseschritten, einschließlich der Schwellenwerteinstellung. Werden diese falsch interpretiert, kann es zu erheblichen quantitativen Messfehlern bei den Ergebnissen führen. Um final unabhängige und richtige Schlussfolgerungen zu tätigen, ist eine umfassende Offenlegung aller relevanten experimentellen Schritte, sowie alle analytischen Details erforderlich. Heute präsentieren wir ein Update für digitale PCR, die dMIQE Richtlinien 2020 (dMIQE2020), um die hohen qualitativen und quantitativen Ansprüche der wissenschaftlichen Community zu befriedigen. Das dMIQE2020 Update wird dazu beitragen, die experimentellen Protokolle in Zukunft besser zu standardisieren, die effiziente Nutzung von Ressourcen zu maximieren und die Wirkung dieser leistungsstarken Technologie weiter zu optimieren.

Warnhinweis bezüglich einer möglichen Kontamination von Reagenzien zum molekularen RT-qPCR Nachweis von Sars-CoV-2

Cautionary note on contamination of reagents used for molecular detection of Sars-CoV-2

Jim Huggett, Vladimir Benes, Stephen Bustin, Jeremy A Garson, Kathryn Harris, Martin Kammel, Mikael Kubista, Tim McHugh, Jacob Moran-Gilad, Tania Nolan, Michael W Pfaffl, Marc Salit, Greg Shipley, Peter Vallone, Jo Vandesompele, Carl Wittwer, and Heinz Zeichhardt

Jim F Huggett (NML at LGC, Queens Rd, Teddington, TW11 0LY, UK, School of Biosciences & Medicine, Faculty of Health & Medical Science, University of Surrey, Guildford, UK), Vladimir Benes (Genomics Core Facility, EMBL Heidelberg, Germany), Jeremy A Garson (Division of Infection and Immunity, University College London, UK), Karthyn Harris (Microbiology Department, Great Ormond Street Hospital NHS Foundation Trust, London, UK), Martin Kammel (INSTAND e.V., Duesseldorf; IQVD GmbH, Institut fuer Qualitaetssicherung in der Virusdiagnostik, Berlin, Germany), Mikael Kubista (Institute of Biotechnology of the Czech Academy of Sciences), Timothy D McHugh (Center for Clinical Microbiology, Division of Infection and Immunity, University College London, UK), Jacob Moran-Gilad (Department of Health Systems Management, Faculty of Health Sciences, Ben Gurion University of the Negev, Beer Sheva, Israel), Tania Nolan (Institute of Population Health, Faculty of Medical and Human Sciences, University of Manchester, UK), Michael W Pfaffl (Animal Physiology and Immunology, Technical University of Munich, School of Life Sciences Weihenstephan, Freising, Germany), Marc Salit (Joint Initiative for Metrology in Biology, SLAC National Accelerator Laboratory, Menlo Park, CA, USA, Departments of Bioengineering and Pathology, Stanford University, Stanford, CA, USA) Greg Shipley (Shipley Consulting, LLC, Vancouver, WA, USA), Peter M Vallone (National Institute of Standards and Technology, 100 Bureau Dr, Gaithersburg, MD, USA), Jo Vandesompele (Biogazelle, Belgium; Ghent University, Belgium), Heinz Zeichhardt (INSTAND e.V., Düsseldorf; Charité – University Medicine Berlin; IQVD GmbH, Institut fuer Qualitätssicherung in der Virusdiagnostik, Berlin, Germany)

Clinical Chemistry 66 (11): 1369-1372

Die Reverse Transkription (RT) mit anschließender quantitativer Polymerase-Ketten-Reaktion (qPCR), ist die wichtigste diagnostische Methode um die Sars-CoV-2 Virus RNA zu detektieren und zu quantifizieren im weltweiten Kampf gegen Covid-19. Die RT-qPCR Methode kann (theoretisch) ein einzelnes RNA Molekül eines viralen Genoms nachweisen.

Praktisch liegen die Nachweistests bei absolut ca. 5-10 Virusmolekülen. Daher sollten diese hoch-empfindlichen Sars-CoV-2 RT-qPCR Nachweistests auch hoch-spezifisch sein, und nicht kreuzreagieren mit genetisch sehr ähnlichen Coronavirus Pathogenen, wie z.B. den herkömmlichen Coronaviren die (nur) klassische Erkältungskrankheiten hervorrufen. Im Weiteren sollen die RT-qPCR Nachweistests auch mit hoher Richtigkeit quantifizieren, also das Sars-CoV-2 Virusgenom ohne ein falsch-positiven Signals nachzuweisen. Leider gibt es immer wieder Publikationen die von falsch-positive Ergebnissen berichten. Diese falsch-positive Ergebnisse basieren meist auf Kontaminationen dessen Ursachen im Detail hier diskutiert werden. Ein maßgeblicher Eintrag von Kontaminationen und somit falsch-positiven Ergebnissen passiert über kontaminierte Primer und Reagenzien. Dies sollte im Vorfeld erkannt und verhindert werden. Fokus der Publikation stellt ein strenger Maßnahmen Katalog für den RT-qPCR Anwender dar, auf Basis der generellen MIQE Richtlinien, um sicher zu stellen, dass die Sars-CoV-2 Ergebnisse nicht verfälscht werden.

Einfluss von Langzeitlagerung und mehrfachen Gefrier-und-Tau-Zyklen auf acht zirkulierende miRNAs in Plasmaproben

Impact of long-term storage and freeze-thawing on eight circulating microRNAs in plasma samples

Pamela R. Matias-Garcia[1,2,3], Rory Wilson[1,2], Veronika Mussack[4], Eva Reischl[1,2], Melanie Waldenberger[1,2,5], Christian Gieger[1,2,6], Gabriele Anton[1,2,7], Annette Peters[2,5,6], Andrea Kühn-Steven[1,2,7]
[1]Abteilung für Molekulare Epidemiologie, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt, Neuherberg, Deutschland; [2]Institut für Epidemiologie, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt, Neuherberg, Deutschland; [3]TUM School of Medicine, Technische Universität München, München, Deutschland; [4]Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technische Universität München, Freising, Deutschland; [5]Deutsches Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung (DZHK), Partnerstelle Munich Heart Alliance, München, Deutschland; [6]KORA-Studiengruppe, Helmholtz Zentrum München, Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt, Neuherberg, Deutschland; [7]Deutsches Zentrum für Infektionsforschung (DZIF), Standort München, München, Deutschland;
PLoS ONE 15(1): e0227648

Probenentnahme, -verarbeitung, -lagerung sowie Isolationsmethoden sind präanalytische Faktoren, die die Probenqualität in der klinischen Forschung und Praxis beeinflussen können. Im Hinblick auf Biobanken ist es die Lagerung, insbesondere die Langzeitlagerung, die einen kritischen Punkt in der Probenbearbeitung darstellt. Die meisten Studien untersuchen den Einfluss unterschiedlicher Temperaturen (4 °C oder Raumtemperatur) oder Verzögerungen bei der Probenverarbeitung auf die Probenqualität. Daher gibt es nur wenig Informationen über die Auswirkungen der Langzeitlagerung bei ultratiefen Temperaturen, wie die Dampfphase von flüssigem Stickstoff, auf die Konzentration von bestimmten Biomarkern. Vor allem zirkulierende microRNAs haben großes Potenzial für die Diagnose oder Prognose einer Vielzahl von Krankheiten, wie Krebs, Infektionen und chronischen Krankheiten, und sind daher von hohem Interesse für verschiedene wissenschaftliche Fragestellungen. Wir untersuchten daher den Einfluss von Langzeitlagerung auf die Detektionslevel von acht zirkulierenden microRNAs (miR-103a-3p, miR-191-5p, miR-30c-5p, miR-451a, miR-23a-3p, miR-93-5p, miR-24-3p und miR-33b-5p) von zehn Teilnehmern einer bevölkerungsbasierten Kohortenstudie KORA. Probenentnahmen fanden während der Basis-Erhebung S4 und den Folge-Erhebungen F4 und FF4 über einen Gesamtzeitraum von 1999 bis 2014 statt. Der Einfluss von Gefrier-Tau-Zyklen auf die microRNA-Stabilität wurde anhand von Proben

unabhängiger Probanden untersucht (n=6). Die Plasmaproben aus beiden Versuchsansätzen wurden unter Verwendung des miRCURY Echtzeit-qPCR Profiling Systems von Exiqon analysiert und mittels ANOVA mit Messwiederholung ausgewertet. Unsere Ergebnisse zeigen keine signifikanten Konzentrationsänderungen der meisten microRNAs nach einer Lagerung für bis zu 17 Jahre bei extrem niedrigen Temperaturen; nur miR-451a Detektionslevel haben sich aufgrund von Verunreinigungen während der Probenahme signifikant verändert. Gefrier-Tau-Zyklen von bis zu vier Wiederholungen hatten nur auf ein miR-30c-5p einen Effekt. Unsere Ergebnisse unterstreichen die Robustheit dieser zirkulierenden microRNAs über Jahrzehnte lange Lagerung hinweg bei extrem niedrigen Temperaturen und Gefrier-Tau-Zyklen, was unsere Ergebnisse zunehmend relevant für Biobank-Proben macht.

Isolation von hochreinen Fraktionen extrazellulärer Vesikel aus Urin mit Eignung für RNA Cargo-Sequenzierung.

Isolation of highly pure urinary extracellular vesicle fractions suitable for downstream RNA cargo sequencing.

Veronika Mussack[1], Georg Wittmann[2], Michael W. Pfaffl[1]

[1]Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technische Universität München, Freising, Deutschland; [2]Abteilung für Transfusionsmedizin, Zelltherapeutika und Hämostaseologie, Universitätsklinikum der Ludwig-Maximilians-Universität, München, Deutschland;

Application Note, Miltenyi Biotech B.V. & Co. KG (2020)

Extrazelluläre Vesikel (EVs), welche alle Vesikel umfassen, die von Zellen freigesetzt werden, können in verschiedenen Bioflüssigkeiten und Flüssigbiopsien (Liquid Biopsies) nachgewiesen werden, einschließlich Urin. Sie übertragen biologische Informationen zwischen benachbarten und weiter entfernten Zellen und ihr molekularer Cargo (d.h. Nukleinsäuren, Proteine und Lipide) spiegeln vermutlich die Konditionen ihrer Ursprungszelle wider. microRNAs (miRNAs), die von kleinen Urin-EVs (uEVs) transportiert werden, haben sich insbesondere als vielversprechende Biomarker in der Überwachung von Krankheiten wie Blasenkrebs erwiesen. In dieser Studie untersuchten wir die Eignung der Isolation kleiner uEVs mittels positiver Selektion basierend auf immuno-magnetischer Anreicherung und die Kompatibilität dieser Methode mit nachgelagertem miRNA-Screening. Zu diesem Zweck haben wir die Partikelgröße, die Konzentration und den Proteingehalt der aufgereinigten kleinen uEVs sowie deren miRNA Cargo gemäß den MISEV-Richtlinien untersucht.

V. Biomarker

Extrazelluläre Vesikel-basierte microRNA Biomarker: Das Für und Wider

Extracellular vesicle-derived microRNA biomarkers: Goals and Pitfalls.

Stefanie Hermann, Christian Grätz, Benedikt Kirchner, Michael W. Pfaffl

Division of Animal Physiology and Immunology, School of Life Sciences Weihenstephan, Technical University of Munich, Freising, Germany;

Trillium Extracellular Vesicles 2020 1(1): 42-47

Aus nichtinvasiven Flüssigbiopsien isolierte Extrazelluläre Vesikel (EV) erscheinen als hervorragende Quelle für transkriptomische, also RNA-basierte Biomarker Studien. Hierbei sind insbesondere die kurzen und stabilen microRNAs (miRNAs) hervorzuheben. Diese regulieren die Genexpression auf post-transkriptioneller Ebene und sind wahrscheinlich spezifisch in EV verpackt, um die Vermittlung der Zellkommunikation zu ermöglichen.

Neben genetischen Informationen liefert das Transkriptom frühzeitig dynamische Einblicke in zelluläre Zustände und regulatorisch Prozesse. Mit hoher Sensitivität und Spezifität, hohem Durchsatz und relativ geringen Kosten ermöglichen transkiptomische Biomarker die frühzeitige Erkennung, beispielweise von Pathologien, auch wenn die RNA nur in geringen Mengen exprimiert ist. Um einen neuen EV miRNA Biomarker zu identifizieren werden nach Etablierung und Evaluation geeigneter Methoden, die miRNA Profile mittels einer Hochdursatzmethode wie beispielsweise Next-Generation Sequencing (NGS) ermittelt und durch eine weitere Methode wie quantitative real-time PCR (RT-qPCR) validiert. Trotz des enormen Fortschritts im Bereich der EV miRNA Biomarkerforschung gibt es aktuell keine spezifischen und validierten Kandidaten, die ein tatsächliches Potenzial für die klinische Anwendung aufweisen. Hierbei spielt der hohe Grad an Variabilität zwischen verschiedenen Laboren eine große Rolle. Dieser wird durch verschiedene Flüssigbiopsien sowie Abnahmemethoden, EV und RNA Isolationsmethoden, Analysegeräte und Verfahren für die Multivariate Datenanalyse herbeigeführt. Daneben ist die Biologie von EV bisher unzureichend erforscht. Aus diesem Grund ist ein Fortschritt in der Standardisierung von EV Untersuchungsmethoden essentiell, um die Wissenslücken zu schließen und diesen innovativen Ansatz für die klinische Anwendung praktikabel zu machen.

Zirkulierende zellfreie microRNAs als vielversprechender Biomarker für die Diagnose der ambulant erworbenen Pneumonie und die Sepsis als Folgeerkrankung

Diagnostic potential of circulating cell-free microRNAs for community-acquired pneumonia and pneumonia-related sepsis.

Stefanie Hermann[1], Florian Brandes[2], Benedikt Kirchner[1], Dominik Buschmann[1], Melanie Borrmann[2], Matthias Klein[3], Stefan Kotschote[4], Michael Bonin[4], Marlene Reithmair[5], Ines Kaufmann[6], 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]Department of Neurology, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University of Munich, Munich, Germany; [4]IMGM Laboratories GmbH, Planegg, Germany; [5]Institute of Human Genetics, University Hospital, Ludwig-Maximilians-University Munich, Munich, Germany; [6]Department of Anesthesia, Klinikum Neuperlach, Munich City Hospitals, Munich, Germany;

Journal of Cellular and Molecular Medicine 2020 (24): 12054–12064

Zellfreie microRNAs (miRNAs) regulieren die Genexpression auf post-transkriptioneller Ebene und sind häufig in Extrazellulären Vesikeln (EV) verpackt. Diese werden beispielsweise während entzündlicher Lungenerkrankungen übertragen, um den Signalaustausch zwischen Zellen zu vermitteln. In unserer Studie wurde die Eignung zellfreier miRNAs als diagnostischer Biomarker für die ambulant erworbene Pneumonie (CAP), sowie die Sepsis als schwere Folgeerkrankung getestet. Es wurden Patienten mit CAP (n=30), Sepsis (n=65) und gesunde Kontrollen untersucht, welche in eine Trainingskohorte (n=67) und eine Bestätigungskohorte (n=75) unterteilt wurden. Nach Präzipitation der EV aus Serum erfolgte die Extraktion der totalen RNA. Anschließend wurde mittels Next-Generation Sequencing das miRNA-Profil für die Trainingskohorte erstellt und durch Multivariate Datenanalyse evaluiert. Eine Subgruppe der dabei ermittelten Biomarkerkandidaten wurde mithilfe von quantitativer real-time PCR (RT-qPCR) technisch in der Trainigskohorte, sowie zusätzlich in der biologisch unabhängigen Bestätigungskohorte validiert. Mittels differentieller Genexpressionsanalyse wurden 29 signifikant regulierte miRNAs für CAP verglichen gegen die Kontrollgruppe, sowie 25 miRNAs für CAP verglichen gegen Sepsis

ermittelt. Basierend auf der Expression von 12 miRNAs konnten die Gruppen durch die sparse partial-least Diskriminanzanalyse aufgetrennt werden. Drei miRNAs erwiesen sich als signifikante Biomarkersignatur. Während die Expression von miR-1246 mit dem Schweregrad der Erkrankung von gesunden Kontrollen, zu CAP und zu Sepsis anstieg, konnten miR-193a-5p und miR-542-3p Patienten mit einer Infektionskrankheit (CAP oder Sepsis) von gesunde Kontrollen unterscheiden. Zellfreie miRNAs sind potenzielle Biomarker für die frühe Diagnose von CAP, sowie die Sepsis als schwere Folgeerkrankung, durch welche frühzeitige Maßnahmen und Behandlungen im Klinikalltag ermöglicht werden könnten.

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 2020 75(2): 346-356

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. 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. 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 Lungen-funktionsparametern von Kindern (FEV1FVC%pred und FEF25-75%pred). Folglich waren geringere EV-miRNA Level in Nasenspülungen von Kinder mit Atemwegs-obstruktionen assoziiert. Mittels der Ingenuity Pathway Analyse (IPA) wurde für die miRNAs eine mögliche Funktion bei der Regulierung der Th2 Polarisation, sowie bei der dendritischen Zellreifung detektiert. 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.

SARS-CoV-2-Infektionen bei ambulanten Krebspatienten - Infizierte Patienten sind meist asymptomatische Träger ohne Einfluss auf die Chemotherapie.

SARS-CoV-2 infections in cancer outpatients – most infected patients are asymptomatic carriers without impact on chemotherapy.

Hempel Louisa; Piehler Armin; Pfaffl Michael W; Molnar Jakob; Kirchner Benedikt; Robert Sebastian; Veloso Julia; Beate Gandorfer; Trepotec Zeljka; Mederle Stefanie; Keim Sabine; Milani Valeria; Ebner Florian; Schwenecker Katrin; Fleischmann Bastian; Kleespies Axel; Scheiber Josef; Hempel Dirk; Zehn Dietmar;

Cancer Medicine 2020 (21): 8020-8028

Onkologische Patienten gelten als der Bevölkerungsteil mit dem höchsten Risiko, einen schweren COVID-19-Verlauf zu entwickeln, da bösartige Erkrankungen und Chemotherapie häufig das Immunsystem schwächen. Angesichts der anhaltenden SARS-CoV-2-Pandemie stellt sich die Frage, wie die einzelnen Patienten mit dieser Infektion umgehen. In der Zeit vom 15. bis 26. April 2020 wurden insgesamt 1227 Patienten in einer von sieben onkologischen Ambulanzen unabhängig von vorhandenen Symptomen unter Verwendung von RT-qPCR auf SARS-CoV-2 getestet. Von 1227 Patienten wurden 78 (6,4%) positiv auf SARS-CoV-2 getestet. Nur einer der positiv getesteten Patienten entwickelte eine schwere Form von COVID-19 mit Lungenentzündung (CURB-65-Score von 2), und zwei Patienten zeigten leichte Symptome. 14 von 75 asymptomatischen, aber positiv getesteten Patienten erhielten eine Chemotherapie oder Chemoimmuntherapie gemäß ihrem regulären Therapiealgorithmus (± 4 Wochen SARS-CoV-2-Test), und 48 von 78 (61,5%) positiv getesteten Patienten erhielten Glukokortikoide als Co-Immuntherapie Medikation. Keiner der asymptomatisch infizierten Patienten zeigte unerwartete Komplikationen aufgrund seiner SARS-CoV-2-Infektion während der Krebsbehandlung. Diese Daten stehen in klarem Gegensatz zu der Ansicht, dass Patienten mit einer onkologischen Erkrankung besonders anfällig für SARS-CoV-2 sind, und legen nahe, dass kompromittierende Therapien trotz der anhaltenden Pandemie fortgesetzt oder begonnen werden könnten. Darüber hinaus zeigt das relativ geringe Auftreten von Symptomen aufgrund von COVID-19 bei Patienten unter Chemotherapie und anderen immunsuppressiven Co-Medikamenten wie Glukokortikoiden, dass die Unterdrückung der Reaktionsfähigkeit des Immunsystems die Schwere der Erkrankung verringert.

Während einer Darmkrebs-Resektion haben Propofol und Sevofluran einen unterschiedlichen Einfluss auf microRNAs in zirkulierenden extrazellulären Vesikeln: Eine Pilotstudie

Propofol and sevoflurane differentially impact microRNAs in circulating extracellular vesicles during colorectal cancer resection: A Pilot Study.

Dominik Buschmann[1], Florian Brandes[2], Anja Lindemann[3], Melanie Maerte[2], Petra Ganschow[2], Alexander Chouker[2], Gustav Schelling[2], Michael W. Pfaffl[1], Marlene Reithmair[3]

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

Anesthesiology 2020, 132(1): 107-120

Im Blut zirkulierende extrazelluläre Vesikel (EVs) und deren miRNA-Cargo sind unter anderem in der Kommunikation von Tumorzellen involviert. Sie könnten dazu beitragen, Effekte, die Narkosemittel auf Krebszellen während Tumorresektionen haben, zu vermitteln.

In dieser Studie wurden EVs in einer prospektiven Pilotstudie mit Darmkrebs-Patienten, die für ihre Resektion entweder mit Propofol (n=8) oder Sevofluran (n=9) anästhesiert wurden, analysiert. Die miRNA-Profile in Serum-EVs wurden vor und nach der Operation per Next-Generation Sequencing aufgeschlüsselt und anschließend per real-time PCR bestätigt. Für beide Narkosemitteln wurden die operationsinduzierten Änderungen im miRNA-Profil auf ihren potentiellen Einfluss auf für das Tumorgeschehen hin untersucht. In beiden Gruppen veränderten sich die miRNA-Profile im Laufe der Operation, wobei für Propofol 64 und für Sevofluran 33 miRNAs signifikante Änderungen aufwiesen. Neben einer überlappenden miRNA-Reaktion in beiden Gruppen waren zusätzlich 36 miRNAs bzw. 5 miRNAs nur durch Propofol bzw. Sevofluran signifikant verändert. Eine Vorhersage der biologischen Funktion dieser miRNA-Regulation deuten darauf hin, dass Propofol einen inhibitorischen Effekt auf krebsassoziierte Signalwege wie Proliferation und Migration sowie einen stimulatorischen Effekt auf die Apoptose von Krebszellen haben könnte. In dieser Pilotstudie konnte erstmals gezeigt werden, dass Narkosemittel spezifische Effekte auf die miRNA-Profile in zirkulierenden EVs haben, was als Basis für größere, mechanistische Studien an Krebspatienten dienen könnte.

Bestrahlung von mono-nukleären Zellen des peripheren Blutes verändert die Komposition und Funktion der von ihnen sekretierten extrazellulären Vesikeln.

Radiation exposure of peripheral mononuclear blood cells alters the composition and function of their extracellular vesicles.

Simone Moertl[1], Dominik Buschmann[2], Omid Azimzadeh[1], Michael Schneider[1], Rosemarie Kell[1], Klaudia Winkler[1], Soile Tapio[1], Sabine Hornhardt[3], Juliane Merl-Pham[4], Michael W. Pfaffl[2], Michael J. Atkinson[1,5]

[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, Freising, Germany; [3]Federal Office for Radiation Protection, 85764 Oberschleißheim, Germany; [4]Helmholtz Zentrum München, German Research Center for Environmental Health, Research Unit Protein Science, München, Germany; [5]Chair of Radiation Biology, TUM, Munich, Germany;

International Journal of Molecular Sciences (2020) 21: 2336

Bei der Strahlenbehandlung von Krebs ist die Toxizität für umliegendes gesundes Gewebe ein ratenlimitierender Faktor. Ein detailliertes Verständnis davon, wie gesundes Gewebe auf Bestrahlung reagiert ist daher notwendig, um das Risiko dieses „bystander effects" vorherzusagen und Strategien für gewebeschonende Strahlentherapie zu entwickeln. Im Blut zirkulierende mononukleäre Zellen (PBMCs) sind der therapeutischen Strahlung besonders ausgesetzt, allerdings ist wenig über die systemischen Effekte von PBMC-Bestrahlung bekannt. In dieser Studie wurde untersucht, ob ionisierende Bestrahlung unterschiedlicher Stärke in der Lage ist, die von PBMCs sekretierten extrazellulären Vesikel (EVs) in ihrer Komposition und Funktion zu verändern. Vollblut von gesunden Spendern wurde mit Röntgenstrahlen in therapeutisch relevanten Dosen von 0, 0.1, 2, oder 6 Gy bestrahlt, und anschließend wurden die EVs von den enthaltenen PBMCs isoliert und deren Proteine und miRNAs analysiert. Wir konnten einen dosisabhängigen Anstieg in der Anzahl der signifikant regulierten Proteine und miRNAs feststellen und eine damit einhergehende Auftrennung von bestrahlten und unbestrahlten Gruppen. Eine Vorhersage der Funktionalität der regulierten Moleküle ergab, dass diese mit Signalwegen wie Apoptose, Zelltod und Überleben assoziiert zu sein scheinen. Epithelzellen nahmen EVs von PBMCs in Kultur auf, wobei Bestrahlung der Donorzellen die Aufnahme deutlich steigerte. Außerdem lösten die EVs von bestrahlten PBMCs einen antiapoptotischen Effekt in Endothelzellen aus. Zusammenfassend konnte

gezeigt werden, dass Bestrahlung die Kommunikation zwischen PBMCs und Endothelzellen verändert, und dass EVs von bestrahlten PBMCs protektive Effekte auf bestrahlten Endothelzellen vermitteln. Diese Erkenntnisse deuten darauf hin, dass EVs ein neuartiges Kommunikationssystem zwischen gesunden bestrahlten Geweben sein, und als Biomarker zur Quantifizierung der Strahlenbelastung dienen könnten.

Neue Erkenntnisse zu microRNAs in der Strahlentherapie bei Bauchspeicheldrüsenkrebs.

The emerging role of miRNAs for the radiation treatment of pancreatic cancer.

Lily Nguyen[1,2], Daniela Schilling[1,2], Sophie Dobiasch[1,2,3], Susanne Raulefs[1,2], Marina Santiago Franco[1], Dominik Buschmann[4], Michael W. Pfaffl[4], Thomas E. Schmid[1,2] and Stephanie E. Combs[1,2,3]

[1]Institute of Radiation Medicine (IRM), Department of Radiation Sciences (DRS), Helmholtz Zentrum München, 85764 Neuherberg, Germany; [2]Department of Radiation Oncology, School of Medicine, Technical University of Munich (TUM), Klinikum rechts der Isar, 81675 Munich, Germany; [3]Deutsches Konsortium für Translationale Krebsforschung (DKTK), Partner Site Munich, 81675 Munich, Germany; [4]Division of Animal Physiology and Immunology, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, TUM, Freising, Germany

Cancers 2020, 12: 3703

Pankreaskrebs ist eine besonders aggressive Krebsart mit hoher Sterblichkeit. Strahlentherapie kann bei Patienten mit lokal fortgeschrittenem, inoperablem Pankreaskrebs eine wertvolle Therapieoption sein. Allerdings ist sie nur bei etwa einem Drittel aller Patienten effektiv, was die Bedeutung von Biomarkern, die das eventuelle Ansprechen auf eine Bestrahlung vorhersagen können, unterstreicht. Für verschiedene Krebsarten, inklusive dem Pankreaskarzinom, sind in den letzten Jahren miRNAs als vielversprechende diagnostische, prädiktive und prognostische Biomarker in den Fokus gerückt. Diese kleinen, nichtkodierenden RNA, welche die Genexpression beeinflussen, weisen außerdem eine hohe Stabilität in Körperflüssigkeiten auf, was sie zu attraktiven, minimal-invasiven Biomarkern macht. Dieser Artikel gibt einen Überblick zu Änderungen der miRNA-Expression durch Bestrahlung und ihrer Assoziation mit Resistenz gegenüber Strahlentherapie und beschreibt, warum im Blut zirkulierende miRNAs in diesem Kontext hilfreiche Biomarker sein könnten.

VI. Immunologie

Vorläufer T-Zellen: Schlüssel zu einer erfolgreichen Immuntherapie?

Precursor exhausted T cells: key to successful immunotherapy?

Kallies A, Zehn D, Utzschneider DT.

Nat Rev Immunol. 2020 20(2): 128-136

Beta zell-spezifische CD8+ T-Zellen erhalten stammzellgedächtnis-assoziierte epigenetische Programme während Typ-1 Diabetes aufrecht.

Beta cell-specific CD8+ T cells maintain stem cell memory-associated epigenetic programs during type 1 diabetes.

Abdelsamed HA, Zebley CC, Nguyen H, Rutishauser RL, Fan Y, Ghoneim HE, Crawford JC, Alfei F, Alli S, Ribeiro SP, Castellaw AH, McGargill MA, Jin H, Boi SK, Speake C, Serti E, Turka LA, Busch ME, Stone M, Deeks SG, Sekaly RP, Zehn D, James EA, Nepom GT, Youngblood B.

Nat Immunol. 2020 21(5): 578-587

Eine Roadmap der „T-Zell Erschöpfung".
Charting the Roadmap of T Cell Exhaustion.
Chu T, Zehn D.
Immunity. 2020 52(5): 724-726

Lymphatische Endothelzellen bereiten naive CD8+ T-Zellen unter stationären Bedingungen in Gedächtniszellen vor.
Lymphatic endothelial cells prime naïve CD8+ T cells into memory cells under steady-state conditions.
Vokali E, Yu SS, Hirosue S, Rinçon-Restrepo M, V Duraes F, Scherer S, Corthésy-Henrioud P, Kilarski WW, Mondino A, Zehn D, Hugues S, Swartz MA.
Nat Commun. 2020 11(1): 538

Die zellinterne adrenerge Signalübertragung steuert die adaptive NK-Zellantwort einer Virusinfektion.
Cell-intrinsic adrenergic signaling controls the adaptive NK cell response to viral infection.
Diaz-Salazar C, Bou-Puerto R, Mujal AM, Lau CM, von Hoesslin M, Zehn D, Sun JC.
J Exp Med. 2020 Apr 6;217(4): e20190549

TOX definiert den Grad der CD8 + T-Zell Dysfunktion in verschiedenen Phasen einer chronischen HBV Infektion.
TOX defines the degree of CD8+ T cell dysfunction in distinct phases of chronic HBV infection.
Heim K, Binder B, Sagar, Wieland D, Hensel N, Llewellyn-Lacey S, Gostick E, Price DA, Emmerich F, Vingerhoet H, Kraft ARM, Cornberg M, Boettler T, Neumann-Haefelin C, Zehn D, Bengsch B, Hofmann M, Thimme R.
Gut. 2020 23: 322404

Eine verringerte mitochondriale Resilienz ermöglicht eine nicht-kanonische Induktion der Apoptose nach TNF-Rezeptorsignalisierung in virusinfizierten Hepatozyten.
Reduced mitochondrial resilience enables non-canonical induction of apoptosis after TNF receptor signaling in virus-infected hepatocytes.
Lampl S, Janas MK, Donakonda S, Brugger M, Lohr K, Schneider A, Manske K, Sperl LE, Kläger S, Küster B, Wettmarshausen J, Müller C, Laschinger M, Hartmann D, Hüser N, Perocchi F, Schmitt-Kopplin P, Hagn F, Zender L, Hornung V, Borner C, Pichlmair A, Kashkar H, Klingenspor M, Prinz M, Schreiner S, Conrad M, Jost PJ, Zischka H, Steiger K, Krönke M, Zehn D, Protzer U, Heikenwälder M, Knolle PA, Wohlleber D.
J Hepatol. 2020 Dec;73(6): 1347-1359

PTPN2-Mangel verbessert die programmierte T-Zell-Expansion und Überlebens-kapazität aktivierter T-Zellen.
PTPN2 Deficiency Enhances Programmed T Cell Expansion and Survival Capacity of Activated T Cells.
Flosbach M, Oberle SG, Scherer S, Zecha J, von Hoesslin M, Wiede F, Chennupati V, Cullen JG, List M, Pauling JK, Baumbach J, Kuster B, Tiganis T, Zehn D.
Cell Rep. 2020 Jul 28;32(4): 107957

Die zwei parallelen Welten der Gedächtnis T-Zellen.
Two parallel worlds of memory T cells.
Chu T, Berner J, Zehn D.
Nat Immunol. 2020 21(12): 1484-1485

Entstehung und Feinabstimmung von Effektor-CD8-T-Zell-Subpopulationen bei chronischen Infektionen.
Origin and fine-tuning of effector CD8 T cell subpopulations in chronic infection.
Kanev K, Zehn D.
Curr Opin Virol. 2020 Oct 30;46: 27-35

Die Dynamik der Corezeptor-LCK Wechselwirkungen während der T-Zell Entwicklung beeinflusst die Selbstreaktivität peripherer CD4 und CD8 T-Zellen.
Dynamics of the Coreceptor-LCK Interactions during T Cell Development Shape the Self-Reactivity of Peripheral CD4 and CD8 T Cells.
Horkova V, Drobek A, Mueller D, Gubser C, Niederlova V, Wyss L, King CG, Zehn D, Stepanek O.
Cell Rep. 2020 Feb 4;30(5): 1504-1514

VII. Sonstige Publikationen

Die Vielfalt der Wasser- und Sedimentmikrobiota als Reaktion auf zeitliche Schwankungen am Auslass des Ibrahim-Flusses im Libanon.
Water and sediment microbiota diversity in response to temporal variation at the outlet of the Ibrahim river, Lebanon.
El Najjar P., Pfaffl M.W., Ouaini N., Abdel Nour A, El Azzi D.
Environmental Monitoring and Assessment (2020) 192: 201-212

Exkursionen

Exkursion zur Besamungsstation der Bayern Genetik GmbH in Grub am 31.01.2020 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Michael Pfaffl und Sabine Farschtschi.

Exkursion zum Milchprüfring Bayern in Wolnzach am 29.01.2020 unter der Leitung von Frau Dr. Heike Kliem.

Exkursion zum Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim am 05.02.2020 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Michael Pfaffl.

Habilitationen, Master- und Bachelorarbeiten

Habilitation

Dr. rer. medic. Stefan Rödiger: externe Habilitation an der Fakultät Umwelt und Naturwissenschaften der BTU Cottbus Senftenberg auf dem Fachgebiet Multiparameterdiagnostik *„Verfahren für die reproduzierbare Detektion und Quantifizierung von Biomarkern"*

Masterarbeiten

Bitzer, Lisa: „Characterization of plasma cell free DNA as earlier diagnostic marker for pancreatic diseases."

Donhauser, Lara: Molekulare Biotechnologie: „Beurteilung des Einflusses von S1PR5 auf die Bildung von Gewebe-residenten T-Zellen während einer chronischen Virusinfektion."

Fischer, Julia: „Auswirkung mitochondrialer Signal- und Stoffwechselwege auf die Aktivierung von dendritischen Zellen und T Zellen."

Gerullis, Ann-Katrin: „Molekulare Biotechnologie: „Charakterisierung von residenten Gedächtnis CD8 T Zellen mit Hilfe eines CD103 basierten Selektionssystems."

Lerch, Carolin: „The Cellular Uptake of Nanoplastics in IPEC-J2 Cells."

Martin, Ina: „Charakterisierung der TOX-DNA-Bindungseigenschaften und funktionellen Konsequenzen in CD4-T-Zellen."

Motyka, Marie: „Der Einfluss von PD-L1 auf die Funktion diverser Neoantigen-spezifischer transgener T-Zellen."

Bachelorarbeit

Lorenz, Andrea, extern Universität Wien: „Transcriptionally enforced differentiation of CD4+ T helper cell subsets."

Vorträge

Pfaffl, Michael W.:

EV based Biomarkers in Liquid Biopsies -- How to optimize EV Purification and Characterisation to identify valid 'Biomarker Signatures' from micro-vesicular small-RNA Sequencing.
23. Januar 2020, Seminar at Chair of Proteomics and Bioanalytics, Freising - Weihenstephan, Germany.

