TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt Technische Universität München

Jahresbericht 2018

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am Wissenschaftszentrum Weihenstephan

Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan

Jahresbericht 2018
über die milchwissenschaftliche Forschung
am Wissenschaftszentrum Weihenstephan
der Technischen Universität München
in der Zeit vom
1. Januar 2018 bis 31. Dezember 2018

61. Band 2018
Weihenstephan, März 2019

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, Univ.-Prof. Dr. S. Scherer, Univ.-Prof. Dr. med. D. Zehn

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, 2019

ISBN 978-3-947492-10-7

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

Inhaltsverzeichnis

Seite

Vorwort 1

Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie 2
Personal 2
Auszeichnungen 3
Forschung 6
I. Laktationsphysiologie 6
II. Reproduktionsbiologie 8
III. Wachstumsphysiologie 12
IV. Lebensmittelsicherheit 13
V. Biomarker & Bioanalytik 14
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 15
Vorträge 17
Veröffentlichungen 19

Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie
ZIEL Institute for Food & Health (Abt. Mikrobiologie) 24
Personal 24
Forschung 25
Arbeitsgruppe: Hygiene und Mikrobiota von Rohmilch und Milchprodukten 25
Arbeitsgruppe: Neue und überlappende Gene, ihre Regulation und Funktion in Pathogenen Bakterien 33
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 35
Veröffentlichungen 36

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik und
Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung 38
Personal 38
Forschung 38

Seite

Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bio-Prozesstechnik
ZIEL Institute for Food & Health (Abt. Technologie) 48
Personal 48
Vorwort 50
Auszeichnungen 51
Forschung 51
Forschungsgebiet Bioprozesstechnik 51
Forschungsgebiet Strukturbildung und -charakterisierung 58
Forschungsgebiet Trenntechnik 81
Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten 96
Vorträge 98
Posterpräsentationen 101
Veröffentlichungen 102
Technologietransfer / Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen 104
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen 106

Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler,
Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. 107
Struktur des Verbandes 107
Zielsetzungen des Verbandes 108
Bericht aus Weihenstephan und dem Verbandsleben 109
Versammlungen und geförderte Exkursionen 114
Verleihungsrichtlinien 115

Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen
Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V. 116
Vorstand 116
Zweck und Ziele der Fördervereinigung 116
Beitragsordnung 118
Informationstransfer – Mitgliederinformation 118
Beitrittserklärung 119

Technischer Teil 120

Vorwort

Der Jahresbericht der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten am Wissenschaftszentrum Weihenstephan verfolgt das Ziel, über Forschungsarbeiten auf dem für die gesamte Lebensmittelwirtschaft so wichtigen Bereich Milch zu berichten. Der Bericht schließt aber auch Themen aus angrenzenden Bereichen der Lebensmittelforschung mit ein.

Die milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten in Weihenstephan wollen mit dieser Publikation gegenüber der Öffentlichkeit Rechenschaft über ihre Aktivitäten geben und vor allem der Milch- und Molkereiwirtschaft einen Überblick über abgeschlossene und laufende Forschungsarbeiten bieten. Darüber hinaus sollen mit dem Jahresbericht Wege erschlossen werden, die Zusammenarbeit mit den Unternehmen der Milchindustrie weiter zu verbessern. Dadurch soll die Forschung mit Schwerpunkt Milchwissenschaft an der TU München in Freising-Weihenstephan im Sinne der milchwirtschaftlichen Praxis intensiviert werden. Die milchwissenschaftliche Arbeit an den Instituten wird von der „Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaft an der TU München“ sehr engagiert unterstützt. Es ist das Ziel, sowohl der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten als auch der „Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaft an der TU München“, eine für die Milchwirtschaft essentielle, praxisrelevante Forschung am und um das Substrat Milch über alle beteiligten Disziplinen hinweg auszubauen.

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

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

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

Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie

Adresse

Weihenstephaner Berg 3
D-85354 Freising-Weihenstephan

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

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

Personal

Leitung:	Univ.-Prof. Dr. med. Dietmar Zehn	71-3508
Wissenschaftler:	Prof. Dr. agr. Michael W. Pfaffl	71-3511
	Prof. Dr. med. vet. Dieter Schams, a.D.	71-3510
	Graf von Silva-Tarouca, Benjamin, Dr. med. vet.	71-3314
	Jolie Cullen	71-3314
	Anna Schulz	
Lehrbeauftragter:	Prof. Dr. Bajram Berisha, Universität Prishtina	71-3510
Sekretariat:	Veronika Engel (bis 20.04.2018)	71-3508
	Tanja Münchmeyer (Teilzeit ab 01.03.2018)	71-3508
	Sabine Saul-Hubrich (Teilzeit)	71-3556
	Gertraud Mayer (Minijob)	71-3508
Mitarbeiter:	Charline Amette (ab 01.07.2018)	71-3510
	Josephine Baum (ab 01.12.2018)	
	Ronja Binder (ab 01.02.2018)	
	Judit Desztics, TA (bis 28.02.2018)	71-3510
	Brigitte Dötterböck, TA	71-5556
	Tobias Herbinger, TA (bis 30.09.2018)	71-5556
	Waltraud Schmid, TA	71-5556

Gäste: **Dr. Joydeep PAUL**, Infectious Diseases and Immunology Division CSIR-IICB TRUE (Translatorische Forschungseinheit der Exzellenz, CN-6, Salt Lake, Sektor - V, Kolkata, Pin: 700091) 01.09.2017 – 30.11.2018

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

Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:

M.Sc. Agrarwissenschaft: Christiane Schmautz (seit 01.10.2012)

M.Sc. Biologie: Benedikt Kirchner (seit 01.06.2011); Madlaina von Hößlin (seit 15.01.16); Stefanie Scherer (seit 01.01.2016); Stefanie Nastasja Hermann (seit 01.02.2017)

M.Sc. Biochemie: Maria Hillreiner (seit 15.04.2013); Kristiyan Kanev (seit 01.09.2015); Markus Flosbach (seit 01.01.2016)

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

Tierärztin: Farschtschi Sabine (seit 01.05.2017)

M.Sc. Molekulare Biotechnologie: Dominik Buschmann (seit 11.03.2014); Francesca Alfei (seit 01.01.2016), Alex Hildebrandt (seit 01.05.2018)

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

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

Software Engineering: WU Ming (seit 25.11.2017)

Auszeichnungen:

Prof. Dr. Bajram Berisha „Visiting Professor University of Pristina“ am Lehrstuhl für Tierphysiologie & Immunologie in der Arbeitsgruppe von Herrn Prof. Dr. Michael Pfaffl, wurde mit dem „Zietzschmann-Preuss Award“ 2017 gewürdigt.

Übergaben des Preises wurde anlässlich der 32. EAVA Kongress in Hannover (Germany, 28 July 2018) verliehen. Die Publikation *"Angiogenesis in the Ovary - The Most Important Regulatory Event for Follicle and Corpus Luteum Development and Function in Cow - An Overview"* (Authoren: Berisha B, Schams D, Rodler D, Pfaffl MW., publiziert in Anatomia, Histologia & Embryologia 2016), wurde als die beste Publikation des Jahres im Bereich Tieranatomie und Embryologie ernannt. (http://www.wava-amav.org/zp/hall_of_fame.html)

Prof. Bajram Berisha, Preisträger des Zietzschmann-Preuss-Preises 2017 (rechts im Bild), erhält seine Auszeichnung von Prof. Pieter Cornillie (Belgien), Präsident des Kuratoriums des "Zietzschmann-Preuss-Preises", Prof. Marco Aurelio Pereira-Sampaio (Brasilien), Präsident des Weltverbandes der Veterinäranatomie (WAVA) und Prof. Fred Sinowatz (Deutschland), Chefredakteur der Zeitschrift Anatomia, Histologia & Embryologia, anlässlich des 32nd EAVA Kongresses in Hannover am 28. Juli 2018.

Ehrungen:

Prof Dr. Bajram Berisha (Universität von Prishtina, Kosovo) wurde anlässlich des 150-jährigen Jubiläums der Technischen Universität München (TUM) vom Präsidenten der TUM mit dem Titel „TUM Ambassador“ geehrt.

Viele internationale Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler waren in den letzten Jahrzehnten für kürzere oder längere Aufenthalte an der TUM und bereicherten die Universität mit ihrer wissenschaftlichen Expertise und ihren internationalen Erfahrungen. In Anerkennung ihrer Verdienste wird seit sechs Jahren einmal jährlich ausgewählten internationalen Spitzen-Forscherinnen und -Forschern durch den Präsidenten der TUM der Ehrentitel „TUM Ambassador“ verliehen. Der diesjährig geehrte, Bajram Berisha, ist Professor für Tierphysiologie, Genetik und Biotechnologie an der Universität Prishtina, Kosovo. Seit 2012 ist er regelmäßig als Gastprofessor an der TUM am Lehrstuhl für Tierphysiologie & Immunologie in Weihenstephan engagiert. In Anerkennung seines Engagements für die TUM, übergab ihm der Präsident der TUM, Prof. Dr. Wolfgang Herrmann, am 02.12.2018 persönlich den Titel „TUM Ambassador“. http://www.150.alumni.tum.de/ambassadors/

Übergabe des Titels „TUM Ambassador“ an Prof. Bajram Berisha von Präsidenten der TUM Prof. Wolfgang Herrmann am 2. Dezember 2018.

PhD Supervisory Award 2018

Dieses Jahr wurde an der TUM zum ersten Mal der „PhD Supervisory Award“ vergeben. Dieser Preis, der die besonders gute Betreuung von Doktorandinnen und Doktoranden prämiert, wird vom TUM Graduate Council, dem Konvent der Promovierenden an der TUM, ausgelobt. Er ist mit einem Preisgeld von EUR 5.000,- für den TUM-weiten Siegenden dotiert.

Am GZW wurden 27 Betreuende von ihren Doktorandinnen und Doktoranden nominiert, so viel wie an keinem anderen Graduiertenzentrum der TUM. Aus den Nominierten wurden in einer Vorwahl die Top 3 der Betreuenden des WZW Graduiertenzentrums gewählt. Diese sind: Dr. Mario Jekle (Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie), Prof. Michael Pfaffl (Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie) und Prof. Donna Ankerst (Lehrstuhl für Biostatistik). Im Rahmen des GZW-Sommerfestes am 13. Juli 2018 wurde den Preisträgern für ihre Leistung eine Urkunde verliehen.

Von links: Stefan Steinhauser (stellvertretender Doktorandensprecher), Dr. Mario Jekle, Prof. Dr. Donna Ankerst, Prof. Dr. Michael Pfaffl, Julia Kemmerer (Doktorandensprecherin), Foto: Nutthapol Wattanakul

Forschung

I. Laktationsphysiologie

Stimulierte Anreicherung von Kuhmilch mit Clostridium difficile spezifischem IgA

Stimulated enrichment of Clostridium difficile specific IgA in mature cow's milk

Schmautz, C.[1]; Hillreiner, M. [1]; Ballweg, I. [1]; Pfaffl, M. W. [1]; Kliem, H. [1]:
PLoS One. 2018 Apr 25;13(4):e0195275. doi: 10.1371/journal.pone.0195275.