Smart Plastics: Improving qPCR reliability & reproducibility by applying the MIQE guidelines
9. Juni 2020, Eppendorf Webinar via Labroots

Organisation and Moderation of ISEV 2020 Education Day Session.
20. – 22. Juli 2020, ISEV Virtual Annual Meeting 2020

The potential of crude extracellular vesicle microRNAs for the diagnosis of CAP and for the detection of pneumonia-related sepsis as a severe secondary complication.
20. – 22. Juli 2020, Lung EV Session, ISEV Virtual Meeting 2020

Diagnosing SARS-CoV-2 with qPCR.
8. September 2020, The Scientist -- Virtual Symposium

Exosomal Biomarkers in Liquid Biopsies: How to identify valid and better 'Biomarker Signatures' from micro-vesicular small-RNA Sequencing
16. September 2020, EMBL Liquid Biopsy, Virtual Meeting

Gezielte Produktion von Antikörpern aus Kuhmilch als prophylaktischer Antibiotika-Ersatz
18. – 19. November 2020, Ideenbörse Forschung des MIV, Virtual Meeting, Fulda, Germany.

EV associated Biomarkers in Liquid Biopsies -- How to identify valid 'Biomarker Signatures' from EV small RNA Sequencing.
24. November 2020, Deutsches Herzzentrum München (DHM), Klinikum der TU München

Berisha, Bajram:

Evaluation of scientific results and comparison of researchers, based on contemporary bibliometric indicators.
30. April 2020 University College "Iliria", Prishtina, Kosovo.

Kirchner, Benedikt:

miREV - Mining public NGS Data for miRNA References in Extracellular Vesicles.
5. – 6. März 2020, IGLD and GSEV, Frankfurt, Germany

Mining public EV Small RNA-seq data with miREV – Insights into potential reference transcripts and abundant miRNAs.
20. – 22. Juli 2020, ISEV Annual Meeting 2020, Virtual Conference

Mussack, Veronika:

Comparative analysis of differentially isolated urinary extracellular vesicles impacting downstream transcriptomics.
5. – 6. März 2020, IGLD und GSEV, Frankfurt, Deutschland.

Human urinary extracellular vesicles carry surface markers that are indicative of haematopoietic origin.
20. – 22. Juli 2020, ISEV Meeting 2020 – ISEV2020 Abstract Book, Journal of Extracellular Vesicles 2020; Vol. 9, 1784511; p.44.

Kurzfassungen (Abstracts & Proceedings)

Veronika Mussack, Georg Wittmann, Michael W. Pfaffl
Comparing small urinary extracellular vesicle purification methods with a view to RNA sequencing – enabling robust and non-invasive biomarker research.
Application Note by Miltenyi (publication in March/April 2020)

Stefanie Hermann, Florian Brandes, Benedikt Kirchner, Dominik Buschmann, Melanie Borrmann, Matthias Klein, Stefan Kotschote, Michael Bonin, Marlene Reithmair, Gustav Schelling, Michael W. Pfaffl
The potential of crude extracellular vesicle microRNAs for the diagnosis of community-acquired pneumonia and for the detection of pneumonia-related sepsis as a severe secondary complication.
JEV Virtual Meeting ISEV 2020 Abstract Philadelphia, Abstract Book, p47

L. Li, V. Mussack, E. Pepeldjiyska, A. S.Hartz, D. Krämer, A. Rank, C. Schmid, E. Özkaya, S. Ugur, M.W. Pfaffl, H.M. Schmetzer
Role of Exosomes as promotors or biomarkers to study activation of leukemia-derived dendritic cells (DCleu)-mediated antileukemic activation of adaptive and innate immune-reactive cells against AML-blasts.
Virtual Edition of the 46th Annual Meeting of the European Society for Blood and Marrow Transplantation Poster A392, Virtual EBMT 2020

Beggel S, Höss S, Geist J, Haegerbaeumer A, Imhof H, Laforsch C, Pfaffl MW, Wendt-Potthoff K
Minimum reporting criteria for microplastic ecotoxicity testing – do we meet our own prerequisites?
SETAC Tagung 2020

Veronika Mussack and Michael W. Pfaffl
Human urinary extracellular vesicles carry surface markers that are indicative of hematopoietic origin.
JEV Virtual Meeting ISEV 2020 Abstract Philadelphia, Abstract Book, p44

Benedikt Kirchner, Alex Hildebrandt, Esther Nolte-'t Hoen, Michael W. Pfaffl (2020)
Mining public EV Small RNA-seq data with miREV – Insights into potential reference transcripts and abundant miRNAs.
JEV Virtual Meeting ISEV 2020 Abstract Philadelphia, Abstract Book, p59

Sabine Farschtschi, Alex Hildebrandt, Michael W. Pfaffl
Development of a high-resolution and automated differential cell count (DCC) method in bovine blood and milk to evaluate dairy health.
31st World Buiatrics Congress Madrid 2020

L. Li, V. Mussack, E. Pepeldjiyska, A. S. Hartz, D. Krämer, A. Rank, C. Schmid, E. Özkaya, S. Ugur, M.W. Pfaffl, H.M. Schmetzer
Role of Exosomes as promotors or biomarkers to study activation of leukemia-derived dendritic cells (DCleu)-mediated antileukemic activation of adaptive and innate immune-reactive cells against AML-blasts.
European Journal of Cancer 2020

L. Li, V. Mussack, E. Pepeldjiyska, A.S. Hartz, D. Krämer, A. Rank, C. Schmid, E. Özkaya, S. Ugur, M.W. Pfaffl, H.M. Schmetzer
Role of Exosomes as promotors or biomarkers to study activation of leukemia-derived dendritic cells (DCleu)-mediated antileukemic activation of adaptive and innate immune-reactive cells against AML-blasts.
ITOC -- LMU Conference 2020

Florian Brandes, Agnes S. Meidert, Dominik Buschmann, Anja Lindemann, Jean-Noël Billaud, Stefanie Hermann, Benedikt Kirchner, Matthias Klein, Marlene Reithmair, Michael W. Pfaffl, Gustav Schelling, Ines Kaufmann
Progranulin is part of a molecular signaling network in COVID-19 pneumonia and could serve as a novel diagnostic marker for SARS-CoV-2 infection.
Kongress der deutschen interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedivin (DIVI)

Agnes S. Meidert, Stefanie Hermann, Florian Brandes, Benedikt Kirchner, Dominik Buschmann, Jean-Noël Billaud, Matthias Klein, Anja Lindemann, Marlene Reithmair, Michael W. Pfaffl, Gustav Schelling
Cell-free miRNAs in precipitated extracellular vesicle preparations regulate signaling pathways involved in COVID-19 pneumonia and the progression to ARDS.
20. Kongress der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin, DIVI20 Virtuell, Abstract Nr. 132

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
Technische Mitarbeiter:	Celler Inge	-5563
	Angela Felsl	-2191
	Angela Kempe (Teilzeit)	-5566
	Lisa Köberl	-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
  - **o** Identifizierung von Bakterien und Hefen mittels FTIR-Spektroskopie oder molekularbiologischen Methoden
  - **o** 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-Amplikonsequenzierung im Hochdurchsatz erfasst und Einflussfaktoren, wie z.B. konventionelle vs. organische Herstellungsweise, geographische Lage, Herdengröße oder Melksystem evaluiert. Darüber hinaus werden passgenaue Schnellnachweismethoden für hygienische relevante (Verderbs-) Mikroorganismen aus der Rohmilch entwickelt.

Biodiversitätsanalyse süddeutscher Rohmilch und Determinierung hofseitiger Einflussfaktoren per Amplikon-Sequenzierung

Analysis of raw milk microbiota across southern Germany and analysis of farm-specific influences using amplicon sequencing

Annemarie Siebert

Die in den letzten Jahren aufgekommene Hochdurchsatzsequenzierung erleichterte zweifelsfrei die Charakterisierung der Zusammensetzung komplexer mikrobieller Gemeinschaften von Rohmilch, welche einen entscheidenden Einfluss auf die Qualität der resultierenden Milchprodukte hat. Die 16S rDNA (Amplikon-) Sequenzierung diente im Rahmen dieses Projektes zur Biodiversitätsanalyse süddeutscher Rohmilch sowie zur Aufdeckung hofseitiger Einflussfaktoren (Bsp. Melksystem) auf die Mikrobiota frischer Rohmilch.

Für die Erhebung der Mikrobiomdaten wurden zunächst von Juni 2019 bis Mai 2020 436 Rohmilchproben von insgesamt 103 süddeutschen Erzeugerhöfen untersucht. Dabei demonstrierten die erfassten Mikrobiomdaten eine ausgesprochen hohe Biodiversität mit mehr als 300 unterschiedlichen Gattungen. Mit einer relativen Abundanz < 0,1 % wurden 326 Taxa nur in Spuren detektiert (Abb. 1). Somit setzte sich ein Großteil der taxonomischen Diversität aus seltenen Gattungen zusammen, die insgesamt einen geringen Anteil zum Gesamtmikrobiom beitrugen. Bei der Auswertung aller zugeordneten 16S rDNA Sequenzen wurden 6 verschiedene Gram-positive Gattungen mit einer relativen Abundanz von > 4 % ermittelt, wovon *Corynebacterium* spp. und *Streptococcus* spp. einen Anteil von ca. einem Drittel ausmachten. Die in diesem Datensatz analysierten Gram-positiven, mesophilen Gattungen sind Kommensale einer gesunden Euterflora was deren Dominanz in frisch ermolkener Rohmilch erklärt. Die höchsten Anteile

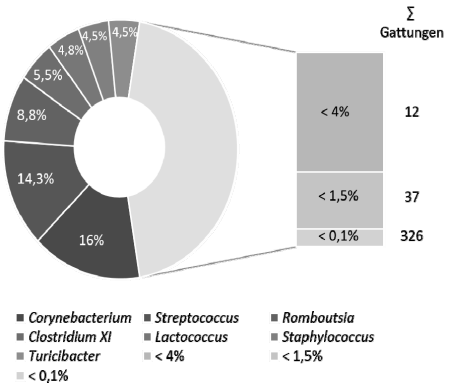


Abb. 1: Verteilung der relativen Abundanzen der zugeordneten 16S rDNA Sequenzen auf Gattungsebene von süddeutscher Rohmilch (n=436). Das Kreisdiagramm zeigt die Gattungen mit der höchsten Abundanz (> 4 %).

Gram-negativer Bakterien wurden durch die Gattungen *Pseudomonas* spp. und *Acinetobacter* spp. mit einer deutlich geringeren relativen Abundanz von 3,1 % und 2,5 % repräsentiert. Da psychrotolerante Spezies dieser Gattungen bei niedrigen Temperaturen wachsen, können sie jedoch in kühl gelagerter Rohmilch an Bedeutung gewinnen. Schließlich lässt sich die enorm diverse Zusammensetzung der Mikrobiota von im gesunden Euter nahezu steriler Rochmilch durch Kontaminationen während des Melkens, der Lagerung und des Transports erklären.

Mittels alpha-Diversitätsanalyse wurden Operational Taxonomic Units (OTUs) innerhalb der Rohmilchproben untersucht, wobei die Spezies Richness die Anzahl der verschiedenen OTUs aufzeigt und der Shannon.Effective zusätzlich die Verteilung der Abundanzen einzelner OTUs berücksichtigt. Mit ermittelten Werten zwischen 76 und 965 verdeutlichte die Richness die sehr heterogene Verteilung der Spezieszusammensetzung und die damit verbundenen Schwankungen der Rohmilchqualität (Abb. 2). Das Melksystem gilt als ein wesentlicher Einflussfaktor für die mikrobiologische Qualität von Rohmilch. In Süddeutschland gibt es drei gängige Melksysteme: Melkstand, Melkroboter und Rohrmelkanlage. Tatsächlich wurde auch in den 436 Rohmilchproben dieser Studie ein signifikanter Einfluss des Melksystems auf die Rohmilchmikrobiota festgestellt. Während die höchsten Richness Werte mit > 900 unter Verwendung des manuellen Melksystems detektiert wurden, zeigten die Proben des Melkroboters in der Gesamtheit eine niedrigere Streuung der Werte mit einer signifikant reduzierten, medianen Richness. Dieser Trend ist auch in den Ergebnissen des Shannon.Effective zu beobachten, bei dem eine ungleichmäßigere Verteilung der Taxa nach Verwendung des Melkroboters und der Rohrmelkanlage beobachtet wurde.

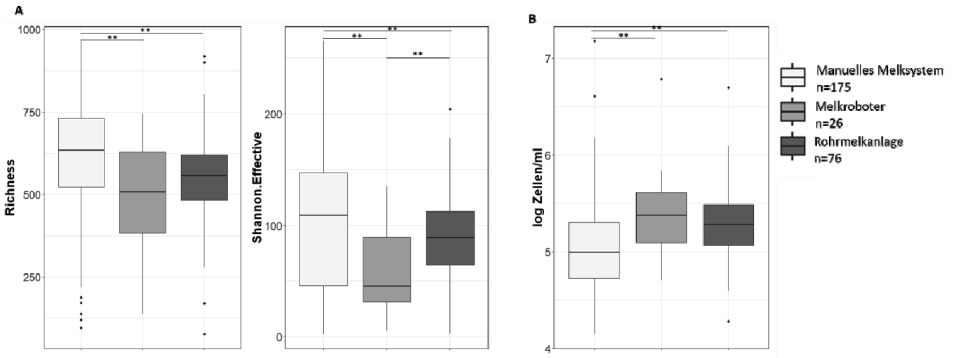


Abb. 2: Alpha-Diversität (A) und Zellzahlen (log Zellen/ml) (B) süddeutscher Rohmilch in Abhängigkeit des Melksystems. Signifikante Unterschiede mit $**p<0.01$.

Neben dem Mikrobiom wurde mittels Durchflusszytometrie die Keimzahl aller Rohmilchproben bestimmt (Abb. 2). Insgesamt betrug der Median 5,1 log Zellen/mL. Mit deutlichen Ausreißern von 4,1-7,2 log Zellen/mL wurde eine enorme Streuung der Milchqualität festgestellt. Betrachtet man die Zellzahlen im Zusammenhang mit den Melksystemen, ergibt sich bei dem Melkroboter im Median der signifikant höchste Wert mit 5,4 log Zellen/ml und einer geringeren Varianz zwischen den Rohmilchproben.

Aus der reduzierten Biodiversität mit gleichzeitig höheren Zellzahlen lässt sich ableiten, dass in den Rohmilchproben aus Melkrobotern zwar eine geringere Anzahl an unterschiedlichen Spezies vorkommt, diese jedoch in höheren Zahlen auftreten. Da neben dem Melksystem weitere hofseitige Faktoren bzw. deren Kombination die Ursache dafür sein könnten, kann noch kein finaler Rückschluss bezüglich des Melksystems als alleiniger Einflussfaktor gezogen

werden. Da Melkroboter erst mit einem größeren Tierbestand wirtschaftlich rentabel werden, könnte die resultierende Diversität auch mit der Herdengröße assoziiert sein. Beispielsweise steigt mit der Größe der Herde auch die Wahrscheinlichkeit der Verbreitung von Krankheitserregern. Ein steigender Invasionsdruck einzelner bakterieller Spezies kann zu einem Ungleichgewicht im Euter führen, indem diese die Kommensale der Mikrobiota überwachsen und schließlich dominieren. Zudem erfolgt die Kontamination der Milch nicht nur während des Melkvorgangs, weshalb auch weitere Faktoren wie z.B. die Produktionsweise (biologisch vs. konventionell), die Tierhaltung mit und ohne Weidegang oder auch die Lagerdauer der Milch bis zur Abholung durch die Molkerei die Zusammensetzung der Mikrobiota beeinflussen können. Deshalb sind im weiteren Verlauf des Projektes Korrelationsanalysen geplant, um die Abhängigkeit einzelner hofseitigen Faktoren und deren Effekt auf die Biodiversität und die Abundanz sowie Prävalenz von Hygieneindikatoren und Verderbskeimen aufzudecken.

Das Forschungsvorhaben (281A105516) wird vom Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft gefördert.

Arbeitsgruppe: Hitzeresistente Sporenbildner

Gruppenleiter: Siegfried Scherer

Reduktion thermophiler Sporenbildner in Konzentraten zur Herstellung von Milch- und Molkenpulvern – Bedeutung von thermisch-induzierter Foulingschicht und Anlagenreinigung

Reduction of thermophilic spore formers in concentrates for the production of milk and whey powders – Thermally-induced fouling layers and cleaning of plant devices

Anna Dettling und Mareike Wenning (TU München)
Caroline Wedel und Jörg Hinrichs (Universität Hohenheim)

Die mikrobiologischen Anforderungen des Markts an pulverförmige Milchprodukte sind sehr hoch. Insbesondere hinsichtlich thermophiler Sporenbildner sind Strategien gefordert, diese im Endprodukt zu reduzieren. Im Rahmen einer Kooperation mit Prof. Dr. Jörg Hinrichs von der Universität Hohenheim (FEI/AiF, Projekt AiF 19825 N wurde der Einfluss der Reinigung auf das Überleben und die Persistenz dieser Mikroorganismen untersucht.

Zunächst wurde die Resistenz ausgewählter thermophiler Sporenbilnder auf eine simulierte CIP-Reinigung untersucht. Dazu wurden 11 Isolate einer Behandlung mit NaOH und HNO_3 bei 65 °C für 10 Minuten unterzogen. Es wurden drei praxisübliche Konzentrationen (0,5; 1 und 2 %) ausgewählt. Für Lauge zeigte sich, dass thermophile Sporen eine hohe Resistenz dafür besitzen. Auch bei einer Konzentration von 2 % konnten noch 8 der 11 Isolate überleben. Eine Säurebehandlung erwies sich als sporozider. Bereits bei der geringsten Konzentration von 0,5 % wurden 8 Isolate unter das Detektionslimit inaktiviert. Für zwei ausgewählte thermophile Sporenbilder wurde eine detaillierte Absterbekinetik unter thermisch-alkalisch bzw. -sauren Bedingungen durchgeführt. Die formal-kinetischen Parameter wurden bestimmt und eine nicht log-lineare Abnahme beobachtet.

In einem weiteren Schritt wurden ind er Arbeitsgruppe von Prof Hinrichs der Einfluss der thermisch-induzierten Foulingschicht auf das Überleben thermophiler Sporen untersucht. Dazu wurde ein experimentelles Set-up entwickelt, das es erlaubt, eine Foulingschicht unter Technikumsbedingungen zu erzeugen und in diese Schicht thermophile Sporen zu inkorporieren. Im Anschluss wurde untersucht, ob die Foulingschicht eine Schutzfunktion bei einer Reinigung bietet. Es konnte gezeigt werden, dass Sporen, die in einer hitzeinduzierten

Foulingschicht eingeschlossen sind, sowohl alkalische als auch saure Reingungsbedingungen überstehen. Auch vor desinfizierenden Bedingungen werden sie geschützt. Weiterhin wurde in einem Experiment bestätigt, dass die Sporen aus der Foulingschicht in den Produktstrom übergehen können.

Vorangegangene Studien zeigten, dass die in Milch- und Molkepulver enthaltenen hohen Zahlen an thermophilen Sporen nicht primär durch deren Eintrag aus der Rohmilch bedingt sind. Vielmehr werden z.T. in frühen Prozessschritten gebildete Sporen bis ins Endprodukt Pulver und auch weiter in nachfolgende Produktionschargen transmittiert. In Anlagen persistierende Bakterienstämme wurden für 8 Produktionslinien nachgewiesen. Unabhängig vom Produkttyp (u.a. Milchpulver, Molkepulver, MPC50) wurden bis zu 10 verschiedene Stämme für eine Produktionslinie über einen Zeitraum von mindestens 1,5 bis maximal 6 Monate wiederholt gefunden. Zusammen mit Isolaten aus dem Vorgängerprojekt wurde die Wiederfindung sogar auf bis zu 2 Jahre ausgeweitet. Diese Stämme überdauern also die angewandten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen und können in folgenden Produktionschargen erneut im Produktstrom hochwachsen. Das Phänomen persistierender thermophiler Sporenbildner ist sehr weit verbreitet.

Der Effekt von angepassten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen wurde von der Arbeitsgruppe von Prof Hinrichs beispielhaft in Eindampferanlagen von 2 Unternehmen untersucht. In Unternehmen 1 wurde ein starkes Anwachsen thermophiler Sporen in den ersten Anwärmschritten nachgewiesen. Zudem war gegen Ende der Prozesszeit im Bereitstellungstank und in der zugegebenen Buttermilch eine große Sporenfracht $>10^3$ Sporen/mL enthalten. Die hohe Sporenzahl von bis zu 10^5 Sporen/mL im finalen Konzentrat konnten auf durch die Bereitstellungs- und Buttermilch eingetragenen Bakterienstämme zurückführt werden. Durch eine intensivierte Reinigung und einmalige Desinfektion konnte das Sporenniveau im Konzentrat nicht gesenkt werden. In Unternehmen 2 zeigte sich ein Anstieg der Sporenzahlen während der Eindampfung, der auch nach einer intensivierten Reinigung und Desinfektion beobachtbar war.

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.

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 Rohmilch darstellt und zudem über die höchste proteolytische Aktivität verfügt. Aktuelle Forschungsarbeiten beschäftigen sich mit der Analyse von Haupteintragsrouten und hofseitigen Einflussfaktoren, die zu hohen *Pseudomonas* Keimzahlen in Rohmilch führen. Ein weiterer Forschungsschwerpunkt liegt auf der Aufklärung der Regulation der Peptidaseproduktion und der Entwicklung eines qPCR-Nachweissystems für Milch-relevanten *Pseudomonas* Spezies.

Analyse potentieller Eintrittsrouten von *Pseudomonas* in die Rohmilch auf Erzeugerbetrieben

Analysis of potential entry routes of Pseudomonas into the raw milk on farms

Katharina Hofmann

Auf Grund der psychrotoleranten Eigenschaften von *Pseudomonas* sowie des hohen Nährstoffangebotes bietet gekühlte Rohmilch ideale Wachstumsbedingungen. Eine verlängerte Rohmilchstapelung ist daher ein wichtiger Faktor, der zu erhöhten *Pseudomonas*-Keimzahlen führen kann. Jedoch zeigten frühere Studien der Abteilung Mikrobiologie des ZIEL, dass Rohmilch unabhängig vom Alter sowohl hohe als auch niedrige Werte an *Pseudomonas* haben kann und somit eine Verkürzung der Lagerdauer nicht zwangsläufig zu einer Reduktion der *Pseudomonas*-Keimzahlen führt. Aus diesem Grund muss auch der initiale Eintrag von *Pseudomonas* in die Milch beim Erzeuger von Bedeutung sein.

Ziel dieses Projektes war daher die Identifikation potentieller Eintrittsrouten von *Pseudomonas* auf Erzeugerbetrieben. Hierzu wurden vier Höfe ausgewählt, die in ihrer Tankmilch wiederholt hohe *Pseudomonas*-Keimzahlen über log 4 cfu*ml^{-1} aufwiesen und deshalb im Folgenden als „*Pseudomonas*-auffällige“ Höfe bezeichnet werden. Zudem wurden vier „*Pseudomonas*-unauffällige“ Höfe beprobt, deren Milch nur gering (< log 2 cfu*ml^{-1}) belastet war. Das Melksystem wurde an mehreren Stellen mit Tupfern beprobt, Wasser- und Rohmilchproben entnommen sowie der Milchfilter vom letzten Melkprozess. Mithilfe eines Luftkeimsammlers wurden zudem verschiedene Luftvolumina beprobt. Von allen Proben wurde die Gesamtkeimzahl auf Vollmedium sowie die *Pseudomonas*-spezifische Keimzahl auf Selektivagar ermittelt.

Tabelle 1 zeigt die logarithmische *Pseudomonas*-Keimzahl der einzelnen Probenahmestellen in Form einer Heatmap (hellgrau = < log 2 cfu*ml^{-1}, mittelgrau = log 2 – log 4 cfu*ml^{-1}, dunkelgrau = > log 4 cfu*ml^{-1}). Es zeigte sich, dass die *Pseudomonas*-unauffälligen Höfe nicht frei von diesem Keim waren. Allerdings wiesen die *Pseudomonas*-auffälligen Höfe eine stärkere Konzentration belasteter Probenahmestellen im Bereich Melksystem und Melkgeschirr auf. Zudem konnten folgende Stellen als häufig belastet identifiziert werden: der Zapfhahn am Rohmilchtank, die Halterung für das Rohr für die Milchzufuhr in den Tank während des Melkens, der Zulauf zum Milchabscheider, der Milchfilter nach dem Melken, die Dichtung des Schauglases am Melkgeschirr sowie die Halterung der Zitzenbecher. Keine Pseudomonaden konnten an der Innenseite des Rohmilchtanks detektiert werden sowie in den meisten Wasserproben. Allerdings wiesen Hof 3 und 4 im Nachspülwasser der Reinigung des Melksystems noch *Pseudomonas*-Keimzahlen von ca. log 3 cfu*ml^{-1} auf. Dies könnte ein Hinweis auf eine ineffektive Reinigung sein, z.B. durch zu niedrige Temperatur oder Reinigungsmittelkonzen-tration. Insgesamt konnten keine Stellen identifiziert werden, die ausschließlich bei den *Pseudomonas*-auffälligen Höfen belastet waren. Da jeder Hof ein individuelles Muster an belasteten Stellen aufwies, ist es naheliegend, dass auch die Eintragsrouten hofspezifisch sind. Vermutlich spielen insbesondere Bereiche eine Rolle, die schwer von der automatischen Reinigung erfasst werden, wie z.B. die Halterung des Rohrs für die Milchzufuhr in den Tank oder die Dichtung des Schauglases im Melkgeschirr.

Tabelle 1: Logarithmische *Pseudomonas*-Keimzahlen ausgewählter Probenahmestellen der analysierten Höfe. Hof 1-4 = *Pseudomonas*-auffällig in Rohmilchproben des Hoftanks (> log 4 cfu*ml^{-1}), Hof 5-8 = *Pseudomonas*-unauffällig (< log 2 cfu*ml^{-1}). Die Keimzahlen beziehen sich auf 1 ml Wasser, Rohmilch, bzw. der Flüssigkeit, in die der Tupfer ausgewrungen wurde. Hellgrau = < log 2 cfu*ml^{-1}; mittelgrau = log 2 – log 4 cfu*ml^{-1}; dunkelgrau = > log 4 cfu*ml^{-1}; NA = keine Probenahme möglich; RM = Rohrmelkanlage; MM = Manueller Melkstand; MR = Melkroboter

	Logarithmische *Pseudomonas*-Keimzahl								
		***Pseudomonas*-auffällig**				***Pseudomonas*-unauffällig**			
	Hofnummer	**Hof 1**	**Hof 2**	**Hof 3**	**Hof 4**	**Hof 5**	**Hof 6**	**Hof 7**	**Hof 8**
	Melksystem	**RM**	**MM**	**RM**	**MM**	**RM**	**MM**	**MR**	**MM**
	Rohmilch	1.00	2.86	3.26	3.30	2.89	2.52	1.18	2.52
Rohmilch-tank	Zapfhahn	6.18	4.63	2.94	7.70	3.00	5.60	2.30	1.00
	Deckel Zapfhahn	NA	NA	5.21	NA	NA	NA	6.85	4.14
	Innenseite Tank	NA	NA	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	Tankdeckel	1.00	5.74	1.56	1.00	3.10	4.97	1.00	2.75
	Gummidichtung Tankdeckel	1.48	5.70	NA	3.39	3.55	2.95	3.54	3.28
	Öffnung Entlüftung	4.68	NA	2.83	NA	1.00	1.00	2.18	NA
	Entlüftungsdeckel	NA	5.97	1.00	1.00	4.34	1.00	1.00	NA
Melk-system	Rohr Milchzufuhr	1.00	4.79	2.32	3.89	3.78	1.78	1.00	2.49
	Halterung für Rohr Milchzufuhr	5.00	4.26	4.71	4.81	5.70	1.95	NA	5.48
	Milchabscheider	3.36	1.00	4.96	3.89	3.60	1.30	NA	1.00
	Zulauf Milchabscheider	NA	1.00	4.68	4.62	NA	3.17	1.00	1.00
	Milchfilter nach Melken	5.72	2.30	6.35	NA	5.54	5.17	2.78	5.19
	Halterung Milchfilter	1.00	NA	5.47	2.92	2.87	1.30	1.00	2.28
Melk-geschirr	Schauglas	NA	NA	2.36	4.16	1.00	2.08	NA	1.30
	Dichtung Schauglas	5.48	5.93	5.15	4.02	NA	4.44	NA	4.79
	Zitzenbecher	1.00	1.86	2.53	3.79	4.74	1.00	1.00	NA
	Halterung Zitzenbecher	2.00	1.86	6.70	4.00	5.00	3.25	1.00	4.17
Wasser-proben	Kaltwasser Melksystemreinigung	2.00	NA	1.00	1.00	2.13	1.00	1.00	1.00
	Warmwasser Melksystemreinigung	1.00	NA	NA	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
	Kaltwasser Tankreinigung	1.00	1.00	NA	NA	1.00	NA	NA	1.00
	Warmwasser Tankreinigung	1.00	1.00	NA	NA	1.00	NA	NA	1.00
	Wasser Nachspülung	1.00	1.00	2.72	3.22	NA	1.00	NA	1.00

Neben den in der Tabelle gezeigten Proben wurde die Luft am Ort des Melkens mit einem Luftkeimsammler beprobt. Abb. 1 zeigt die logarithmischen Gesamt- und *Pseudo-monas*-Keimzahlen pro 10 l Luft von Hof 3-8. Während sich die Gesamtkeimzahlen zwischen log 2.0 und log 3.6 cfu*10 l^{-1} bewegten, konnte *Pseudomonas* nur in drei von sieben Höfen mit einer maximalen Keimzahl von log 1.4 cfu*10 l^{-1} bei Hof 5 nachgewiesen werden. Zudem wurden keine erhöhten Werte bei den *Pseudomonas*-auffälligen Höfen im Vergleich zu den *Pseudomonas*-unauffälligen gefunden. Aus diesen Gründen wird der Eintrag über die Luft als nicht relevant eingeschätzt.

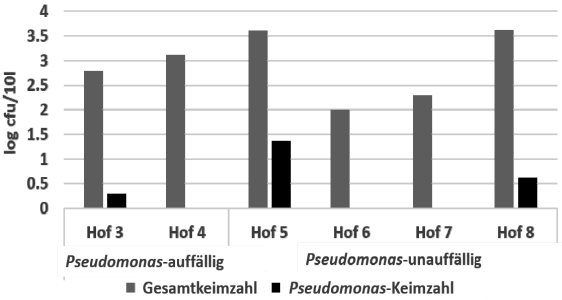


Abb. 1: Logarithmische Gesamt- und *Pseudomonas*-Keimzahlen in 10 l Stallluft. Die Proben wurden mithilfe eines Luftkeimsammlers in unmittelbarer Nähe zum Ort des Melkens genommen.

Zusammenfassend betrachtet ergaben die Hofbeprobungen individuelle Muster von mit *Pseudomonas* belasteten Proben je Hof. Insbesondere waren Stellen auffallend, die schwer von der automatischen Reinigung erfasst werden, wie z.B. Gummidichtungen. Insgesamt waren die *Pseudomonas*-auffälligen Höfe im Bereich Melksystem und Melkgeschirr stärker belastet als die *Pseudomonas*-unauffälligen Höfe.

Zudem könnten Mängel bei der Reinigung wie eine zu geringe Reinigungstemperatur problematisch sein. Der Eintrag über Wasser oder Luft ist unwahrscheinlich.

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

Einige, aus Rohmilch isolierte *Pseudomonas* Arten sekretierten nur eine Peptidase, die alkalische Metallopeptidase AprX. Das *aprX*-Gen ist in einem Operon lokalisiert, das je nach Spezies weitere Gene enthält, z.B. Gene für einen Proteaseinhibitor *(inh* bzw. *aprI*), ein Typ I Sekretionssystem (*aprDEF*), zwei putative Autotransporter mit Homologien zu Serinproteasen (*prtAB*) und eine Lipase (*lipA2*). Abbildung 1 zeigt schematisch den genetischen Aufbau dieses Genclusters für die Spezies *Pseudomonas fluorescens*, bei der das Operon erstmalig beschrieben wurde (siehe Abb. 1).

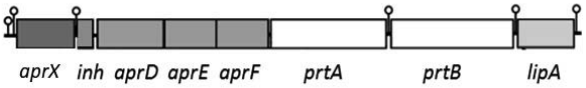


Abb. 1: Struktur des *aprX-lipA2* Operons in *P. fluorescens* (modifiziert nach Woods et al., 2001).

Das *aprX-lipA2* Operon besteht aus einem konservierten (*aprXIDEF*) und eine variablen (*prtAB lipA2*) Teil. Dabei ist vor allem die Genzusammensetzung des variablen Teils spezies- und z.T. stammspezifisch. Beispielsweise ist in Vertretern der Spezies *P. proteolytica* sowohl *prtAB* als auch *lipA2* vorhanden, wohingegen in *P. fragi* die *prtAB* Gene fehlen. Es wurde bereits eine Korrelation zwischen fehlendem *prtAB* und einer stark reduzierten, proteolytischen Aktivität gezeigt (Maier et al., 2020). Um weitere Erkenntnisse bezüglich zugrundeliegender Regulationsmechanismen zu gewinnen, wurden von einem *P. proteolytica* Stamm Deletionsmutanten bezüglich der Operongene *aprX, prtAB* und *lipA2* hergestellt. Diese wurden bei zwei verschiedenen Temperaturen (12 °C und 30 °C) in H-Milch (1.5 % Fett) kultiviert und hinsichtlich Wachstum, proteolytischer Aktivität und *aprX*- Transkription charakterisiert.

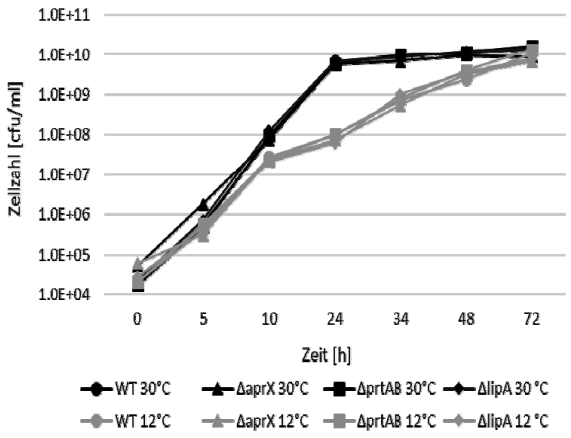


Abb 2: Wachstumskurven von *P. proteolytica* WT und verschiedenen Deletionsmutanten nach 24-, 48- und 72- stündiger Kultivierung in H-Milch bei 12 °C und 30 °C.

Wie in Abb. 2 erkennbar, unterschied sich das Wachstums-verhalten der verschiedenen Deletions-mutanten nicht von dem des Wildtyps (WT). Insgesamt war das Wachstum aller Stämme bei 30 °C im Vergleich zu 12 °C stark erhöht, was aufgrund der für *Pseudomonas* optimalen Wachstumstemperatur von 25 °C – 28 °C zu erwarten war. Um die Peptidaseaktivität der Stämme zu untersuchen, wurden die Zellen nach 24, 48 und 72 Stunden abzentrifugiert und die proteolytische Aktivität im Überstand mittels colorimetrischem Azocasein Assay bestimmt.