Mit *Clostridium difficile* (*C. diff.*) spezifischem IgA angereicherte Kuhmilchprodukte sind eine mögliche Behandlungsalternative bei von *C. diff.* verursachten Durchfällen bei kranken und alten Menschen. Es wurde die Hypothese formuliert, dass ein dauerhaft hoher *C. diff.* IgA-Gehalt in Milch durch eine kontinuierliche Immunisierung von Milchkühen bewirkt würde. Neune *Brown Swiss*-Kühe wurden wiederholt gegen *C. diff.* geimpft und in Abhängigkeit Ihrer anti-*C. diff.* Milch-IgA-Produktion als "Low Responder" (LR) oder "High Responder" (HR) klassifiziert (Grenzwert: 8,0 µg/mL anti- *C. diff.* Milch-IgA). Gesamt- und *C. diff.* spezifisches IgA wurde in der Milch und dem Blut der Versuchstiere mittels Sandwich-ELISA quantifiziert. Die Hauptproduktionsfaktoren in Milch wurden je Laktationsstadium untersucht.

[1] Animal Physiology and Immunology, Department of Animal Sciences, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München, Freising, Germany

Im Vergleich zu den Kontrolltieren (n = 30) wurden signifikante Unterschiede (P < 0,05) für Milchmenge, Milchfett und Milchgesamtprotein in der Frühlaktation festgestellt. Gegenüber dem anti-*C. diff.* Milch-IgA Gehalt vor Behandlungsbeginn (BTC-Wert) war dessen Konzentration in HR-Milch um durchschnittlich 80% höher in allen Laktationsstadien und das Gesamt-IgA in HR-Milch um 72% in der Spätlaktation. Das Gesamt-IgA in LR-Milch unterschied sich vom BTC-Wert um annähernd 47% im Stadium der Spätlaktation. Gesamt- und *C. diff.* spezifische IgA-Gehalte in Milch waren gegenüber denen in Blut stärker von der anti-*C. diff.* Immunisierung beeinflusst. Ausgenommen der starken Korrelation zwischen Gesamt-IgA und anti-*C. diff.* Milch-IgA (r = 0,69) ergab die Korrelationsanalyse von den IgA-Messwerten und Hauptproduktionsfaktoren in Milch schwache wechselseitige Abhängigkeiten (r < 0,5). Festzustellen ist, dass eine beständige Milchanreicherung mit *C. diff.* spezifischem IgA durch eine kontinuierliche Immunisierung der Milchkühe erzielt werden kann, sofern vorausgewählte gegenüber *C. diff.* sensitive Milchkühe mit einem wirksamen und wohlformulierten Impfstoff mehrfach behandelt werden.

Immunzellen und deren Botenstoffe in Körperflüssigkeiten von mit *Clostridium difficile* behandelten Kühen.

Immune cell counts and signaling in body fluids of cows vaccinated against Clostridium difficile.

Schmautz, C. Müller[1];, M. [1]; Auer, M. [1]; Ballweg, I. [1]; Pfaffl, M. W. [1]; Kliem, H. [1]: J Biol Res (Thessalon). 2018 Dec 10;25:20. doi: 10.1186/s40709-018-0092-4.

Zur Prophylaxe von Rückfällen nach gescheiterten Antibiosen bei humanen *Clostridium difficile* Infektionen (CDI) werden neue Behandlungsmöglichkeiten benötigt. Die Begleittherapie mit einem anti-C. difficile enthaltenem Molkenproteinkonzentrat kann eine dauerhafte Genesung der CDI-Patienten fördern. Zur Herstellung von anti-C. difficile IgA angereicherter Milch wurden verschiedene anti-C. difficile Impfstoffe neun Milchkühen auf definierten Wegen während 31 Behandlungswochen wiederholt verabreicht. Im Fokus dieser Impfstudie stand die Feststellung entscheidender Unterschiede zwischen "Low Responder" (LR)- oder "High Responder" (HR)-Kühen (>8,0 µg/mL anti- C. diff. Milch-IgA) hinsichtlich ihrer Immunantwort auf die Impfungen, auf zellulärer und auf molekularbiologischer Ebene. Die Ergebnisse für die Gesamt- und Differentialzellbilder in Blut und Milch und für die Genexpressionsanalyse ausgewählter Immunfaktoren wurden in Bezug auf Verwendung zweier Impfstoffchargen zur Injektion (MucoCD-I Batch A und B), welche zwei Impfperioden markierten, und im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (CTR) ausgewertet. Die MucoCD-I Batch A verursachte eine kurzfristige Leukopenie gefolgt von einer Leukozytose im Blut von LR- und HR-Kühen. Die Gesamtzellzahl in Milch blieb von der Behandlung unbeeinflusst. Die Differentialzellbilder belegten teilweise behandlungsbedingte Effekte auf die Leukozytenzahlen. Die Genexpressionsanalyse ergab kumulative und signifikante Unterschiede (p < 0,05) zwischen LR und HR für die Gene von Laktoferrin, CXCL8, IL1β, IL2, IL6, IL12, IFNα, CD4 und CD163. Die Regulation des epithelialen IgA Zellrezeptors (PIGR) blieb von der Immunisierung unbeeinflusst. Während der zweiten Impfperiode resultierte aus der Impfung mit MucoCD-I Batch B, im Gegensatz zu der mit MucoCD-I Batch A, eine Abschwächung und Angleichung der Immunantwort von beiden behandelten Versuchstiergruppen. Die invers regulierten Zytokine in Blut- und Milchzellen beider Versuchstiergruppen führten zu einer unterschiedlich ausgerichteten lokalen T-Zellantwort und bewirkten deren im Vergleich unterschiedliche anti-C. difficile Milch-IgA Produktionsintensität.

microRNAs sind nicht geeignet um die Trächtigkeit in Kühen zuverlässig zu detektieren.
miRNAs of whole milk samples are not suitable for pregnancy detection in cattle.
Corina I. Schanzenbach[2], Benedikt Kirchner[1], Susanne E Ulbrich[2], Michael W. Pfaffl[1] (2018) Gene 692: 17-21

Alle üblichen Methoden zur Diagnose von Trächtigkeit in Milchkühen haben eine Vielzahl von Limitationen zum Zeitpunkt der Probennahme oder vor allem bei der Sensitivität. Daher war es unser Ziel neuartige Biomarker für die Trächtigkeit beim Rind in der Milch zu finden. Eine vorherige Studie durchgeführt in Milchzellen und Magermilch hat neue Biomarker eine microRNA Signatur für diesen Zweck identifiziert. Um die Probennahme für den täglichen Gebrauch zu vereinfachen und gleichzeitig Milchfett in die Analyse einzuschließen, wurden hier eine ähnliche Studie mit frischer Vollmilch am Trächtigkeitstag 4, 12, 18 und 21 und an den selbigen tagen während des Zyklus wiederholt. Die microRNAs wurden aus der Milch extrahiert und auf einem Hochdurchsatz Sequenzer (RNA-Seq) sequenziert. Vielversprechende microRNAs wurden mittels RT-qPCR validiert. Einige microRNAs waren signifikant reguliert und sechs microRNAs (bta-miR-221, bta-miR-223, bta-miR-93, bta-miR-200c, bta-miR-125b and the closely related bta-miR-15b) zeigten einen kontinuierlichen Trend, ähnlich wie in den Milchzellen der vorherigen Studie. Allerdings konnten trächtige und zyklische Tiere nicht statistisch vollständig voneinander getrennt werden und die RT-qPCR Validierung der small RNAseq Daten war daher nicht erfolgreich. Daraus schließen wird, dass microRNA Signaturen in frischer boviner Milch nicht dafür geeignet sind um eine frühe Trächtigkeit zu diagnostizieren.

II. Reproduktionsbiologie

Blastozysten zeigen geschlechtsspezifische Signale der IFN Tau Transkription, Translation und Aktivität
Blastocysts depict sex-specific signaling of IFN Tau transcription, translation and activity
Corina I. Schanzenbach[2], Sandra Bernal[2], Vera van der Weijden[2], Michael W. Pfaffl[1], Mathias Büttner[3], Annegret Wünsch[4], Susanne E. Ulbrich[2]
Reproduction. 2018, 10.1530/REP-18-031

Der Zellkulturüberstand von bovinen Präimplatationsblastozysten zeigt geschlechtsabhängige antivirale Aktivität in Abhängigkeit zum Trächtigkeitserkennungssignal Interferon Tau (IFN Tau) in Wiederkäuern. Unterschiedliche Wirksamkeit der IFN Tau Varianten wurden als Grund dafür vorgeschlagen, aber die Beweise hierfür sind jedoch gering. In dieser Studie sollte die geschlechtsabhängige IFN Tau Produktion anhand der Transkription, der Translation und der biologischen Aktivität in bovinen Blastozysten quantifiziert werden, um den Unterschied in der antiviralen Aktivität zwischen männlichen und weiblichen Blastozysten aufzuklären. Blostozysten am Tag 8 wurden mit endometrialen Stromazellen für 48h co-kultiviert. Die embryonische IFN Tau mRNA Expression wurde mittels quantitativer Reverser Transkription, gefolgt von einer Polymerasen Kettenreaktion (RT-qPCR) bestimmt.

[2] Animal Physiology, Institute of Agricultural Science, Department of Environmental Systems Science, ETH Zürich,Zurich, Switzerland;
[3] Bavarian Health and Food Safety Authority, Oberschleißheim, Germany;
[4] Ludwig-Maximilians-Universität München, Chair for Molecular Animal Breeding and Biotechnology, Munich, Germany

Zusätzlich wurde die IFN Tau Protein Konzentration mittels eines sensitiven, selbst entwickelten, IFN Tau spezifischen Enzyme-linked-Immunosorbent Assays (ELISA) bestimmt. Die biologische Aktivität wurde anhand der Genexpressionsantwort von Interferon stimulierter Gene (ISG) in endometrialen Stromazellen quantifiziert. Während der IFN Tau spezifische ELISA ein Detektionslimit von 7.3 pg/mL zeigte, reagierte das Stroma-Zellkultur System in der RT-qPCR bis zu Mengen von 0.1 pg/mL IFN Tau. Weibliche Blastozysen zeigten eine signifikante, 5.6x, 3.6x und 5.2x höhere Produktion als männliche Blastozysten in der Transkriptmenge, Proteinkonzentration und Proteinaktivität. Zusätzliche korrelierten alle Parameter positiv miteinander. Daher schließen wir, dass weibliche Blastozysten höchst wahrscheinlichen eine erhöhte IFN Tau Gen und Protein Expression haben anstatt potentere IFN Tau Varianten.

Einfluss der prä-implantativen niedrigan oralen Dosen von Estradiol-17β auf das Endometrium -- die Rolle der microRNA

Impact of preimplantational oral low-dose estradiol-17β exposure on the endometrium: The role of miRNA

Veronika L. Flöter[1]; Anne-Kathrin Lorenz[1]; Benedikt Kirchner[1]; Michael W. Pfaffl[1]; Stefan Bauersachs[2]; Susanne Ulbrich[2] (2018)

Molecular Reproduction and Development 2018, 85(5): 417-426

Schweine synthetisieren Östrogene zwischen dem 11. und 12. Tag der Trächtigkeit als Signal für die mütterliche Erkennung der Trächtigkeit. Eine prä-implantäre Östrogenexposition gegenüber trächtigen Jungsauen ist mit embryonalen Verlusten und Veränderungen der endometrialen messenger RNA (mRNA) Expression verbunden. MicroRNAs spielen eine Schlüsselrolle bei der Regulierung der mRNA, indem sie die Expression modulieren und regulieren. Die Auswirkungen von Östrogen Exposition auf das endometriale microRNA Expressionsmuster wurden in diesem Zusammenhang bisher nicht untersucht. So untersuchten wir in der vorliegenden Studie das endometriale Expressionsprofil von microRNAs im Schwein am Tag 10 nach der täglichen Anwendung von Estradiol-17β (E2), beginnend mit der Befruchtung. Folgende Konzentrationen wurden eingesetzt: 0,05 µg E2 / kg Körpergewicht / Tag (= ADI - akzeptable tägliche Einnahme), 10 µg E2 / kg Körpergewicht / Tag (= NOEL - No-Observed-Effect-Level) und 1.000 µg E2 / kg Körpergewicht / Tag (= hohe E2 Dosis). In Endometrium Homogenaten waren die E2 Konzentrationen ($p < 0,001$) und die Gesamtöstrogenkonzentrationen ($p < 0,001$) signifikant erhöht, nämlich 28- bzw. 160-fach in der Hochdosisgruppe im Vergleich zur Kontrolle. Darüber hinaus waren die Östrogene in der NOEL Gruppe sechsfach erhöht. Interessanterweise zeigte die Hochdurchsatz-Sequenzierung kleiner, nicht kodierender RNA-Bibliotheken keine differentiell exprimierten microRNAs zwischen den Behandlungsgruppen und der Kontrollgruppe. Die durch RT-qPCR untersuchte Expression von 12 potenziellen Östrogenzielgenen war ebenfalls nicht betroffen. Somit führte die prä-implantäre Östrogen Exposition zu einem signifikant höheren Anstieg der Endometrium Östrogen Konzentrationen, aber diese störten nicht das Expressionsprofil der endometrialen microRNAs.

Veränderungen in der Expression von Prostaglandin-Familienmitglieder im bovinen Corpus luteum während Östrus und Trächtigkeit

Changes in the expression of prostaglandin family members in bovine corpus luteum during the estrous cycle and pregnancy.

Bajram Berisha[1,5,], Dieter Schams[1], Daniela Rodler[6], Fred Sinowatz[6] and Michael W. Pfaffl[1].
Molecular reproduction and development 2018 85(7):622-634.

Das Ziel dieser Untersuchung war es, die Expressionsmuster von Mitgliedern der Prostaglandin-Familie im Corpus luteum (CL) des Rindes während Östrus und Trächtigkeit zu charakterisieren. Die Corpora lutea wurden folgenden Stadien zugeordnet: Tag 1-2, 3-4, 5-7, 8-12, 13-16, >18 (nach der Rückbildung) des Östrus und während der Trächtigkeit (Monat 1-2, 3-4, 6-7, >8). Bei diesen Proben untersuchten wir Prostaglandin (PTG), Prostaglandin E Synthase (PTGES), Prostaglandin F Synthase (PTGFS), Cyclooxygenase 2 (COX-2), Prostaglandin E2 (PTGE), Prostaglandin F2alpha (PTGF) und ihre korrespondierenden Rezeptoren: Prostaglandin F Rezeptor (PTGFR), Prostaglandin E Rezeptor 2 (PTGER2) und Prostaglandin ER4. Die Expression der mRNA wurde mittels RT-qPCR quantifiziert, die Hormonkonzentration wurde durch EIA erfasst und die Lokalisation erfolgte durch Immunhistochemie. Die Analyse der mRNA zeigt, dass die Expression von COX-2, PTGFS und PTGES im CL während der frühen Lutealphase hoch war, gefolgt von einer kontinuierlichen und signifikanten Herunterregulierung auf eine niedrigere Ebene während der mittleren und späten Rückbildung des CL, so wie auch während aller Trächtigkeitsphasen. Die Konzentration von PTGF im CL Gewebe war hoch während der frühen Lutealphase, nahm aber markant ab während der mittleren Lutealphase, nahm jedoch wieder zu während der späten Lutealphase, besonders während der Rückbildung des CL. Dagegen war die Konzentration von PTGE im CL während der frühen Lutealphase (Tag 1-7) niedrig, nahm aber danach bedeutend zu, mit maximalen Werten bei der späten Lutealphase (Tag 13-17) und wiederum in CL Gruppen während der späten Trächtigkeit (5-7 und >8 Monate). Immunhistochemisch konnte für COX-2 und PGES während der Tage 1-2 eine starke Färbung der großen Luteinzellen gezeigt werden. Bei späteren Zyklusphasen waren jene großen Luteinzellen immer noch positiv bei beiden Enzymen, obwohl sich ihre Aktivitäten beachtlich änderten: Deutlich positive Luteinzellen lagen verstreut zwischen schwach positiven oder negativen. Während der Trächtigkeit waren die meisten der großen Luteinzellen nur noch schwach positiv oder negativ, was wiederum mit der vergleichsweise schwachen Prostaglandinproduktion korreliert. Zusammenfassend führen unsere Ergebnisse zu der Annahme, dass die untersuchten Prostaglandin-Familienmitglieder an den lokalen Mechanismen beteiligt sind, die die Lutealfunktion (Bildung, Funktion, Rückbildung, CL während der Trächtigkeit) beim Rind regulieren.

[5] Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Prishtina, Kosovo;
[6] Department of Veterinary Sciences, Ludwig-Maximilians-Universität München, Veterinaerstrasse 13, 80539 Munich, Germany.

mRNA Expression von einigen Mitgliedern der Insulin-like Growth Factor (IGF) Familie während der Endreifung der Follikel im bovinen Ovar

The mRNA expression of some insulin-like growth factor (IGF) family members during finale follicle growth in the bovine ovary

Academy of Science and Arts of Kosova. Research 2018; 23: 31-45.

Bajram Berisha[5]

Das Ziel dieser Untersuchung war die Charakterisierung des mRNA Expressionsmusters der Insulin-like Wachstumsfaktoren IGF-1 und IGF-2 und ihres Rezeptors (IGF-R) während definierter Stadien der Endreifung von Follikeln im bovinen Ovar. Die Klassifizierung der Follikel in unseren Experimenten wurde nach der Östradiol-17alpha (E) Konzentration in der Follikelflüssigkeit (FF) in 5 Gruppen: (<0.5, 0.5-5, 5-40, 40-180 und >180 ng/ml E) vorgenommen. Für die weiteren Analysen wurde das Follikelgewebe in Theka interna (TI) und Granulosa-Zellen (GC) unterteilt. Die Expression der mRNA wurde mittels Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) bestimmt und die Steroidhormon-Konzentration mittels Enzyme Immunoassay (EIA) gemessen. Die IGF-1 mRNA Expression in der TI war in den frühen antralen Follikeln hoch. Bei den prä-ovulatorischen Follikeln erfolgte ein signifikanter Abfall (>180 ng/ml E in der FF). Die IGF-2 mRNA Expression war in der Gruppe der frühen Follikel niedrig (<0.5 ng/ml E in FF), gefolgt von einem signifikanten Anstieg bei den größeren Follikelklassen und einer anschließenden Reduzierung bei den prä-ovulatorischen Follikeln (>180ng/ml E in der FF). Die IGF-2 mRNA Expression in der TI war in der Gruppe der frühen Follikel hoch. Anschließend erfolgte eine signifikante Abnahme in jener der prä-ovulatorischen Follikel (>180 ng/ml E in der FF). Die IGF-2 mRNA Expression im TI Gewebe war in der Gruppe früher Follikel niedrig (<0.5 ng/ml E in der FF), gefolgt von einem signifikanten Anstieg in den folgenden Follikelstadien und in der Gruppe prä-ovulatorischer Follikel (>180ng/ml E in der FF). Im Unterschied dazu konnten keine signifikanten Änderungen der IGF-1 und IGF-2 mRNA Expression in den GC während des finalen Wachstums der Follikel beobachtet werden. Die IGF-R mRNA Expression in der TI und den GC war relativ niedrig in der Gruppe früher Follikel (<0.5 ng/ml E in der FF). Es schloss sich eine deutliche kontinuierliche Hochregulierung bis zu einem bestimmten Plateau in den folgenden Follikelklassen für beide Gewebearten an. Signifikant erhöht war dies allerdings nur für GC. Diese Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass lokal produziertes IGF-1, IGF-2 und IGF-R in jenen Mechanismen involviert sind, welche die Follikelentwicklung, Selektion und das finale Follikelwachstum im Ovar regeln.

III. Wachstumsphysiologie

Wachstumshormon-Sekretion von Feten und Ferkeln der Deutschen Landrasse im Vergleich zu Tieren mit einem erblichen Mangel an 1,25 Dihydroxyvitamin D_3

Ontogeny of growth hormone receptor mRNA and plasma GH concentrations in two different pig genotypes.

Manfred Mielenz[7,8] , Michael W. Pfaffl[1], Helga Sauerwein[8], Christina Schlumbohmd[9], Cornelia Preussed[10], Johein Harmeyer[11] and Nahid Parvizia[12]

Nutrients 2018 10(5): E 617

Die Regulation der Sekretion des Wachstumshormons (GH) ist während der pränatalen Entwicklung und kurz nach der Geburt noch nicht abschließend geklärt. Im Rahmen dieser Studie wurden während der Ontogenese Plasma GH-Konzentrationen von Schweinen, welche an erblicher Pseudo-Vitamin-D-Mangel Rachitis Typ I (PDDR-I) litten, und üblicherweise eine Wachstumsretardierung aufweisen, mit gesunden Tieren derselben Rasse (Deutsche Landrasse, DL) verglichen. Plasma GH-Konzentrationen von chronisch katheterisierten Feten (beginnend mit Tag 101 nach dem Decken bzw. nach artifizieller Befruchtung) und von Ferkeln (Tag 37 post partum (p.p.) bis Tag 42 p.p.) beider Linien wurden gemessen. Eine Wachstumskurve beider Linien, beginnend mit Tag 7 p.p., wurde aufgenommen. Die relative Menge an GH-Rezeptor (GHR) mRNA in der Leber von 42 Tage alten Ferkeln wurde mittels kompetitiver Reverser Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) ermittelt. Ein Trend für höhere GH-Konzentration wurde im Plasma von PDDR-I Feten beobachtet ($p < 0.1$). Bei Ferkeln der Linie PDDR-I wurden trotz eines geringeren Körpergewichts im Vergleich zu DL-Ferkeln höherer GH-Werte vorgefunden ($p < 0.01$). Die relative Menge an GHR-mRNA in der Leber unterschied sich nicht signifikant zwischen beiden Linien. Insbesondere Ferkel mit einem erblichen Defekt der Vitamin D Synthese wiesen mehr GH im Plasma auf. Ein hormonales Imprinting durch geringe 1,25 Dihydroxyvitamin D_3-Konzentrationen könnte ein Grund für unsere Beobachtungen gewesen sein und sollte in weiterführenden Studien eingehender untersucht werden.

Veränderungen des microRNA Expressionsmuster beim Einlagern von Blutkonserven.

Changes in the microRNA expression profile during blood storage.