Für die Δ*aprX* Mutante konnte keine proteolytische Aktivität detektiert werden (Abb. 3), was die Annahme, dass AprX die einzige sekretierte caseinolytische Peptidase in dieser Spezies ist, bestätigt. Für die übrigen drei Stämme (WT, Δ*prtAB und* Δ*lipA2)* fiel die proteolytische Aktivität bei 12 °C deutlich höher aus als bei 30 °C. Auch die Transkriptionsanalyse mittels RT-qPCR zeigte, dass die *aprX*- Transkriptmengen bei 12 °C höher sind als bei 30 °C (Abb. 3), woraus geschlossen werden kann, dass die erhöhte Peptidaseproduktion bei niedrigeren Temperaturen (12 °C) zumindest teilweise auf transkriptioneller oder post-transkriptioneller Ebene reguliert wird.

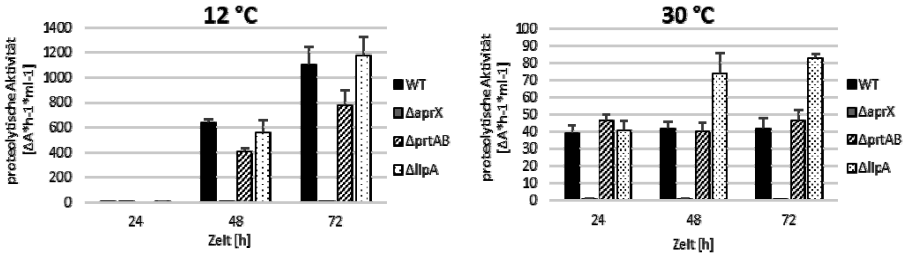


Abb. 3: Proteolytische Aktivität von *P. proteolytica* WT und verschiedenen Deletionsmutanten nach 24-, 48- und 72- stündiger Kultivierung in H-Milch bei 12 °C und 30 °C.

Im Vergleich zum WT zeigte die Δ*prtAB* Mutante bei 12 °C eine reduzierte proteolytische Aktivität nach 48 - und 72 stündiger Kultivierung (Abb. 3). Dies deutet auf einen möglichen Einfluss der PrtAB-Proteine, deren Funktion bislang ungeklärt ist, auf die Peptidaseproduktion hin. Bei den *aprX*- Transkriptionsstudien konnte dieser hemmende Effekt durch die *prtAB*-Deletion allerdings nur nach 72 h und nicht nach 48 h gesehen werden (Abb. 4), was nahelegt, dass auch post-transkriptionelle Regulationsmechanismen eine Rolle spielen könnten.

Für die Δ*lipA2* Mutante ergaben sich dagegen bei 12 °C- Kultvierung kaum Abweichungen zum Wildtyp, während bei 30 °C eine erhöhte Peptidaseaktivität und auch größere *aprX*-Transkriptmengen feststellbar waren. Bei höheren Temperaturen (30 °C) könnte die mRNA-Stabilität bzw. Halbwertzeit entscheidend sein, die in der Δ*lipA2* Mutante durch das Entfernen des Lipasegens, welches am Operonende lokalisiert ist, evtl. erhöht wurde. Der nächste Schritt wäre daher die Herstellung von Komplementationsmutanten, um zu prüfen, ob die beobachteten Effekte tatsächlich auf die Wirkung der deletierten Genprodukte oder auf „Mutationsartefakte“ zurückzuführen sind.

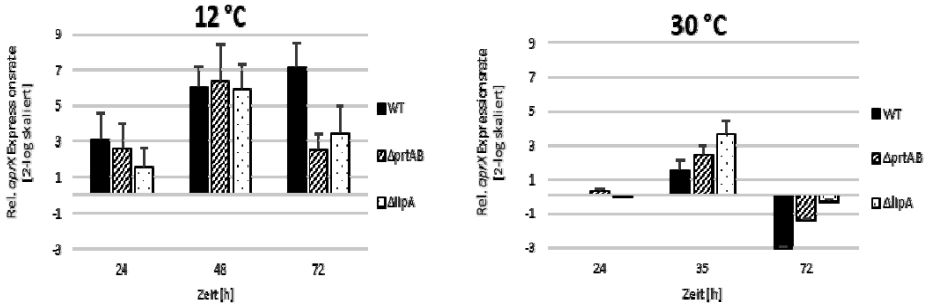


Abb. 4: Relative *aprX*- Transkriptionslevel von *P. proteolytica* WT und Deletionsmutanten in H-Milch bei 12 °C und 30°C Kultivierungstemperaturen an drei verschiedenen Zeitpunkten.

Um die komplexe Regulation der AprX Proteinbiosynthese aufzuklären und die Wirkmechanismen von den beteiligten extrinsischen und intrinsischen Faktoren zu verstehen, bedarf es umfassender, weiterer Studien, wie z.B. total RNA-Seq und AprX-Quantifizierungsversuche. Mit solchen Erkenntnissen könnten zukünftig genauere Vorhersagen über die mögliche Peptidasebelastung durch *Pseudomonas* in Dauermilchprodukte getroffen werden oder evtl. gezielte Maßnahmen zur Minimierung der Peptidasebildung in Rohmilch eingeleitet werden.

Dieses Vorhaben wurde 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 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.

Mit der Verabschiedung von Prof. Scherer in den Ruhestand zum 31.03.2021 wurde die Stammsammlung an PD Dr. Klaus Neuhaus, Leiter der Core Facility Microbiom des ZIEL, übertragen

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 einer neuen, bakteriellen Gattung aus Rohmilch

Description of novel, bacterial genus from raw 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. Im Zuge besonders tiefreichender Biodiversitätsansätze wurden aus einzelnen Proben 500-1500 Reinkulturen gewonnen und dabei auch extrem seltene Bakterienstämme detektiert. Unter 4000 Isolaten aus vier Rohmilchproben waren dabei 71 potenziell neue Spezies und sogar 10 potenziell neue Gattungen vertreten.

Aus dieser Vielzahl unbekannter Taxa wurde eine Gattung der Familie *Propionibacteriaceae* für die formelle Beschreibung ausgewählt. Die Charakterisierung erfolgte im polyphasischen Ansatz, d.h. es wurden 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.

Beschreibung neuer, bakterieller Taxa aus Rohmilch und Milchprodukten

***Brevilactibacter flavus* gen. nov. sp. nov.**

Namensgebung: kurzes, aus der Milch isoliertes Stäbchen mit goldgelber Koloniefarbe (*brevis*: kurz; *lactis*: Milch; *bacter*: Stäbchen; *flavus*: goldgelb)

Brevilactibacter flavus gehört zur Familie der *Propionibacteriaceae.* Aus Rohmilch, Magermilch und einem Milchprodukt wurden insgesamt acht verschiedene Stämme isoliert, die sich durch ihre unterschiedlich starke, hell- bis goldgelbe Pigmentierung auszeichnen (Abb. 1).

Die Diskriminierung verschiedener Gattungen erfolgt in der Regel anhand genomischer und chemotaxonomischer Merkmale. Tatsächlich stimmen die 16S rRNA-Sequenzen von *Brevilactibacter flavus* WS 4900^T und der am nächsten verwandten *Propioniciclava tarda* nur zu 93,5% überein (identische Gattung ≥95%). Chemotaxonomisch wird die Abgrenzung durch Unterschiede in der Zusammensetzung polarer Lipide bestätigt. *P. tarda* bildet einige Aminolipide, die bei *B. flavus* nicht nachgewiesen werden.

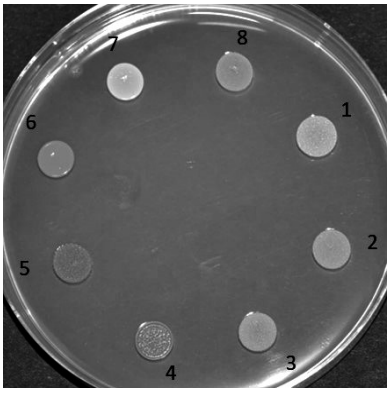


Abb 1: Die Kolonien verschiedener *Brevilactibacter flavus* Stämme (1-8) zeigen auf TSA nach 4 d bei 30°C unterschiedlich starke Pigmentierung.

Charakteristika: Gram-positiv; unbewegliche Stäbchen (0,8–2,2×0,4–0,9 µm); fakultativ anaerob; Katalase positiv; Oxidase positiv; Wachstum bei 6-40 °C (Optimum 30-34 °C), pH 5,5-8,5 (Optimum pH 7,5) und 0-5 % NaCl (Optimum 1 %); Fermentationsprodukte: Propionat, Acetat, Succinat, Laktat; Säurebildung positiv: Glycerin, Xylose, Galactose, Glucose, Fructose, Mannose, Mannitol, Methylglucopyranosid, Arbutin, Salicin, Maltose, Lactose, Melibiose, Saccharose, Trehalose, Melezitose, Turanose, Arabitol; Säurebildung variabel: Ribose, Methylxylopyranose, N-Acetylglucosamin, Cellobiose, Raffinose; positive Reaktionen: ß-Galactosidase, Aesculinhydrolyse; variable Reaktion: Nitratreduktion; Peptidoglycantyp: A1γ; wichtigste Fettsäure: $C_{15:0}$; wichtigste polare Lipide: Diphosphatidylglycerol, Phosphatidylglycerol, drei Glycolipide; wichtigstes Menaquinon: MK-9 (H_4); Zellzucker: Ribose, Rhamnose, Arabinose, Galactose; Genomgröße: 3,0 Mb; G+C Gehalt: 67,7 mol%.

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Zehentner, Barbara, Dr. rer. nat., 07.05.2020, Technische Universität München
„Experimental characterization of overlapping genes in enterohemorrhagic E.coli: Overexpression phenotypes and high-throughput NGS analysis of transcription start sites“

Masterarbeiten

Bayer, Andrea: „High-thorughput sequencing of the full-length 16S rRNA gene“

Waldmann, Laurin: „Identifizierung funktioneller Domänen in antibiotischen Efflux-Pumpen von Pseudomonas aeruginosa“

Bachelorarbeiten

Nematzadeh Somehsaraei, Nazanin: „Genetic modification of oleaginous microorganisms for lipid production“

Veröffentlichungen

Ardern Z, Neuhaus K, Scherer S (2020) Are antisense proteins in Prokaryotes functional? Frontiers in Molecular. Biosciences Vol. 7:187. doi:10.3389/fmolb.2020.00187

Breitenwieser F, Doll EV, Clavel T, Scherer S, Wenning M (2020) Complementary use of cultivation and high-throughput amplicon sequencing reveals high biodiversity within raw milk microbiota. Frontiers in Microbiology, Vol.11, Article 1557. Doi 10.3389/ fmicb.2020.01557

Dettling A, Wedel C, Huptas C, Hinrichs J, Scherer S, Wenning M (2020) High counts of thermophilic spore formers in dairy powders originate from persisting strains in processing lines. International Journal of Food Microbiology 335:108888. Doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108888

Gacek-Matthews A, Chromiková Z, Sulyok M, Lücking G, Barák I, Ehling-Schulz M (2020) Beyond Toxin Transport: Novel Role of ABC Transporter for . Enzymatic Machinery of Cereulide NRPS Assembly Line. Molecular Biology and Physiology mBIO, Vol 11 Issue 5 e01577-20

Glaub A, Huptas C, Neuhaus K, Ardern Z (2020) Recommendations for bacterial ribosome profiling experiments based on bioinformatics evaluation of published data. Journal of Biological Chemistry 3,295(27):8999-9011, doi:10.1074/jbc.RA119.012161

Hofmann K, Huptas C, Doll EV, Scherer S, Wenning M (2020) *Pseudomonas haemolytica* sp.nov., isolated from raw milk and skimmed milk concentrate Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 70:2339 -2347. Doi.10.1099/ijsem .0.004043

Hofmann K, Huptas C, Doll EV, Scherer S, Wenning M (2020) *Pseudomonas saxonica* sp. nov., isolated from raw milk and skimmed milk concentrate. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 70:935-943. Doi 10.1099/ijsem.0.003851

Maier C, Huptas C, von Neubeck M, Scherer S, Wenning M, Lücking G (2020) Genetic organization of the *aprX-lipA2* operon affects the proteolyticpotential of *Pseudomonas* species in milk. Frontiers in Microbiology, Vol. 11, Article 1190. Doi 10.3389/fmicb.2020.01190

Nelson CW, Ardern Z, Wie X (2020) OLGenie: Estimating Natural Selection to Predict Functional Overlapping Genes. Molecular Biology and Evolution, 1-9, doi:org/10.1093/molbev/msaa087

Nelson CW, Ardern Z, Goldberg TL, Meng C, Kuo C-H, Ludwig C, Kolokotronis S-O, Wei X (2020) Dynamically evolving novel overlapping gene as a factor in the SARS-CoV-2 pandemic. eLife 2020;9:e59633 doi: 10.7554/eLife.59633

Wenning M,, Breitenwieser F, Huptas C, Doll E, Bächler B,, Schulz A, Dunkel A,, Hofmann T, von Neubeck M, Busse H.-J.and Scherer S (2020) *Brevilactibacter flavus* gen. nov., sp. nov., a novel bacterium of the family *Propionibacteriaceae* isolated from raw milk and dairy products and reclassification of *Propioniciclava sinopodophylli* as *Brevilactibacter sinopodophylli* comb. nov. International Journal of Systematic an Evolutionary Microbiology (Int. J. Syst. Evol. Microbiol.) 2020;70:2186–2193 DOI 10.1099/ijsem.0.003909

Zehentner B, Ardern Z, Kreitmeier M, Scherer S und Neuhaus K (2020) A novel pH-regulated, unusual 603 bp overlapping protein coding gene *pop* is encoded antisense to *ompA* in *Escherichia coli* O157:H7 (EHEC). Fontiers in Microbiology 11:377. doi:10.3389/fmicb.2020.00377

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:	Post-docs	
	Sabine Ambros, Dr. rer. nat.	-3536
	Hans-Jürgen Heidebrecht, Dr.-Ing.	-3719
	Somayeh Taghian Dinani, PhD	-3855
	Technische Mitarbeiter und Doktoranden	
	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
	Claudia Hengst	-3937
	Martin Hilz	-3937
	Isabel Kalinke, M.Sc.	-5317
	Peter Kubbutat, M.Sc.	-5317
	Christian Kürzl, M.Sc.	-3719
	Franziska Kurz, M.Sc.	-3939
	Andreas Matyssek, B.Sc.	-3939
	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
Caren Tanger; M.Sc.	-3534
Günther Unterbuchberger	-3942
Malou Warncke, M.Sc.	-2474
Maria Weinberger, M.Sc.	-3856
Heidi Wohlschläger	-3941

2020 ausgeschieden:
Ingrun Kieferle, Dr.-Ing. (31.12.2020)
Franz Kuhnert, B.Sc. (31.12.2020)
Mine Özcelik, Dr.-Ing. (31.10.2020)
Philipp Stier, M.Sc. (31.12.2020)

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

Vorwort

Auch unsere Arbeit war in Lehre und Forschung durch die Einschränkungen in Folge der Corona-Pandemie stark beeinflusst. Dennoch haben wir uns durch umsichtige Maßnahmen und Organisation der Abläufe ganz gut behauptet. Auch deshalb konnten wir eine Infektion im Lehrstuhlbereich vermeiden, was eine glückliche Entwicklung war, denn im privaten Umkreis hätte uns ein unbewusster, indirekter Kontakt in der Anfangsphase der Ansteckungen im Münchener Raum treffen können.

Darüber hinaus war das Jahr bereits mitgeprägt durch die Perspektive auf die herannahende Lehrstuhlneubesetzung zum 01.10.2021. Zum Ende des Sommersemesters werde ich am 30.09.2021 nach fast 22 Jahren meine Zeit als Leiter des Lehrstuhls bzw. der Abteilung Technologie des ZIEL beenden und in Pension gehen. Zählt man die Zeit als Diplomand, Doktorand und Habilitand am Lehrstuhl unter der Leitung von H.G. Kessler hinzu, so stehen 32 Jahre Forschung im Feld der Weihenstephaner Lebensmitteltechnologie in meinem Lebenslauf, weitere acht Jahre bei Kraft Foods R&D zwischen Habilitation und Berufung auf den Lehrstuhl zum 1.1.2000.

Das Berufungsverfahren zur Neubesetzung mit der bisherigen Ausrichtung `Lebensmittelverfahrenstechnik´ ist angelaufen, die KandidatInnenauswahl ist dem Vernehmen nach erfolgt. Den Regeln entsprechend bin ich in das Verfahren nicht eingebunden. Wenn alles reibungslos verläuft, ist mit einem pünktlichen Eintreffen des Nachfolgers oder der Nachfolgerin zu rechnen. Kontinuität ist also grundsätzlich zu erwarten, auch wenn sich natürlich wie bei jedem Wechsel in einer Lehrstuhlleitung Inhalte in der Forschung entsprechend des dann etablierten

Plans und im Rahmen der TUM-Strategie auch weiter entwickeln werden, ganz ähnlich wie dies beim Wechsel Kessler/Kulozik der Fall war. Seien wir gespannt.

Ganz zu Beginn meiner Zeit am Lehrstuhl als Doktorand (Dez. `82) hatte ich noch die Gelegenheit, wenige Monate überlappend mit Herrn Molkereimeister und Fachlehrer Joseph Kammerlehner zu verbringen, dessen Aufgaben in Vorlesung und Praktikum Milchtechnologie ich dann übernommen hatte. Ich erwähne dies, weil Herr Kammerlehner im Juli 2020 in sehr vitaler Verfassung und als aktiver Buchautor seinen 100. Geburtstag begehen konnte. Herzlichen Glückwunsch auch auf diesem Wege noch einmal.

Bedingt durch den in absehbarer Zeit anstehenden Wechsel liefen einige Projekte aus, neue sind deshalb nur noch sehr begrenzt hinzugekommen. Der Publikationsoutput lag in diesem Jahr mit insgesamt 45 veröffentlichten und akzeptierten Arbeiten (34 + 11) in internationalen wissenschaftlichen Journalen auf `all-time-high´-Niveau, womit wir in der Skala der anderen Professuren vermutlich mit an der Spitze liegen dürften. Das ist den eifrigen Doktoranden im wahrsten Sinn des Wortes „zuzuschreiben“, jedoch natürlich nicht ohne die enge Zusammenarbeit mit allen KollegInnen in Labor, Werkstatt, Technikum und Sekretariat, ohne deren Unterstützung unsere Forschungsarbeit nicht erfolgreich sein könnte.

Auch wissenschaftliche Auszeichnungen hat es wieder gegeben, diesmal gehäuft für Dr.-Ing Hans-Jürgen Heidebrecht, was gleich im nächsten Abschnitt im Detail nachzulesen ist. Herzlichen Glückwunsch dazu ebenfalls an dieser Stelle.

Abschließend danke ich allen MitarbeiterInnen herzlich für ihre engagierte Arbeit in jedem Belang sowie allen Bachelor- und MasterandInnen für ihr Mitwirken in unserer Forschung, ohne das der Lehrstuhl nicht wäre, was er ist. – Prof. Ulrich Kulozik

Auszeichnungen 2020

Dr.-Ing. Hans-Jürgen Heidebrecht hat für seine Arbeiten zur Erzeugung und Anreicherung von Wirkstoffen gegen antibiotika-multiresistente Mikroorganismen nach 2019 im Jahr 2020 weitere hochrangige Auszeichnungen bzw. Platzierungen in Wissenschaftswettbewerben errungen:

Friedrich- Meuser Forschungspreis, ausgezeichnet für seine herausragende Dissertation, verliehen am 10.09.2020

2. Platz beim Preis der Körber-Stiftung - Deutscher Studienpreis für substanzielle und innovative Forschungsbeiträge, Sektion Natur- und Technikwissenschaften mit dem Thema `Spezifische Antikörper in Milch wirken gegen Antibiotika-resistente Keime´, ausgezeichnet am 08.12.2020 durch Bundestagspräsident Wolfgang Schäuble, Berlin

VDI Preis 2020 für die Dissertation mit dem Titel: "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“, ausgezeichnet am 27.11.2020

Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. (WMBL) für seine herausragende Dissertation mit dem Titel: “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“, ausgezeichnet am 15.10.2020

Chrisanty Susianto, Preis des Verbandes der Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. (WMBL) für ihre herausragende Bachelorarbeit mit dem Titel: „Einfluss von pH-Wert und Calciumkonzentration auf die Fraktionierung von Molkenproteinen bei niedrigen Temperaturen“, ausgezeichnet am 15.10.2020 (Betreuer: Simon Schiffer)

Forschung

Forschungsgebiet Bioprozesstechnik
Research Area Bioprocess Engineering

Erzeugung und Isolierung von spezifischem bovinen Immunoglobulinen G zur Behandlung von Hauterkrankungen
Isolated bovine IgG for the treatment of skin infections
Hans-Jürgen Heidebrecht

Staphylococcus aureus ist an einer Reihe von Hautinfektionen bei Menschen und Tieren beteiligt. Patienten mit Neurodermitis haben ein erhöhtes Risiko für kutane Infektionen. Bakterielle Superinfektionen, meist durch *S. aureus*, führen zu einer Verschlimmerung der Symptomatik und Therapieversagen und sind aufgrund von Resistenzbildung schlecht mit Antibiotika behandelbar. Ein ähnliches Bild gibt es bei Hautinfektionen von Hunden. Circa 30% der Infektionen sind aufgrund von Resistenzbildung nicht behandelbar sind und können zu chronischen Infektionen und Amputationen führen. Darüber hinaus sollte eine längere Anwendung von topischen Antibiotika wegen des Risikos, eine bakterielle Resistenz zu induzieren, vermieden werden. Dadurch, dass die Antibiotika eine Breitbandwirkung haben wird das natürliche Hautmikrobiom geschädigt, was die Barrierefunktion negativ beeinflusst und weitere Infektionen nach sich ziehen kann.

In früheren Arbeiten wurde bereits vielfach berichtete, dass spezifische antibakterielle Antikörper in der Milch durch Immunisierung von Kühen erzeugt werden können. Im Rahmen der Entwicklung wurde aber auch die neue Entdeckung gemacht, dass eine Immunisierung für die Erzeugung von spezifischen Antikörpern gegen *S. aureus* nicht notwendig ist und spezifische Antikörper gegen *S. aureus* natürlicherweise in der Milch und dem Kolostrum von Kühen vorkommen (für die meisten anderen Bakterien ist dies nicht der Fall). Die natürlich vorkommende Antikörperkonzentration gegen *S. aureus* kommt vermutlich daher, dass *S. aureus* ein ubiquitärer Keim ist, der auch in der normalen Umgebung der Kuh vorkommt.

Das bedeutet, dass bovines IgG könnte eingesetzt werden, um pathogene Bakterien bei bakteriellen Hautinfektionen gezielt zu bekämpfen, ohne das gesunde Hautmikrobiom zu beeinträchtigen und der Entwicklung von Therapie-Resistenzen entgegenzuwirken. Da eine solche Anwendung eine vergleichsweise hohe lokale Wirkstoffkonzentrationen erfordert, ist die Isolierung der reinen Komponente notwendig. Daher wurde ein neues skalierbares Chromatographie-Verfahren entwickelt, bei dem zwei Mixed-Mode-Säulen kombiniert wurden, um therapeutische Mengen an nativem und reinen IgG zu gewinnen [1,2]. Durch die Kombination der beiden Säulen konnte Immunglobulin G mit einer Reinheit von >99% und einer Ausbeute von 65-80% erreicht werden. Das Verfahren wurde im 1 mL-Maßstab entwickelt und in zwei Schritten auf ein Säulenvolumen von ca. 10 L skaliert. Im höchsten Maßstab konnten 130–150 g reines und natives IgG aus 3 L Kolostralmolke innerhalb von 5 h gewonnen werden. Die Nativität von gefriergetrocknetem reinem IgG-Pulver betrug über 95%. Analytische Me-

thoden zur Beurteilung des Prozesses waren SDS-PAGE, RP-HPLC, verschiedene Proteinquantifizierungsmethoden und zur Bestimmung des Einflusses auf die Antikörperaktivität Differentialscanning-Kalorimetrie und ein spezifischer ELISA [1,2]. Die Effektivität der isolierten Antikörper formuliert in einem Sprühgel wurde in einer explorativen Studie bei Hunden mit chronischen bakteriellen Hautinfektionen erfolgreich getestet (Abb.1). Nach einer Behandlungszeig von 14 Tagen und zweimal täglicher Applikation führte die Therapie zu einer Wundheilung bei 10/11 Tieren. Interessante Weise beruht der Wirkmechanismus auf einer physikalischen Interaktion der Antikörper und Bakterien und nicht auf der immunologischen Wirkung der Antikörper. Sie binden an Oberflächenmoleküle der Bakterien und sorgen dann dafür, dass die Bakterien aus der Wunde abfallen und Biofilmbildung unterbrochen wird. Gleichzeitig werden die Toxine von *S. aureus* neutralisiert.

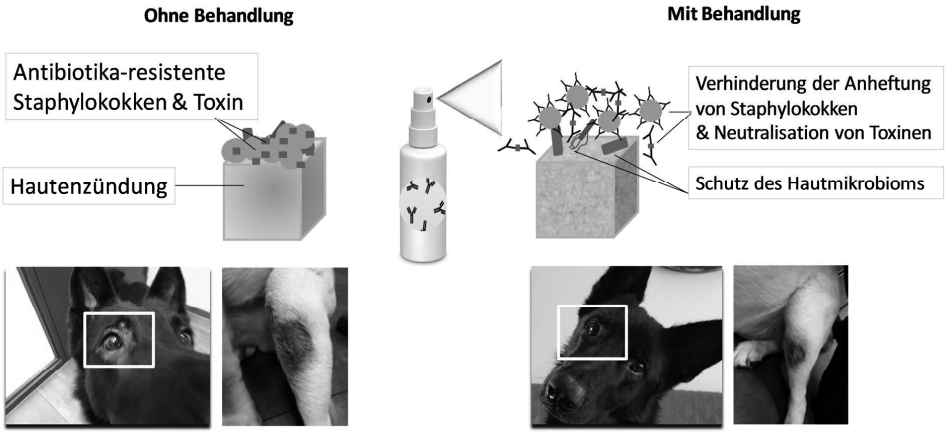


Abb. 1: Anwendung von isoliertem bovinem IgG zur Behandlung von Hautinfektionen bei Hunden

Isolierte Kuh-IgG Antikörper können überall dort eingesetzt werden, wo *S. aureus* eine pathogene Rolle spielt und Antibiotika nicht wirken oder den Krankheitsverlauf verschlimmern. Die weitere Umsetzung der veterinärmedizinischen Anwendung wird durch das Biotech Startup Doderm GmbH vorangetrieben, welches im Oktober seine erste Finanzierungsrunde erfolgreich abschließen konnte. Mit den Geldmitteln wird u.a. eine Placebo-kontrollierte randomisierte Hundestudie in zwei Ländern und vier Studienzentren finanziert. Dabei wird aus regulatorischer und strategischer Sicht die Wirksamkeit über drei Studienarme als Medikament und als Hautpflegemittel mit dem Placebo verglichen. Es existieren zahlreiche weitere Verwertungsoptionen für isoliertes IgG. Interessierte Unternehmen oder Intuitionen können gerne den Kontakt aufnehmen.

Literatur:

[1] Heidebrecht, H-J.; Kainz, B.; Schopf, R.; Godl, K.; Karcier, Z.; Kulozik, U.; Förster, B. (2018b): Isolation of biofunctional bovine immunoglobulin G from milk- and colostral whey with mixed-mode chromatography at lab and pilot scale. In: J Chromatogr A 1562, pp. 59–68.

[2] Heidebrecht, H-J.; Kainz, B.; Schopf, R.; Godl, K.; Karcier, Z.; Kulozik, U.; Förster, B. (2018a): Data concerning the chromatographic isolation of bovine IgG from milk- and colostral whey. In: Data Brief 21, pp. 527–539.

Auswirkungen des Lagermediums und der Lagerdauer auf die Resistenz bakterieller Sporen für die Verwendung als Bioindikatoren gegenüber Wasserstoffperoxid

Effects of storage medium and the duration of storage on the resistance of bacterial spores for use as bioindicators to hydrogen peroxide

Philipp Stier

Zur Gewährleistung der Haltbarkeit und mikrobiologischen Unbedenklichkeit von Produkten in der Lebensmittel- und Pharmaindustrie wird regelmäßig die Leistung von Sterilisationsprozessen beurteilt. Hierbei werden die Produkte, Anlagenteile oder Verpackungsmaterialien mit sogenannten Bioindikatoren (BI) beimpft und dann dem Sterilisationsprozess unterzogen. Sie simulieren zum einen die Widerstandskraft real vorkommender Verkeimungen während der Sterilisation, zum anderen lassen sich aufgrund ihrer hohen Konzentrationen (10^7 bis 10^9 KbE/mL) Inaktivierungsverläufe der meist angestrebten 5-Log Einheiten nachvollziehen. Bei der weit verbreiteten Sterilisation mit Wasserstoffperoxid haben sich BI aus Sporen von *Bacillus atrophaeus* ATCC 9372 oder *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 durchgesetzt. Sie sind kommerziell verfügbar und für die erleichterte Beimpfung bereits in flüssigen Trägermedien suspendiert. Da diese bakteriellen BI vergleichsweise lange gelagert werden, ist ihre Lagerstabilität von großer Bedeutung. Denn Veränderungen ihrer Resistenz können Einfluss auf die Beurteilung der Sterilisationsleistung nehmen und zu falsch positiven oder falsch negativen Ergebnissen führen.

Bislang wurde bei der Lagerung von einer vollständigen metabolischen Inaktivität der bakteriellen Sporen ausgegangen. Ghosh et al. konnten aber zeigen, dass es bei längerer Lagerung zu geringfügigen metabolischen Aktivitäten kommt. Dies könnte Einfluss auf die Resistenz der Sporen nehmen, wodurch die Lagerdauer und das Lagermedium als mögliche Variablen näher betrachtet werden müssen.

Aus diesem Grund wurde die Lagerstabilität bakterieller Sporen in vier häufig eingesetzten Lagermedien, Milli-Q Wasser, 70%ige ethanolische Lösung, Phosphatpuffer (pH 7) und Ringerlösung (pH 7), untersucht. Hierfür wurden Sporen von *B. atrophaeus* submers in einem Bioreaktor hergestellt, vollständig gereinigt und mit einer Endkonzentration von $3{,}1 \cdot 10^8$ kbE/mL in den Medien suspendiert. Die Lagerung erfolgte bei 4 °C unter Lichtausschluss. Zur Überprüfung der Resistenz der Sporen im Verlauf der Lagerung und in Abhängigkeit des Mediums wurde der D-Wert der Sporensuspensionen in einer 35%igen Wasserstoffperoxidlösung bei 25 °C in Dreifachbestimmung ermittelt. Zusätzlich zur Bestimmung des D-Wertes wurde die Konzentration keimfähiger Sporen ermittelt, um eine mögliche Reduktion der Keimfähigkeit über die Lagerdauer hinweg zu untersuchen. Abb. 1 zeigt die Resistenzveränderung der Sporensuspensionen über die Lagerdauer in Abhängigkeit des Lagermediums.

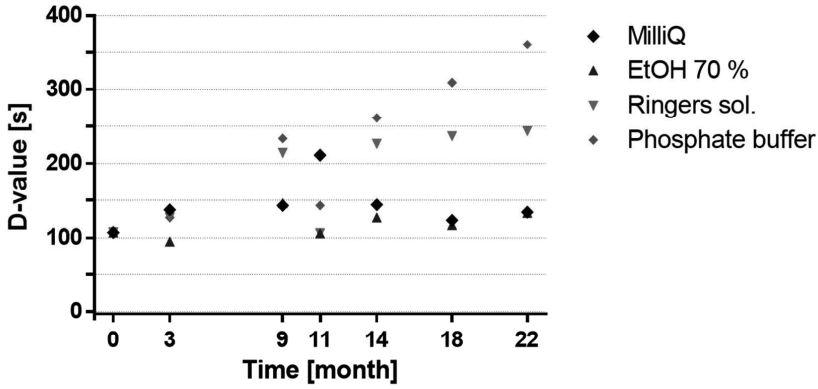


Abb. 1: Untersuchung der Resistenzveränderung über die Lagerdauer in Abhängigkeit des Lagermediums (Milli-Q Wasser, 70%ige ethanolische Lösung, Ringerlösung (pH 7) und Phosphatpuffer (pH 7)). Die Resistenz der Sporensuspensionen wurde als D-Wert in flüssigem, 35%igem Wasserstoffperoxid bei 25 °C ermittelt.

Der D-Wert betrug zu Beginn der Lagerung 107 s und gibt den Ausgangswert der Resistenz der Sporensuspensionen wieder. Weitere Messungen des D-Wertes wurden nach drei, neun, elf, 14, 18 und 22 Monaten durchgeführt. Bereits nach drei Monaten Lagerung zeigte sich eine leichte Veränderung der Resistenz. Nach neun Monaten hatte sich die Resistenz der Sporen in Milli-Q Wasser und ethanolischer Lösung leicht erhöht, in Phosphatpuffer und Ringerlösung hingegen stark erhöht. Nach elf Monaten zeigte die Resistenz der Suspensionen eine unnachvollziehbare Änderung, weshalb die Suspensionen näher untersucht wurden. Es zeigte sich, dass die Sporen große Agglomerate (Verklumpungen) gebildet hatten. Hierdurch war die Resistenzbestimmung nicht mehr nur abhängig von den Sporen selbst, sondern nun auch von der Agglomeratzerfallsrate während der Inaktivierung. Zusätzlich führte die Agglomeratbildung zu einer unzureichenden Homogenisierung der Proben, wodurch die erhaltenen D-Werte verfälscht wurden. Im folgenden Versuchsverlauf wurden die Suspensionen zur Lösung der Agglomerate deshalb vor jeder Resistenzbestimmung 20 min im Ultraschallbad behandelt. Im weiteren Verlauf der Lagerung konnte so beobachtet werden, dass die Resistenz in Milli-Q Wasser und ethanolischer Lösung weitestgehend konstant blieb (nach 22 Monaten D-Werte von 133 und 134 s zu anfänglich 107 s), die Resistenz in Ringerlösung und besonders in Phosphatpuffer aber stark anstieg (nach 22 Monaten D-Werte von 243 und 361 s). Tabelle 1 zeigt die Resistenzen der Sporensuspensionen im Verlauf der Lagerdauer.

Tabelle 1: Ermittelte D-Werte der Sporensuspensionen im Verlauf der Lagerdauer in Abhängigkeit des Lagermediums.

	Lagerdauer / D-Wert [s]						
Probe	**0 M**	**3 M**	**9 M**	**11 M**	**14 M**	**18 M**	**22 M**
Milli-Q Wasser	107	137	143	211	144	123	134
Ethanol, 70 %	107	95	146	106	127	117	133
Ringerlösung	107	127	214	106	226	236	243
Phosphatpuffer	107	127	233	143	261	309	361

Die Keimfähigkeit der Sporen hat sich über den gesamten Versuchszeitraum nicht geändert, wodurch die ermittelten Resistenzen der Suspensionen ausschließlich auf den Einfluss des Lagermediums auf die Sporen zurückzuführen sein muss, wenngleich die molekularbiologischen Mechanismen unklar sind. Eine metabolische Aktivität der Sporen, die generell Einfluss auf die Resistenz hat, konnte nicht gezeigt werden.