Anna K. Haberberger[1], Benedikt Kirchner[1], Irmgard Riedmaier[1,13], Reinhard Henschle[14,15],Christian Wichmann[14], Raymund Buhmann[14] and Michael W. Pfaffl[1] (2018)

BMJ Open Sport & Exercise Medicine 2018 4(1): e000354

Seit mehreren Jahrzehnten ist autologes Blut Doping (ABD) im Sport ein großes Problem, und auch bis heute gibt es keine verlässliche Nachweismethode um ABD zu detektieren. Beim ABD werden eigens vom Sportler gewonnene Blutkonserven oder Erythrozyten

[7] Institute of Animal Genetics, Department of Functional Genomics and Bioregulation, FLI, 31535 Neustadt a. Rbg., Germany;
[8] Institute of Animal Science, Physiology and Hygiene Unit, University of Bonn, Bonn, Germany;
[9] German Primate Center, Göttingen, Germany;
[10] Bayer Schering Pharma, Berlin, Germany;
[11] Department of Physiology, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany;
[12] Institute of Farm Animal Genetics, Department of Functional Genomics and Bioregulation, FLI, 31535 Neustadt a. Rbg., Germany;
[13] Eurofins Medigenomix Forensik GmbH, Ebersberg, Germany
[14] Department of Transfusion Medicine, Cell Therapeutics and Hemostaseology, Ludwig-Maximilians-University Hospital, Munich, Germany;
[15] Blutspende Zürich, Medizinischer Dienst, Zürich, Switzerland;

Konzentrate verwendet, um die Ausdauer des Athleten signifikant zu erhöhen. Dies verursacht einen höheren Erythrozytenspiegel im Blut und, somit mehr Sauerstoff Kapazität im Blut, und in der Folge höhere Ausdauer und Kraft. In diese Studie wurden microRNAs (kleine RNAs) in frischem Blut sowie in eingelagertem Blut über 42 Tage von gesunden Sportlern untersucht und miteinander verglichen. Mittels RNA Sequenzierungen der kleinen RNAs (small-RNA Seq) konnten alle microRNAs in einer Blutprobe im Verlauf der Lagerung über sechs Wochen und mehrere Zeitpunkte detektiert werden. 189 microRNAs wurden in dieser Studie als stabil exprimiert identifiziert. Eine komplexe bioinformatische Hauptkomponentenanalyse (PCA) und hierarchische Clusteranlyse (HCA) der Sequenzierungsergebnisse ergab eine microRNA Biomarker Signatur von 28 microRNAs, bestehend aus 6 microRNAs die sich während der Lagerung sowie 22 microRNAs die sich durch Einflüsse der Blutverarbeitung verändert haben. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die identifizierte microRNA Biomarker Signatur für den Nachweis von ABD potentiell verwendet werden kann. In weiteren Studien werden diese 28 microRNA Kandidaten zurzeit bestätigt und verifiziert. Derzeit befindet sich in eine Transfusion Folgestudie mit 30 gesunden Sportlern in Arbeit.

IV. Lebensmittelsicherheit

Neue Konzepte der Lebensmittelüberwachung in Fleisch produzierenden Tieren. Der Vorteil von Hochdurchsatz und „omics“ Methoden.

New surveillance concepts in food safety in meat producing animals. The advantage of high throughput 'omics' technologies.

Michael W. Pfaffl[1] & Irmgard Riedmaier-Sprenzel[1,13] (2018)

Special issue *“Future Prospects for Beef Production in Asia”* edited by Prof. Dr. Takafumi Gotoh, Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 2018, Volume 31(7): 1062-1071

Der Missbrauch anaboler Hormone oder illegaler Drogen ist ein allgegenwärtiges Problem in der Tierhaltung und somit auch in der Lebensmittelsicherheit. Das Verbot von Wachstumsförderern für zur Lebensmittelerzeugung genutzter Tiere in der Europäischen Union ist gut geregelt und wird auch sehr stark kontrolliert. Es sind jedoch schwer neu entwickelte Anabolika Substanzen und die Verabreichung von komplexen Hormoncocktails mit den herkömmlichen Methoden zu detektieren und quantitativ zu erfassen. Daher entwickeln wir neue Methoden und Nachweisverfahren auf der Basis von molekularen und endogenen Biomarker voran, die auf den indirekten Effekten der Leistungsförderer ansetzen, also an den physiologischen basieren Reaktionen nach der unerlaubten Applikation.

Die Transkriptom Analyse, die exprimierten langen (meist mRNAs) und kurzen RNAs (meist microRNAs), verspricht den Missbrauch von Anabolika durch den indirekten Nachweis ihrer pharmakologischen Wirkung in Organen oder ausgewählten Geweben aufzudecken. In verschiedenen Studien seit nunmehr 15 Jahren wurden signifikante Änderungen der Genexpression nach der Anwendung illegaler Arzneimittel oder Hormone gemessen. So genannten „transkriptomische Biomarker“ wurden auf mRNA- und / oder microRNA-Ebene durch Reverse-Transkription-quantitative Polymerase-Kettenreaktion (RT-qPCR) oder durch modernere "omics" und Hochdurchsatz Technologien einschließlich RNA-Sequenzierung (RNA-Seq) quantifiziert. Durch die zusätzliche Anwendung bioinformatischer Algorithmen

(hierarchischer Clusteranalyse und dynamischer Hauptkomponentenanalyse) kann eine spezifische "Biomarker-Signatur" identifiziert werden, um zwischen einzelnen behandelten und unbehandelten Tieren zu unterscheiden. In zahlreichen Tier- und Zellkulturstudien wurde gezeigt, dass die Identifizierung behandelter Tiere über unseren Transkriptions-Biomarker-Ansatz möglich und relevant ist. Diese ersten Ergebnisse aus Tierproduktions- und Lebensmittelsicherheitsstudien zeigen, dass die Analyse des Transkriptoms als neues Screening-Verfahren unter Verwendung von transkriptionellen Biomarkern ein großes Potenzial aufweist.

V. Biomarker & Bioanalytik

Bewertung von extrazellulären Vesikel Isolationsverfahren aus Blutserum zur microRNA Bestimmung durch Hochdurchsatz Sequenzierung.

Evaluation of serum extracellular vesicle isolation methods for profiling miRNAs by Next-Generation Sequencing

Dominik Buschmann[1,16], Benedikt Kirchner[1,17], Stefanie Hermann[1], Melanie Märte[18], Christine Wurmser[19], Florian Brandes[18], Stefan Kotschote[20], Michael Bonin[20], Ortrud K. Steinlein[16], Michael W. Pfaffl[1], Gustav Schelling[18] und Marlene Reithmair[16]

Journal of Extracellular Vesicles 2018 7(1): 1481321

Extrazelluläre Vesikel (EVs) und die darin enthaltenen microRNAs (miRNAs) spielen in physiologischen und pathologischen Prozessen eine zentrale Rolle. Insbesondere EVs aus Serum und Plasma wird eine zunehmende Bedeutung als diagnostische Biomarker in Flüssigbiopsien (Liquid Biopsies) zugemessen. Eine Vielzahl kommerzieller Methoden verspricht schnelle und effektive EV-Isolation aus diversen biologischen Flüssigkeiten, allerdings ist nicht bekannt, wie sich die isolierten EV-Populationen und die damit assoziierten miRNAs in Abhängigkeit von der Isolationsmethode unterscheiden. In diesem Projekt wurden verschiedene Methoden verwendet, um Serum-EVs aus Sepsis-Patienten und gesunden Freiwilligen zu isolieren. Die enthaltenen miRNAs wurden anschließend per Next-Generation Sequencing (NGS) analysiert und zwischen den Methoden und Probandengruppen verglichen. Außerdem wurden EVs aus allen Gruppen biologisch charakterisiert. In den NGS-Analysen zeigten sich je nach Isolationsmethode deutliche qualitative und quantitative Unterschiede im miRNA-Profil. Für die per Präzipitation isolierten EVs konnten mehr miRNAs detektiert werden; außerdem eigneten sich diese gut dafür, Sepsis-Patienten anhand ihrer EV-miRNAs von gesunden Kontrollen zu unterscheiden. Andere Methoden, insbesondere solche, die auf einer Größenausschlusschromatographie beruhen, ergaben weniger miRNAs und eine schlechtere Auftrennung der Probanden. Die EV-Charakterisierung zeigte methodenspezifische Unterschiede in Partikelgröße- und Anzahl sowie der Expression von EV-Proteinmarkern auf.

[16] Institute of Human Genetics, University Hospital, LMU Munich, Germany;
[17] Dr. von Hauner Childrens‘s Hospital, LMU Munich, Germany;
[18] Department of Anesthesiology, University Hospital, LMU Munich, Germany;
[19] Chair of Animal Breeding, TUM School of Life Sciences Weihenstephan, Technical; University of Munich, Germany;
[20] IMGM Laboratories GmbH, Planegg, Germany

Somit konnte gezeigt werden, dass sich verschiedene EV-Isolationsmethoden unterschiedlich gut für anschließende NGS-Analysen eignen, und dass sich die isolierten EV-Populationen in Abhängigkeit von der verwendeten Methode unterscheiden.

Die Überexpression des Glucocorticoidrezeptors verschiebt die microRNA-Expressionsmuster bei Dreifach-Negativem-Brustkrebs.
Glucocorticoid receptor overexpression shifts microRNA expression patterns in Triple-Negative Breast Cancer.
Dominik Buschmann[16,1,], Ricardo González,[16,21,] , Benedikt Kirchner[1], Claudia Mazzone[22], Michael W. Pfaffl[1], Gustav Schelling[18], Ortrud Steinlein[16], Marlene Reithmair[16]
International Journal of Oncology 2018 52(6): 1765-1776

Triple-Negative Breast Cancer (TNBC) ist eine besonders aggressive und schwer therapierbare Form des Brustkrebses. Für TNBC-Tumore, die den Glukokortikoid-Rezeptor (GR) überexprimieren, konnte zusätzlich eine gesteigerte Therapieresistenz sowie höhere Rezidiv- und Sterblichkeitsraten nachgewiesen werden. Wie viele andere Tumorerkrankungen auch, nutzt TNBC extrazelluläre Vesikel (EVs), um sich einen Überlebensvorteil zu verschaffen, und in andere Organe zu metastasieren. In diesem Projekt wurden extrazelluläre microRNAs (miRNAs) von TNBC-Zellen in Abhängigkeit von GR-Expression analysiert. In drei TNBC-Zelllinien (MDA-MB-231, MDA-MB-436 und MDA-MB-468) wurde in vitro eine GR-Überexprimierung induziert; anschließen wurden miRNAs in EVs von nativen und GR-überexprimierenden Zellen per Next-Generation Sequencing (NGS) analysiert. Es ließen sich allerdings nur minimale GR-abhängige Änderungen im miRNA-Profil der EVs nachweisen. Auch die intrazelluläre miRNA-Expression war in Abhängigkeit des Rezeptors kaum verändert, was darauf hindeutet, dass die erhöhte Aggressivität und Letalität von GR-überexprimierendem TNBC wahrscheinlich nicht über miRNAs vermittelt wird.

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Maria Hillreiner, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 21.03.2018
„Influence on physiological functions of bovine mammary epithelial cells in 3D cell culture through bacterial stimuli and ketone bodies“

Jennifer Pérez Boza, Dr. rer. nat. Université de Liège, Lüttich, Belgien, 14.05.2018
„Unraveling the mechanisms behind the packaging of RNA into exosomes“

Corina Isabel Schanzenbach, Dr. sc. ETH Zürich, ETH Zürich, 29.06.2018,
„Developement of Diagnostic Tools to Decipher Para-and Endocrine Effects of IFN Tau“

[21] Faculty of Sciences, University of Porto, Porto, Portugal;
[22] Department of Pharmacy and Medicine, Sapienza University of Rome, P. le Aldo Moro 5, 00185 Rome, Italy;

Lisa Mutschelknaus, Dr. rer. nat., Technische Universität München, Fakultät für Medizin, 13.07.2018
„Functional analysis of head and neck cancer exosomes released in response to ionizing radiation“

Masterarbeiten

Natalie Uhl, Biologie,
„Die Rolle des Aktin Zytoskeletts im dynamischen B-Zell Metabolismus“

Tanja Plaumann, Biologie,
„Validierung einer auf smallRNA - seq basierenden Biomarker - Signatur mittels RT-qPCR bei mit Eigenblut gedopten Probanden“

Jaqueline Berner, Molekulare Biotechnologie,
„Validierung von Kandidatengenen, welche die Differenzierung zytotoxischer T-Zellen in Mäusen beeinflussen“

Miriam Kuhlmann, Molekulare Biotechnologie,
„Charakterisierung von residenten CD8 T Zellen mit Hilfe einer CD69 Reporter Maus“

Ann-Kristin Triebert, Molekulare Biotechnologie,
„MHC-Multimer-basierte Isolierung und Charakterisierung für MART1, RNF43 und Her2 neu spezifische T-Zellrezeptoren aus dem naiven Repertoire gesunder Spender“ (Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der TUM)

Martina Kraus, Agrarwissenschaften,
„Neue Methoden zur Bestimmung von Tiergesundheit und Tierschutz auf einer hochauflösenden Immunüberwachung von Blut und Milch bei Milchkühen“

Bachelorarbeiten

Noémi Léa Szörenyi, Biologie,
„Isolierung von exosomen-ähnlichen Vesikeln aus Urin und Charakterisierung mittels Western Blot und Nanopartikel Tracking Analyse“

Bernhard Magerl, Molekulare Biotechnologie,
„Etablierung eines Multikanal-Immunofluoreszenz-Systems zur Visualisierung von gewebeständigen T-Zellen“

Christin Weiß, Molekulare Biotechnologie,
„Funktionelle Charakterisierung der hydrophoben Reste in der preS1 Region zur Identifizierung der Fusionsschleifen des großen Hüllproteins L des Hepatitis B Virus“ (Institut für Virologie, TU München)

Antar Drews, Molekulare Biotechnologie,
„Erforschung der Hilfefunktion von CD4 T-Zellen in der von CD8 T-Zellen gesteuerten Immunantwort bei chronischen Infektionen“

Andreas Carr, Molekulare Biotechnologie,
„Untersuchung der Differenzierung gewebeständiger T-Zellen während akuter und chronischer LCMV Infektion in Mäusen“

Maria-Kathrin Hiller, Molekulare Biotechnologie,
„Etablierung eines Testsystems für Swine Leucocyte Antigen zur Identifizierung Klasse I-restringierter Peptide“

Vorträge

Pfaffl, Michael W.:

Exosomal Biomarkers in Clinical Diagnostics – How to optimize Microvesicle Purification and microRNA Sequencing in Sepsis Patients.
1. - 2. März 2018, IGLD and GSEV, Frankfurt, Germany.

Exosomal Biomarkers in Clinical Diagnostics – How to identify valid and better biomarker signatures from micro-vesicular small RNA sequencing.
Circulating Biomarkers Wold Congress 2018, March 28-29, Wyndham Boston Beacon Hill Hotel, Boston; USA.

Exosomes – A compartment for emerging biomarkers.
Analytica 2018 Conference, Genomics Session, 11th April 2018.

Exosomal Biomarkers in Clinical Diagnostics – How to identify valid and better biomarker signatures from micro-vesicular small RNA sequencing.
15th May 2018, GIGA, University of Liege, Belgium.

Exosomal Biomarkers in Clinical Diagnostics – How to optimize Microvesicle Purification and microRNA Sequencing in Sepsis Patients.
Australian qPCR Symposium, 24th - 25th May 2018, Taronga Zoo, Sydney, Australia.

MIQE challenges and solutions - The use of efficiency corrected relative quantification models (REST) for transcriptional biomarker discovery.
Australian qPCR Symposium, 24th - 25th May 2018, Taronga Zoo, Sydney, Australia.

MIQE challenges and solutions - The use of efficiency corrected relative quantification models (REST) for transcriptional biomarker discovery.
Charles Darwin University, Monday 28 May, 9am -12pm, Casuarina Room Yellow 1.1.39, Darwin, Australia.

MIQE challenges and solutions - The use of efficiency corrected relative quantification models (REST) for transcriptional biomarker discovery.
James Cook University, Wednesday 30th May, 9am – 12pm, Cairns City Campus, Room 103, Cairns, Australia.

MIQE challenges and solutions - The use of efficiency corrected relative quantification models (REST) for transcriptional biomarker discovery.
James Cook University, Thursday 31st May, 10am – 12.30pm, Townsville Campus, Room 30, ATSIP Building 145, Townsville, Australia.

MIQE challenges and solutions - The use of efficiency corrected relative quantification models (REST) for transcriptional biomarker discovery.
Australian qPCR Roadshow 1st June May 2018, TRI (Translational Research Insitute), Brisbane, Australia.

The potentials of isomiRs -- A new dimension in biomarker research.
ETH Seminar, 28th June 2018, Zürich, Switzerland.

MISEV compliant standardization of EV isolation and characterization in clinical samples.
30-31 August 2018, 1st Mini-Symposium on Extracellular Vesicles in Inter-Organismal Communication, LMU SFB 924, Munich.

Exosomal microRNA Biomarkers Signatures in Clinical Diagnostics.
Single Cell Europe 2018 Symposium, 20th – 21st September 2018, BIOCEV (Biotechnology and Biomedicine Center of the Academy of Science and Charles University in Vestec, Prague, Czech Republic.

Comparison of Exosome Extraction Kits in Sepsis -- Exosome content, miRNA, and isomiRs Biomarkers**.**
EMBL Course – Liquid Biopsies.
15. – 19. October 2018, EMBL Heidelberg, Germany.

Exosomal microRNA Biomarkers Signatures in Clinical Diagnostics.
45th ISOBM (International Society of Oncology & BioMarkers) 2018 Congress; Tumor diagnosis and therapy - role of Biomarkers, 24-27 November 2018, Hamburg, Germany.

Bajram Berisha:

Scientific research and innovation in university education - General trends and challenges in Kosovo.
University College "Iliria". Prishtina, Kosovo, 22.05.2018.

European and Kosovo's challenges in science, technology, innovation and economic development.
Annual meeting “Science Week 2018”, Ministry of Education, Science and Technology, Prishtina, Kosovo, 15.05. - 18.05.2018.

The influence of Insulin-like Growth Factors (IGF) during finale follicle growth in the bovine ovary.
Annual meeting “Science Week 2018”, Ministry of Education, Science and Technology, Prishtina, Kosovo, 15.05. - 18.05.2018.

Exkursionen

Exkursion zum Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit am 15.03.2018 unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Michael Pfaffl und Herrn Dr. Patrick Gürtler

Exkursion zum Milchprüfring Bayern, Wolnzach, am 09.05.2018 unter der Leitung von Frau Dr. Heike Kliem

Exkursion zur Besamungsstation CRV in Wasserburg am 03.07.2018 unter der Leitung von Herrn Dr. Graf von Silva-Tarouca

Veröffentlichungen

Stimulierte Anreicherung von Kuhmilch mit Clostridium difficile spezifischem IgA
Stimulated enrichment of Clostridium difficile specific IgA in mature cow's milk
Schmautz, C.; Hillreiner, M.; Ballweg, I.; Pfaffl, M. W.; Kliem, H.:
PLoS One. 2018 Apr 25;13(4):e0195275. doi: 10.1371/journal.pone.0195275

Immunzellen und deren Botenstoffe in Körperflüssigkeiten von mit Clostridium difficile behandelten Kühen
Immune cell counts and signaling in body fluids of cows vaccinated against Clostridium difficile
Schmautz, C.; Müller, M.; Auer, M.; Ballweg, I.; Pfaffl, M. W.; Kliem, H.: J Biol Res (Thessalon). 2018 Dec 10;25:20. doi: 10.1186/s40709-018-0092-4

Immunzellen und deren Botenstoffe in Körperflüssigkeiten von mit Clostridium difficile behandelten Kühen
Immune cell counts and signaling in body fluids of cows vaccinated against Clostridium difficile
Schmautz, C.; Müller, M.; Auer, M.; Ballweg, I.; Pfaffl, M. W.; Kliem, H.:
J Biol Res (Thessalon). 2018, 25: 20

microRNAs sind nicht geeignet um die Trächtigkeit in Kühen zuverlässig zu detektieren
microRNAs of whole milk samples are not suitable for pregnancy detection in cattle
Corina I. Schanzenbach[1], Benedikt Kirchner[2], Susanne E Ulbrich[1], Michael W. Pfaffl[2] (2018)
1 Animal Physiology, Institute of Agricultural Science, Department of Environmental Systems Science, ETH Zürich, Zurich, Switzerland; 2 Animal Physiology and Immunology, Department of Animal Sciences, Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München, Freising, Germany;
Gene 692: 17-21

Blastozysten zeigen geschlechtsspezifische Signale der IFNtau Transkription, Translation und Aktivität
Blastocysts depict sex-specific signaling of IFNtau transcription, translation and activity
Corina I. Schanzenbach[1], Sandra Bernal[1], Vera van der Weijden[1], Michael W. Pfaffl[2], Mathias Büttner[3], Annegret Wünsch[4], Susanne E. Ulbrich[1]

Einfluss der prä-implantativen niedrigan oralen Dosen von Estradiol-17β auf das Endometrium -- die Rolle der microRNA
Impact of preimplantational oral low-dose estradiol-17β exposure on the endometrium: The role of miRNA
Veronika L. Flöter; Anne-Kathrin Lorenz; Benedikt Kirchner; Michael W. Pfaffl; Stefan Bauersachs; Susanne Ulbrich (2018)
Molecular Reproduction and Development 2018, 85(5): 417-426

Veränderungen in der Expression von Prostaglandin-Familienmitglieder im bovinen Corpus luteum während Östrus und Trächtigkeit
Changes in the expression of prostaglandin family members in bovine corpus luteum during the estrous cycle and pregnancy
Bajram Berisha, Dieter Schams, Daniela Rodler, Fred Sinowatz and Michael W. Pfaffl.
Molecular reproduction and development 2018 85(7):622-634

mRNA Expression von einigen Mitgliedern der Insulin-like Growth Factor (IGF) Familie während der Endreifung der Follikel im bovinen Ovar
The mRNA expression of some insulin-like growth factor (IGF) family members during finale follicle growth in the bovine ovary
Academy of Science and Arts of Kosova. Research 2018; 23: 31-45
Bajram Berisha, Faculty of Agriculture and Veterinary, University of Prishtina, Prishtinë, Kosovo

Wachstumshormon-Sekretion von Feten und Ferkeln der Deutschen Landrasse im Vergleich zu Tieren mit einem erblichen Mangel an 1,25 Dihydroxyvitamin D_3
Ontogeny of growth hormone receptor mRNA and plasma GH concentrations in two different pig genotypes
Manfred Mielenz, Michael W. Pfaffl, Helga Sauerwein, Christina Schlumbohmd, Cornelia Preussed, Johein Harmeyer and Nahid Parvizia

Veränderungen des microRNA Expressionsmuster beim Einlagern von Blutkonserven
Changes in the microRNA expression profile during blood storage
Anna K. Haberberger, Benedikt Kirchner, Irmgard Riedmaier, Reinhard Henschler, Christian Wichmann, Raymund Buhmann and Michael W. Pfaffl (2018)
BMJ Open Sport & Exercise Medicine 2018 4(1): e000354