Für die Verwendung kommerzieller Sporensuspensionen wird von den Herstellern i.d.R. eine Haltbarkeit von einem Jahr angegeben. Auf Grundlage der hier gezeigten Ergebnisse wird deshalb empfohlen, die Sporensuspensionen besonders bei längerer Lagerung vor ihrer Verwendung für 20 min Ultraschallbad zu behandeln. Als Lagermedien eignen sich Wasser und ethanolische Lösung am besten, wobei letzteres Medium zusätzlich den Vorteil bietet, dass Fremdkontaminationen aufgrund der antimikrobiellen Eigenschaften zu großen Teilen ausgeschlossen werden können. Von Phosphatpuffer und Ringerlösung als Suspensionsmedien für Bioindikatoren sollte aufgrund ihres starken Einflusses auf die Resistenz der Sporen abgesehen werden. Dennoch stellen diese Medien aus wissenschaftlicher Sicht eine interessante Möglichkeit dar, die Resistenz von Sporen nachträglich, d.h. unabhängig von den Herstellungs- bzw. Sporulationsbedingungen, zu erhöhen.

Literatur:

Ghosh, S.; Korza, G.; Maciejewski, M.; Setlow, P.; Henkin, T. M. Analysis of Metabolism in Dormant Spores of Bacillus Species by 31 P Nuclear Magnetic Resonance Analysis of Low-Molecular-Weight Compounds. Journal of Bacteriology. 2015, 197, 992–1001

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 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 mikrowellen- und schaumunterstützte Trocknungstechnik

Research Area Microwave and Foam assisted Drying Technology

Untersuchung des Wasseraustrags in mit Polysorbate 80 stabilisierten Schäumen mit variablen Maltodextrinanteil während der Gefriertrocknung

Water vapor pathways in polysorbate 80 foams with variable maltodextrin content during freeze-drying

Peter Kubbutat

Häufig sind die in pharmazeutischen Produkten oder Lebensmitteln wertgebenden Inhaltsstoffe schnell verderblich und nicht stabil gegenüber thermischer Belastung. Um die Lagerfähigkeit zu erhöhen und die Produkte besser verarbeiten zu können, werden diese daher häufig getrocknet. Eine besonders schonende Art zu Trocknen stellt die Gefriertrocknung dar, da aufgrund des direkten Übergangs von festem zu gasförmigem Wasser (Sublimation) keine flüssige Phase während der Trocknung vorliegt. Somit können Probleme, wie ein Konzentrieren der verbleibenden flüssigen Phase oder ein Strukturverlust des Produkts vermieden werden. Dies ist besonders relevant bei der Trocknung von Proteinen und Arzneistoffen, um die Aktivität der Zielstoffe nach der Trocknung gewährleisten zu können [1]. Da der Gefriertrocknungsprozess aber sehr zeit- und kostenintensiv ist, wird er überwiegend für High-Value Pro-

dukte eingesetzt und findet nur selten Anwendung in der Produktion von Lebensmitteln für den Endkunden.

Eine Möglichkeit, die für den Prozess benötigte Zeit zu verringern und damit den Produktdurchsatz zu erhöhen ist der Einsatz einer geschäumten Produktmatrix in Verbindung mit volumetrischer Erhitzung mittels Mikrowellen [2]. Dadurch muss die für die Sublimation benötigte Energie nicht durch das Produkt wandern und die Erhitzung findet selektiv an den Stellen statt, an denen Restwasser vorhanden ist. Des Weiteren wird durch das Aufschäumen der Produkte der innere Widerstand gesenkt und die spezifische Oberfläche erhöht. Dadurch kann das Wasser leichter und gleichmäßiger aus dem Produkt entweichen, als es bei einem nicht aufgeschäumten Produkt der Fall ist [3]. Allerdings ist es noch nicht abschließend geklärt, wie während der Schaumtrocknung das Wasser seinen Weg aus dem Produkt findet und bis zu welchem Overrun sich das Produkt wie ein Schaum in der Trocknung verhält.

Ziel war es daher herauszufinden, wie der Wasserdampf aus dem Produkt entweicht und wie das Trocknungsverhalten mit dem Overrun des Produkts korreliert. Ergänzende Informationen zur durchgeführten Studie finden sie in der Open-Access Publikation Kubbutat et al. 2020.

Um Unterschiede bezüglich des Wasseraustrags aus den Produkten zu untersuchen wurden die Trocknungen zunächst mit einem Gefriertrocknungsmikroskop (Olympus BX51, Olympus Europa SE & Co. KG, Hamburg, Germany) untersucht. Dazu wurden verschiedene Schaummatrizen aus Maltodextrin (MD, 10 – 40 % w/w) und 3 % w/w Polysorbate 80 aufgeschäumt und unmittelbar danach in einer kühlbaren Messzelle im Mikroskop eingefroren. Im Anschluss an den Gefrierprozess wurde die Trocknung durch das Evakuieren der Messzelle auf 0,1 mbar eingeleitet und die Probe mittels Peltier-Element auf 20 °C temperiert. Zusätzlich zu den Versuchen im Gefriertrocknungsmikroskop wurden je 120 g der entsprechenden aufgeschäumten und gefrorenen Formulierung in einem Mikrowellenvakuumtrockner (μVac0150fd, Püschner GmbH & Co. KG, Schwanewede) gefriergetrocknet. Der Verlauf der Mikrowellentrocknung wurde im Anschluss mit den Ergebnissen aus dem Gefriertrocknungsmikroskop verglichen.

Die Versuche im Gefriertrocknungsmikroskop haben gezeigt, dass sich das Trocknungsverhalten der Proben mit unterschiedlichen Overrun Werten (~1650 % bei 10 % MD – ~40 % bei 40 % MD) signifikant ändert. In Abb. 1 ist im linken Bild ein Schaum mit 10 % MD zu sehen, im Rechten eine Probe mit 40 % MD. Getrocknete Produkte (z.B. um Blasen herum) erschienen dabei heller als noch nicht getrocknete Bereiche. Es ist klar zu erkennen, dass bei Proben mit einem MD Anteil von 10% die Trocknungsfronten über das gesamte Produkt auftauchten und nicht wie beim 40%igen Schaum vom Produktäußeren ins Produktinnere wanderten. Dieses Verhalten entspricht dem Trocknungsverhalten von Lösungen, wie es auch schon andere Forschungsgruppe beobachtet haben [4]. Das Trocknungsverhalten von Proben mit hohem Overrun und niedrigem Zuckergehalt entsprach hingegen der in der Literatur angenommenen, über das Produkt gleichmäßig stattfindenden Trocknung von Schäumen [5]. In den getrockneten Proben konnten keine Risse oder Kanäle (weder makroskopisch noch mikroskopisch) beobachtet werden. Somit ist es wahrscheinlich, dass der Wasserdampf durch die Lamellen und sich zusammenschließende Trocknungsfronten aus der Probe entwich. Bei Proben mit einem MD Gehalt ≥30 % traten hingegen Risse im Produkt auf. Dies deutet darauf hin, dass das Wasser nicht ungehindert aus dem Produkt entweichen konnte, wodurch sich lokal Druck aufbaute, der Risse im Produkt entstehen ließ. Anschließend konnte der Wasserdampf über diese Risse dann aus dem Produkt entweichen.

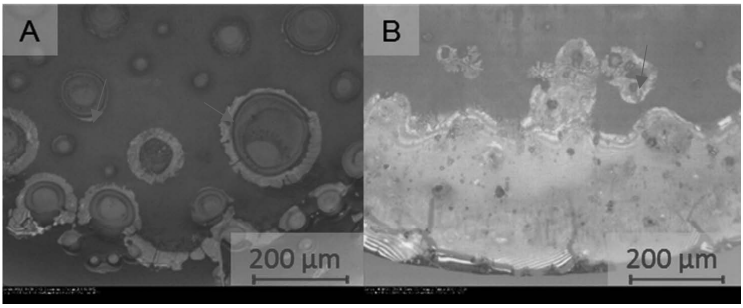


Abb. 1: Trocknungsverhalten Schäumen aus 3 % Polysorbate 80-Schäumen und einer Maltodextrinkonzentration von 10% (A) und 40% (B) zu Beginn des Trocknungsprozesses bei 10-facher Vergrößerung [6].

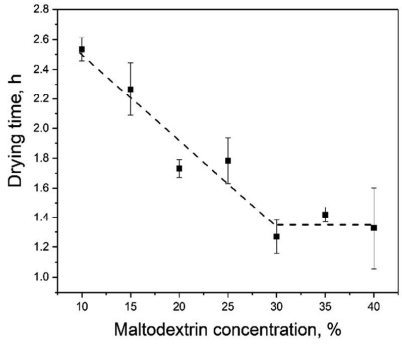


Abb. 2: Benötigte Trocknungszeit von Schäumen mit 3 % Polysorbate 80 und einer Maltodextrinkonzentration zwischen 10 und 40 % w/w [6]

In Abb. 2 sind die Trocknungszeiten der verschiedenen Formulierungen dargestellt. Es wurde beobachtet, dass die Trocknungszeit mit steigenden Trockenmasseanteil sank. Es fiel aber auch auf, dass mit einem Anteil über 30 % MD die Trocknungszeit nicht wie erwartet weiter sank, sondern konstant blieb. Dies konnte auf lokal ausgebildete Überhitzung (Hot-Spots) zurückgeführt werden, welche dazu führten, dass die eingebrachte Mikrowellenleistung gedrosselt wurde. Somit blieb die Trocknungszeit gleich, obwohl aufgrund des höheren Trockenmassegehalts der Proben mit 40 % MD eigentlich weniger Wasser ausgetragen werden musste. Grund für den stärkeren Temperaturanstieg der Proben mit hohen Trockenmasseanteil könnte der im Gefriermikroskop beobachtete Wasseraustrag sein: Proben mit geringerer Trockenmasse trocknen gleichmäßiger. Dadurch wurde das Produkt durch die bei der Sublimation abgeführten Energie auch gleichmäßiger abgekühlt. Die eingebrachte Leistung konnte somit besser aus dem Produkt abgeführt werden. Im Gegensatz dazu konnten Proben mit hohem Trockenmasseanteil diese eingetragene Wärme deutlich schlechter aus dem Produkt abführen. Als Folge kam es zur lokalen Überhitzung und der Ausbildung von Rissen. Dies konnte durch die Analyse der Trocknungskinetik und der Wasseraustragsraten bestätigt werden (Daten hier nicht gezeigt). Somit wurde die Trocknung mit steigendem Trockenmasseanteil langsamer und schwieriger zu kontrollieren. Dies wurde allerdings bis zu einem Maltodextringehalt von 30 % von der geringeren, absoluten Menge an zu verdampfendem Wasser kaschiert und die Trocknungszeiten wurden trotz niedrigeren effektiven Wasseraustragsraten kürzer.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass das Trocknungsverhalten der Schäume stark von dessen Overrun abhängig war. Schäume mit niedrigem Trockenmassegehalt und hohen Overrun bildeten mehrere Trocknungsfronten gleichzeitig aus, während Schäume mit hohem Trockenmasseanteil und niedrigen Overrun eine Haupttrocknungsfront von außen nach innen ausbildeten. Durch das volumetrische Erhitzen mittels Mikrowellen konnte zwar die Trocknungszeit mit steigendem Trockenmasseanteil weiter verringert werden, allerdings nur bis zu dem Punkt, an dem es zur Rissbildung und Überhitzung im Produkt kam und sich dieses wie eine Flüssigkeit während der Trocknung verhalten hat. Ein höherer Trockenmasseanteil und damit verbunden kürzere Trocknungszeiten kaschieren im Produkt stattfindende Überhitzung.

Daher sollten neben der Trocknungskinetik und benötigten Zeit auch Temperaturindikatoren eingesetzt werden, um Temperaturspitzen im Inneren des Produkts besser detektieren zu können.

Literatur:
[1] M.J. Pikal, Freeze-drying of proteins. Part I: Process design, BioPharm 3 (8) (1990) 18–27.
[2] S. Ambros, J. Dombrowski, D. Boettger, U. Kulozik, The Concept of Microwave Foam Drying Under Vacuum: A Gentle Preservation Method for Sensitive Biological Material, J. Food Sci. 84 (7) (2019) 1682–1691.
[3] C. Ratti, T. Kudra, Foam-mat drying: Energy and cost analyses, Can. Biosyst. Eng. 48 (2006) 27–32.
[4] G. Yang, K. Gilstrap, A. Zhang, L.X. Xu, X. He, Collapse temperature of solutions important for lyopreservation of living cells at ambient temperature, Biotechnol. Bioeng. 106 (2) (2010) 247–259.
[5] J.S. Sochanski, J. Goyette, T.K. Bose, C. Akyel, R. Bosisio, Freeze dehydration of foamed milk by microwaves, Drying Technol. 8 (5) (1990) 1017–1037.
[6] P. Kubbutat, A. Tauchnitz, U. Kulozik, Water Vapor Pathways during Freeze-Drying of Foamed Product Matrices Stabilized by Maltodextrin at Different Concentrations, Processes 8 (11) (2020) 1463.

Dank: Wir möchten Christian Hansen A/S (Copenhagen, Denmark) für die Bereitstellung des Gefriertrocknungsmikroskops danken, ebenso Prof. Petra Först für die Hilfe und Einweisung bei der Nutzung des Mikroskops.

Das IGF-Vorhaben 18819 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 der Anregungsfrequenz auf die absorbierte Leistung bei der Mikrowellenerhitzung

Impact of input frequency on the absorbed power during microwave heating

Isabel Kalinke

Mit der wachsenden Relevanz einer ressourcenschonenden, energieeffizienten Verfahrenstechnik hat die Mikrowellentechnologie in der Lebensmittelbranche in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Mikrowellen dringen aufgrund ihres Wellencharakters tief in das Lebensmittel ein und ermöglichen so eine gleichmäßige, volumetrische Erhitzung. Diese ist im Vergleich zu herkömmlichen Erhitzungsverfahren nicht über einen Temperaturgradienten an der Probenoberfläche limitiert. Dies macht die Mikrowellentechnologie zu einem schnellen Erhitzungsverfahren, da der zeitliche Einfluss von Wärmetransportprozessen reduziert ist.

Über die Mikrowellenleistung, die eingekoppelte Anregungsfrequenz und eine Positionierung bzw. Rotation in der Produktkammer kann das Erhitzungsergebnis beeinflusst werden. Wie sich ein Produkt dabei erhitzt, ist u. A. charakteristischen Produktvariablen zuzuschreiben, wie der Produktbeladung, der eingebrachten Leistung pro Produktgröße, der Produktform, der Homogenität des Produkts und der Produktzusammensetzung (Datta und Anantheswaran 2001). Darüber hinaus wird die Erhitzung von dem außen anliegenden Mikrowellenfeld beeinflusst, welches über die Geometrie und Dimension der Produktkammer, deren Beladung, die Anregungsfrequenz, Leistung und Phase der Mikrowellen beeinflusst wird (Monteiro et al. 2011). Bei herkömmlichen Mikrowellengeneratoren, sogenannten Magnetrons, ist eine gezielte Anregung bei einer Frequenz und Phase nicht möglich, sie arbeiten i. d. R. zufällig innerhalb des vorgegebenen Frequenzbereichs von 2450 ± 50 MHz. Die Leistung kann in Magnetronsystemen zwar reguliert werden, jedoch erfolgt hier eine gepulste Einbringung der Maximalleistung, um im Mittel eine geringere Mikrowellenleistung erzielen zu können. Mit der Entwicklung neuartiger Halbleitergeneratoren wurde in den vergangenen Jahren eine Technologie in den Markt eingeführt, die eine gezielte Regelung der Anregungsfrequenz, Phase und

Leistung erlaubt, damit soll eine Optimierung des Erhitzungsprozesses auf das jeweilige Produkt ermöglicht werden. Im Folgenden soll daher darauf eingegangen werden, welchen Einfluss die neue Regelgröße der Anregungsfrequenz auf das Erhitzungsprodukt hat.

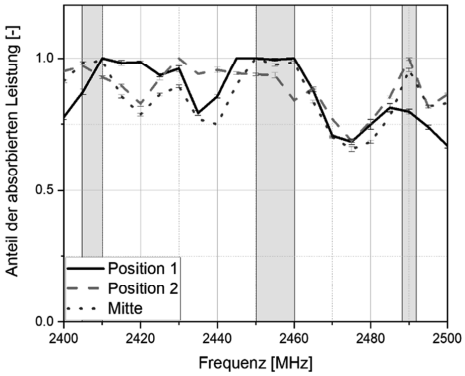


Abb 1: Einfluss der Anregungsfrequenz auf den Anteil der absorbierten Leistung zur eingebrachten Gesamtleistung in Abhängigkeit der Probenposition; (Position 1: Position der Probe am Rand des Drehtellers vor dem Welleneinlass, Position 2: Position der Probe am Rand des Drehtellers mit der größten Entfernung zum Mikrowelleneinlass, Mitte: mittige Positionierung auf dem Drehteller mit mittlerer Entfernung zum Welleneinlass; grau hinterlegt sind die Bereiche maximaler absorbierten Leistung bei mittlerer Probenposition).

In Abb. 1 ist dargestellt, wie sich der Anteil der absorbierten Leistung in Abhängigkeit der Frequenz bei 2450 ± 50 MHz verändert. Für die Positionierung einer Alginatgel-Kugel mit einem Durchmesser von 4,5 cm in der Mitte des Drehtellers ergeben sich verschiedene Frequenzbereiche hoher Absorption. Bei 2405-2410 MHz, bei 2450-2460 MHz und bei 2490 MHz, in den grau hervorgehobenen Frequenzbereichen, weist die Probe einen hohen Anteil absorbierter Leistung auf. Werden folglich Mikrowellen dieser Frequenz eingekoppelt, werden diese zum Großteil absorbiert und führen somit zur stärksten Produkterhitzung. Der Anteil der nicht-absorbierten Leistung wird aus der Produktkammer zurückreflektiert und muss über die Generatorkühlung als Wärmelast abgeführt werden. Eine Erhöhung des absorbierten Leistungsanteils entspricht demnach einer höheren Energieeffizienz des Prozesses. Abb. 2 zeigt zudem den Zusammenhang dieser Frequenzbereiche maximaler Absorption mit der Position der Probe in der Produktkammer. Eine Verschiebung der Probe um 6 cm in der Produktkammer resultiert in veränderten Frequenzen maximaler Absorption. Für eine Verschiebung der Probe um 6 cm zum Welleneinlass hin (Position 1), ergaben sich Frequenzen von 2410-2420 MHz und 2445-2460 MHz. Bei einer Verschiebung um 6 cm vom Welleneinlass weg an Position 2 ergaben sich die Frequenzen 2430 MHz und 2490 MHz.

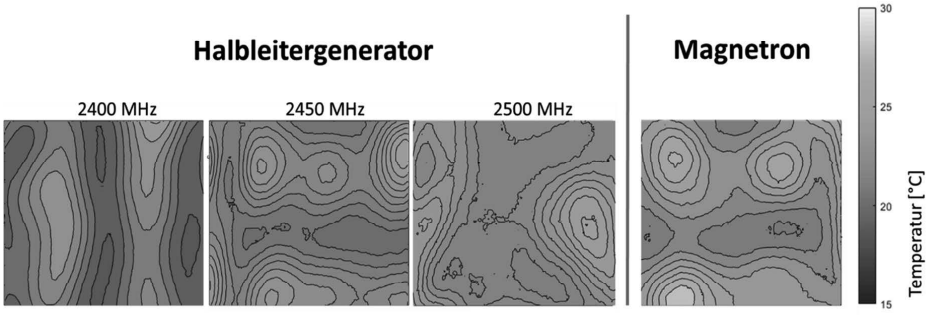


Abb. 2: Einfluss der Variation der Anregungsfrequenz im Bereich 2450 ± 50 MHz auf den resultierenden Temperaturanstieg einer horizontal in die Produktkammer eingebrachten feuchten Holzfaserplatte

Der Einfluss der Position auf den Anteil der absorbierten Leistung lässt sich durch die Ausbildung eines stehenden Feldes in der Produktkammer begründen. Je nachdem, ob die Probe in einer Wellensenke geringer Feldstärke oder einem Wellenbauch hoher Feldstärke positioniert wird, erhitzt sich das Produkt im angelegten Feld schwächer oder stärker. Das sich ausbildende Wellenmuster hängt dabei signifikant von der Anregungsfrequenz ab, wie in Abb. 2 angegeben. Durch eine Variation der Frequenz im für Erhitzungsprozesse zugelassenen Frequenzbereich von 2450 ± 50 MHz tritt eine starke Veränderung des ausgebildeten Wellenmusters auf. Die räumliche Inhomogenität des Mikrowellenfeldes wurde dabei über die regionale Erhitzung einer feuchten Holzfaserplatte visualisiert, indem die zweidimensionale Temperaturverteilung nach dem Erhitzen mittels Wärmebildkamera dokumentiert wurde. Abb. 2 gibt die Bereiche hoher Feldstärke als Regionen höheren Temperaturanstiegs bei der angegebenen Frequenz bei einer Erhitzung über 45 s bei 100 W wieder. Im Vergleich dazu ist die Temperaturverteilung bei Betrieb eines Magnetrons dargestellt, der keine Regelung der Anregungsfrequenz und damit keine gezielte Anpassung des Mikrowellenfeldes ermöglicht. Aus Abb. 2 geht hervor, dass die räumliche Feldverteilung in der Produktkammer über die Anregungsfrequenz signifikant beeinflusst wird. Darüber bietet der Einsatz innovativer Halbleitergeneratoren die Möglichkeit, das ausgebildete Mikrowellenfeld gezielt auf die Position der zu erhitzenden Probe zu fokussieren, wodurch der Erhitzungsprozess zeit- und energieeffizienter als in Magnetronsystemen gestaltet werden kann.

Durch den Einsatz neuartiger Halbleitergeneratoren nehmen die Möglichkeiten des Anwenders der Einflussnahme auf den Mikrowellenprozess folglich zu, wodurch auf veränderliche Produktbedingungen individuell eingegangen werden kann. Der Einfluss der Anregungsfrequenz, Leistung, Drehtellerrotation und Position der Probe beim mikrowellenunterstützten Auftauen, Erhitzen und Trocknen soll im Rahmen eines weiterführenden AiF-Projekts in den kommenden Jahren untersucht werden.

Literatur:
Datta, A. K.; Anantheswaran, R. C. (2001): Handbook of Microwave Technology for Food Application. Boca Raton: Chapman and Hall/CRC (Food Science and Technology Ser)
Monteiro, J.; Costa, L. C.; Valente, M. A.; Santos, T.; Sousa, J. (2011): Simulating the electromagnetic field in microwave ovens. In: 2011 SBMO/IEEE MTT-S International Microwave and Optoelectronics Conference (IMOC 2011). 2011 SBMO/IEEE MTT-S International Microwave and Optoelectronics Conference (IMOC). Natal, Brazil, 29.10.2011 - 01.11.2011: IEEE, S. 493–497.

Dank: Die Förderung des Vorhabens 281A105316 erfolgte aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgt über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.

Effect of Fixed Frequency on Temperature Distribution of Circular Model System in Innovative Solid-state Microwave System

Auswirkungen einer fixen Frequenz auf die Temperaturverteilung des kreisförmigen Modellsystems in einem innovativen Festkörper-Mikrowellensystem

Somayeh Taghian Dinani

Nowadays, the microwave ovens is largely used in the households because of their simple usage and efficient heating [1]. However, microwave processing has serious disadvantage of non-uniform microwave field distribution inside microwave cavity and thus, non-uniform heating and extensive temperature variations within heated samples [2]. To overcome this problem, it is crucial to find the effect of different parameters of microwave heating such as microwave frequency on temperature distribution of samples.

In a household magnetron microwave system, the operating peak frequency varied within 2450 ± 50 MHz. The variation of frequency in magnetron generators is caused by their different parameters such as design, manufacture, age, temperature, sample load characteristics, etc. Therefore, each magnetron microwave oven has its unique characteristic operating frequencies which are highly unpredictable [3]. Solid-state generator is a novel replacement for the traditional magnetron generators and can provide fixed and controllable frequencies during microwave heat processing [4]. Although the variation of frequency in the microwave ovens is a famous phenomenon, the temperature distribution patterns of samples during heat processing at various fixed frequencies have not been systematically studied in the range of 2400 to 2500 MHz especially in the solid-state microwave system.

In this study to investigate the effect of frequency on microwave heating, the effect of three fixed frequencies of 2400, 2450, and 2500 in the solid-state system (FM – SSMWG – 500 W 2.45 GHz, Fricke und Mallah Microwave Technology GmbH, Peine, Germany) was compared on temperature distribution of a circular gellan gel samples with a diameter of 125 mm and height of 10 mm heated at the central position of a stationary turntable. A thermal imaging camera (FLIR E53, FLIR Systems, Wilsonville, Oregon, USA) was used to investigate the temperature distribution of samples during and after microwave heat processing (1, 2, 3, and 4 min). Then, using FLIR Tools software, the rainbow color palette was selected and the temperature scale on the right side of each infrared picture was set in the range between 15 °C (violet) and 100 °C (white).

For a direct comparison of temperature distribution in the circular samples processed at three fixed frequency schedules of 2400, 2450, and 2500 MHz in the solid-state microwave system without the turntable rotation, the IR pictures of processed samples during heat processing were arranged in Fig. 1.

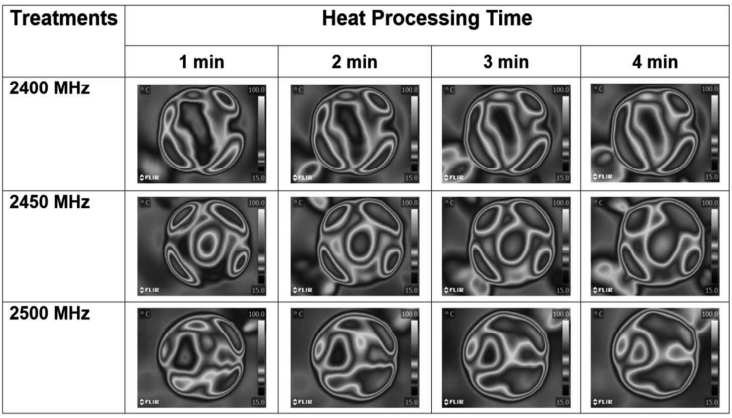


Fig. 1: Thermal imaging pictures of samples processed in the solid-state microwave system at fixed frequencies of 2400,2450, and 2500 MHz without turntable rotation at power level of 282 W after 1, 2, 3, and 4 min.

This figure shows changes in frequencies for the stationary model food sample in the solid-state microwave system resulted in considerable changes of the temperature distribution of the sample in all four investigated times. In addition, it can be seen in this figure that the stationary sample processed at frequency of 2450 MHz has a higher average temperature. The highest average temperatures of this treatment in the solid-state microwave system can be attributed to a better microwave energy absorption by the sample at this frequency level. This result also is correlated to the fact that the microwave cavity is designed for this frequency.

Therefore, it is possible to change the temperature distribution of heated sample during and at the end of the heat processing by changing the fixed frequency in a microwave cavity with fixed dimensions. In addition, the results showed that infrared thermography is a good procedure to recognize the temperature distribution differences of samples resulted from changes of microwave field distributing.

References:
[1] Yang F, Wang W, Yan B, Hong T, Yang Y, Zhu H, et al. Sweep frequency heating based on injection locked magnetron. Processes 2019;7:341–56.
[2] Peng J, Tang J, Luan D, Liu F, Tang Z, Li F, et al. Microwave pasteurization of pre-packaged carrots. J Food Eng 2017;202:56–64.
[3] Luan D, Wang Y, Tang J, Jain D. Frequency distribution in domestic microwave ovens and its influence on heating pattern. J Food Sci 429 2017;82:429–36.
[4] Atuonwu J, Tassou S. Quality assurance in microwave food processing and the enabling potentials of solid-state power generators: A review. J Food Eng 2018;234:1–15.

Dank: Die Förderung des Vorhabens 281A105316 erfolgte aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgt über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.

Forschungsgebiet Strukturbildung und -charakterisierung
Research Area Structure Formation and Characterization

Zusammenhang zwischen Rheologie und Mikrostruktur von Hydro- und Aerogelen aus Kartoffel- und Eiklarprotein

Correlation between rheology and microstructure of hydro- and aerogels from potato and egg white protein

David J. Andlinger, Alina Claire Bornkeßel[b], Isabella Jung[b], Baldur Schröter[b], Irina Smirnova[b] Ulrich Kulozik

[b:]Kooperation mit Hamburg University of Technology, Institute of Thermal Separation Processes, Hamburg

Um pharmazeutische und ernährungsphysiologisch relevante Stoffe vor Umwelteinflüssen zu schützen, wurde am Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik in Freising (TUM) in Kooperation mit dem Institut für Thermische Verfahrenstechnik der Technischen Universität Hamburg (TUHH) ein biogenes Verkapselungssystem auf der Basis von Aerogelen entwickelt. Bei der Herstellung werden Hydrogele durch thermische Denaturierung aus Proteinlösungen erzeugt. Durch einen anschließenden Lösungsmittelaustausch wird das enthaltene Wasser durch Ethanol ersetzt, und ein Alkogel entsteht. Das Ethanol wird anschließend durch das Verfahren der überkritischen CO_2-Extraktion dem Gelnetzwerk entzogen. Die Porenstruktur des Gelnetzwerkes bleibt erhalten und kann zur Beladung verwendet werden. Gleichzeitig können Rückschlüsse auf die Mikrostruktur des Ausgangsgels gewonnen werden.

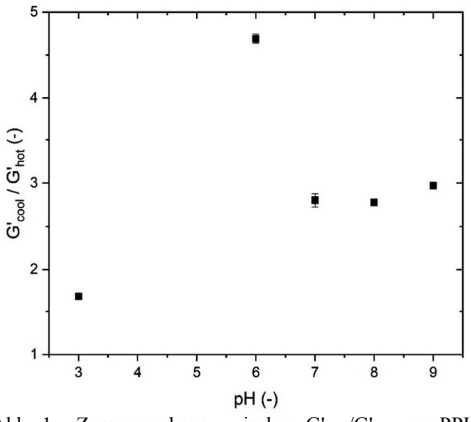


Abb. 1: Zusammenhang zwischen G'_{cool}/G'_{hot} von PPI Gelen in Abhängigkeit des pH-Wertes. Die Bilder zeigen die Struktur und das Aussehen der PPI Gele.

Zur Erzeugung dieser Aerogelstrukturen wurde nun erstmals Proteinisolate aus Kartoffeln (PPI) eingesetzt [1]. Um dieses neuartige Protein als Verkapselungsmatrix verwenden zu können, soll die Mikrostruktur der Aerogele charakterisiert werden.

Für Molkenproteinisolat (WPI) und Eiklar (EWP) ist bekannt, dass hohe spezifische Oberflächen (BET) in den Aerogelen erreicht werden können [2]. Dies war allerdings nur der Fall in Aerogelen, die aus sehr elastischen Hydrogelen erzeugt werden. EWP und WPI formen sehr elastische Hydrogele bei alkalischen pH-Werten, da bei diesem pH die Proteinauffaltung und die Reaktivität der Thiolgruppe erhöht wird. Dadurch können kovalente Disulfidbrücken gebildet werden, welche für die elastischen Eigenschaften des Gelnetzwerkes sorgen. Patatin, das Hauptprotein in dem eingesetzten Kartoffelproteinisolat, besitzt keine internen Disulfidbrücken und nur eine freie Thiolgruppe. Deshalb kann das Patatinnetzwerk nicht vollständig durch kovalente Bindungen stabilisiert werden. Dementsprechend waren die Hydrogele weniger elastisch und verformbar als EWP oder WPI Gele. Es zeigte sich jedoch, dass trotz des Mangels an Disulfidbrücken PPI-Aerogele mit hoher spezifischer innerer Oberfläche erzeugt werden konnten. Somit konnte festgestellt werden, dass Hydrogel-Elastizität alleine nicht ausreicht, um die Eigenschaften von Aerogelen vorherzusagen.

Ziel dieser Arbeit war es, einen neuen Zusammenhang zwischen Hydrogel- und Aerogelstruktur zu finden. Dazu wurden Hydrogele aus PPI in einem Rheometer erzeugt. Konzentrierte Proteinlösungen wurden dabei erhitzt, um die Gelierung zu induzieren und danach in derselben Rheometer-Geometrie abgekühlt. Für die rheologische Charakterisierung der Hydrogele wurde das sog. „cold-setting“ Verhalten genutzt. Dabei wird das Speichermodul (G‘) eines Geles während der Erhitzung (G'_{hot}) und nach dem Abkühlen (G'_{cool}) gemessen und das Verhältnis von G'_{cool}/G'_{hot} gebildet. Es ist bekannt, dass G'_{cool}/G'_{hot} abhängig ist von dem Verhältnis von elektrostatischen Interaktionen und Wasserstoffbrücken zu hydrophoben Interaktionen und Disulfidbrücken (Gleichung 1).

$$\frac{G'_{cool}}{G'_{hot}} \underset{Abhängig}{\Longleftrightarrow} \frac{Elektrostatische\ Interaktionen\ und\ Wasserstoffbrücken}{hydrophobe\ Interaktionen\ und\ Disulfidbrücken} \qquad (1)$$

Es konnte gezeigt werden, dass sich dieser Wert in Abhängigkeit vom pH-Wert verändert (s. Abb.1). Bei neutralen und alkalischen pH-Werten lag der Wert um 3 und stieg auf fast 5 bei pH-Werten nahe dem isoelektrischen Punkt von PPI. Der Anstieg konnte mit einem Anstieg an Wasserstoffbrücken und elektrostatischen Interaktionen erklärt werden, da deren Wirkung beim Abkühlen zunimmt. Die niedrigsten Werte wurden bei sauren pH-Werten gemessen. Dies war ein Hinweis darauf, dass hydrophobe Interaktionen bei der hohen Auffaltung zunehmen. G'_{cool}/G'_{hot} kann genutzt werden, um Proteininteraktionen in Gelen zu beschreiben. Gleichzeitig hängt auch die Mikrostruktur von Protein-Interaktionen ab. Deshalb wurde für EWP und PPI G'_{cool}/G'_{hot} der Hydrogele mit der BET der Aerogele bei verschiedenen pH-Werten korreliert (Abb. 2). Es wurde gezeigt, dass ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Mikrostruktur, gemessen über BET, und den rheologischen Eigenschaften des Hydrogels, gemessen durch das Verhältnis aus G'_{cool}/G'_{hot}, besteht.

Die höchsten BET Werte und somit die poröseste Mikrostruktur wurde für Gele gemessen, die unter stark sauren Bedingungen hergestellt wurden. Die elektrostatische Abstoßung ist hoch und Proteine liegen aufgrund der hohen Ladung stark aufgefaltet vor, was die Ausbildung von hydrophoben Interaktionen begünstigt. Die niedrigsten BET Werte und somit die gröbste Mikrostruktur wurde bei Gelen gemessen, die nahe am isoelektrischen Punkt des Proteins erzeugt wurden. In diesen Gelen dominieren elektrostatische Interaktionen und Wasserstoffbrücken, die zu großen Aggregaten und vielen zufälligen Interaktionen führen.

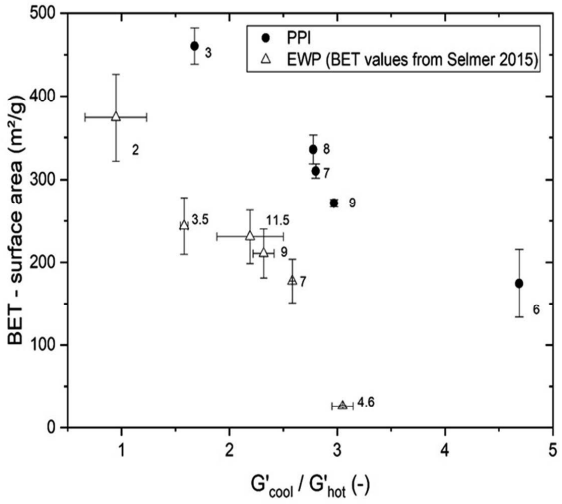


Abb. 2: Zusammenhang zwischen spezifischer Oberfläche (BET) der Aerogele in Abhängigkeit des G'_{cool}/G'_{hot} Verhältnisses der Hydrogele.
Die Zahlen geben die pH-Werte der Ausgangslösungen an

Zwischen diesen extremen finden sich neutrale und alkalische Gele. Es wurde somit gezeigt, dass über die Änderung von pH-Werten die Proteininteraktionen in Gelen gesteuert werden kann. Dies hat Einfluss auf das „cold-setting", gemessen durch G'_{cool}/G'_{hot}. Dieser Faktor wiederum korreliert mit der Mikrostruktur der Gele, gemessen über die spezifische innere `BET`-Oberfläche von Aerogelen.

Literatur:
[1] Andlinger DJ, Bornkeßel AC, Jung I, Schröter B, Smirnova I, Kulozik U. Microstructures of potato protein hydrogels and aerogels produced by thermal crosslinking and supercritical drying. Food Hydrocolloids. 2021;112:106305. doi:10.1016/j.foodhyd.2020.106305.
[2] Selmer I, Kleemann C, Kulozik U, Heinrich S, Smirnova I. Development of egg white protein aerogels as new matrix material for microencapsulation in food. The Journal of Supercritical Fluids. 2015;106:42–9. doi:10.1016/j.supflu.2015.05.023.

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.

Bestimmung von freien Thiolgruppen mittels einer neuen RP-HPLC-Methode

Quantification of free thiol groups by RP-HPLC

Franziska Kurz, Claudia Hengst

Cysteinreste in Proteinen sind von großer Bedeutung im Hinblick auf deren Technofunktionalität, z.B. Geldbildung durch Disulfidbrückenquervernetzung. Im Fall von Molkenproteinen können sowohl freie Thiolgruppen als auch intramolekulare Disulfidbrückenbindungen auftreten. Die Exposition der freien Thiolgruppe (Cys_{121}) des Molkenproteins β-Lactoglobulin (β-Lg) beispielsweise kann durch eine Temperaturerhöhung (circa 60 °C) und einer damit verbundenen Auffaltung erreicht werden [1]. Bedingt dadurch wird der Ablauf von Thiol-Austausch-Reaktionen ermöglicht, d.h. u.a. die Ausbildung neuer inter- und intramolekularer Disulfidbrücken. Klassischerweise werden Thiol-Austausch-Reaktionen mittels der Konzentrationsabnahme an freien Thiolen im Anschluss an die Erhitzung mittels des spektrophotometrischen „Ellman´s Tests" verfolgt. Ein generelles Problem der Spektrophotometrie ist dabei die Interferenz von Komponenten, welche bei gleicher Wellenlänge adsorbieren.

Um dieses Problem zu lösen wurde eine RP-HPLC (reversed-phase high performance liquid chromatography) Methode zur Quantifizierung von freien Thiolgruppen entwickelt, die eine Komponententrennung bei gleicher Wellenlänge ermöglicht [2].

Die Gelhärte beispielweise wird maßgeblich von der Konzentration an Disulfidquervernetzungen bestimmt, welche wiederum von der Reaktivität der freien Thiolgruppe beeinflusst wird [3,4]. Ein entscheidender Faktor, welcher die Reaktivität der freien Thiolgruppe von β-Lg beeinflusst, ist der Erhitzungs-pH-Wert. Um diesen Einfluss mit Hilfe der RP-HPLC Methode zu untersuchen wurde folgender experimenteller Ansatz gewählt: β-Lg mit einem Proteingehalt von 1 % (pH 5,8; 6,2; 6,8 und 8,5) wurde bei 80 °C für 90 min im Wasserbad erhitzt. Im Anschluss daran erfolgte eine Kombination aus isoelektrischer Fällung (pH 4.6), Zentrifugation sowie Resuspendierung des Partikelpellets auf einen Proteingehalt von 1 %, wodurch ein maximaler und einheitlicher Denaturierungsgrad (DD) erreicht werden konnte.

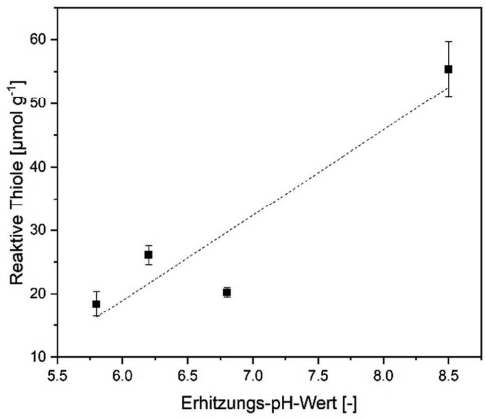


Abb. 1: Reaktivität der freien Thiolgruppe von β-Lg in Abhängigkeit des Erhitzungs-pH-Werts (DD > 95 %).

Abb. 1 zeigt die Reaktivität der freien Thiolgruppe in Abhängigkeit des Erhitzungs-pH-Werts der β-Lg Lösungen. Daraus geht hervor, dass ein Anstieg des Erhitzungs-pH-Werts mit einer Zunahme der Reaktivität der freien Thiolgruppe einhergeht. Daraus lässt sich ableiten, dass durch Einstellung eines pH-Werts von 8,5 während der Erhitzung eine höhere Konzentration an neu gebildeten Disulfidbrückenbindungen im Vergleich zu pH-Werten nahe am isoelektrischen Punkt erreicht werden kann. Ein vergleichbarer Trend wurde auch bei Leeb et al. [4] bei Anwendung der spektrophotometrischen Methode gefunden.

Literatur:

[1] A. Tolkach, Thermisches Denaturierungsverhalten von Molkenproteinfraktionen: Selektive Denaturierung - Fraktionierung mit Membranen - Reaktions-, Auffaltungs- und Aggregations-kinetik. Dissertation, 2007.

[2] F. Kurz, C. Hengst, U. Kulozik, RP-HPLC method for simultaneous quantification of free and total thiol groups in native and heat aggregated whey proteins, MethodsX 7 (2020) 101112.

[3] A.C. Alting, R.J. Hamer, C.G. de Kruif, M. Paques, R.W. Visschers, Number of thiol groups rather than the size of the aggregates determines the hardness of cold set whey protein gels, Food Hydrocolloids 17 (2003) 469–479.

[4] E. Leeb, N. Haller, U. Kulozik, Effect of pH on the reaction mechanism of thermal denaturation and aggregation of bovine β-lactoglobulin, International Dairy Journal 78 (2018) 103–111.

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.

Einfluss der Caseinkonzentration auf den Calcium- und Phosphatgehalt der Serumphase in konzentrierten Milchproteinsystemen bei Zugabe von Natriumchlorid

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

Marius Reiter

Durch die gegenwärtig zunehmende Verwendung von Caseinkonzentraten zur Herstellung von Milchprodukten wird die Funktionalität der Caseinfraktion zunehmend interessant. Insbesondere die Änderung der Eigenschaften der Caseinmizellen bei deutlich erhöhten Proteingehalten ist von Relevanz. Angestrebt wird ein Grad an Detailwissen zur Variation der Funktionalität wie man ihn bei Molkenproteinen kennt.

Ein Faktor, der zur Ausbildung und zum Zusammenhalt der Caseinmizelle maßgeblich beiträgt, ist die Interaktion der Caseinmonomere mit kolloidalem Calciumphosphat (CCP). Das aktuellste Modell zum Aufbau der Caseinmizelle beschreibt diese als eine schwammartige Struktur, in der die Caseinmoleküle mit CCP, anderen Salzen sowie den löslichen Caseinmonomeren in Wasserkanälen wechselwirken. Die Caseinmizellen stehen in einem dynamischen Gleichgewicht mit der Serumphase 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. Dies kann die Eigenschaften und Zusammensetzung der Caseinmizellfraktion maßgeblich beeinflussen. 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 Caseinkonzentraten mit deutlich erhöhtem Proteingehalt sowie verschobenen Casein-zu-Molkenproteinverhältnis (CMV) wurde nach dem aktuellen Stand des Wissens unzureichend erforscht.

Zur Untersuchung des Einflusses der Proteinkonzentration auf die Caseinfraktion in konzentrierten Milchsystemen bei Zugabe von NaCl wurde die Serumphase mittels Ionenchromatographie (IC) auf deren Calcium- und Phosphatgehalt untersucht. Hierfür wurde sowohl ein milchähnliches Caseinkonzentrat mit einem Proteingehalt von 30 g/kg als auch ein Caseinkonzentrat mit deutlich erhöhtem Proteingehalt von 90 g/kg aus mizellarem Caseinpulver (MCC 90:10) rehydratisiert. Anschließend wurden beide Lösungen mit unterschiedlichen Mengen NaCl versetzt (0-240 mM) und über Nacht bei 4 °C zur Einstellung eines Gleichgewichts gelagert. Die Proben wurden anschließend aus der Kühlung entnommen und mittels eines Wärmeschranks auf 20 °C vortemperiert und daraufhin in einer Ultrazentrifuge zentrifugiert. Mit Hilfe einer Pipette wurde daraufhin ein Teil der so erhaltenen klaren Serumphase zur Analyse auf den Gehalt des enthaltenen Calciums und Phosphats mittels IC entnommen.

Abbildung 1 zeigt die Ionenzusammensetzung der Serumphase in Abhängigkeit des Proteingehalts sowie der zugegebenen Menge an NaCl. Im milchähnlichen System mit einem Proteingehalt von 30 g/kg wurde bis zu einer Zugabe von 120 mM NaCl ein stetiger Anstieg der Calcium- und Phosphationen in der Serumphase detektiert. Die Calciumkonzentration in der Serumphase stieg im Vergleich zur Referenz um 47 %, die Phosphatkonzentration stieg um 35 %. Die weitere Erhöhung der NaCl-Zugabemenge auf 240 mM resultierte in keiner weiteren Änderung der Konzentration dieser beiden Ionen. Im Vergleich dazu wurde im konzentrierten System bei 90 g/kg Proteingehalt bis zu einer Zugabemenge von 30 mM NaCl keine Konzentrationsänderung der Calcium- und Phosphationen detektiert. Erst bei 60 mM

NaCl-Zugabe wurde im Vergleich zur Referenz ein Anstieg der Calciumionen um 12 % und der Phosphationen um 4% detektiert. Die weitere Erhöhung der NaCl-Zugabe auf 240 mM führte im Vergleich zur Referenz zu einem weiteren Anstieg der Calcium- und Phosphationen um 30 % bzw. 13 %.

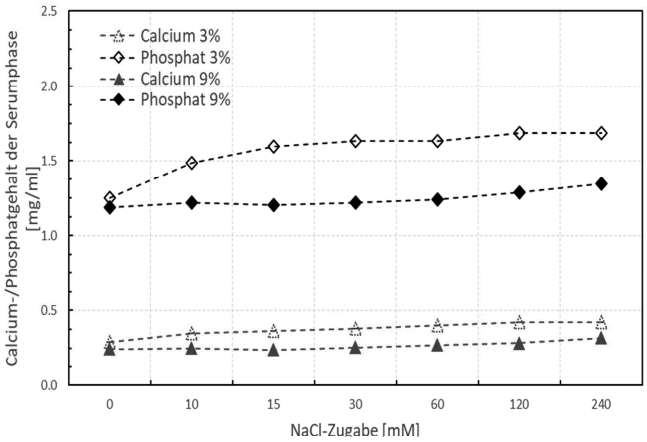


Abb. 1: Calcium und Phosphatgehalt der Serumphase in Abhängigkeit des Proteingehalts und NaCl-Zugabe. Offene Symbole zeigen den Calcium- bzw. Phosphatgehalt der Serumphase des Caseinkonzentrats mit 30g/kg Proteingehalt, gefüllte Symbole zeigen die Konzentration der beiden Ionen in der Serumphase bei einem Proteingehalt von 90 g/kg.

In Milch beobachteten Huppertz and Fox (2006) durch die Zugabe von NaCl ebenfalls einen Anstieg an löslichem Calcium in der Serumphase. Dieser Anstieg konnte nun ebenso in konzentrierten Systemen mit verschobenen CMV und erhöhtem Proteingehalt gezeigt werden. Gleichzeitig konnte eine korrespondierende Zunahme von Phosphationen in der Serumphase in beiden untersuchten Konzentraten gezeigt werden.

Durch die Zugabe von zusätzlichem NaCl in Milch oder konzentrierter Milch sinkt der pH-Wert leicht. Dadurch wird die Löslichkeit von CCP erhöht, woraus ein Anstieg von Calcium- und Phosphationen in der Serumphase resultiert. Außerdem ist eine Freisetzung von zusätzlichem Calcium durch eine Konkurrenzreaktion mit den zugegebenen Natriumionen bedingt. Diese verdrängen die an die Phosphoserylreste gebundenen Calciumionen, welche somit in die Serumphase freigesetzt werden (Huppertz and Fox, 2006). Dieser zusätzliche Effekt könnte die prozentual stärker zunehmende Calciumkonzentration in der Serumphase im Vergleich zur Phosphatkonzentration in beiden untersuchten Systemen erklären.

Der Vergleich in Abhängigkeit des Proteingehalts bestätigt die Erwartung, dass der Proteingehalt bei Variation der Serumzusammensetzung einen maßgeblichen Einfluss auf die Caseineigenschaften besitzt. Bereits geringe Mengen von 10 mM an zusätzlichem NaCl führen im milchähnlichen Caseinkonzentrat zu starken Änderungen des Calcium- und Phosphatgehalts der Serumphase und damit auch der Caseinmizellen. Der 3-fach erhöhte Proteingehalt im Konzentrat mit 90 g/kg Proteingehalt scheint dieser starken Änderung des Calcium- und Phosphatgehalts entgegen zu wirken. Erst deutlich höhere NaCl-Mengen führen hier zu einer detektierbaren Änderung. Dies lässt den Schluss zu, dass in einem Caseinkonzentrat mit erhöhtem Proteingehalt die Manipulation des Calcium- und Phosphatgehalts der Caseinmizellen mittels NaCl-Zugabe deutlich präziser und feiner beeinflusst werden kann als in Milch. Inwiefern der manipulierte Calciumgehalt der Caseinmizellen über diese gezielte Milieuänderung technofunktionell genutzt werden kann, ist Gegenstand zukünftiger Arbeiten in diesem Projekt.

Literatur
Broyard, C.; Gaucheron, F. (2015): Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge. In: *Dairy Sci. & Technol.* 95 (6), S. 831–862. DOI: 10.1007/s13594-015-0220-y.
Dalgleish, D. G.; Corredig, M. (2012): The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. In: *Annual review of food science and technology* 3, S. 449–467. DOI: 10.1146/annurev-food-022811-101214.
Huppertz, T.; Fox, P. F. (2006): Effect of NaCl on some physico-chemical properties of concentrated bovine milk. In: *International Dairy Journal* 16 (10), S. 1142–1148. DOI: 10.1016/j.idairyj.2005.09.011.

Morphologie hochkonzentrierter Proteinextrudate

Morphology of high concentrated protein extrudates

Eva Scheidler, Franz Kuhnert

Die Extrusion hochkonzentrierter Proteinsysteme kann abhängig vom Ausgangsmaterial zu verschiedenen Produkten verarbeitet werden. Auf der einen Seite kann Sojaproteinisolat aufgrund seiner geringen Reaktivität durch die thermomechanische Einwirkung im Extruder zu anisotropen Strukturen prozessiert werden. Diese anisotropen, faserartigen Strukturen werden angestrebt, um Fleischersatzprodukte zu erzeugen. Auf der anderen Seite können Molkenproteine durch Extrusion zu kleinen, kugelartigen Strukturen verarbeitet werden. Hier entstehen diese sog. Mikropartikulate durch die hitzeinduzierte Aggregationsreaktion der Molkenproteine, welche durch die gleichzeitig einwirkende Scherung in ihrer Größe limitiert werden. Die Größe der Partikel liegt im Bereich weniger µm, womit sie als Fettersatz eingesetzt werden können [1].

Neben Molkenproteinen können auch Caseine mittels Extrusion strukturiert werden. Dabei handelt es sich um nicht reaktive, hitzestabile Proteine, welche eine ungeordnete Struktur aufweisen und in nativer Form in sogenannten Caseinmicellen assemblieren. Die native Größe der Caseinmicellen (50 – 400 nm) kann durch Variation des pH-Wertes verändert werden. Eine Absenkung des pH-Wertes führt zur Dissoziation von Calciumphosphat und Caseinmonomeren aus der Micelle und somit zur Verringerung der Größe, während eine Erhöhung des pH-Wertes zur Demineralisierung und ein Anschwellen der Micelle bewirkt [2]. Auf dieser Grundlage wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Größe der Partikel durch die Extrusion bei verschiedenen pH-Werten variiert werden kann. Dafür wurde micellares Casein Konzentrat (MCC) Pulver verwendet. Durch den vorangegangenen Sprühtrocknungsprozess weist dies eine mittlere Partikelgröße von 100 µm auf.

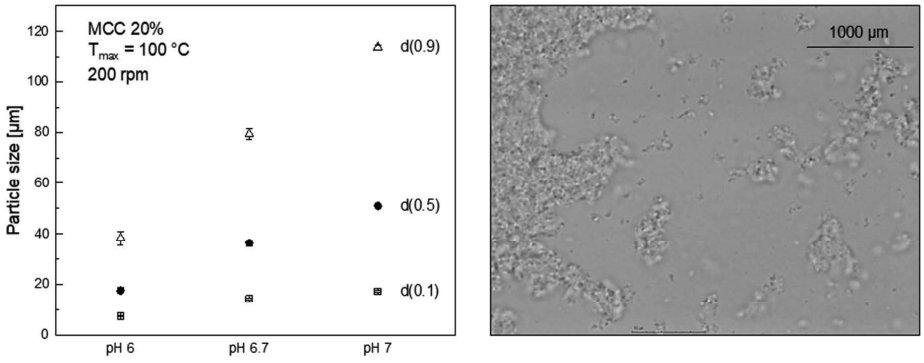


Abb. 1: Partikelgröße und -Form von micellarem Casein Konzentrat nach der Extrusion bei pH- 6.0, 6.7 (nativ) und 7.0

Nach der Extrusion von MCC bei einer Trockenmasse von 20%, einer maximalen Gehäusetemperatur von 100 °C und einer Schneckendrehzahl von 200 rpm unter Variation des pH-Wertes wurde die Partikelgröße und -Form bestimmt (Abb. 1). Die extrudierten Partikel weisen hier unter nativen Bedingungen (pH 6.7) eine mittlere Größe von 38 µm auf. Diese Größe kann durch Variation des pH-Wertes während der Extrusion gezielt verändert werden. So führt eine Reduktion des pH-Wertes auf 6.0 zu eine mittleren Partikelgröße von 18 µm, wobei gleichzeitig die Streuung der Partikelgrößenverteilung reduziert wird (Abb. 1). Im Gegensatz dazu resultiert die Erhöhung des pH-Wertes auf 7.0 zu einer erhöhten mittleren Partikelgröße von 51 µm, wobei auch die Verteilung der Partikelgrößen zunimmt (Abb. 1). Daraus geht hervor, dass die Partikelgröße von extrudiertem MCC mit steigendem pH-Wert im Bereich zwischen pH 6.0 und 7.0 zunimmt, während alle anderen Einstellungen konstant bleiben (T_{max}, TM, Drehzahl). Die produzierten Partikel weisen eine fraktale Struktur auf, welche nicht durch eine Variation des pH-Wertes verändert wird (Abb. 1).

Diese Ergebnisse lassen sich für eine zielgerichtete Herstellung von funktionalisierten Partikeln aus MCC nutzen.

Literatur:
[1] Wolz, M, Mersch, E, Kulozik, U (2016): Thermal aggregation of whey proteins under shear stress. Food Hydrocolloids, 56:396–404.
[2] A.E. Post, B. Arnold, J. Weiss, J. Hinrichs (2012): Effect of temperature and pH on the solubility of caseins: Environmental influences on the dissociation of aS- and b-casein. Journal of Dairy Science, 4(95):1603–1616.

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 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.

Functionalisation of pea protein for fat reduction
Funktionalisierung von Erbsenprotein zur Fettreduktion
Caren Tanger

An increasing interest in a sustainable lifestyle calls for sustainable food. Currently, animal based diet leads to higher emission than a plant based diet. Therefore, it is of increasing interest to substitute animal protein, such as whey protein, with plant protein in food. Next to sustainability also a healthy lifestyle is of increasing interest, because of diet related illnesses. Diet related illnesses as for example obesity, diabetes, etc. arise because of an excess of salt, sugar and fat in the diet. The focus in this project is to reduce fat in food systems by functionalizing protein. Fat in foods can be a structure giving agent, but also and more importantly it adds to the creamy taste perception of food. It is the aim to generate the same creamy taste perception by using functionalized protein. Such a creamy taste perception can be generated by using a ball-bearing effect [1]. This means that protein particles are formed, which role between palate and tongue. The size, shape and texture of these particles is crucial for the perception of a creamy mouth feeling of these particles. Normally, a particle size of 1 – 20 µm is most suitable to generate a creamy mouth feeling [1]. Protein particles in that size range are also called microparticles. They can be formed by heating and shearing a protein solution high in protein concentration simultaneously or consecutively. The shear stress can be used to limit the growth of the particles.

Simultaneous heating and shearing can be performed using an extruder. The extruder gives the advantage of having a high throughput and being able to process high protein concentration. Such microparticles have been successfully created with whey protein concentrate using an extruder [2]. Considering the sustainability issue, the usage of plant proteins would be a more innovative way and much more sustainable than the usage of whey protein. Two plant proteins of interest would be pea protein and potato protein. Both plants, pea and potato, can be grown in Germany and show a low allergenic potential. However, less research has been done on the microparticulation behavior of pea and potato protein. Therefore, the IGF Project (AiF 20197N) aims to create a new platform of knowledge and methodology for the application of pea and potato protein in food as fat substitute. In order to achieve this aim, first the functionalities were analyzed. Secondly, the thermal reaction behavior was analyzed. With this knowledge suitable microparticles of pea and potato should be created by using extrusion cooking. On top of this, the functionalities of the created microparticles should be studied. In the following, the first trials of creation of microparticles of pea and potato protein are presented.

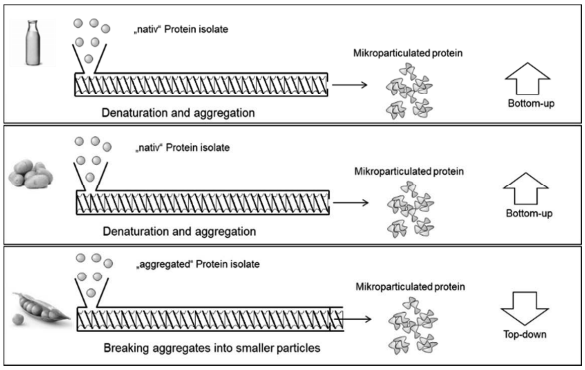


Fig. 1: Schematic overview of the microparticulation principle of whey, potato and pea protein

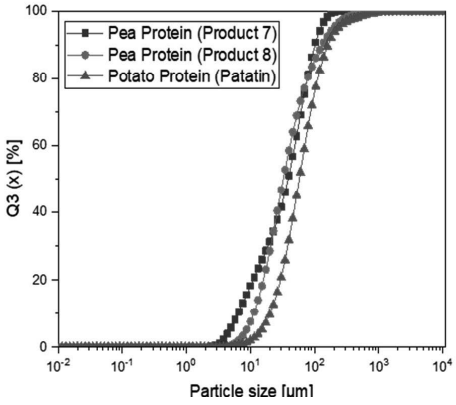


Fig. 2: Particle size distribution of two different pea protein isolates microparticulated and the potato protein microparticulated at protein concentration of 17% and a screwspeed of 800 rpm.

Microparticulation was executed with commercial pea and potato protein. Potato and whey protein are present in native state in the isolate. In contrast, pea protein is present in denatured and aggregated state. Therefore, whey and potato protein increase in particles during extrusion and pea protein decrease in particle size during extrusion. This is shown schematically in Fig. 1. The screw configuration of the extrusion process was based on the one used for whey protein [2]. For pea protein, protein concentration of 30 % and higher were found to produce too hard and dry products. Therefore, protein concentration of 30 % and higher were found to be unsuitable for the production of pea protein particles. At 20 % protein and lower, the resulting mass had a texture of peanut butter, which could be processed further. Similar to pea protein, for potato protein at low water concentration and high temperatures the product was burned.

Visible particles were found in the potato protein product at high temperatures and low water concentration. Higher screw speeds could not inhibit this big particle formation.

In Fig. 2 the particle size distribution of two pea protein microparticles, made at the same environmental conditions out of two different pea protein isolates, and the potato protein microparticles is shown.

It can be seen that the particles formed of the two pea protein isolates contained smaller particles than the one of potato protein. Most of the pea protein particles are below 20 µm and therefore offer the opportunity to be used as fat replacer. Potato protein particles were too big be used as fat replacer. However, adjustments of the screw configuration and other extrusion parameters might lead to smaller particles. All in all, the first trials show that pea protein are a promising source to produce microparticles suitable for fat reduction. Further experiments on the optimal process parameters will follow as well as the characterization of the functionalities of the microparticles.

References:
[1] Liu K. Lubrication and perception of foods: Tribological, rheological and sensory properties of particle-filled food systems 2016.
[2] Wolz M, Kastenhuber S, Kulozik U. High moisture extrusion for microparticulation of whey proteins – Influence of process parameters. Journal of Food Engineering 2016; 185:56–61.

Thanks: This IGF Project of the FEI is supported via AiF within 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 (AiF 20197 N).

Oszillationsrheometrie zur Charakterisierung der Labgelbildung

Oscillatory rheometry for rennet gelation detection

Malou Warncke

Die Labgelbildungseigenschaften von Milch sind abhängig von der Temperatur, der Chymosinkonzentration sowie der Probenzusammensetzung. Die Labgelbildung kann sowohl optisch als auch rheologisch detektiert werden. Während die optische Methode lediglich die Gelbildungsgeschwindigkeit misst, erfasst die Rheologie außerdem die Gelfestigkeit. Durch Konzentrierung, Variation des Casein-/Molkenproteinverhältnisses oder Proteinfunktionalisierung können veränderte Gelbildungseigenschaften auftreten. Eine differenzierte Betrachtung von Primärphase (Hydrolyse) und Sekundärphase (Aggregation) der Labgelbildung liefert Aufschluss darüber, welche Phase der Labgelbildung wie beeinflusst wird. Dies ist jedoch bei den optischen, transmissionsbasierten Methoden nicht möglich. Ziel war es daher, eine geeignete Methode zur Aufzeichnung des Gelbildungsverlaufs (die sowohl Gelbildungsgeschwindigkeit als auch Gelfestigkeit misst) mittels Rheometer zu entwickeln, die eine differenzierte Betrachtung der einzelnen Phasen erlaubt.

In Milchgelen lässt sich die Zeit bis zum sogenannten „Gelpunkt“ einfach mittels Lichttransmission mit dem Gelograph NT (Gel-Instrumente, Schweiz) bestimmen. Der Gelpunkt ist der Punkt, an dem eine Flüssigkeit seinen vorwiegend viskosen Charakter verliert und sich zunehmend elastisch verhält. Das Messprinzip des Gelograph NT basiert auf Transmission von Licht mit einer Wellenlänge von 850 nm. Für die zeitliche Ermittlung des Gelpunktes wird Magermilch mit Chymosin versetzt und in die temperierte Messzelle pipettiert. Zu Beginn der Messung ist die Milch noch lichtdurchlässig und somit die Transmission hoch. Sobald die Gelbildung einsetzt und sich erste lichtundurchlässigere Strukturen ausbilden, kommt zunehmend weniger Licht am Detektor an und die Transmission beginnt zu sinken. Der Gelpunkt ist definiert als die Zeit, an der die erste Ableitung der Transmission maximal ist (Abb. 1).

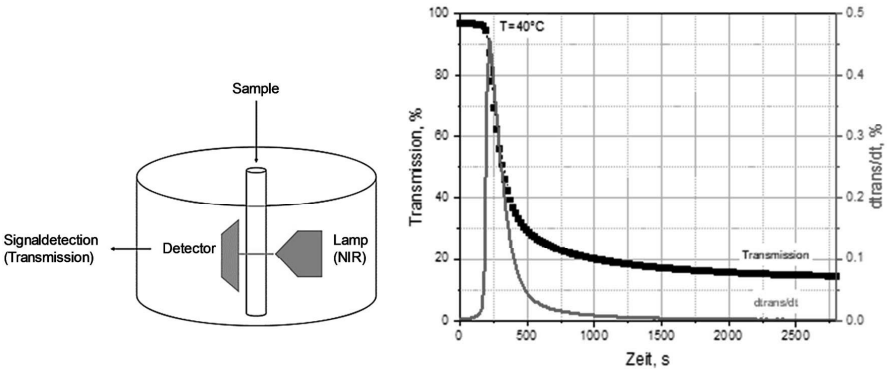


Abb. 1: Schematische Darstellung der Gelograph NT-Messzelle (links); Transmission und dessen erste Ableitung als Funktion der Zeit (rechts).

Die Rheologie basiert im Gegensatz zu der Transmission auf den Fließeigenschaften einer Lösung, die sowohl von der Temperatur als auch von der Probenzusammensetzung abhängen. Durch gezielte Temperaturführung bei der Oszillationsrheometrie sollten die veränderten rheologischen Eigenschaften von verlabter Milch während Hydrolyse und Aggregation sichtbar gemacht werden.

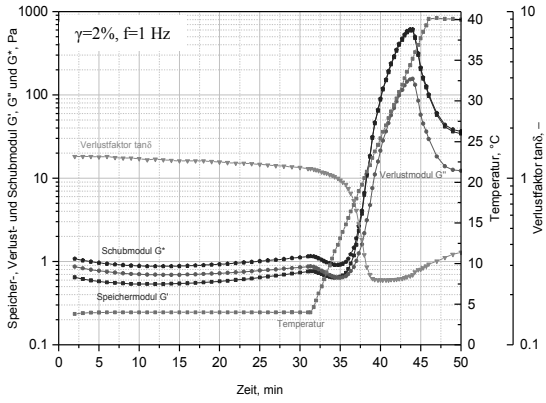


Abb. 2: Verlauf der Module und der Temperatur während der Labgelbildung.

Es ist bekannt, dass die Hydrolyse bereits bei kalten Temperaturen wie 4 °C stattfindet, wohingegen die Aggregation erst bei Temperaturen über 12 °C einsetzt. In Abb. 2 sind alle Moduln sowie die Temperatur über die Zeit der Labgelbildung dargestellt. Der Speichermodul G‘ beschreibt den elastischen Anteil einer Probe, der Verlustmodul G‘‘ den viskosen. Der Gelpunkt ist definiert als Schnittpunkt von G‘ und G‘‘, d.h. wenn elastischer und viskoser Anteil gleich groß sind, bzw. wenn der Verlustfaktor tan δ, der das Verhältnis von G‘‘ zu G‘ beschreibt, 1 ist. Da jedoch insbesondere bei Milchkonzentraten oftmals bereits zu Beginn der Messung der elastische Anteil den viskosen überwiegt (G‘>G‘‘), ist diese Definition ungeeignet. Alternativ kann nur G‘ betrachtet werden und der Gelpunkt als der Punkt definiert werden, an dem G‘ das experimentelle noise level (wenn Störfaktoren keinen Einfluss mehr haben) übersteigt. Dies ist jedoch unpräzise und die Gelbildungszeit im Vergleich zu der viskositätsbasierten Gelbildungszeit geringer.

Daher eignet sich die Betrachtung der komplexen Viskosität. Diese beschreibt das Verhältnis von komplexem Schubmodul und Kreisfrequenz. Sie beinhaltet sowohl den elastischen als auch viskosen Anteil und berücksichtigt die instationären Scherbedingungen, die sich beim Oszillationsversuch laufend mit der Zeit ändern. Abb. 3 zeigt einen typischen Verlauf der komplexen Viskosität während der Gelbildung. Dieser kann in fünf Phasen unterteilt werden: Während der ersten Phase, der Hydrolyse, wird das κ-Casein durch Chymosin in para-κ-Caseine und Caseinmakropeptide (CMP) gespalten. Infolgedessen nimmt der Micellradius ab und die Caseinmicellen verlieren ihre Hydrathülle. Nun dominieren hydrophobe Wechselwirkungen und Van-der-Waals-Kräfte wodurch die komplexe Viskosität sinkt. Ordnen sich diese Para-Caeinmicellen neu an und bilden erste kettenförmige Strukturen, steigt die Viskosität wieder an (Phase 2). Eine weitere Erklärung für den Viskositätsanstieg ist die zunehmende CMP-Konzentration in der Serumphase und die diffusive Verteilung der Makropeptide während der Oszillation. Sobald die Temperatur jedoch erhöht wird (Phase 3), sinkt die Viskosität auf ein Minimum (Beginn der Gelbildung), bevor sie in Phase 4 rapide auf ein Maximum ansteigt (vollständige Gelbildung). Die sinkende Viskosität in Phase 5 könnte auf Serumaustritt und die dadurch verschlechterte Haftung der Geometrie zurückzuführen sein. Der Serumaustritt geschieht in der Tertiärphase der Labgelbildung, in der das Gelnetzwerk weiter kontrahiert und Serum aus den Poren drückt. Mit Hilfe dieser Methode kann auch dieser Zeitpunkt exakt bestimmt werden.

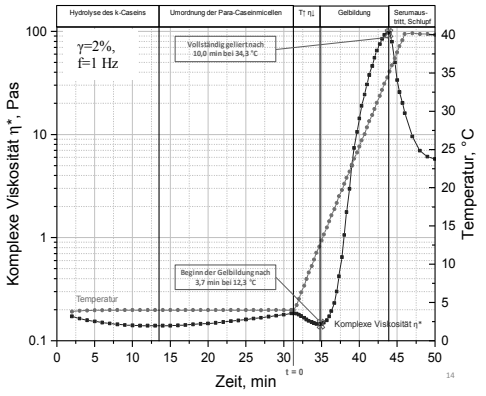


Abb. 3: Verlauf der komplexen Viskosität während der Labgelbildung.

Diese Methode ermöglicht nicht nur eine differenziertere Betrachtung der Strukturveränderungen in Milchproben während der Primär- und Sekundärphase der Labgelbildung, sondern auch in den dazwischenliegenden Übergangsphasen. Zeitpunkte für das Einsetzen und Vollenden der Gelbildung sowie der Beginn der Tertiärphase können ebenfalls ermittelt werden. Mit dieser Methode ist es außerdem möglich, den Gelpunkt von Milchkonzentraten, deren G‘ von vornherein höher ist als ihr G‘‘, zu bestimmen und mit Proben, die einen Schnittpunkt aufweisen, zu vergleichen. Des Weiteren kann sie Aufschluss darüber geben, wie sich variierende Proteinkonzentrationen und -verhältnisse oder Proteinfunktionalisierungen auf die einzelnen Phasen der Labgelbildung auswirken.

Den Bausteinen fibrillärer Strukturen in Milchproteinkonzentraten als Modellkäseprodukten auf der Spur

Tracking down the building blocks of fibrillar structures in processed cheese

Ingrun Kieferle, Almut Vollmer*, Alexandra Pusl
*Department of Nutrition, Dietetics and Food Sciences, Utah State University, Logan, UT 84322, USA

Gerade auf Pizza können alternative strukturierte Milchproteinkonzentrate anstelle von klassischem Käse zum Einsatz kommen. Der Unterschied zwischen diesen Systemen ist, dass das Milchprotein und -fett in den Alternativprodukten durch pflanzliche Proteine und Fette ersetzt werden kann. Auch bei Schmelzkäse können ähnliche Ansätze zum Tragen kommen.