Neue Konzepte der Lebensmittelüberwachung in Fleisch produzierenden Tieren. Der Vorteil von Hochdurchsatz „omics“ Methoden
New surveillance concepts in food safety in meat producing animals. The advantage of high throughput ‘omics’ technologies
Michael W. Pfaffl & Irmgard Riedmaier-Sprenzel (2018)
Special issue “Future Prospects for Beef Production in Asia” edited by Prof. Dr. Takafumi Gotoh, Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 2018, Volume 31(7): 1062-1071

Bewertung von extrazellulären Vesikel Isolationsverfahren aus Blutserum zur microRNA Bestimmung durch Hochdurchsatz Sequenzierung
Evaluation of serum extracellular vesicle isolation methods for profiling miRNAs by Next-Generation Sequencing
Dominik Buschmann, Benedikt Kirchner, Stefanie Hermann, Melanie Märte, Christine Wurmser, Florian Brandes, Stefan Kotschote, Michael Bonin, Ortrud K. Steinlein, Michael W. Pfaffl, Gustav Schelling und Marlene Reithmair
Journal of Extracellular Vesicles 2018 7(1): 1481321

Die Überexpression des Glucocorticoidrezeptors verschiebt die microRNA-Expressionsmuster bei Dreifach-Negativem-Brustkrebs
Glucocorticoid receptor overexpression shifts microRNA expression patterns in Triple-Negative Breast Cancer
Dominik Buschmann, Ricardo González, Benedikt Kirchner, Claudia Mazzone, Michael W. Pfaffl, Gustav Schelling, Ortrud Steinlein, Marlene Reithmair
International Journal of Oncology 2018 52(6): 1765-1776

Weitere Veröffentlichungen

H. Stephan Jung, Nicole Estrella, Michael W. Pfaffl, Stephan Hartmann, Ellinor Handelshauser, Annette Menzel (2018)
Grass pollen production and group V allergen content of agriculturally relevant species and cultivars
Plos One 2018 13(3): e0193958

Julia Hani, Ghenwa Abdel Nour, Joanne Matta, Boushra Jazzar, Michael W. Pfaffl, Lara Hanna-Wakim, Afif M. Abdel Nour (2018)
Shisha microbiota -- the good, the bad and the not so ugly
BMC Research Notes 2018 11(1): 446

Ralph Kuehn, Bernhard C. Stoeckle, Marc Young, Lisa Popp, Jens-Eike Taeubert, Michael W. Pfaffl, and Juergen Geist (2018)
Identification of a piscine reovirus-related pathogen in Proliferative Darkening Syndrome (PDS) infected brown trout (Salmo trutta fario) using a next-generation technology detection pipeline
Plos One 13(10): e0206164

Kurzfassungen (abstracts & proceedings)

Dapi Meng Lin Chiang, Dominik Buschmann, Benedikt Kirchner, Florian Brandes, Gustav Schelling, Michael W. Pfaffl, Chin-Sheng Lin (2018)
Semi-quantitation and characterization of serum-derived exosomes in coronary artery disease by glycan recognition bead, EXÖBead
ISEV Meeting Barcelona -- Journal of Extracellular Vesicles 2018; Vol. 7, 1461450; p 224-225

Benedikt Kirchner, Dominik Buschmann, Gustav Schelling, Anja Maria. Gumpp, Alexander Karabatsiakis, Iris-Tatjana Kolassa, Michael W. Pfaffl (2018)
Improving specificity and diagnostic power in extracellular vesicles - Easily incorporate isomiR analyses in existing pipelines.
ISEV Meeting Barcelona -- Journal of Extracellular Vesicles 2018; Vol. 7, 1461450; p 45-46

Dominik Buschmann, Marlene Reithmair, Benedikt Kirchner, Stefanie Hermann, Melanie Märte, Florian Brandes, Ortrud Steinlein, Michael W. Pfaffl, Gustav Schelling (2018)
Can vesicular microRNAs predict negative perioperative outcomes in cardiac surgery?
ISEV Meeting Barcelona -- Journal of Extracellular Vesicles 2018; Vol. 7, 1461450; p 162-163

Stefanie Hermann, Dominik Buschmann, Benedikt Kirchner, Melanie Märte, Florian Brandes, Marlene Reithmair, Gustav Schelling, Michael W. Pfaffl (2018)
Comparative analysis of extracellular vesicles from arterial and venous blood reveals only minor differences in vesicle composition.
ISEV Meeting Barcelona -- Journal of Extracellular Vesicles 2018; Vol. 7, 1461450; p 162

Lily Nguyen, Sophie Dobiasch, Daniela Schilling, Dominik Buschmann, Michael W. Pfaffl, Omid Azimzadeh, Thomas E. Schmid and Stephanie E. Combs (2018)
miRNA profiling in human pancreatic cancer cell lines.
European Society for Radiotherapy& Oncology Symposioum, 2018

Bajram Berisha, Dieter Schams, Daniela Rodler, Fred Sinowatz, and Michael W. Pfaffl (2018)
Expression and localisation of some prostaglandin family members in the bovine corpus luteum.
25th - 28th Juli 2018, 32nd EAVA Congress, Hannover, Germany, Verleihung Zietzschmann-Grau Preis 2018

Melanie Märte, Florian Brandes, Dominik Buschmann, Marlene Reithmair, Benedikt Kirchner, Max Suckfuell, Alexander Chouker, Michael W. Pfaffl and Gustav Schelling (2018)
miRNAs isolated from circulating exosomes are indicative of negative perioperative outcomes of CABG.
ASA Meeting 2018

Hans-Jürgen Heidebrecht, William J Weiss, Mark Pulse, Michael W. Pfaffl, Heike Kliem, Sacha Mann, Ulrich Kulozik, Anton Lange, Karina Gisch and Christoph von Eichel-Streiber (2018)
Treatment and prevention of Clostridium difficile infection with functionalized bovine antibody-enriched whey in a hamster primary infection model.
ICDS, 6th International Clostridium difficile Symposium, 2018, Bled, Slovenia

Dominik Buschmann, Benedikt Kirchner, Stefan Kotschote, Michael Bonin, Marlene Reithmair, Gustav Schelling, Michael W. Pfaffl (2018)
Quantitative comparison of EV isolation methods for miRNA-based biomarker detection in critically ill patients.
Gordon Research Conference Meeting 2018

L. Nguyen, S. Dobiasch, D. Schilling, D. Buschmann, MW. Pfaffl, O. Azimzadeh, TE. Schmid, SE. Combs (2018)
Relationship between radiosensitivity and miRNA profile in pancreatic cancer cells.
Strahlentherapie und Onkologie 2018, Springer Heidelberg, Tagungsband 194, 15-16

Sabine Farschtschi, Martina Kraus, Prof. Dr. Michael Pfaffl (2018)
Gesundheitsüberwachung von Milchkühen durch hochauflösendes Immun-Monitoring in Blut und Rohmilch mithilfe der Durchflusszytometrie.
9. AGRARWISSENSCHAFTLICHES SYMPOSIUM am 27. September 2018, Thema: "Bedürfnisse der Nutztiere: erkennen - verstehen - handeln", TUM Weihenstephan, Freising.

Stefanie Hermann, Benedikt Kirchner, Dominik Buschmann, Melanie Märte, Florian Brandes, Stefan Kotschote, Michael Bonin, Marlene Reithmair, Gustav Schelling, Michael W. Pfaffl (2018)
Distinct miRNA profiles in circulating EVs from critically ill patients with lung damage.
1st Autumn Meeting of the German Society for Extracellular Vesicles (GSEV), 15-16 November 2018, Marburg, Germany.

Fricke F., Mussack V., Buschmann D., Pfaffl M.W., Kopitz J., Gebert J. (2018)
TGFBR2-dependent microRNA expression profiles in microsatellite-unstable colorectal cancer cells and their extracellular vesicles.
1st Autumn Meeting of the German Society for Extracellular Vesicles (GSEV), 15-16 November 2018, Marburg, Germany.

Benedikt Kirchner, Dominik Buschman, Vijay Pau, Michael W. Pfaffl (2018)
Differential uptake of colostral EV protein and miRNA cargo in neonatal calves.
1st Autumn Meeting of the German Society for Extracellular Vesicles (GSEV), 15-16 November 2018, Marburg, Germany.

Fabia Fricke, Veronika Mussack, Dominik Buschmann, Ingrid Haußer, Michael W. Pfaffl, Jürgen Kopitz, Johannes Gebert (2018)
TGFBR2-dependent microRNA expression in extracellular vesicles and parental microsatellite unstable colorectal cancer cell.
DKFZ, PhD seminar presentation, 16. November 2018, Heidelberg, Germany.

Michael W. Pfaffl (2018)
Exosomal microRNA Biomarkers Signatures in Clinical Diagnostics.
Special Issue -- Tumor diagnosis and therapy - role of Biomarkers, Tumor Biology Journal 2018, 45th ISOBM Abstract Band 2018 Congress, 24. – 27. Nov 2018, Hamburg, Germany.

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. Zachary Ardern	-3851
	Dr. Etienne Doll	-2258
	Dr, Christopher Huptas	-5570
	Dr. Tanja Kern (bis 28.02.2018)	-2258
	Dr. Genia Lücking	-2257
	Dr. Mareike Wenning (bis 14.08.2018)	-2257
Doktoranden:	M.Sc. Anna Dettling	-3859
	M.Sc. Alina Glaub (ab 01.03.2018)	-3945
	M.Sc. Katharina Jentsch (ab 15.05.2018)	-5570
	M.Sc. Michaela Kreitmeier	-3945
	M.Sc. Christopher Maier	-3859
	M.Sc. Annemarie Siebert	-3859
	M.Sc. Anika Wahl (ab 15.11.2018)	-3945
	M.Sc. Stefan Wichmann	-5091
	M.Sc. Sonja Vanderhaeghen	-5091
	M.Sc. Barbara Zehentner	-3945
Technische Mitarbeiter:	Celler Inge	-5563
	Angela Felsl	-2191
	Charon Fuhrmann	-5098
	Angela Kempe (Teilzeit)	-5566
	Lisa Rieder	-5098
	Patrick Schiwek	-5566
	Romy Wecko (Teilzeit)	-3504

Einführung

In der Forschung arbeiten wir am Schnittpunkt zwischen Lebensmittel und Ernährung. Einerseits stehen Biodiversität und Identifikation von lebensmittelrelevanten Mikroorganismen im Mittelpunkt. Andererseits liegt ein wesentlicher Schwerpunkt des Lehrstuhls auf dem Studium neuartiger (überlappender) Gene in dem durch Lebensmittel übertragenen Krankheitserreger *Escherichia coli* EHEC.

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.

Forschung

Arbeitsgruppe: Hygiene und Mikrobiota von Rohmilch und Milchprodukten

Gruppenleiter: Etienne Doll, Genia Lücking

Der Fokus der Forschungsgruppe liegt im Bereich der Mikrobiomanalyse und Hygiene von Milch- und Milchprodukten Von Interesse sind insbesondere die Erfassung der Biodiversität sowie die Analyse von Populationsveränderungen oder Stabilitäten innerhalb der Mikrobiota. Hier konzentrieren wir uns nicht nur auf die Bestimmung der Speziesebene, sondern typisieren auch unterhalb der Artgrenze. Des Weiteren stehen problematische Keimgruppen wie Pseudomonaden und thermophile Sporenbildner, die sich durch ein hohes Verderbspotential sowie Kälte- bzw. Hitzetoleranz oder großem Enzymbildungsvermögen auszeichnen, im Zentrum der Arbeiten.