Dem Salz Natriumphosphat und/oder -citrat kommt hierbei eine besondere Rolle zu: Es entzieht dem Casein die Calciumionen – im Austausch gegen Natrium. Durch die Wirkung der Salze werden also Caseinuntereinheiten frei, die sich zu neuen Strukturen zusammenlagern und in Schmelzkäse oder, wie in dieser Studie, in Modellprodukten aus Milchprotein ohne vorangegangene Käseherstellung durch eine bestimmte Strukturbildung zum Aufbau von Textur erzeugen. Die dabei ablaufenden Vorgänge sind komplex und noch kaum mechanistisch aufgeklärt.

In Versuchen unter Verwendung von micellarem Caseinpulver und Sonnenblumenöl als Protein- bzw. Fettquelle haben wir gezeigt, dass diese Strukturen fibrillärer Natur sein können. Abb.1 zeigt eine transmissions-elektronen-mikroskopische (TEM) Aufnahme einer Analogkäseprobe, welche im Rahmen der Arbeiten zu einer Publikation entstand, die sich mit der Fragestellung beschäftigt, wie die Bildung fibrillärer Strukturen mit der Zeit voranschreitet (Vollmer et al., submitted). Das Sonnenblumenöl ist als dunkelgraue Bereiche erkennbar, während das Protein hellgrau erscheint. In diesen hellgrauen Bereichen sind fibrilläre Strukturen sichtbar. Die Frage, aus welchen Bausteinen diese Fibrillen bestehen, ist allerdings ungeklärt. Im Folgenden geben wir einen Überblick über die Hintergründe und den Ansatz zur Identifikation der Bausteine fibrillärer Strukturen in Schmelzkäse ähnlichen Produkten.

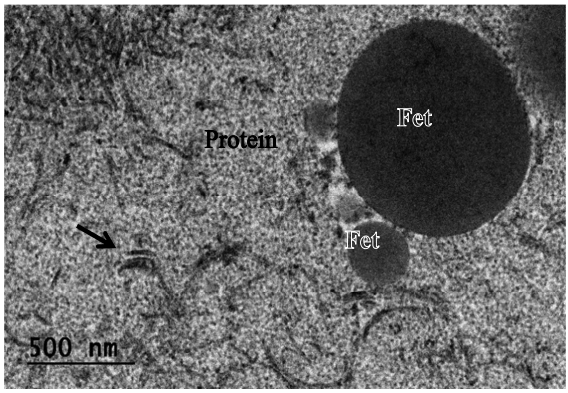


Abb. 1: Fibrilläre Strukturen (Pfeil) in einer Analogkäseprobe nach 175 min Prozessierungszeit bei 90°C.

Abb. 2 illustriert die gängigste Theorie zum Aufbau von Caseinmicellen, die aus α_{S1}-, α_{S2}-, β- und κ-Casein bestehen. Dem Nanocluster-Modell zufolge sind Trauben bestehend aus Calciumphosphat (CP) von α_S-Caseinen umgeben. Da diese Calciumphosphat-Trauben einen theoretischen Durchmesser von nur wenigen Nanometern haben, werden sie als Nanocluster bezeichnet. Die Hülle der Micellen bildet das κ-Casein, während das β-Casein in Abhängigkeit von den Umgebungsbedingungen aus der/in die Micelle diffundiert (Dalgleish und Corredig, 2012). Grundsätzlich kommen diese vier Caseinmonomere alleine oder in Kombination als Bausteine der fibrillären Strukturen in Frage.

Wenn α_{S2}- und κ-Casein in Reinform vorliegen, kann die Bildung von Fibrillen bereits unter physiologischen Bedingungen (37°C, pH 7) beobachtet werden – für α_{S1}- und β-Casein allerdings nicht (Thorn et al., 2015). Der Rückschluss, die Fibrillen müssten also aus α_{S2}- und κ-Casein bestehen, ist allerdings verfrüht. Erstens können die Bedingungen bei der Herstellung (90°C, pH 5.9) nicht als physiologisch bezeichnet werden und zweitens liegen die Caseinfraktionen nicht isoliert, sondern in Mischung, vor. Die harschen Herstellungsbedingungen wirken sich unweigerlich auf die hydrophoben Wechselwirkungen, die Wasserstoffbrücken sowie die Proteinladungen und damit auf die ionischen Wechselwirkungen aus, welche die Interaktionen der Caseine bestimmen. Unter physiologischen Bedingungen, wie im Euter der Kuh, verhindert der Umstand, dass eine Mischung der α_{S1}-, α_{S2}-, β- und κ-Caseine im Verhältnis 4:1:4:1,3 vorliegt, dass es zur Bildung von Fibrillen und folglich zu ungewollter Strukturbildung kommt.

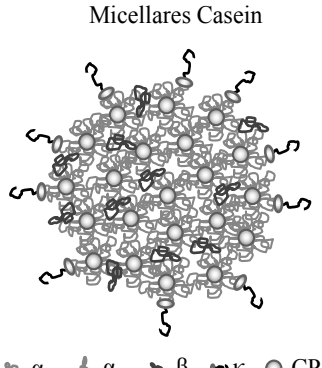


Abb. 2: Nanocluster-Modell der Caseinmicelle.

Dies ist damit zu erklären, dass insbesondere α_{S1}- und β-Caseine eine Schutzfunktion (`Chaperon´-Aktivität) aufweisen und damit durch ihre Anwesenheit eine ungewollte Zusammenlagerung von α_{S2}- und κ-Caseinen zu fibrillären Strukturen unterbinden (Thorn et al., 2005). Nun ist es aber denkbar, dass die α_{S1}- und/oder β-Caseine diese Eigenschaften aufgrund der hier vorliegenden Bedingungen und der Einwirkung der Salze ganz oder teilweise verlieren. Diese Vermutung wird dadurch gestützt, dass unter extremen Bedingungen (90°C, pH 2) bereits Fibrillen aus β-Casein beobachtet wurden (Pan und Zhong, 2015).

Um den Bausteinen dieser fibrillären Strukturen in weiterführenden Arbeiten auf die Spur zu kommen, wird die Bildung von Fibrillen durch die sukzessive Steigerung des Schmelzsalz-Gehalts von 0 auf 1.8% Polyphosphat in Rezepturen mit einem pH-Wert von 5.9 induziert. Die An-/Abwesenheit und Morphologie der fibrillären Strukturen wird durch TEM-Aufnahmen sichtbar gemacht. Darüber hinaus kann das Ausmaß des Zerfalls der Caseinmicellen durch die Quantifizierung des kolloidalen Calciumphosphats basierend auf einer Säure-Base-Titration beziffert werden (Wolfschoon-Pombo und Andlinger, 2013). Es ist davon auszugehen, dass die Menge an kolloidalem Calciumphosphat mit zunehmendem Dissoziationsgrad der Caseinmicellen abnimmt. Weiterhin werden Zentrifugationsversuche durchgeführt. Hierbei sedimentieren fibrilläre Strukturen, während die nicht an den Fibrillen beteiligten Caseine im Überstand zurückbleiben. Welche der Caseinfraktionen im Überstand und Sediment zu finden sind, kann mit Hilfe von Umkehrchromatographie (RP-HPLC) quantitativ bestimmt werden. Der Zusammenhang zwischen Änderungen in der Caseinzusammensetzung des Sediments und dem Salzgehalt sollte Rückschlüsse auf die Bausteine der fibrillären Strukturen erlauben. Ergänzt werden die Untersuchungen durch eine Textur-Profil-Analyse zur Bestimmung der Textureigenschaften der erkalteten Modellkäseproben.

Literatur:

Dalgleish, D. G., Corredig, M. (2012). The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing. Annual review of food science and technology, 3, 449-467.

Farrell, H. M., Brown, E. M., Malin, E. L. (2013). Higher order structures of the caseins: A paradox? In Advanced Dairy Chemistry (pp. 161-184). Springer, Boston.

Guinee, T. P. (2016). Protein in cheese and cheese products: Structure-function relationships. In Ad-vanced Dairy Chemistry (pp. 347-415). Springer, New York.

Pan, K., Zhong, Q. (2015). Amyloid-like fibrils formed from intrinsically disordered caseins: physicochemical and nanomechanical properties. Soft Matter, 11(29), 5898-5904.

Röck, S. M. (2010). Untersuchungen von Strukturbildungsvorgängen in komplexen Milchsystemen – dargestellt am Beispiel von Schmelzkäse. Dissertation. Technische Universität München.

Thorn, D. C., Meehan, S., Sunde, M., Rekas, A., Gras, S. L., MacPhee, C. E., Dobson, C. M., Wilson, M. R., Carver, J. A. (2005). Amyloid fibril formation by bovine milk κ-casein and its inhibition by the molecular chaperones α_S-and β-casein. Biochemistry, 44(51), 17027-17036.

Thorn, D. C., Ecroyd, H., Carver, J. A., & Holt, C. (2015). Casein structures in the context of unfolded proteins. International Dairy Journal, 46, 2-11.

Vollmer, A. H., Kieferle, I., Youssef, N. N., Kulozik, U.. The underlying mechanisms of structure formation during the creaming reaction in a model process cheese system as revealed by light and transmission electron microscopy. Journal of Dairy Science (submitted, 24.12.20)

Wolfschoon-Pombo, A. F., Andlinger, D. J. (2013). Micellar calcium in acid curd cheese with different pH values, fat and protein levels. International Dairy Journal, 32(1), 20-25.

Forschungsgebiet Membran- und zentrifugale Trenntechnik
Research Area Separation Technology

Einfluss der Verweilzeit auf den Fraktionierungsprozess von Eigelb-Plasma in einer hochdrehenden Röhrenzentrifuge mit hoher Zentrifugalbeschleunigung

Influence of residence time on the fractionation process of egg yolk plasma in a high-speed tube centrifuge

Priska Pröll, Hans-Jürgen Heidebrecht

Wird Eigelb in seine Bestandteile fraktioniert, kann technofunktionelles Potential einzelner Proteinfraktionen entfaltet und nutzbar gemacht werden. Das übergeordnete Ziel dabei ist ein höherer Absatz und somit eine geringere Überproduktion des Eigelbs [1]. Für dieses Ziel ist es notwendig ökonomische Wege zu finden, um die Eigelbfraktionen zu gewinnen. Eine mögliche Trennmethode ist die hochdrehenden Röhrenzentrifuge. Unter moderaten Einstellungen (RZB = 40.000·g; $\dot{V}$ = 500 mL·min^{-1}) wurde die generelle Eignung der Röhrenzentrifuge zur Trennung von Eigelb in Plasma und Granula durch Naderi et al. (2014) bereits gezeigt [2].

Die neue Fragestellung war, ob die Röhrenzentrifuge auch zur weiteren Fraktionierung der Plasmafraktion in seine einzelnen Bestandteile geeignet ist. Dafür wurde die Plasmafraktion in Vorbereitung auf einen zweiten Fraktionierungsschritt mit Salz (12.3% (w/v) NaCl) versetzt und 1:2 verdünnt, um die fettsäure- und cholesterinhaltigen Low-Density-Lipoproteinen (LDL) von den löslichen α-, β- und γ-Livetinen zentrifugal abtrennen zu können. Da der Größenunterschied der abzuscheidenden LDL in der Plasmafraktion mit 17-60 nm viel geringer ist als die Granula mit d = 300-2000 nm im ersten Fraktionierungsschritt, muss der Volumenstrom reduziert und die Zentrifugalbeschleunigung erhöht werden. Das Plasma wurde dem entsprechend, wie in Abb. 1 zu sehen, mittels einer Membranpumpe bei $\dot{V}$ = 8,5 – 38 mL·min^{-1} in eine hochdrehende Röhrenzentrifuge gepumpt und im Zylinder bei 80.000·g aufgetrennt.

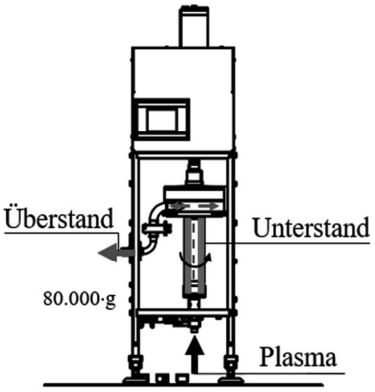


Abb. 1: Hochdrehende Röhrenzentrifuge: Zufuhr des Plasmas am Boden; Überstand läuft während Prozess in Ablaufschale; Unterstand wird nach Herunterfahren aufgefangen

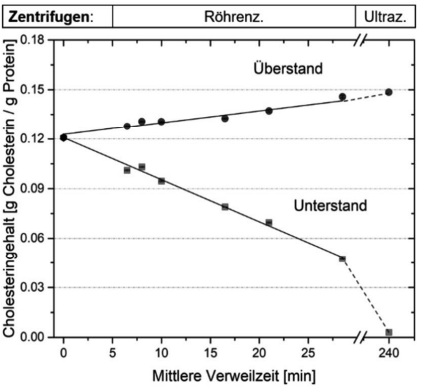


Abb. 2: Cholesteringehalt der Plasma-Überstände und Unterstände über die mittlere Verweilzeit in der Röhrenzentrifuge im Vergleich zum Trenneffekt in einer vergleichbar hochdrehenden Ultrazentrifuge

Die resultierenden mittleren Verweilzeiten der LDL lagen zwischen 6,5 – 28,5 min. Die Güte des Trennverfahrens wurde über den Verbleib des Cholesterins im Überstand und Unterstand detektiert. Der Cholesteringehalt wurde anhand einer modifizierten amtlichen gaschromatographischen Methode gemäß § 64 LFGB – L05.0016 ermittelt [3]. Um eine Konzentrierung aller Bestandteile ohne stoffliche Trennung auszuschließen, wurde außerdem der Proteinge-

halt mittels Stickstoffbestimmung nach Dumas bestimmt und der Cholesteringehalt pro Gramm Protein ermittelt und über die mittlere Verweilzeit aufgetragen (Abb. 2).

Mit steigenden mittleren Verweilzeiten steigt der Cholesteringehalt der Überstände linear an und sinkt in den Unterständen. Der Effekt der Abreicherung im Unterstand ist aus dem Grund höher als die Anreicherung im Überstand, da das Massenverhältnis aus Überstand zu Unterstand verfahrensbedingt zwei Teile zu einem Teil beträgt. Durch die Zentrifugation mittels Röhrenzentrifuge kann der Überstand bei maximal 28,5-minütiger mittlere Verweilzeit 121 % und der Unterstand nur noch 39 % des ursprünglichen Cholesteringehalts pro Gramm Protein annehmen. Wird die Verweilzeit hingegen in einer Ultrazentrifuge bei vergleichbaren physikalischen Bedingungen (80.000·g, 30°C) auf 240 min erhöht, kann eine Abreicherung auf 0,003 g Cholesterin/g Protein im Unterstand erreicht werden. Dies entspricht 2,4 % des ursprünglichen Cholesteringehalts und somit der Qualität einer klassisch analytischen Abtrennungsmethode ähnlich wie in Belitz et al. (2007) beschrieben [4]. Mittels modifizierter SDS-PAGE nach Guilmineau et al. (2005) wurde außerdem qualitativ geprüft, ob die α-, β- und γ-Livetine im Unterstand und LDL im Überstand angereichert wurden [5].

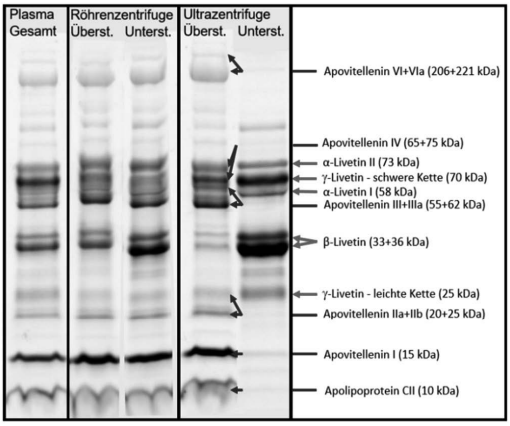


Abb. 3: Vergleich der Proteinzusammensetzung bei 28,5 min (Röhrenzentrifuge) und bei 240 min (Ultrazentrifuge) mittels SDS-PAGE

In Abb. 3 ist in den Reihen der Ultrazentrifuge eine Anreicherung aller Livetin-Banden im Unterstand sowie eine Anreicherung von LDL assoziierten Peptiden im Überstand zu erkennen. Hingegen kann nach einer 28,5-minütigen mittleren Verweilzeit in der Röhrenzentrifuge nur eine Anreicherung des β-Livetins erkannt werden, während α- und γ-Livetine diese nicht zeigen. Außerdem verbleibt bei der Röhrenzentrifuge auch LDL im Unterstand. Da γ-Livetine bei vergleichbarem Milieu zur Sedimentbildung neigen, könnte der Grund für das Fehlen einer Anreicherung, das Anbacken der Proteine an der durch Reibung erhitzten Zylinderwand der Röhrenzentrifuge sein [4]. Es sei darauf hingewiesen, dass eine Anreicherung von α-Livetin im Unterstand kann nicht ausgeschlossen werden, da eine erhebliche Verwechslungsgefahr dieser Peptidbanden mit Apovitellenin III, IIIa und IV besteht. Die Fraktionierung des Plasmas in der Röhrenzentrifuge zeigt demnach eine quantitativ feststellbare Abreicherung von LDL im Unterstand mittels Cholesterinbestimmung um 60 % und eine qualitativ feststellbare Anreicherung des β-Livetins im Unterstand. Limitiert ist das semikontinuierliche Verfahren demnach durch die vergleichsweisen geringen mittleren Verweilzeiten im Zylinder. Sollte es durch technische Erweiterungen möglich werden höhere Drehzahlen oder längere Verweilzeiten umzusetzen, bilden diese Daten eine gute Ausgangsbasis für die Entwicklung von Cholesterin abgreichteten Eigelbfraktionen.

Literatur:

[1] Huang, X.; Ahn, Dong U., "How Can the Value and Use of Egg Yolk Be Increased?" *Journal of Food Science,* 84 (2), 205-212, 2019.

[2] Naderi, N.; House, J. D.; Pouliot, Y., "Scaling-up a process for the preparation of folate-enriched protein extracts from hen egg yolks" *Journal of Food Engineering,* 141, 85-92, 2014.

[3] Amtl. Sammlung § 64 LFGB – L05.0016, Bestimmung des Cholesteringehaltes in Eiern und Eiprodukten - Gaschromatographisches Verfahren, Beuth-Verlag, Berlin, 2014.
[4] Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P., 2007 "Lehrbuch der Lebensmittelchemie". p. 570f, Berlin: Springer Berlin Heidelberg
[5] Guilmineau F.; Krause I.; Kulozik U., "Efficient Analysis of Egg Yolk Proteins and Their Thermal Sensitivity Using Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis under Reducing and Nonreducing Conditions" *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 53 (24), 9329-36, 2005

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 20471 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 von Kreislauf bzw. Durchlauf von Reinigungsmitteln auf die Reinigung von Mikrofiltrationsmembranen

Influence of circulation or flow through of cleaning agents on the cleaning-in-place of microfiltration membranes

Christian Kürzl

Die Performance einer Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltrationsmembran wird maßgeblich durch die Bildung einer proteinbasierten Ablagerungsschicht auf der Membranoberfläche sowie in den Poren bestimmt. Aufgrund von chemisch und physikalisch induzierten Quervernetzungen dieser Proteine (primär Caseinmizellen) entsteht eine Deckschicht mit hoher intrinsischer Stabilität. Die Ausprägung und Intensität dieser Deckschicht beeinflusst neben der Filtrationsperformance ebenso die Reinigungsprozedur, welche angewandt werden muss, um nach einem Filtrationszyklus die ursprüngliche Membranperformance wiederherzustellen. Hierbei ist die Kombination aus mechanischer und chemischer Reinigungsleistung entscheidend zur Optimierung des Reinigungsprozesses hinsichtlich Zeit-, Energie- und Chemikalieneinsatz. Ein synergistischer Effekt ist unter anderem das Quellen der abgelagerten Proteine (pH > 10,0), sowie die Auflösung intermolekularer Quervernetzungen (pH > 11,2) bei der Verwendung alkalischer Reinigungslösungen wie zum Beispiel NaOH [1]. Diese aufgelockerte Deckschicht kann somit leichter durch Strömungskräfte von der Membran abgetragen werden. Im industriellen Maßstab werden zur Minimierung des Frischwasser- und Chemikalienverbrauchs aufgrund der sehr hohen Anlagenvolumina Reinigungsprozesse durch eine vollständige Rezirkulation der Stoffströme realisiert.

Als Bewertungs- und Abbruchkriterium der Reinigung wird dabei der Filtratstrom pro Membranfläche (Flux) als Funktion der Reinigungsdauer herangezogen. Hierbei kann bei Verwendung von NaOH als alkalischem Reiniger teilweise ein Fluxabfall beobachtet werden, der nach dem initialen Fluxanstieg in den ersten Minuten der Reinigung auftritt [2–6]. Mögliche Erklärungsansätze sind zum einen ein verzögertes Quellen von Proteinen in der Porenstruktur der Membran, welche eine zusätzliche Verengung bzw. Verblockung von Strömungswegen durch die Membran bewirken und folglich den Flux reduzieren würden [2,5–7]. Zum anderen wird dieses Phänomen auf sogenanntes Re-Fouling zurückgeführt. Während der initialen Auflockerungs- und Abtragungsphase der Deckschicht wird die Membranoberfläche zugänglicher für kleinere Partikel, welche durch Desintegration von Caseinmizellen und Auflösung der intermolekularen Quervernetzungen durch die NaOH entstehen und durch den Transmembrandruck (TMP) in die Poren gedrückt werden können [3,5,7]. Des Weiteren stellen Mercade-Prieto & Chen (2005) die Vermutung auf, dass die bei hoher NaOH-Konzentration neben dem Quellen der Proteine auftretende Gelbildung dazu führt, dass sich weitere Proteine anlagern können, wodurch Poren stärker verengt würden und sich eine erneute Deckschicht bilden könnte.

Ursachen und mechanistische Effekte, die den Fluxabfall bei der Reinigung bewirken, konnten jedoch nicht abschließend geklärt werden. Zur Zuordnung des beobachteten Fluxabfalls auf ein Re-Fouling abgetragener Proteine bzw. auf das verzögerte Quellen von Proteinen in der Membran, wurden in dieser Arbeit verschiedene systematische Reinigungsmodi verglichen. Eine Trennung der potentiellen Ursachen ist hierbei möglich, da bei einer Reinigung im Durchlauf bereits abgetragenes Material nicht erneut die Deckschicht passieren kann und somit ein Re-Fouling als Ursache für den Fluxabfall ausgeschlossen werden kann. Für die Versuchsdurchführung wurden polymere Hohlfasermembranen mit einer nominellen Porengröße von 0.2 µm zur Mikrofiltration von Magermilch verwendet und anschließend in Zirkulation und Durchlauf bei unterschiedlichen NaOH-Konzentrationen gereinigt. Zur Beschreibung der Effekte wurde zum einen in situ der qualitative Fluxverlauf gemessen und zum anderen nach der Reinigung die Flux recovery rate (FRR) berechnet, um den Gesamtreinigungserfolg vergleichen zu können.

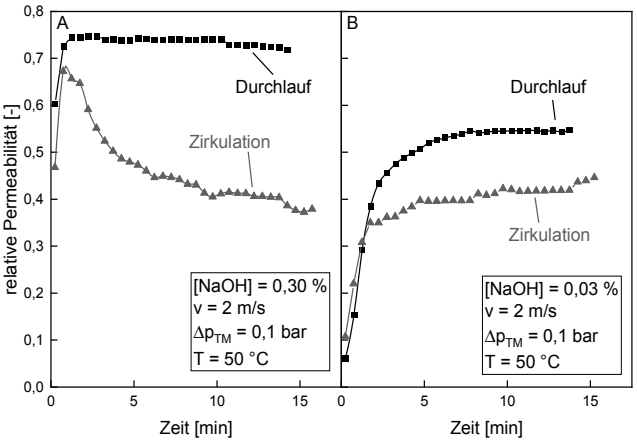


Abb. 1.: Vergleich des Verlaufs der relativen Membranpermeabilität bei Reinigung im Durchlauf und in Zirkulation für [NaOH] = 0,30 % (A) und [NaOH] = 0,03 % (B); relative Membranpermeabilität = $\frac{J_i}{TMP_i} / \frac{J_0}{TMP_0}$

Abb. 1A ist zu entnehmen, dass ein Fluxabfall bei der Reinigung mit Zirkulation der Stoffströme zu erkennen ist. Der Flux steigt in den ersten zwei Minuten an, fällt anschließend ab und nähert sich asymptotisch einem quasi-stationären Flux an. Durch den kontinuierlichen Austausch der Reinigungslösung konnte dieser Fluxabfall jedoch verhindert werden. Nach einem anfänglichen kurzen Anstieg bleibt der Flux auf einem hohen Niveau, welches dem Flux im Zirkulationsmodus vor dem Abfall entspricht. Dies bestätigt die Hypothese, dass der Fluxabfall durch eine erneute Ablagerung bereits abgetragener Proteine bedingt ist.

Der Einfluss von Quellung und Gelbildung der Proteine auf das Re-Fouling wird durch den Vergleich der in Abb. 1A ([NaOH] = 0.30 %) und Abb. 1.B ([NaOH] = 0.03 %) gezeigten Fluxverläufe deutlich. Durch die Verminderung der NaOH-Konzentration konnte gezeigt werden, dass sowohl bei Reinigung in Zirkulation als auch bei kontinuierlichem Austausch der Reinigungslösung kein Fluxabfall zu beobachten war. Der bei Reinigung in Zirkulation im Vergleich zur Reinigung im Durchlauf dennoch verminderte Flux kann ebenfalls mit einem reduziertem Re-Fouling erklärt werden.

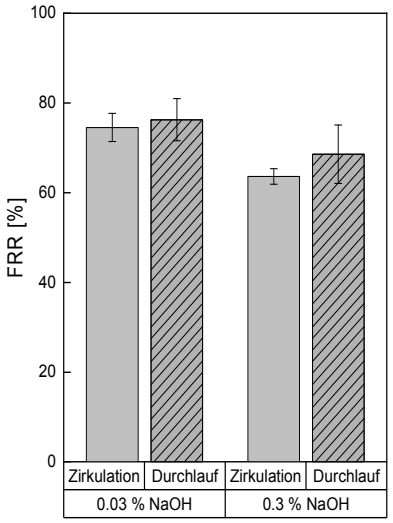


Abb. 2: Vergleich der FRR bei Reinigung im Durchlauf und in Zirkulation für [NaOH] = 0.03 % und [NaOH] = 0.30 %

Abb. 2 zeigt weiterhin den Einfluss des Fluxabfalls auf die Reinigungsleistung gemäß FRR. Für beide NaOH-Konzentrationen zeigt sich im Mittel eine niedrigere FRR bei einer Reinigung in Zirkulation im Vergleich zu einer Reinigung im Durchlauf. Unter Einbeziehung der Standardabweichung lässt sich allerdings kein signifikanter Unterschied feststellen. Dies impliziert, dass lediglich ein geringfügiger Anteil dieser erneuten Proteinablagerung irreversibel ist, während der Hauptanteil als reversible Ablagerung mit einem Spülschritt entfernt werden kann.

Insgesamt lässt sich also feststellen, dass der Fluxabfall durch ein Re-Fouling bedingt ist, dessen Intensität und Auftreten maßgeblich von der NaOH-Konzentration und dessen Einfluss auf die Proteineigenschaften bestimmt wird.

Eine Untersuchung der zeitlichen Veränderung der Proteinmenge sowie der Partikelgrößenverteilung in der zirkulierenden Reinigungslösung könnten hier weiteren Aufschluss über diese Beziehung liefern.

Literatur:

[1] R. Mercadé-Prieto, W.R. Paterson, X. Dong Chen, D. Ian Wilson, Diffusion of NaOH into a protein gel, Chemical Engineering Science 63 (2008) 2763–2772.
[2] M. Bird, M. Bartlett, Measuring and modelling flux recovery during the chemical cleaning of MF membranes for the processing of whey protein concentrate, Journal of Food Engineering 53 (2002) 143–152.
[3] M. Bartlett, M.R. Bird, J.A. Howell, An experimental study for the development of a qualitative membrane cleaning model, Journal of Membrane Science 105 (1995) 147–157.
[4] T.H.A. Berg, J. Knudsen, R. Ipsen, F. van den Berg, H.H. Holst, A. Tolkach, Investigation of Consecutive Fouling and Cleaning Cycles of Ultrafiltration Membranes Used for Whey Processing, International Journal of Food Engineering 10 (2014) 367–381.
[5] A. Makardij, X.D. Chen, M.M. Farid, Microfiltration and Ultrafiltration of Milk: Some Aspects of Fouling and Cleaning, Food and Bioproducts Processing 77 (1999) 107–113.
[6] M.O. Nigam, B. Bansal, X.D. Chen, Fouling and cleaning of whey protein concentrate fouled ultrafiltration membranes, Desalination 218 (2008) 313–322.
[7] R. Mercade-Prieto, X. Chen, Caustic-induced gelation of whey deposits in the alkali cleaning of membranes, Journal of Membrane Science 254 (2005) 157–167.

Dank: Das IGF-Vorhaben AiF 57 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 unterschiedlicher Diafiltrationsmedien auf bereits abgelagerte und sich ausbildende Deckschichten bei der Mikrofiltration von Magermilch im Labormaßstab

Influence of different diafiltration media on already deposited and developing deposit layers in the microfiltration of skimmed milk on a laboratory scale

Michael Reitmaier, Inez Bachmann

Bei der industriellen Proteinfraktionierung von Magermilch mittels Mikrofiltration kommt häufig eine Diafiltration (DF) zum Einsatz. Hierbei wird durch Zugabe eines zusätzlichen Waschfluids (DF-Medium) zum Zwecke einer Erhöhung der Reinheit der im Retentat verbleibenden Caseinfraktion sowie der Ausbeute der abgetrennten Molkenproteinfraktion der effektive Trennprozess verlängert. Für die Gewinnung von im Lactose- und Mineralstoffgehalt reduzierten Proteinisolaten wird dabei meist vollentsalztes Wasser verwendet, welches allerdings die mizellare Struktur des Caseins und dessen Funktionalität in gewissem Maße modifiziert. Als Alternative wird in der Literatur zur Aufrechterhaltung des natürlichen Ionenmilieus und möglichst hoher Nativität der Proteinfraktionen die Rezirkulation von Ultrafiltrationspermeat vorgeschlagen (Kersten), was jedoch durch Beibehaltung des hohen natürlichen Lactosegehalts die Reinheit der gewonnen Caseinfraktion deutlich verringert. Untersuchungen an isolierten Caseinmizellen haben gezeigt, dass bei Variation der Wasserhärte und der Einwirkzeit des dadurch veränderten Milieus Unterschiede in deren Zusammensetzung und elektrostatischen Wechselwirkungen induziert werden.

Insbesondere natürlich vorhandene Calciumhärte in Leitungswasser kann die Mizellstruktur im Vergleich zu weichem Wasser stabilisieren [1]. Folglich hat ein Einsatz als DF-Medium in Potential unter Ausnutzung von Vorteilen bzgl. Nachhaltigkeit die Nativität der mizellaren Struktur des Caseins gegenüber vollentsalztem Wasser zu erhöhen. Die Hypothese der im Folgenden dargestellten Untersuchungen im Labormaßsstab war, dass hierbei induzierte Modifikationen der Mizelleigenschaften sowohl die Deckschichtbildung als auch die Porosität ausgebildeter Deckschichten beeinflussen kann. Um die Auswirkungen unterschiedlicher Ionenzusammensetzungen von DF-Medien auf bereits abgelagerte Deckschichten zu untersuchen, wurden in Deadendfiltrationszellen (Amicon, Millipore 0,1 µm Zelluloseacetetmembran) zunächst pasteurisierte Magermilch (MM past) analog zu Untersuchungen von [2] bis zur Gewinnung von 3 g Permeat bei 20 °C filtriert. Auf der Membran verbliebene Magermilch wurde verworfen, die standardisierten Deckschichten anschließend mit simuliertem Ultrafiltrationspermeat ohne Lactose (SMUF) als Referenz bzgl. des Nativmilieus in Milch, hartem Leitungswasser mit 18 °dH (LW18) oder vollentsalztes Wasser (VE) durchströmt.

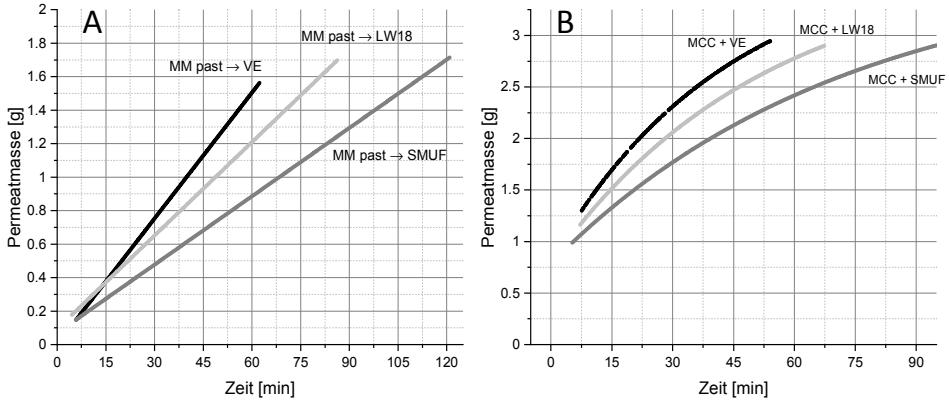


Abb. 1: Zunahme der Permeatmasse über der Zeit bei durchströmen erzeugter Magermilchdeckschichten (A) bzw. Aufbau von Caseindeckschichten (B) mit verschiedenen DF-Medien.

Die aus gravimetrischen Aufzeichnungen (n=3) der jeweils gewonnen Permeatmasse über der Zeit (Δt = 5s) bis zu einer Gesamtmenge von mindestens 1,5 g Permeat berechneten Funktionen der Massenzunahme über der Zeit sind in Abb. 1A dargestellt. Da die ermittelten Funktionen als Gerade verlaufen lässt sich folgern, dass die durch das Milieu induzierten Veränderungen des Deckschichtwiderstandes innerhalb weniger Minuten durchsetzen und im weiteren Verlauf des aufgenommenen Zeitraums keine Änderungen mehr auftreten. Die erforderlichen Zeiten für die Gewinnung äquivalenter Permeatmengen bei Waschen der abgelagerten Deckschichten mit den unterschiedlichen Medien unterscheiden sich ferner deutlich. Während für die Gewinnung von 1,5 g Permeat mit SMUF 105 min benötigt wurden, konnte dieselbe Menge mit LW 18 in 76 min, mit VE in 60 min gewonnen werden, was einer Verkürzung der Filtrationsdauer um 28 % bzw. 43 % bedeutet. Um auch die Ausbildung von Deckschichten unter den verschiedenen Milieubedingungen auf sauberen Membranen zu untersuchen, wurde mizellares Caseinkonzentrat (MCC), welches unter Aufrechterhaltung des nativen Millieus gewonnen wurde, zu 75 % mit ausgewählten DF-Medien (SMUF, LW 18, VE) verdünnt um anschließend den Permeatfluss während einer Filtration bis zur Gewinnung von mindestens 2,8 g Permeat als Funktion zu erfassen (Abb. 1B). Hier konnte analog zum Waschen bereits ausgebildeter Deckschichten eine Staffelung der Filtrationsdauer nach Calcium-/Ionengehalt des verwendeten DF-Mediums festgestellt werden. Für die Gewinnung von 2,8 g Permeat wurden mit SMUF 91 min benötigt, für LW18 ergab sich eine um 32 % geringere Dauer (61 min), für VE eine um 48 % verkürzte Filtrationszeit von 47 min. Der Verlauf der Funktionen als Kurve kommt hierbei dadurch zu Stande, dass bei diesen Versuchen kontinuierlich deckschichtbildendes Casein zugeführt wurde. Insbesondere die direkte Beteiligung von Calciumionen beim Deckschichtaufbau, sei es durch Verstärkung der inter-, intramizellaren oder Mizell-Membranwechselwirkungen kommen als Ursachen für die geringe Filtrationsleistung mit SMUF in Frage [3]. In weiterführenden Analysen konnte festgestellt werden, dass die Deckschichtmasse nach diesen standardisierten Waschvorgängen bei Anwendung von LW 18 bzw. noch stärker bei VE gegenüber den mit SMUF durchströmten Deckschichten erhöht war.

Wie Untersuchungen der Deckschichtzusammensetzung ergaben, ist dies jedoch nicht auf Veränderung des Anteils einzelner Proteine oder der abgelagerten Gesamtproteinmenge zurückzuführen, sondern auf eine Erhöhung des Wassergehaltes. Die Deckschicht weist nach Durchströmen mit LW18 und insbesondere VE eine höhere Hydratisierung auf, woraus sich eine höhere Porosität ableitet und die höhere Durchlässigkeit der Deckschicht für das Filtrat ergibt. Eine in Laborversuchen beschriebene Erhöhung der Voluminosität von Caseinmizellen bei Calciumreduzierung im Milieu [1] konnte somit in Deckschichten zumindest nach Entspannung dieser wiedergefunden werden. Es ist wahrscheinlich, dass auch eine Erhöhung der Porosität durch Steigerung der Hydratisierung caseindominierter Deckschichten durch Entzug von Calcium aus dem Milieu induziert wird. Es ist davon auszugehen, dass bei Variation des TMP in Abhängigkeit des DF-Mediums unterschiedliche Kompaktierungsgrade erzielt werden, was wiederum die Filtrationseffizienz bei Milieuvariation zusätzlich beeinflussen dürfte und für praktische Anwendungen Berücksichtigung finden sollte. In industriellen mehrstufigen Filtrationsanlagen ist eine Anwendung von VE als DF-Medium über mehrere Stunden üblich. Da graduelle Veränderungen an Caseinmizellen unter diesen Milieubedigungen über mehrere Stunden bereits dokumentiert sind, wurde auch untersucht, ob es zu Veränderungen der Deckschicht über längere Zeit hinwegkommt. Über eine Waschzeit von 6 h ergab sich keine Veränderung des Filtratmassedurchsatzes durch die davor ausgebildete Magermilchdeckschicht. In den durchgeführten Untersuchungen wurden somit Veränderungen der

Deckschichtzusammensetzung durch VE umgehend und ohne sukzessive Veränderungen über längere Filtrationsdauer induziert. Diese Erkenntnisse liefern eine Basis für weiterführende Untersuchungen der Auswirkungen unterschiedlicher DF-Medien auf Effizienz und Selektivität von Filtrationen bei 10 und 50 °C unter Variation des Transmembrandrucks.

Literatur:
[1] M. Reitmaier, B. Barbosa, S. Sigler, H.-J. Heidebrecht, U. Kulozik 2020: "Impact of different aqueous phases on casein micelles: Kinetics of physicochemical changes under variation of water hardness and diafiltration conditions" *International Dairy Journal, vol. 109,* 104776,
[2] T. Steinhauer, W. Kühnl, U. Kulozik 2011: "Impact of Protein Interactions and Transmembrane Pressure on Physical Properties of Filter Cakes Formed during Filtrations of Skim Milk," *Procedia Food Science,* vol. 1, pp. 886-892,
[3] C. Vétier , M. Bennasar, B. Tarodo de la Fuente 1988: "Study of the fouling of a mineral microfiltration membrane using scanning electron microscopy and physicochemical analyses in the processing of milk" *Journal of Dairy Research,* vol. 55, pp. 381-400

Dank: Das IGF-Vorhaben 18818 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.

Effizienz der Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration in Abhängigkeit von der Temperatur

Temperature dependent efficiency of milk protein fractionation via microfiltration

Simon Schiffer

Die Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration wird im industriellen Maßstab traditionell bei hohen Temperaturen von ca. 55 °C durchgeführt. Jedoch kann in den letzten Jahren ein Trend hin zu niedrigeren Prozesstemperaturen von ca. 10 °C beobachtet werden. Die Verschiebung des Temperaturbereiches wird auf eine potenziell verlängerte Anlagenlaufzeit gestützt, welche auf ein vermindertes mikrobielles Wachstum sowie auf eine geringere mikrobielle Aktivität zurückzuführen ist. Schiffer und Kulozik [1] zeigten anhand von Langzeitfiltrationsversuchen über 24 h mit teilweiser Rückführung des Retentatstroms in den Prozesskreislauf (ähnlich einer Loopkonfiguration im industriellen Maßstab), dass aufgrund der Überschreitung einer kritischen Konzentration an koloniebildenden Einheiten (Cfu) im Retentat die Filtration bei 12–20 °C zwischen 17 und 8 h beendet werden muss. Eine Prozesstemperatur von 55 °C führt bezüglich der Cfu-Konzentration im Retentat zu keiner Überschreitung des Grenzwertes, jedoch wurde nach einer Produktionsdauer von 7 h eine pH-Reduktion detektiert, welche auf eine hohe enzymatische Aktivität und/oder einen hohen Metabolismus biofilmbildender Mikroorganismen schließen lässt. Eine Produktionstemperatur von 10 °C über eine Filtrationsdauer von 24 h ermöglichte in Bezug auf die Kriterien pH und Cfu-Konzentration einen stabilen Prozess. Es kann eine mögliche längere Produktion über die untersuchten 24 h angenommen werden; diese wurde jedoch experimentell nicht überprüft.

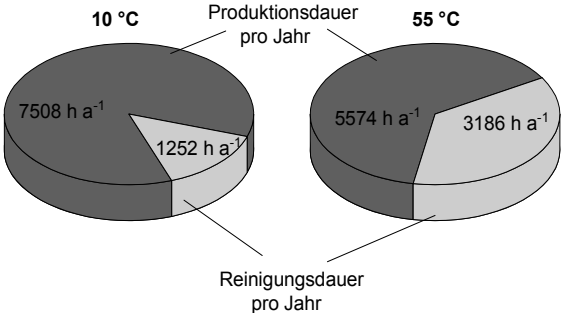


Abb. 1: Produktions- und Reinigungsdauer pro Jahr bei Prozess temperatu-ren von 10 und 55 °C

Aufgrund der notwendigen Reinigungsprozedur anschließend an die Produktion nach 7 h bei 55 °C und 24 h bei 10 °C kann bei einer Reinigungsdauer von 4 h eine jährliche Auslastung der Filtrationsanlage von 7508 h bei 10 °C und 5574 h bei 55 °C errechnet werden (Abb. 1). Aufgrund der temperaturabhängigen Viskositätserhöhung durch eine Verringerung der Filtrationstemperatur wird gemäß Darcy´s Gesetz der Flux und somit der Molkenprotein-Massenstrom als Zielkomponente des Prozesses reduziert.

In Tabelle 1 ist ein Vergleich der Filtrationseffizienz in Abhängigkeit von der Prozesstemperatur bei 10 und 55 °C gezeigt. Bezogen auf die jährliche Anlagenauslastung und den ermittelten Massenstrom kann pro Quadratmeter aktiver Membranfläche ein Molkenproteinmassenstrom von 42,7 g m^{-2} h^{-1} bei 55 °C und von 5,2 g m^{-2} h^{-1} bei 10 °C realisiert werden.

Tabelle 1: Spezifischer Massenstrom pro Stunde und Jahr bei einer Filtrationstemperatur von 10 und 55 °C ($\dot{V}_{Feed} = 8\ m^3 h^{-1}$, Δp_{TM} = 1,0 bar).

Prozesstemperatur	10 °C	55 °C
Spezifischer Molkenproteinmassenstrom [g m^{-2} h^{-1}]	5,2	42,7
Spezifische Molkenproteinausbeute pro Jahr [g m^{-2} a^{-1}]	39.054	238.271

Hinsichtlich einer potenziellen Anlagenauslastung bei einer Produktionsdauer pro Filtrationszyklus von 7 h bei 55 °C und 24 h bei 10 °C sowie einer Reinigungsdauer von 4 h kann somit pro Quadratmeter aktiver Membranfläche eines Spiralwickelmoduls eine Menge von 238 kg m^{-2} a^{-1} bei 55 °C bzw. 39 kg m^{-2} a^{-1} bei 10 °C produziert werden. Es kann geschlussfolgert werden, dass die aus der längeren Anlagenlaufzeit resultierende Erhöhung der jährlichen Produktionsauslastung einer Anlage den durch eine Temperaturerhöhung gesteigerten Flux nicht vollständig kompensieren kann. Eine Kompensation des reduzierten Massenstroms kann jedoch durch eine Erhöhung der aktiven Membranfläche bei der Filtration bei niedrigen Prozesstemperaturen erfolgen. Die Produktion gleicher Mengen an Molkenprotein bei niedrigen Prozesstemperaturen bedarf folglich der Installation der 6,1-fachen aktiven Fläche im Vergleich zu der bei 55 °C installierten. Zur Berechnung der Wirtschaftlichkeit der Temperaturveränderung müssen jedoch neben einer erhöhten Membranfläche ebenso die Kosten für Kühlung und Erwärmung des Produktstroms sowie der Reinigungsmittel- und Frischwasserverbrauch berücksichtigt werden. Der Verbrauch von Frischwasser und Reinigungsmittel liegt bei der Filtration bei 55 °C aufgrund der erhöhten Anzahl der Reinigungszyklen pro Jahr 2,5 Mal höher als bei 10 °C – dies sollte bei einer Bilanzierung beachtet werden.

Aufgrund der Anlagenkonfigurationen sowie der verwendeten Primärenergien für Erwärmung und Kühlung von Produkt und Anlage kann diese Berechnung allerdings nicht verallgemeinernd vorgenommen werden. Eine produktionsprozessbezogene Kalkulation wird benötigt.

Literatur:

[1] Schiffer, S., & Kulozik, U. (2020). Effect of Temperature-Dependent Bacterial Growth during Milk Protein Fractionation by Means of 0.1 µM Microfiltration on the Length of Possible Production Cycle Times. Membranes, 10(11).

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.

Flux und Proteintransmission während der Ultrafiltration von Magermilch mit Hohlfasermembranen

Flux and milk transmission during ultrafiltration of skim milk with hollow fiber membranes

Roland Schopf

Zum Konzentrieren komplexer und hitzesensitiver Stoffgemische wie z. B. Magermilch werden in der Regel Ultrafiltrationsmembranen (UF) eingesetzt. Dafür werden in der Molkereiindustrie meist keramische Rohrmembranen (CTM) oder polymere Spiralwickelmembranen (SWM) verwendet. Allerdings sind diese Membranen entweder teuer oder schwierig zu reinigen. Polymere Hohlfasermembranen (HFM) kombinieren die Vorteile beider Modultypen: Große Membranfläche pro Modul, freie Strömungsquerschnitte, niedrige Kosten und hohe Trennleistung. Jedoch werden HFM bislang im Molkereisektor selten eingesetzt. In bisherigen Forschungsarbeiten wurde die Mikrofiltration (MF) von Magermilch mittels HFM zur Optimierung der Milchproteinfraktionierung untersucht [1, 2]. Hier wurde der Nutzen von HFM in der milchverarbeitenden Industrie bereits aufgezeigt, während die UF mittels HFM, z. B. zur Herstellung von Magermilchkonzentraten, bisher nicht untersucht wurde. Bei der UF sollte ein vollständiger Rückhalt sämtlicher Milchproteine gewährleistet sein. Ziel dieses Forschungsvorhabens war zu untersuchen, wie sich die Variation der Überströmgeschwindigkeit auf den Druckverlust und die Wandschubspannung innerhalb eines industrieüblichen UF-HFM Moduls auswirkte und wie der Transmembrandruck die Deckschichtbildung, den Flux und die Proteintransmission bei einem Ultrafiltrationsprozess mittels Hohlfasermembranen beeinflusste.

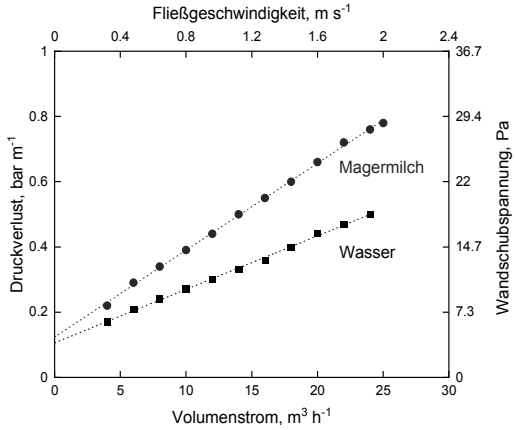


Abb. 1: Der Druckabfall in Verbindung mit der Wandschubspannung ist eine Funktion des Volumenstroms in Verbindung mit der jeweiligen Querstromgeschwindigkeit von Wasser und Magermilch.

Um dies zu untersuchen, wurde ein UF-HFM Modul (R100UF, 1932 Fasern, Polyethersulfon, maximale Porengröße 150 kDa, Länge 1,022 m, Innendurchmesser 1,5 mm, Außendurchmesser 2,25 mm, aktive Membranfläche 9,3 m^2) der Firma Pentair-X-Flow (Enschede, Niederlande) verwendet. Die Filtrationstemperatur von pasteurisierter Magermilch (74 °C für 28 s) aus der Molkerei Weihenstephan (Freising, Deutschland) betrug 10 °C.

Um die Filtrationseigenschaften von UF-HFM aufzuzeigen, wurden zunächst die Strömungseigenschaften im UF-Modul untersucht.

Dabei ist in Abb. 1 der Druckverlust über die Membranlänge in Abhängigkeit des Volumenstroms für Magermilch und Wasser dargestellt. Das Permeatventil war dabei geschlossen, um Deckschichtbildung zu vermeiden.

Der Druckverlust sowie die damit zusammenhängende Wandschubspannung nehmen mit höherem Volumenstrom und höherer Querströmungsgeschwindigkeit aufgrund der Konstruktion und des Aufbaus des Filtrationsmoduls zu. Abb. 1 zeigt die für Rohrströmungen typische lineare Beziehung zwischen Volumenstrom und Druckverlust. Bei Magermilch steigt der

Druckverlust mit zunehmender Überströmung wegen der höheren Viskosität stärker an als bei Wasser. Bei hohem Volumenstrom ist der durch den Viskositätsunterschied verursachte Reibungswiderstand höher.

Um das Filtrationsverhalten zu charakterisieren, wurde für verschiedene Transmembrandrücke der Flux von Magermilch und Wasser gemessen (Abb. 2A) und dafür der Membranwiderstand sowie der Deckschichtwiderstand berechnet (Abb. 2B).

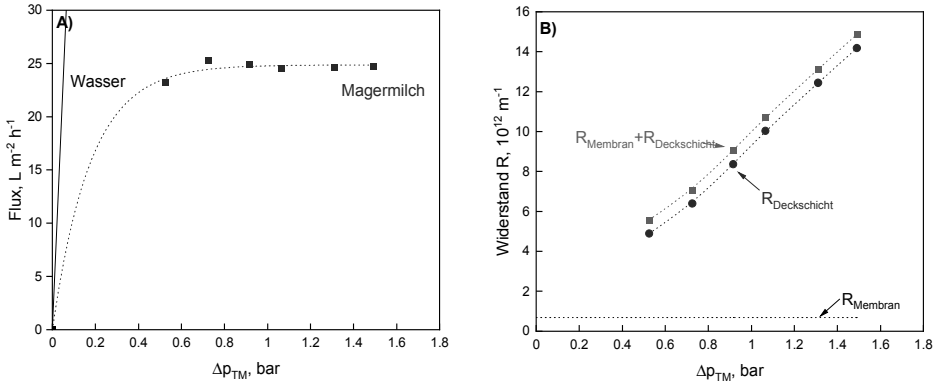


Abb. 2: A) Flux von Wasser und Magermilch und B) Widerstand, *R*, als Funktion des Transmembrandrucks, Δp_{TM}, bei einer Querströmungsgeschwindigkeit von 2 m s^{-1}

Der limitierende Flux von 23 L m^{-2} h^{-1} wurde bereits bei einem Transmembrandruck von 0,5 bar erreicht. Aufgrund der Deckschichtkompaktierung führen höhere Transmembrandrücken nicht zu einem höheren Flux. Die abgelagerten Proteine werden soweit kompaktiert, dass eine weitere Drucksteigerung zu keinem höheren Permeatvolumenstrom führt. Die Filtration befindet sich im deckschichtkontrollierten Bereich. Dies zeigt auch Abb. 2B. Der Deckschichtwiderstand liegt deutlich oberhalb des Membranwiderstandes. Zudem nimmt der Deckschichtwiderstand mit steigendem Transmembrandruck linear zu, wohingegen der Flux konstant bleibt. Bei der UF bilden im Gegensatz zur MF nicht nur Caseine, sondern auch Molkenproteine die Deckschicht [1]. Die Molkenproteinablagerung beeinflusst hauptsächlich die Deckschichtporosität. Caseinmicellen bilden hierbei die Grundstruktur einer dichten Kugelpackung, wobei die Zwischenräume sowie die Oberflächen der Caseinmicellen von Molkenproteinen besetzt werden. Des Weiteren bekommen Caseindeckschichten bei höherem Drücken eine Gelstruktur, die eine geringe Porosität aufweisen. Die geringere Porosität beeinflusst somit den limitierenden Flux und erhöht den Filtrationswiderstand.

Caseine sowie Molkenproteine sollten von einer UF-Membran aufgrund der Trenngröße möglichst vollständig zurückgehalten werden. Die Molkenproteintransmission wurde im Verlauf der UF mittels RP-HPLC bestimmt. Die Chromatogramme von Magermilch UF-Permeat sind in Abb. 3 dargestellt.

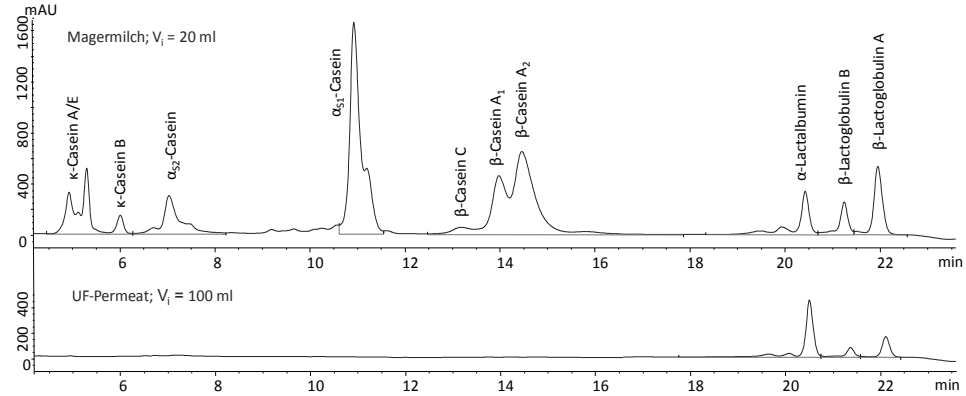


Abb. 3: Chromatogramm von Milchproteinen in Magermilch (oben) und Ultrafiltration (UF)-Permeat (unten).

Das Chromatogramm von Magermilch zeigt alle Milchproteine (Abb. 3 oben). In den ersten 16 min eluierte die Caseinfraktion mit allen genetischen Varianten und anschließend die Molkenproteinfraktion mit den Proteinen α-Lactalbumin und β-Lactoglobulin (A+B). Wie zu erwarten, konnten im UF-Permeat keine Caseine nachgewiesen werden. Jedoch wurden Molkenproteine detektiert, die von der UF-Membran nicht zurückgehalten wurden. Die nominelle Trenngrenze von 150 kDa war demnach zu groß gewählt, um die Molkenprotein vollständig zurückzuhalten. Um festzustellen, bei welchem Transmembrandruck die Molkenproteine durch die Deckschichtbildung zurückgehalten werden, wurde die Molkenproteintransmission für unterschiedliche Transmembrandrücke in Abb. 4 dargestellt.

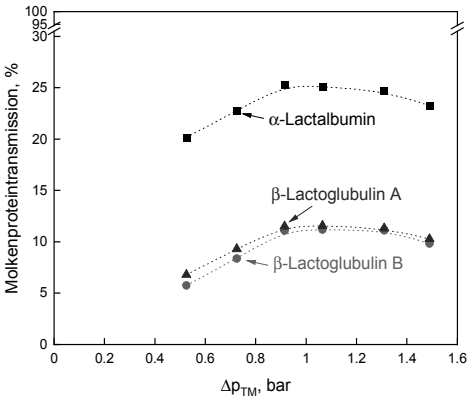


Abb. 4: Transmission für verschiedene Molkenproteine als Funktion des Transmembrandrucks, Δp_{TM}.

Abb. 4 zeigt die Transmission der Molkenproteine α-Lactalbumin und β-Lactoglobulin (A+B). Aufgrund der Partikelgröße von α-Lactalbumin ($d_{50,3}$ = 2,29 nm) wurde bei einem Transmembrandruck von 0,5 bar eine Transmission von 20 % gemessen, wohingegen die deutlich größeren Proteine β-Lactoglobulin (A+B) mit 4,19 nm eine Transmission von 6 % aufwiesen. Ab einem Transmembrandruck von 0,9 bar blieb die Transmission aller Fraktionen nahezu konstant. Somit wurde gezeigt, in welcher Weise Membran und Deckschicht bei der Rentention bzw. Transmission von Proteinen in der Membrantrenntechnik zusammenwirken.

Literatur:
[1] Schopf, R., Schork, N., Amling, E., Nirschl, H., Guthausen, G., Kulozik, U. (2020). Structural Characterisation of Deposit Layer during Milk Protein Microfiltration by Means of In-Situ MRI and Compositional Analysis. Membranes, 10(4), 59
[2] Schopf, R., Schmidt, F., Kulozik, U. (2020). Impact of hollow fiber membrane length on the milk protein fractionation. Journal of Membrane Science, 118834

Dank: Dieses IGF-Vorhaben des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) 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. AiF 10 EWN

Rheologische Charakterisierung caseinreicher Mikrofiltrationsdeckschichten

Rheological properties of casein rich microfiltration deposit layers

Maria Weinberger

Während der Mikrofiltration von Magermilch, welche zur schonenden Fraktionierung von Caseinen und Molkenproteinen eingesetzt wird, kommt es zur Ablagerung von Caseinmizellen auf der Membran. Man geht davon aus, dass die abgelagerten Caseinmizellen miteinander interagieren und eine gelartige Deckschicht ausbilden [1]. Die gelartige Natur der Deckschicht bedingt während der Filtration einen drastischen Fluxabfall und auch eine Retention der kleineren Molkenproteine, sodass die Effizienz des Fraktionierungsprozesses stark beeinträchtigt ist [2, 3]. Obwohl häufig von der gelartigen Natur der caseinreichen Deckschicht gesprochen wird, steht eine rheologische Charakterisierung des vermeintlichen Gels noch aus.

Um die Charakterisierung vorzunehmen, wurde an einer Dead-End-Filtrationszelle (Amicon) eine Mikrofiltration von Magermilch bei einem Transmembrandruck von 3 bar durchgeführt und insgesamt 2 g Permeat gewonnen. Der Verlauf des Permeatgewichts wurde mit einer Waage aufgezeichnet und daraus der Filtrationswiderstand berechnet [4]. Die dabei entstehende Deckschicht ist gleichmäßig auf der Membran verteilt und gut zugänglich für weitere Untersuchungen. Die Membran wird mitsamt Deckschicht auf eine 50 mm-Platte-Geometrieeines Rheometers MCR 702 (Anton Paar) gegeben und anschließend mit einem maßangefertigten ringförmigen Gewicht beschwert, sodass es in der Folge nicht weiter verrutschen kann. Dann wird von oben der obere Teil der Messgeometrie, eine 25 mm-Platte, auf die Deckschicht abgesenkt, bis diese eine Gegenkraft von 0,25 N erfährt. In dieser Position werden dann oszillatorische Messungen durchgeführt, woraus sich das Speichermodul G‘ und das Verlustmodul G‘‘ bestimmen lassen. Dabei steht G‘ für den Feststoffanteil einer Probe und G‘‘ für den Flüssigkeitsanteil. Das Verhältnis der beiden gibt den Verlustfaktor an, wobei Werte kleiner eins für einen überwiegenden Feststoffcharakter stehen.

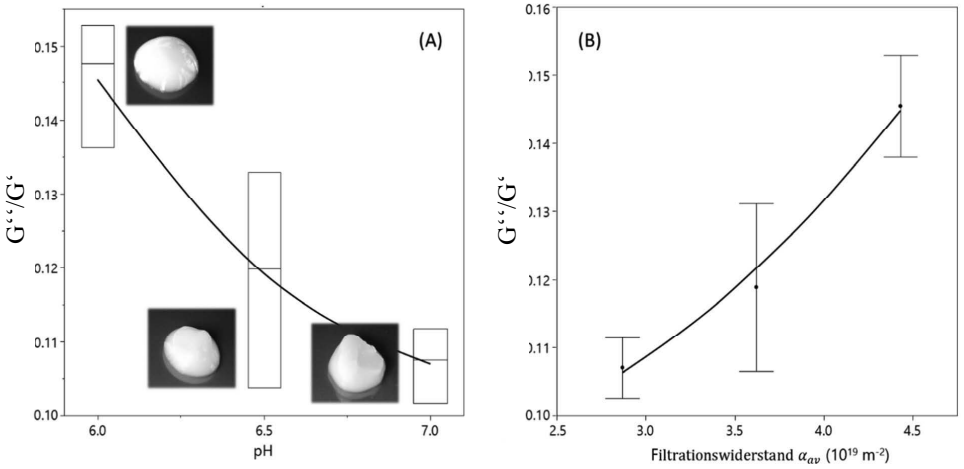


Abb. 1: Verlustfaktoren caseinreicher Deckschichten (A): bei verschiedenen pH-Werten der zu filtrierenden Magermilch und (B): über den bei der Filtration aufgetretenen Filtrationswiderstand aufgetragen. Die Fotos zeigen Deckschichten bei den entsprechenden pH-Werten, welche mit einem Spatel von der Membran abgetragen wurden.

Abb. 1A zeigt den Verlustfaktor, also das Verhältnis von Verlustmodul G‘‘ zu Speichermodul G‘, caseinreicher Deckschichten bei drei unterschiedlichen pH-Werten der verwendeten Magermilch. Es ist zu erkennen, dass alle Deckschichten einen Verlustfaktor deutlich kleiner eins haben, d.h. dass der feststoffartige Charakterteil überwiegt und sie tatsächlich einen gelartigen Charakter aufweisen. Zusätzlich haben Deckschicht, welche bei höheren pH-Werten erzeugt wurden, einen stärkeren Feststoffcharakter und ergeben auch ein weniger weiches Gel (siehe Fotos) im Vergleich zu Deckschichten, welche bei niedrigerem pH-Wert erzeugt wurden. In Abb. 1B ist der Verlustfaktor über dem Filtrationswiderstand während der Filtration aufgetragen. Dabei lässt sich sehen, dass Filtrationen bei hohem pH-Wert zwar zu einer festen Deckschicht, aber dennoch zu einem geringen Filtrationswiderstand führen. Es ist also davon auszugehen, dass die stärkere Quervernetzung auch einen positiven Effekt auf die Filtration haben kann, indem die erzeugte Struktur so stabil ist, dass noch vorhandene Freiräume auch offengehalten werden können. Eine genauere Untersuchung der bei der Quervernetzung entstandenen Bindungen könnte dabei weiter zum Verständnis der inneren Deckschichtstruktur und dem Filtrationsverhalten beitragen.

Literatur:

[1] A. Bouchoux, B. Debbou, G. Gésan-Guiziou, M.-H. Famelart, J.-L. Doublier, and B. Cabane, "Rheology and phase behavior of dense casein micelle dispersions," *The Journal of Chemical Physics,* 131 (16). 165106, 2009,

[2] M. E. Weinberger and U. Kulozik, "Effect of low-frequency pulsatile crossflow microfiltration on flux and protein transmission in milk protein fractionation," *Separation Science and Technology, 1749080,* 1-16, 2020,

[3] S. Schiffer, M. Hartinger, A. Matyssek, and U. Kulozik, "On the reversibility of deposit formation in low temperature milk microfiltration with ceramic membranes depending on mode of adjustment of transmembrane pressure and wall shear stress," *Separation and Purification Technology,* 247, 116962, 2020.

[4] T. Steinhauer, W. Kühnl, and U. Kulozik, "Impact of Protein Interactions and Transmembrane Pressure on Physical Properties of Filter Cakes Formed during Filtrations of Skim Milk," *Procedia Food Science, V*ol. 1, 886-892, 2011.

Dank: 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.

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Leeb, Elena: Production of dairy based functional peptides and their fractionation by membrane adsorption chromatography am 04.06.2020

Kieferle, Ingrun: On the displacement of non-Newtonian fluids from spiral-wound membranes am 02.07.2020

Özcelik, Mine: Microwave-assisted freeze drying of foamed fruit pulps am 06.10.2020

Masterarbeiten

Berry, Brittany: Impact of high shear processing on the functionalization of the casein fraction as a function of micellar hydration.

Ding, You: The uniformity of microwave heat processing produced my magnetron and solid-state microwave generators using various size of test samples.

Feldmann, Eugen: The effect of frequency on heat processing of model food samples in the solid-state microwave system.

Gamal Hussein, Shireen: Homogenization of milk blends: Impact of compositional and technical factors on the emulsion in relation to properties of high-fat acid gels.

Keienburg, Sonja: Einfluss von Molkenproteingehalt und -denaturierung auf das Gelbildungsverhalten kaltverlabter Milchpulver und die Überlebensrate integrierter Probiotika.

Ogunyemi, Ibukun: Effects of casein micelle modifications on the structure of high-fat fresh cheese in relation to post-processing.

Pilz, Melanie: Heat induced Aggregation of Patatin: Kinectics and Intramolecular Interctions.

Röscheisen, Pauline: Proteininteraktionen während der hitzeinduzierten Aggregation von Kartoffelprotein.

Schlemmer, Lisa: Rheological characterization of ethanol and heat induced potato and whey protein gels.

Sochatzy, Philipp: Katalysatoren im Backofen – Entwicklung eines Messverfahrens zur Bestimmung der Auswirkungen von Katalysatoren auf die Organoleptik innerhalb des Garvorgangs, sowie die Leistungsänderung während künstlicher Alterung.

Bachelorarbeiten

Co, Thuy Vi: Thermisches Aggregationsverhalten von Erbsenprotein.

Comes, Marcel: Einfluss der NaOH Konzentration auf die Reinigungseffizienz und den Anteil der mechanischen Reinigungskomponente beim CIP von Membranen.

Geisselhart, Maraike: Reduktion von Trübungen im Reinigungsprozess von Antikörpern.

Hartung, Julia: Der Einfluss der Milieubedingungen auf die Funktionalisierung der Caseinfraktion in Caseinkonzentraten mit veränderten Molkenprotein zu Casein Verhältnissen.

Mauer, Sebastian: Irreversible thermochrome Tinte zur Visualisierung von Hotspots in der mikrowellenunterstützten Gefriertrocknung.

Maul, Sabrina: Standardisierte Herstellung bakterieller Sporen für die Verwendung als biologische Indikatoren zur Beurteilung der Oberflächenentkeimung mit Wasserstoffperoxid.

Modesto, Carolin: Pulsierende und alternierende Überströmung in der Crossflow-Mikrofiltration am Beispiel einer *Saccharomyces cerevisiae*-Rinderserumalbumin- Modellsuspension.

Muckenschnabel, Barbara: Alternierende Crossflow-Mikrofiltration und der Einfluss wechselnder Strömungsbeanspruchung auf verschiedene Feedsysteme – ein experimenteller Vergleich von Magermilch und Hefesuspensionen.

Müller, Michaela: Influence of pH and ionic strength on the gelation behaviour of pea proteins.

Nguyen, Thanh Mai: Frisch vs. rekonstituiert: Unterschiede in den Fließeigenschaften nativer und erhitzter Milchkonzentrate in Abhängigkeit von Proteinzusammensetzung und -konzentration.

Quintana Ramos, Paola: Microparticulation of proteins: A comparison of different protein sources.

Röttger, Lisa: Einfluss der Proteinkonzentration auf die Eigenschaften der mizellaren Caseinfraktion unter Variation der Milieubedingungen.

Vannieuwenhuyse, Lara: Einfluss der Temperatur und Calciumkonzentration auf die Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration.

Vorträge

49. Wissenschaftliche Informationstagung der Berlin-Brandenburgischen Gesellschaft für Getreideforschung e.V. 17.-17.01.2020, Berlin

Kulozik, U.: Möglichkeiten zur Funktionalisierung von Proteinen durch Extrusion.

20 Jahre Deutsche Gesellschaft für Membrantrenntechnik (DGMT) – Jubiläumsveranstaltung, 06.-07.02.2020, Duisburg

Kulozik, U.: Oberflächenphänomene an Membranen.

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppen Hochdruckverfahren und Membrantechnik, 17.-19.02.2020, Freising

Kieferle, I.: Beitrag zum Ausschieben viskoser Produkte aus Spiralwickelmembranen.

Schiffer, S.: Einfluss der Wandschubspannung und der transmembranen Druckdifferenz auf die Fraktionierung polydisperser Proteingemische.

Schopf, R.: Einfluss der Geometrie von Mehrrohrkanalmembranen auf die Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration (MF).

Weinberger, M.: Einblicke in die strukturellen Besonderheiten einer Mikrofiltrations-Deckschicht aus Milchprotein unter dem Einfluss pulsierender Überströmung.

DLG Think Food: Personalisierte Lebensmittel, 18.03.2020, Frankfurt

Heidebrecht, H.J.: Vom Lebensmittel zum Arzneimittel: Prozessentwicklung und Verwendung von funktionalisierten polyklonalen Antikörpern aus Kuhmilch zur Behandlung von Infektionen verursacht durch multiresistente Bakterien

Vortragsreihe "FEI-Highlights 2020“, 15.10.2020 (Online)

Heidebrecht, H.J.: Kuh-Antikörper ersetzen Antibiotika: Gezielte Anreicherung spezifischer Proteinfraktionen für den medizinischen und ernährungstherapeutischen Einsatz auf Basis eines neuen Mikrofiltrationsmembrankonzepts

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, 15.-16.10.2020, Freising (online)

Kubbutat, P, Kalinke, I.: Neue Wege zur Optimierung der Gefriertrocknung mittels innovativer Mikrowellentechnologie, Produkt- und Verfahrensgestaltung.

Kulozik, U, Kieferle, I.: Neue Erkenntnisse zu komplexen Strukturbildungsreaktionen in proteinreichen Milchprodukten.

Scheidler, E: Soja-/Milchproteinmischsysteme -eine Möglichkeit zur analytischen Charakterisierung.

Weinberger, M.: Crossflow-Filtration mit pulsierender Überströmung – Vergleich verschiedener Modellsysteme und deren Fraktionierung.

VDMA Arbeitskreis "Schnittstellenproblematik bei Aseptikanlagen", 09.10.2020

Stier, P.: Standardisierte Herstellung von biologischen Indikatoren für die Beurteilung der Oberflächenentkeimung mit Wasserstoffperoxid und Minimierung ihrer Varianz.