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

Vergleichende genetische und physiologische Analyse von *Anoxybacillus flavithermus* Stämmen aus Rohmilch und Milchpulverproduktionsanlagen

Comparative genomic and physiologic analysis of Anoxybacillus flavithermus strains isolated from raw milk and milk powder production plants

Anna Dettling

Der Gehalt an thermophilen Sporenbildnern stellt ein wichtiges Qualitätsmerkmal für den Export von Milchpulvern dar, wodurch strenge Grenzwerte von bis zu < 300 Sporen/g festgelegt sind. Die Mikroflora von Milchpulver ist allerdings nicht durch deren Eintrag aus der Rohmilch bedingt, da die Hauptkeime in Pulvern (u.a. *Anoxybacillus flavithermus*) dort nur äußerst selten vorkommen. Vielmehr kommt es während der Konzentratherstellung zu einer Veränderung und vor allem *A. flavithermus* kann zu hohen Keimzahlen wachsen und verdrängt die durch *Bacillus licheniformis* geprägte Rohmilchflora. Interessanterweise konnten identische Stämme der Spezies *A. flavithermus* aus verschiedenen Pulverchargen eines Herstellers über einen Zeitraum von mehreren Monaten isoliert werden. Demnach werden bestimmte Stämme bei den angewandten Reinigungs- und Desinfektionsmaßnahmen nur unzureichend entfernt, sodass sie in der Anlage persistieren und in folgende Produktionschargen gelangen können.

Durch die vergleichende Analyse von Stämmen aus Rohmilch und Milchpulver sollen mögliche Adaptionen von Mikroorganismen an die Bedingungen in der Produktionsanlage (v.a. in der Konzentratherstellung) sowie Reinigung und Desinfektion, untersucht werden, die es ihnen ermöglichen, zu überleben und über längere Zeit zu persistieren. Das Verständnis möglicher Selektions- und Adaptionsprozesse wird helfen, ein Ansiedeln thermophiler Sporenbildner in Anlagen zu verhindern und langfristig qualitativ hochwertiges Milchpulver mit einem geringen Sporenanteil zu produzieren.

Zur physiologischen Charakterisierung wurde das Vermögen der Biofilmbildung auf Edelstahloberflächen, die Sensitivität thermophiler Sporen gegenüber einer Laugenbehandlung ähnlich der Anlagenreinigung und gegenüber einer Erhitzung bei 95°C, sowie das Sporulations- und Wachstumsverhalten analysiert. Deutliche Unterschiede waren im Sporulationsverhalten bei Kultivierung in Milch erkennbar, denn Milchpulverisolate zeigten einen signifikant höheren Sporenanteil im Vergleich zu den Rohmilchisolaten (siehe Abb. 1).

Weiterhin bildeten alle 24 Stämme einen Biofilm auf Edelstahl, sodass die Spezies *A. flavithermus* eindeutig als Biofilm bildend eingruppiert werden kann. Gravierende Unterschiede zwischen Isolaten aus Rohmilch und Pulver bestanden allerdings nicht. Die Sensitivität der Sporen der hier untersuchten Rohmilchstämme gegenüber einer Laugenbehandlung (1 % NaOH) war relativ breit gestreut, wobei einige Stämme deutlich empfindlicher reagierten als die getesteten Milchpulverstämme. Deutlicher war der Unterschied bei Betrachtung der Hitzesensitivität (siehe Abb. 2). Sporen der Milchpulvergruppe wurden bei einer Erhitzung auf 95 °C weniger stark inaktiviert, sodass sie eine erhöhte Überlebensmöglichkeit besitzen.

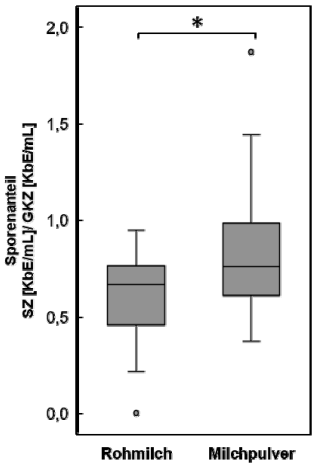


Abb.1: Anteil thermophiler Sporen (SZ) an der Gesamtkeimzahl (GKZ) von 23 *A. flavithermus* Stämmen (12 aus Rohmilch, 11 aus Milchpulver) nach Kultivierung für 48 h in Milch (1,5 % Fett). Der Anteil ist signifikant verschieden (*, p<0,05).

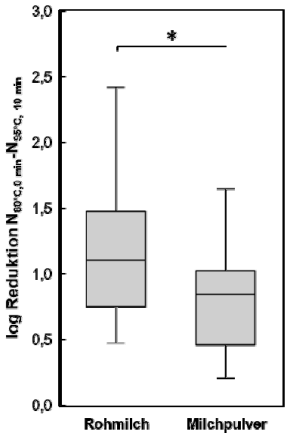


Abb.2: Log-Reduktion nach Erhitzung thermophiler Sporen bei 95 °C für 10 min. Die Analyse enthält 12 Rohmilch- und 11 Milchpulverstämme. Die Reduktion ist signifikant (*, p<0,05) verschieden.

Ein weiterer sehr ausgeprägter Unterschied war für das Wachstumsverhalten zu beobachten. Milchpulverstämme vermehren sich unter optimalen Bedingungen deutlich schneller und zu höheren Zell- und Sporenzahlen (siehe Abb. 3). Dies wurde für zwei unterschiedlich lange Kultivierungszeiten nachgewiesen.

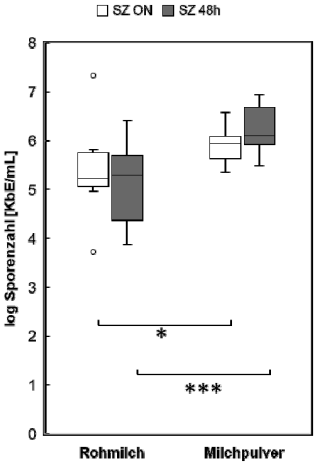


Abb.3: Thermophile Sporenzahl (SZ) der Übernachtkultur (ON) im Vergleich zu einer 48 h Kultur (48 h) von 12 Rohmilch- und 11 Pulverstämmen. Die Sporenzahlen sind signifikant (*, p<0,05) bzw. hoch signifikant (***, p<0,001) verschieden.

In den Analysen konnte klar gezeigt werden, dass es Unterschiede von *A. flavithermus* Stämmen aus Rohmilch und Milchpulver für einige wichtige physiologische Merkmale (z.B. Sensitivität gegenüber Hitze) gibt. Für andere Merkmale (z.B. Überleben der Sporen in Laugenlösung) konnte zwar kein statistisch signifikanter Unterschied belegt werden, doch ist ein Trend deutlich zu beobachten. In Summe finden sich bei den Isolaten aus Milchpulver Adaptionen, die zu einer schnelleren Vermehrung mit einem höheren Anteil an Sporen führen, die zudem eine höhere Resistenz gegenüber Hitze und teilweise Lauge aufweisen. Alle Faktoren zusammen genommen führen dazu, dass persistierende Sporenbildner in einer neu gestarteten Produktion schnell hochwachsen, viele Sporen bilden und schlecht durch Reinigungsmaßnahmen eliminiert werden.

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

Analyse der Rohmilchmikrobiota und deren hofseitigen Einflussfaktoren zur Determinierung neuer Qualitätskriterien

Analysis of raw milk microbiota and its farm-specific influencing factors for determination of new quality parameters

Annemarie Siebert, Katharina Jentsch

Der kontinuierlich steigende Export von Milchprodukten in Nicht-EU-Länder wie China erfordert deutlich längere Haltbarkeiten und somit höhere Qualitätsanforderungen, um die langen Transportzeiten zu kompensieren. Dies kann nur durch eine einwandfreie Qualität der Rohmilch gewährleistet werden. Jedoch fehlen bisher genaue Erkenntnisse zur Zusammensetzung der Rohmilchmikrobiota sowie zu deren Eintragsrouten und Einflussfaktoren. Auch mangelt es an schnellen und präzisen Nachweismethoden zur Erfassung potentieller Verderbsorganismen. Die bisher verwendeten Kriterien wie Gesamtkeimzahl oder somatische Zellzahl lassen keine Rückschlüsse auf das Vorhandensein einzelner problematischer Keimgruppen zu und sind deshalb relativ grobe Parameter zur Beurteilung der Milchqualität. Besonders problematisch für die Stabilität von Dauermilcherzeugnissen sind Peptidasen, die hauptsächlich von Vertretern der Gattung *Pseudomonas* gebildet werden. Sie weisen eine sehr hohe Hitzeresistenz auf und werden durch die UHT-Behandlung nur unzureichend inaktiviert. Im fertigen Produkt können sie insbesondere bei langer und warmer Lagerung zu unerwünschten sensorischen und texturellen Veränderungen führen und die Produkte bereits vor Ablauf des MHDs ungenießbar machen.

Um bessere Einblicke in die Komposition der Rohmilchmikrobiota sowie deren Einflussfaktoren und Eintragsrouten zu bekommen, werden zwei Projekte zu dieser Thematik durchgeführt. Ziel des ersten Projektes ist die Analyse der Zusammensetzung der gesamten Rohmilchmikrobiota mithilfe der Hochdurchsatzsequenzierung (HTS). Hierfür wird mit einer Amplicon-basierten Sequenzierung auf einer Illumina Platform die Mikrobiota von Rohmilchproben unterschiedlicher, deutschlandweit verteilter Höfe analysiert. Zur Determination potentieller Einflussfaktoren wird ein Fragebogen etabliert, mit dem diese Faktoren für jeden einzelnen Hof erfasst werden. Korrelationsanalysen sollen Aufschluss über den Einfluss hofseitiger Faktoren auf das Vorhandensein einzelner bakterieller Gruppen geben, die mit dem Milchverderb assoziiert sind und Hygieneindikatoren darstellen. Auf Basis dieser Daten sollen Handlungsanweisungen zur Verbesserung der mikrobiologischen Rohmilchqualität abgeleitet werden. Der Fokus des zweiten Projektes liegt auf der Analyse hofseitiger Einflussfaktoren auf die *Pseudomonas*-Keimzahl in Rohmilch. Ziel ist deren Senkung und daraus folgend die Reduktion proteolytischer Enzyme und des damit einhergehenden Qualitätsverlustes. Bisher ist nicht bekannt, welche Faktoren maßgeblich zu einer Erhöhung der *Pseudomonas*-Keimzahlen führen. Kritische Punkte für den kältetoleranten Keim stellen sowohl die gekühlte Lagerung, als auch der Primäreintrag auf den Höfen dar. Die per HTS generierten Daten zur Abundanz von *Pseudomonas* in Rohmilchproben von verschiedenen Höfen werden mit den möglichen Einflussfaktoren korreliert. Zur intensiveren Analyse der Eintragsrouten werden anschließend gezielt Proben auf einzelnen Höfen gezogen. Um den Einfluss der Stapeldauer und des Milchtransports durch den Sammelwagen zu erfassen, werden zudem Sammeltouren vollständig beprobt.

Da für die Isolation bakterieller DNA aus Rohmilch noch kein angepasstes Vorgehen existiert, ist im Rahmen dieses Projekts zunächst das Ziel, die DNA-Extraktion zu optimieren, damit ausreichend DNA zur Erstellung von Sequenzierbibliotheken (library-PCR) für die anschließende Sequenzierung isoliert werden kann. Rohmilch ist eine komplexe Probenmatrix

und stellt hohe Anforderungen an die DNA-Extraktion. Die bakterielle Belastung der zu untersuchenden Proben ist mit einer durchschnittlichen Gesamtkeimzahl von 10^3-10^5 KbE/ml vergleichsweise gering. Zudem enthält Rohmilch einen hohen Anteil eukaryotischer DNA, die aus den Immunzellen der Kuh stammt und den größten Anteil der Gesamt-DNA nach der Extraktion ausmacht (Abb. 1).