Akademie für Lehrerfortbildung und Personalführung (ALP), 22.10.2020, Dillingen

Kulozik, U.: Mikroorganismen in der Lebensmittel- und Biotechnologie.

34th EFFoST International Conference 2020 / Bridging high-tech, food-tech and health: Consumer-oriented innovations, 10.-12.11.2020 (online)

Tanger, C.: Extraction of pea protein – a comparison of methods.

International Congress on Membranes & Membrane Processes (ICOM), 06. – 11.12.2020, London (online)

Kulozik, U.: Protein deposit distribution on spiral-wound microfiltration membranes along the flow path and concepts to reduce its impact on flux and transmission of solutes.

Deutscher Studienpreis der Körber-Stiftung, Preisverleihung 08.12.2020, Berlin

Heidebrecht, H.J.: Mit Kuh-Antikörpern gegen bakterielle Infektionen.

Posterpräsentationen

International Congress on Membranes & Membrane Processes (ICOM), 06. – 11.12.2020, London (online)

Schopf, R.: Influence of the number of channels on flux and permeation during milk protein fractionation using ceramic multi-channel membranes.

Weinberger, M.: Pulsatile crossflow microfiltration and its influence on fractionation depending on feed and foulants` properties.

Veröffentlichungen

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

Non Peer review-Verfahren

1. **Günther, F.**: Bioreaktor Kuh, Sonderbeilage „Forum Spitzenmedizin“, Süddeutsche Zeitung, 12, 18.9.20
2. **Özcelik, M., Kulozik, U.**: Taste and aroma boost in mouth, (Ein Geschmacks- und Aromaschub im Mund - Mit mikrowellenunterstützter Gefriertrocknung hergestellter Himbeerschaum-Snack: Eigenschaften, Trocknung und Lagerstabilität), ChemEurope, q&more, 7, 1 2020
3. **Heidebrecht, HJ**.: Milch: Medizin der Zukunft, Landwirt 6, 23, 2020
4. **Heidebrecht, HJ**: KØer kann redde liv med ny teknik, Maelkproducenten 2, 26, 2020
5. **Heidebrecht, HJ, Förster, B, Kulozik, U**: Natürlicher Bioreaktor Kuh, Isolation von Kuh-Antikörper zur Behandlung von Hautinfektionen, Wiley Analytical Science, analyticalscience.wiley.com/doi/10.1002/was.000600040/full/, 2021

Peer review-Verfahren

1. **Dachmann, E, Nobis, V, Kulozik, U, Dombrowski, J**: Surface and foaming properties of potato proteins: Impact of protein concentration, pH value and ionic strength. Food Hydrocolloids, 107, 105981, 2020
2. **Depping, V, Grunow, M, Kulozik, U**: A methodological framework for comparing fractionated and non-fractionated products in life cycle assessment: The case of milk concentrates. J Cleaner Production, 257, 120478, 2020
3. **Dumpler, J, Huppertz, T, Kulozik, U**: Invited Review: Heat stability of milk and concentrated milk: Past, present and future research objectives. J Dairy Sci, doi: 10.3168/jds.2020-18605, published online 08/2020
4. **Eschlbeck, E, Seeburger, C, Kulozik, U**: Spore inactivation on solid surfaces by vaporized hydrogen peroxide - Influence of carrier material surface properties. J Food Sci, 85 (5) 1536–41, 2020
5. **Gochev, GG, Ulaganathan, V, Retzlaff, I, Gehin-Delval, C, Gunes, DZ, Leser, M, Kulozik, U, Miller, R, Braunschweig, B**: β-Lactoglobulin adsorption layers at the water/air sur-face: 4. Impact on Stability of Foam Films and Foams. Minerals, 842940, 2020
6. **Graetz, J, Dombrowski, J, Eggert, A, Rack, A, Kulozik, U, Hinrichs, J, Hanke, R, Zabler, S**: Synchrotron micro-CT for studying coarsening in milk protein-stabilized foams in-situ. Colloids Surfaces A: Physico-Chem Eng Aspects, 601, 124832, 2020
7. **Haindl, R, Neumayr, A, Frey, A, Kulozik, U**: Impact of cultivation strategy, freeze-drying process, and storage conditions on survival, membrane integrity, and inactivation kinetics of Bifidobacterium longum. Folia Microbiologica, 65, 1039–50, 2020
8. **Haller, N, Kulozik, U**: Continuous centrifugal separation of selectively precipitated α-lactalbumin. Int Dairy J, 101, 104566, 2020
9. **Hartinger, M, Kulozik, U**: Milk protein fractionation by spiral-wound microfiltration mem-branes in diafiltration mode - Influence of feed protein concentration and composition on the filtration performance. Int Dairy J, 102, 104606, 2020
10. **Hartinger, M, Napiwotzki, J, Schmid, E, Hoffmann, D, Kurz, F, Kulozik, U**: Influence of spacer design and module geometry on the filtration performance during skim milk microfiltration with flat sheet and spiral-wound membranes. Membranes, 10, 57, 1-19, 2020
11. **Hartinger, M, Napiwotzki, J, Schmid, EM, Kurz, F, Kulozik, U**: Semi-quantitative, spatially resolved analysis of protein deposit layers on membrane surfaces. MethodsX, 7, 100780, 2020

12. **Hartinger, M, Schiffer, S, Heidebrecht, H-J, Dumpler J, Kulozik, U**: Milk protein fractionation by custom-made prototypes of spiralwound microfiltration membranes operated at extreme crossflow velocities. J Membrane Sci, 605, 118110, 2020
13. **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, 101, 105534, 2020
14. **Kleemann, C., Zink, J, Selmer, I, Smirnova, I, Kulozik, U**: Effect of ethanol on the textural properties of whey protein and egg white protein hydrogels during water-ethanol solvent exchange. Molecules, 25 (19) 4417, 2020
15. **Kubbutat, P, Tauchnitz, A, Kulozik, U**: Water vapor pathways during freeze-drying of foamed product matrices stabilized by maltodextrin at different concentrations, Processes, 8, 1463, 2020
16. **Kurz, F, Hengst, C, Dormeier, C, Kulozik, U**: A method for simultaneous quantification of free and total thiols of whey proteins by RP-HPLC. MethodsX, 7, 101112, 2020
17. **Lang, S, Özcelik, M, Kulozik, U, Steinhaus, M**: Processing of raspberries to freeze-dried fruit foam: Impact on major odorants. Europ Food Res Technol, 246 (12) 2537–48, 2020
18. **Leeb, E, Stefan, T, Letzel, T, Hinrichs, J, Kulozik, U**: Tryptic hydrolysis of β-lactoglobulin: A generic approach to describe the hydrolysis kinetic and release of peptides. Int Dairy J, 105, 104666, 2020
19. **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, 109779, 2020
20. **Quevedo, M, Kulozik, U, Karbstein, HP, Emin, MA**: Effect of thermomechanical treatment on the aggregation behaviour and colloidal functionality of β-Lactoglobulin at high concentrations. Int Dairy J, 104, 104654, 2020
21. **Quevedo, M, Kulozik, U, Karbstein, HP, Emin, MA**: Kinetics of denaturation and aggregation of highly concentrated β-Lactoglobulin under defined thermo-mechanical treatment. J Food Eng, 274, 109825, 2020
22. **Quevedo, M, Kulozik, U, Karbstein, H, Emin, A**: Influence of thermomechanical treatment and mixing ratio of β-LG and α-LA on the denaturation kinetics of highly concen-trated whey proteins. Foods, 9,1196, 2020
23. **Reitmaier, M, Barbosa, B, Sigler, S, Heidebrecht, H-J, Kulozik, U**: Impact of different aqueous phases on casein micelles: Kinetics of physicochemical changes under variation of water hardness and diafiltration conditions. Int Dairy J, 109, 104776, 2020
24. **Schiffer, S, Hartinger, M, Matyssek, A, Kulozik, U**: On the reversibility of structural changes in deposited milk protein layers on crossflow ceramic microfiltration membranes upon mode of adjustment of transmembrane pressure and wall shear stress at low temperature. Separation Purif Technol, 247, 16962, 2020
25. **Schiffer, S, Matyssek, A, Hartinger, M, Bolduan, P, Mund, P, Kulozik, U**: Effects of selective layer properties of ceramic multi-channel microfiltration membranes on the milk protein fractionation, Separation and Purification Technology, 259, 15 118050, 2021
26. **Schiffer, S, Kulozik, U**: Effect of Temperature-Dependent Bacterial Growth during Milk Protein Fractionation by Means of 0.1 µM Microfiltration on the Length of Possible Production Cycle Times, Membranes, 10, 326, 2020
27. **Schopf, R, Schork, N, Amling, E, Nirschl, H, Guthausen, G, Kulozik, U**: Structural characterization of deposit layer during milk protein microfiltration by means of in-situ MRI and compositional analysis. Membranes, 10 (4) 59, 10040059, 2020
28. **Stier, P, Kulozik, U**: Effect of sporulation conditions following submerged cultivation on the resistance of Bacillus atrophaeus spores against inactivation by H_2O_2. Molecules, 25, 2985, 2020

29. **Tanger, C, Kulozik, U**: Influence of extraction method and precipitation on the conformational alteration of pea protein during extraction from pea flour. Food Hydrocolloids, 107, 105949, 2020
30. **Taghian Dinani, S, Kubbutat, P, Kulozik, U**: Assessment of heating profiles in model food systems heated by different microwave generators: Solid-state (Semiconductor) versus traditional magnetron technology. Innov Food Sci Emerging Technol, 63, 102376, 2020
31. **Taghian Dinani, S, Hasić, M, Auer, M, Kulozik, U**: Assessment of uniformity of micro-wave-based heating profiles generated by solid-state and magnetron systems using various shapes of test samples, Food Bioprod Processing, 124, 121-130, 2020
32. **Warncke, M, Kulozik, U**: Impact of temperature and high pressure homogenization on the solubility and rheological behavior of reconstituted dairy powders of different composition. Powder Technol, 376, 285-295, 2020
33. **Weinberger, M, Kulozik, U**: Effect of low-frequency pulsatile crossflow microfiltration on flux and protein transmission in milk protein fractionation. Separation Sci Technol, 1749080, 2020
34. **Zacarías, MF, Reinheimer, JA, Vinderola, G, Kulozik, U, Ambros, S**: Effects of conventional and non-conventional drying on the stability of *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* INL1. Int J Dairy Technol, 70, 12684, 2020

Peer review-Verfahren (2021, bereits akzeptiert, z.T. online verfügbar)

1. **Andlinger, D, Bornkeßel, A, Jung, I, Schröter, B, Smirnova, I, Kulozik, U**: Microstructures of potato protein hydrogels and aerogels produced by thermal crosslinking and supercritical drying, Food Hydrocolloids 112, 2021
2. **Andlinger, D, Tanger, C, Engel, J, Hengst, C, Kulozik, U**: Quantification of protein-protein interactions in protein gels. In press, MethodsX
3. **Fischer, N, Kieferle, I, Kulozik, U, Germann, N**: Three-dimensional numerical investigation of the displacement of shear-thinning milk protein concentrates in spacer-filled channel, J Food Engineering, 296, 110459, 2021
4. **Haller, N, Greßlinger, A, Kulozik, U**: Separation of aggregated β-lactoglobulin in a decanter centrifuge with optimized yield. Int Dairy J, 114, 104918, 2021
5. **Keppler, J, Heyse, A, Scheidler, E, ..., Kulozik, U, …, Biedendieck, R**: Towards recombinantly produced milk proteins: Physicochemical and emulsifying properties of engineered whey protein ß-lactoglobulin variants, Food Hydrocolloids, 110, 106132, 2021
6. **Kieferle, I, Kulozik, U**: Importance of process conditions in the displacement of protein concentrates from spiral-wound membranes modules. Food Bioprod Processing, 126, 51-61, 2021
7. **Kieferle, I, Kulozik, U**: Displacement of non-Newtonian protein concentrates from spiral-wound membranes – Model representation of the flow patterns. J Membrane Sci, in press, 2021
8. **Mao, Y, Fan, R, Li, R, Ye, X, Kulozik, U**: Invited review: Flow-through enzymatic reactors using polymer monoliths: from motivation to application. Electrophoresis, 2021; DOI 10.1002/elps.202000266
9. **Muuronen, K, Partanen, R, Heidebrecht, H-J, Kulozik, U**: Effects of conventional separation and processing methods on denaturation of whey proteins. Int Dairy J, 116, 104959, 2021

10. **Schiffer, S, Matyssek, A, Hartinger, M, Bolduan, P, Mund, P, Kulozik, U**: Effects of selective layer properties of ceramic multi-channel microfiltration membranes on the milk protein fractionation, Separation and Purification Technology, 259, 15 118050, 2021
11. **Schopf, R, Schmidt, F, Kulozik, U**: Impact of hollow fiber membrane length on the fractionation of milk proteins. J Membrane Sci, 620, 118834, 2021

Technologietransfer/Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen

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

Projektausschusssitzungen zu den Vorhaben Nr. 1-8 in nachstehender Liste aktiver Forschungsvorhaben.

Im Berichtszeitraum aktive, öffentlich und bilateral geförderte Forschungsvorhaben

Öffentlich geförderte Vorhaben

1. Standardisierte Herstellung von biologischen Indikatoren für die Beurteilung der Oberflächenentkeimung mit Wasserstoffperoxid und Minimierung ihrer Varianz, 01.03.2017 – 28.02.2020
2. Anreicherung und Fraktionierung von Protein – und Zellsuspensionen mit alternativen Verfahrensweisen in der Crossflow-Filtration, 01.11.2017 – 31.10.2020
3. Hochporöse Aerogele in Partikel- und Riegelform aus Molken- und Kartoffelprotein, 01.01.2018 – 31.12.2020
4. Entwicklung neuer Konzepte zur Optimierung von Struktur und Sensorik fettreduzierter Lebensmittel durch Proteinfunktionalisierung und molekular-sensorische Methoden, 01.07. 2018 – 30.04.2021
5. Separate Komponentenbehandlung als innovative Prozessführungsstrategie für die Strukturierung proteinbasierter Produkte am Beispiel extrudierter Produkte auf Soja- und Milchproteinbasis, 01.09.2018 – 28.02.2021
6. Gewinnung cholesterin-abgereicherter Eigelbfraktionen und innovative Ansätze zur Produktgestaltung, 01.01.2019 – 31.07.2021
7. Energieeffiziente und produktschonende Erhitzungs- und Trocknungsverfahren für Lebensmittel durch Einsatz neuartiger Mikrowellentechnologie (NEWWAVE), 01.03.2018 – 31.07.2021
8. AIF 57 EWN Alternierende Strömung bei der CIP-Reinigung, 01.06.2020 – 31.08.2022

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

Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen bzw. Mitarbeit in Hochschulgremien

Prof. Ulrich Kulozik

- Subject-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.
- Berufenes Mitglied in den ProcessNet-Arbeitsausschüssen „Membrantechnik“ und „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)
- Geschäftsführer der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V.

Marius Reiter, David Andlinger

Prüfstelle für milchwirtschaftliche Maschinen und Anlagen zur Eignungsfeststellung von Prozessanlagen für das sichere Herstellen von Milchprodukten, in Kooperation mit den leitenden Veterinären, Amtsingenieuren und Technischen Sachverständigen der Bundesländer.

Philipp Stier

Mitglied und Fachvertreter des Lehrstuhls im Arbeitskreis "Schnittstellenproblematik bei Aseptikanlagen" des Verbandes Deutscher Maschinen- und Anlagenbauer (VDMA), Frankfurt/Main

Maria Weinberger, Philipp Stier

GeschäftsführerIn des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Lebensmittel- und Biotechnologen e.V. (WMBL), Freising

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

Adresse

Geschäftsführung:
Eva Guyot, Maria Weinberger, Verena Pannusch
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 1992 Mitgliedern (Stand 01.01.2021). Im Geschäftsjahr 2020 konnten wir 16 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 2020 endete die Wahlperiode der Vorstandsmitglieder Frau Dr. Kuss, Herr Dr. Hammelehle und Herr Prof. Dr. Kulozik. Herr Dr. Hammelehle und Herr Prof. Dr. Kulozik haben der Wiederwahl zugestimmt und wurden in der Mitgliederversammlung einstimmig in ihrem Amt bestätigt. Frau Dr. Kuss legte Ihr Amt nieder. An ihrer Stelle wurde Frau Prof. Dr. Özmutlu Karslioglu in den Vorstand gewählt.

Auch in der Geschäftsführung gab es eine Veränderung. Herr Stier hat auf eigenen Wunsch die seine Tätigkeit als Geschäftsführer beendet. Die Position in der Geschäftsführung ist von Frau Pannusch übernommen worden.

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, Verena Pannusch, Maria Weinberger

Ehrung der besten Bachelorarbeit anlässlich des Hochschultages

Anlässlich des Studienfakultätstages Ende Juli 2020 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 Chrisanty Susianto für ihre mit der Note 1,0 bewertete Bachelorarbeit zum Thema „Einfluss von pH-Wert und Calciumkonzentration auf die Fraktionierung von Molkenproteinen bei niedrigen Temperaturen“ verliehen.

Die Preisträgerin Chrisanty Susianto mit der Urkunde für den Preis für herausragende Bachelorarbeiten verliehen vom Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen. (© Susianto)

Herbsttagung 2020

Die traditionsreiche Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung fand im Jahr 2020 am 15. und 16. Oktober statt. Die Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung fand dieses Jahr digital statt und konnte mit einem interessanten Vortragsprogramm aus Forschung und Wirtschaft überzeugen.

Preisverleihungen

Wie bereits in den Jahren zuvor wurden auch in diesem Jahr wieder Nachwuchswissenschaftler*innen für herausragende wissenschaftliche Abschlussarbeiten geehrt.

Der mit 1.000 € dotierte Preis für die beste Masterarbeit ging in diesem Jahr an Herrn Mathias Hilmer für seine Arbeit mit dem Thema „Aufbau einer Gefriertrocknungszelle für µ-CT Anwendungen“. Herr Hilmer hat seine mit der Bestnote 1,0 bewertete Arbeit am Lehrstuhl für Systemverfahrenstechnik angefertigt.

Den mit 2.000 € dotierten Preis für die beste Doktorarbeit erhielt in diesem Jahr Herr Hans-Jürgen Heidebrecht. Er hat seine Doktorarbeit mit dem Thema „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 Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik unter Leitung von Prof. Kulozik mit Auszeichnung abgeschlossen.

Übergabe des Preises für herausragende Masterarbeiten an Herrn Mathias Hilmer, sowie für herausragende Doktorarbeiten an Herrn Hans-Jürgen Heidebrecht. (© WMBL)

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. Aufgrund der digitalen Version der Herbsttagung 2020 wird die Ehrung zur nächsten Präsenzveranstaltung nachgeholt werden.

Im Jahr 2020 waren Herr Carsten Dörrie, Herr Hans Dr. Reinhold Fink, Herr Dr. Christoph Gernedel, Herr Johann Graf, Herr Walter Grassler, Herr Franz Haslinger, Herr Dr. Wolfgang Hege, Herr Josef Leinsle, und Herr Roland Schodlok bereits 40 Jahre lang Mitglieder im Verband. Herr Werner Gravenhorst, Herr Hans Meder und Herr Urs Martin Strebel blicken bereits auf 50 Jahre Mitgliedschaft im Verband zurück. Herr Hans Evers, Herr Friedrich Kink und Herr Georg Scheitz können 2020 bereits das 60-jährige Jubiläum im Verband feiern. Wir gratulieren und bedanken uns bei allen Jubilaren herzlich für ihre Unterstützung.

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 Studierenden 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 zu verfolgen. 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 Studierende der Lebensmitteltechnologie, der Bioprozesstechnik und der Brau- und Getränketechnologie zu fördern.

Frau Sandra Diener	Studentin des Bachelorstudiengangs Biotechnologie (HSWT)
Frau Johanna-Theresia Parzinger	Studentin des Bachelorstudiengangs Lebensmitteltechnologie (HSWT)
Frau Franziska Wagner	Studentin des Bachelorstudiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel TUM)

Der Verband WMBL gratuliert den Stipendiatinnen 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.

Versammlungen und geförderte Exkursionen

Versammlungen:

Vorstandssitzung am	11.03.2020
Vorstandssitzung am	15.10.2020
Mitgliederversammlung am	15.10.2020

Lehrstuhlexkursionen:

Aufgrund der Corona-Pandemie fanden im Jahr 2020 leider keine universitär organisierten Exkursionen statt.

Privatexkursionen:

Im Jahr 2020 wurden 43 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 2000 Mitgliedern. Das stetige Wachsen des Verbands ist eng mit den Erfolgen der Absolvent*innen 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 Studierenden dazu ermutigen, sich an den Einrichtungen der Lebensmittelforschung weiter zu engagieren.

Dotierung

Die Preise werden je nach Kategorie mit folgenden Beträgen honoriert:

- Bachelorarbeit: 500 €
- 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 im Studium 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 Lebensmitteltechnologen 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 Professor*innen der Technischen Universität München und der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf. Die Jury kontrolliert, ob die vorgeschlagenen Kandidat*innen 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.

Im laufenden Jahr geförderte Projekte sind nachfolgend aufgeführt:

Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie

- *Körperschallmessung – ein neuer Ansatz zur Erfassung des Tierwohls und der Tiergesundheit*

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

- *Genetische Aufklärung der Regulation der Peptidaseproduktion bei Pseudomonas in Rohmilch*

Forschungsgruppe Core Facility Microbiome /
ZIEL Institute for Food & Health

- *Artbestimmung von Bakterien und Bakteriengemeinschaften aus Rohmilch, Milchprodukten und dem Produktionsumfeld mittels full-length 16S rRNA seq*

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

- *Aufklärung von komplexen Strukturbildungsreaktionen in Milchprodukten mit hohem Proteingehalt*

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 industriellen Gemeinschaftsforschung (AiF) bzw. den Forschungskreis der Ernährungsindustrie (FEI) ausgeschrieben werden. An derartigen Vorhaben beteiligen sich Mitglieder der Fördervereinigung unter Einsatz von Mitgliedsbeiträgen regelmäßig, so dass eine enge Anbindung der Wissenschaft an industrierelevante Fragestellungen gewährleistet ist.

Beitragsordnung

1. Unternehmen		
Mindestbeitrag	500,00 €	bis 10 Mio. € Umsatz
	1.000,00 €	über 10 - 50 Mio. € Umsatz
	2.500,00 €	über 50 - 125 Mio. € Umsatz
	3.750,00 €	über 125 - 250 Mio. € Umsatz
	5.000,00 €	über 250 Mio. € Umsatz

2. Einzelmitglieder	
Mindestbeitrag	100,00 €

Informationstransfer – Mitgliederinformation

Ein wichtiges Hilfsmittel zum Informationsaustausch ist der **"Wissenschaftliche Jahresbericht",** der mit Unterstützung der Vereinigung zusammengestellt wird. Neben diesem Bericht sind auch regelmäßige Rundschreiben ein wesentlicher Beitrag zur Informationspolitik der Vereinigung.

Ferner führt die Fördervereinigung gemeinsam mit dem Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. die „**Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung“** durch, die sich als Branchentreffpunkt mit ca. 200 Teilnehmern einen festen Platz im Austausch zwischen Forschung und Industrie erarbeitet hat, jedoch Wert auf branchenübergreifende Beiträge legt.

Im Rahmen von spezifischen Aktivitäten werden regelmäßig **Transferseminare** für Technologie- bzw. Wissensübertragung angeboten, zu denen die Mitglieder und Interessierte gesondert eingeladen werden. Die Institute bieten jederzeit **Beratung** auch für unternehmensspezifische Fragestellungen (Technologie- bzw. Investitionsentscheidungen, Produktions- und Absatzoptimierung, Krisenmanagement) an.

Ferner steht die Fördervereinigung in engem Kontakt mit Industrieverbänden wie dem Milchindustrie-Verband (MIV) und dem Verband Deutscher Maschinen- und Anlagenbau e.V. (VDMA), die als Multiplikatoren wirken und Forschungsergebnisse in ihre jeweiligen Netzwerke hineintragen.

Interessierte Neumitglieder können das nachstehend abgedruckte Beitrittsformular verwenden.

Vereinigung zur Förderung der
Milchwissenschaftlichen Forschung
an der Technischen Universität München
in Freising-Weihenstephan e.V.

c/o Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik
85354 Freising, Weihenstephaner Berg 1
Telefon: 0 81 61 / 71 42 05
Telefax: 0 81 61 / 71 43 84
foerderverein.weihenstephan@t-online.de
Bankverbindung: Sparkasse Freising
IBAN: DE68 7005 1003 0000 1718 76
SWIFT-BIC: BYLADEM1FSI

B E I T R I T T S E R K L Ä R U N G

Ich (wir) erkläre(n) meinen (unseren) Beitritt zur Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TU München in Freising-Weihenstephan e.V. ab ..... und werde(n) gemäß Satzung/Beitragsordnung einen jährlichen Förderungsbeitrag von € .....…….... leisten. Die Bedingungen der Mitgliedschaft sind mir (uns) aus den mir (uns) übermittelten Satzungen der Vereinigung bekannt.

Name: .....

bzw. Firma: .....

Anschrift: .....

....., den ....….....

(Unterschrift)

Technischer Teil

Hinweise auf neue Techniken und Produkte

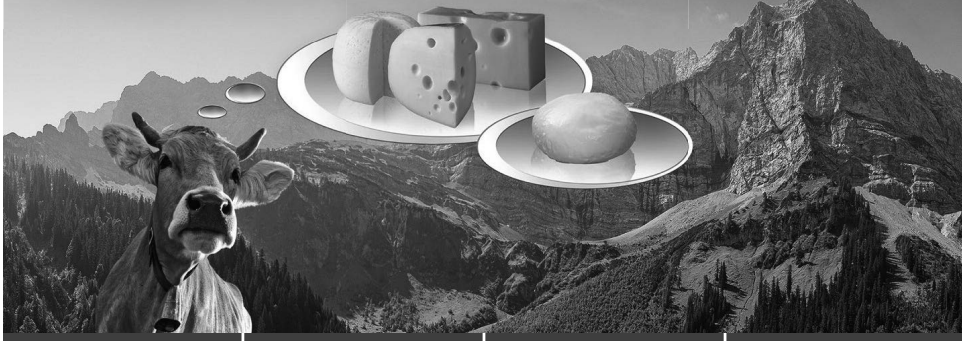
Der technische Teil des wissenschaftlichen Jahresberichtes will den Leserkreis auch in diesem Jahr über Neuigkeiten in der milchwirtschaftlichen Technologie informieren und auf neue Produkte und Angebote von Milch verarbeitenden Unternehmen hinweisen. Die Herausgeber danken den im Folgenden aufgeführten Firmen, die zu diesem Zweck eine Anzeige zur Verfügung gestellt haben und den Druck des Jahresberichtes unterstützten.

Verzeichnis der Fachfirmen

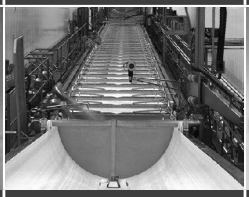
		Seite
1.	ALPMA Alpenland Maschinenbau GmbH, Rott am Inn	98
2.	Bayerische Milchindustrie eG, Landshut	99
3.	B&L Mediengesellschaft mbH & Co. KG, Bad Breisig	104
4.	DSM Food Specialities Germany GmbH, Düsseldorf	105
5.	Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH, Cham	101
6.	GQM mbH, Landshut	103
7.	Milchindustrie-Verband e.V., Berlin	102
8.	Molkerei Weihenstephan GmbH & Co. KG, Freising	106
9.	Privatmolkerei Bauer GmbH & Co. KG, Wasserburg/Inn	100
10.	Zentis GmbH & Co. KG, Aachen	97

Joghurt
ohne Frucht
ist wie ein Bild
ohne Farbe!
Entdecken
Sie unsere
Vielfalt!
ZENTIS
1893
... natürlich!

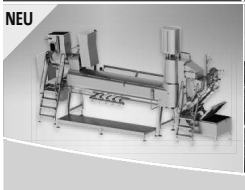
Maßgeschneiderte Lösungen für Käsereien



Prozesstechnik | Käsereitechnik | Blockformen | Schnittkäsetechnik



Mozzarellatechnik | Salzbadtechnik | Schneidetechnik | Verpackungstechnik



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

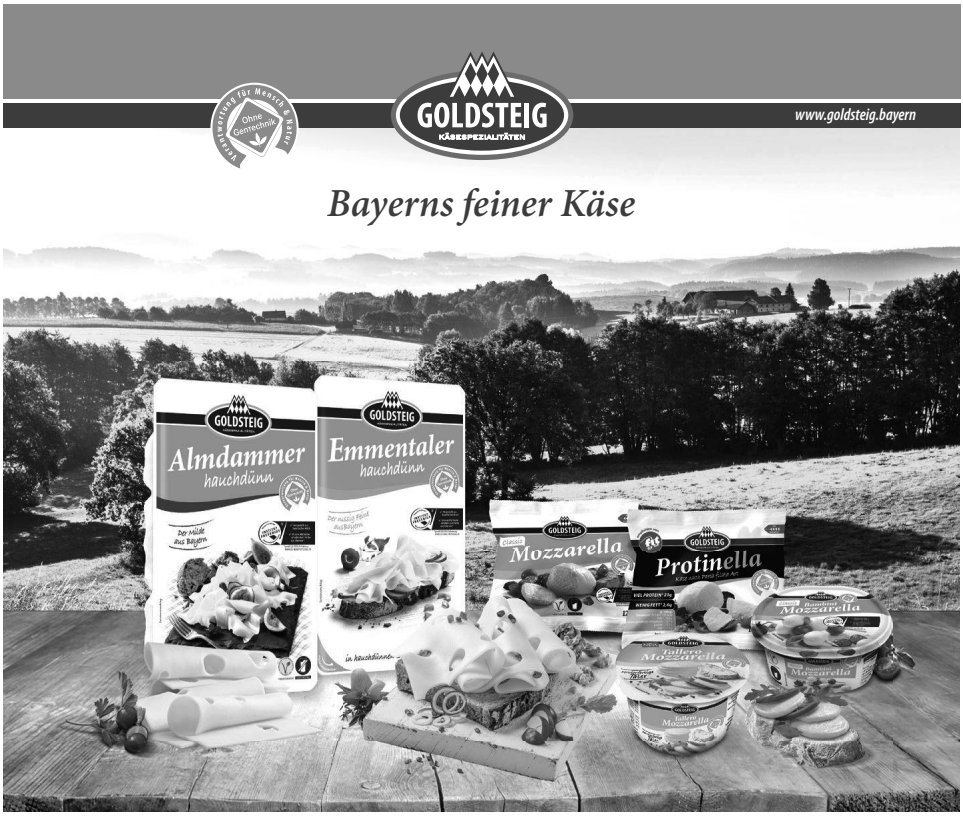
Prozesstechnik
Käsereitechnik
Schneidetechnik
Verpackungstechnik

ALPMA SULBANA

Mozzarella
Schnittkäse
Hartkäse

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
E.ON-Allee 1 · 84036 Landshut
Telefon: +49 (0) 871 685-0

Bauer
Der Große Bauer
DIE NATUR
DER ERDBEERE
Der Große
Bauer
Das Original
Erdbeere
Erhältlich
in vielen leckeren Sorten
UNSERE NATUR IST UNSERE ZUTAT
www.bauer-natur.de


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

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 27 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:

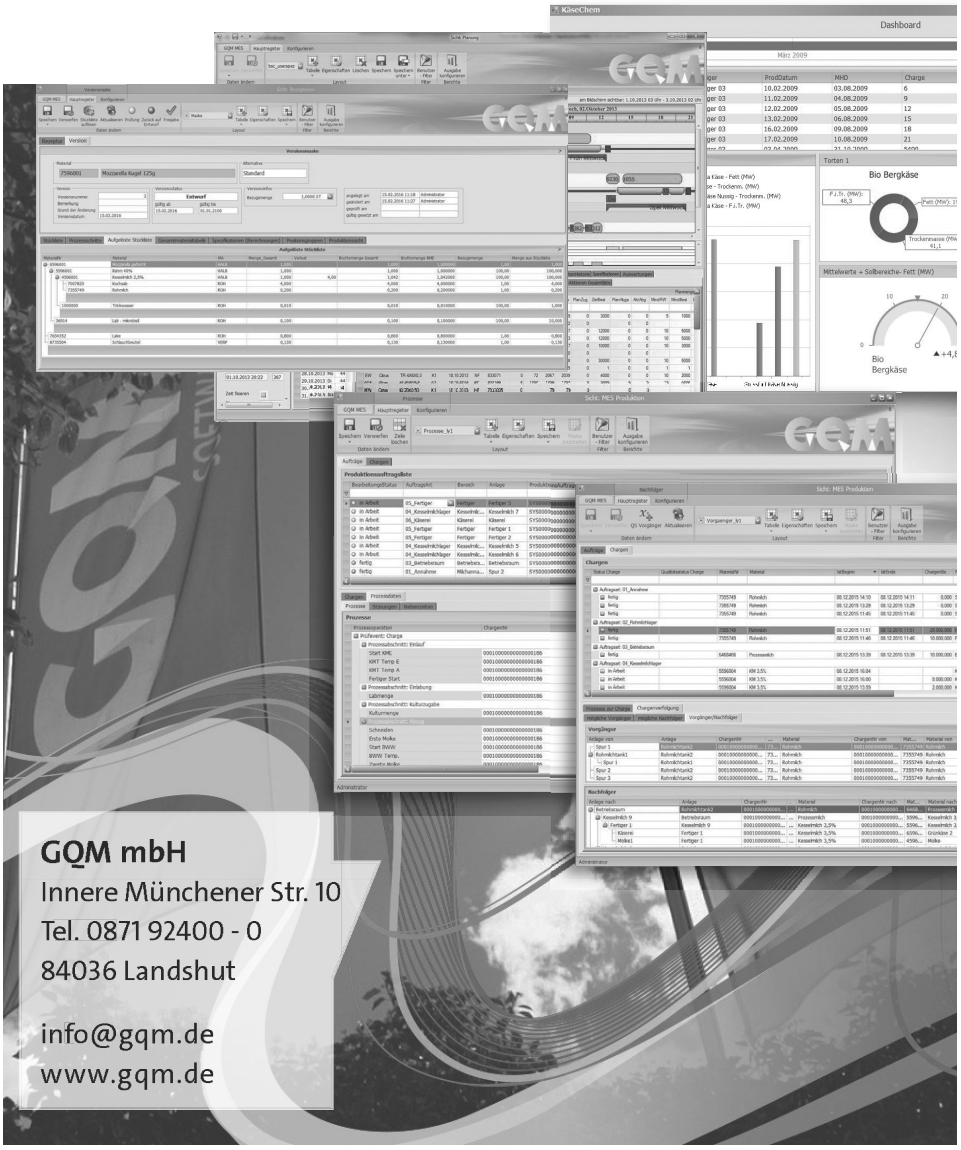
- **MIV-Kompetenznetzwerk-Milch:** Milchindustrie und Wissenschaft als Partner
- **Wissenschaftlicher Beirat des MIV** mit Experten der Natur-, Rechts- und Wirtschaftswissenschaft
- **MIV-Ideenbörse Forschung:** Generierung praxisnaher Forschungsideen
- **MIV-Arbeitsgruppe Forschung:** Initiierung, Prüfung 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.milch-im-blut.de

GQM SOFTWARE

Digitalisierung in der Prozessindustrie
In Ihrer Branche zu Hause



GQM mbH
Innere Münchener Str. 10
Tel. 0871 92400 - 0
84036 Landshut

info@gqm.de
www.gqm.de

Produktionsplanung · Rezepturen · Produktion · QM/LIMS · LVS

B&L MedienGesellschaft mbH & Co. KG

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

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

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