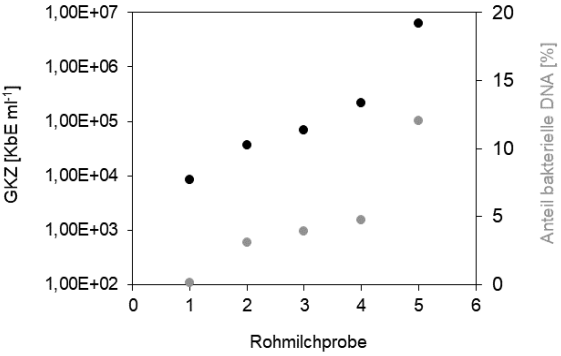


Abb. 1: Aerobe bakterielle Gesamtkeimzahl (GKZ, schwarz) mit dem entsprechenden prozentualen Anteil bakterieller DNA (grau) an der Gesamt-DNA nach der Extraktion aus 5 Rohmilchproben.

Zur Optimierung der Isolation von bakterieller DNA aus Rohmilch wurde der Prozess in unterschiedliche Abschnitte gegliedert und angepasst. Aufgrund der geringen Keimzahl ist die vollständige Lyse der vorhandenen Bakterienzellen von enormer Bedeutung. Unter Verwendung verschiedener DNA-Extraktionskits, die auf enzymatischer und/oder mechanischer Lyse basieren, wurde der Aufschluss bakterieller Zellen aus Rohmilch evaluiert. Die DNA-Ausbeute nach der library-PCR zeigte, dass eine enzymatische Lyse nicht für einen vollständigen Aufschluss der Bakterien ausreicht. Im Vergleich dazu führte die Anwendung einer mechanischen Lyse *via* Bead-Beating zu einer höheren DNA-Ausbeute. Die Kombination von enzymatischer und mechanischer Lyse erwies sich jedoch für die Isolation bakterieller DNA als effizienteste Methode (Abb. 2).

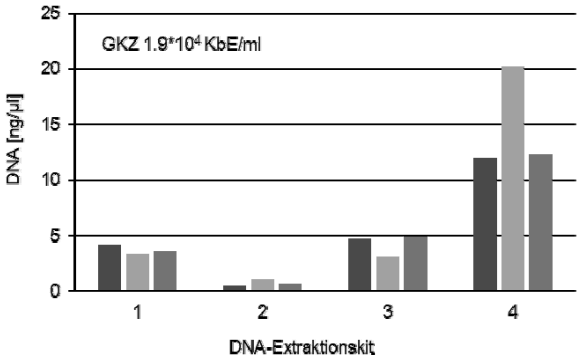


Abb. 2: DNA-Gehalt der Sequenzierbibliotheken aus einer Rohmilchprobe (Triplikate) mit einer Gesamtkeimzahl von $1.9*10^4$ KbE/ml, deren DNA mit unterschiedlichen Kits isoliert wurde. Kit 1+2: Enzymatische Lyse; Kit 3: Mechanische Lyse; Kit 4: Enzymatische + Mechanische Lyse.

Bestätigt wurde dies mit den Sequenzierdaten, die zeigten, dass die mechanische Lyse mithilfe von Beads unerlässlich ist, um verwertbare Daten zu erhalten.

Sequenzierbibliotheken für Mikrobiomanalysen werden mittels mehrstufiger PCR (library-PCR) aus der extrahierten DNA hergestellt. Um dabei den Eintrag von Artefakten möglichst gering zu halten, wurde der Einfluss der Zyklenzahl im 1. Schritt der library-PCR auf die Biodiversität der Rohmilchproben sowie die Reproduzierbarkeit der Daten untersucht. In den Ergebnissen der Sequenzierung konnte mit zunehmender Zyklenzahl in der library-PCR (15, 20, 25, 30 und 35) eine Veränderung in der mikrobiellen Zusammensetzung der Rohmilch beobachtet werden (Abbildung 3). Dabei begünstigten hohe Zyklenzahlen in der PCR die Überrepräsentation abundanter Keimgruppen, was folglich zur Abnahme der erfassten Biodiversität führte. Allerdings war bei der Erhöhung von 15 auf 20 Zyklen keine signifikante Veränderung der Biodiversität festzustellen, weshalb sich aufgrund höherer DNA-Ausbeuten die Durchführung von 20 Zyklen im 1. Schritt der library-PCR als geeignet herausstellte.

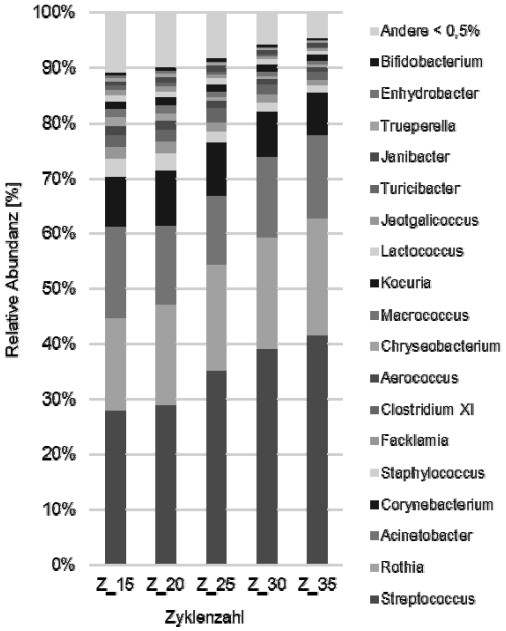


Abb. 3: Taxonomische Zusammensetzung der Mikrobiota einer Rohmilchprobe unter Verwendung unterschiedlicher Zyklenzahlen (15, 20, 25, 30 und 35) in der PCR zur Erstellung von Sequenzierbibliotheken.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Optimierung der DNA-Extraktionsmethode sowie die Festlegung der Anzahl der Zyklen im 1. Schritt der library-PCR zur Erstellung von Sequenzierbibliotheken essentielle Bestandteile für die 16S rRNA Sequenzierung von Rohmilchproben sind.

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

Entwicklung eines *Pseudomonas*-spezifischen Multiplex-qPCR Assays zur Risikoabschätzung des Verderbspotentials von Rohmilch durch bakterielle Peptidasen

Development of a Pseudomonas-specific multiplex-qPCR assay for risk assessment of raw milk spoilage due to bacterial peptidases

Christopher Maier

Bakterielle Enzyme wie Peptidasen und Lipasen in Rohmilch können aufgrund ihrer teilweise sehr hohen Hitzeresistenz zum Verderb lang haltbarer Milchprodukte wie z. B. H-Milch führen. Die Analyse der Mikrobiota von 20 verschiedenen Rohmilchen identifizierte *Pseudomonas* als die häufigste Gattung sowie den stärksten Peptidaseproduzenten in kühl gelagerter Rohmilch. Zudem wurde gezeigt, dass sich die psychrotoleranten Arten in ihrer Abundanz und Peptidaseaktivität deutlich unterscheiden (von Neubeck *et al.,* 2015).

Wegen des spezies-spezifischen Potentials Peptidasen zu bilden, ist es nicht möglich einen direkten Zusammenhang zwischen der *Pseudomonas*-Gesamtkeimzahl und der proteolytischen Aktivität herzustellen. Um das Verderbspotential von Milchprodukten dennoch abschätzen zu können, wurde ein Multiplex-qPCR Assay zur Detektion der neun wichtigsten *Pseudomonas* Arten in Rohmilch etabliert. Hierbei wurden Sequenzabschnitte des *aprA*-Gens, welches für die alkaline Metalloprotease ArpA codiert, als Bindestelle für die spezies-spezifischen Sonden ausgewählt. Mit Sonde 1 (*P. proteolytica, P. gessardii, P. meridiana*), Sonde 2 (*P. azotoformans, P. lactis, P. fluorescens*) und Sonde 3 (*P. protegens*) sollen in einem Sondenset hoch proteolytische und mit Sonde 4 (*P. fragi*) und Sonde 5 (*P. lundensis*) in einem zweiten Set mittel bis gering proteolytische Arten nachgewiesen werden. Das zweite Sondenset wurde durch eine allgemeine *Pseudomonas*-Sonde (Sonde 6), welche am *rpoB*-Gen bindet, komplettiert. Alle Primer und Sonden wiesen im Singleplex- sowie Multiplex-PCR Ansatz eine hohe Spezifität und Sensitivität auf. Je höher die Zellzahl der Zielspezies in einer Probe ist, desto mehr der Ziel-DNA liegt vor und desto kleiner fällt der Ct-Wert der qPCR aus. Um von einem Ct-Wert auf die zugrundeliegende Zellzahl rückschließen zu können, bedarf es zunächst einer Korrelation von Ct-Wert und *Pseudomonas*-Zellzahl. Hierfür wurde frische Rohmilch künstlich mit verschieden Zielspezies beimpft und Verdünnungsreihen hergestellt. Aus jeder Probe wurde die DNA isoliert und die Ct-Werte mit dem qPCR-Assay bestimmt, sowie gleichzeitig die Zellzahl auf TS-Agar ermittelt. Durch die Korrelation von Ct-Wert und Zellzahl und die daraus resultierende Regressionsgeradengleichung ist es nun möglich unbekannte Keimzahlen der wichtigsten Pseudomonaden in Rohmilch zu berechnen (Abb.1).

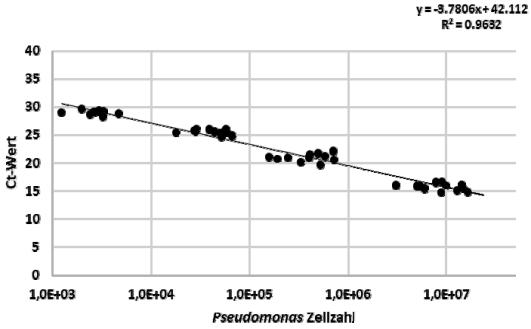


Abb. 1: Korrelation von *Pseudomonas*-Zellzahlen und mittels qPCR gemessenen Ct-Werten von *Pseudomonas*-DNA am Beispiel der Sonde 6. Zellen von insgesamt 27 *Pseudomonas*-Stämmen wurden einzeln in Rohmilch resuspendiert, verdünnt und von ausgewählten Verdünnungsstufen die DNA isoliert. Diese wurde als Template im spezies-spezifischem qPCR Assay eingesetzt und die Ct-Werte ermittelt. Parallel zur DNA-Isolation wurden von denselben Proben die *Pseudomonas*-Keimzahlen mittels Ausplattieren auf TS-Agar bestimmt. Durch die Korrelation von Ct-Wert und Gesamtkeimzahl wurde die Regressionsgeradengleichung bestimmt.

Zur Validierung des qPCR Assays wurde von 14 Rohmilchproben verschiedener Molkereien die *Pseudomonas*-Gesamtkeimzahl auf selektivem CFC-Agar bestimmt. Zum Vergleich wurde die DNA aus denselben Proben isoliert und die *Pseudomonas*-Keimzahl unter Verwendung des qPCR-Assays (Sonde 6) ermittelt. Hierbei zeigte sich, dass die *Pseudomonas*-Zellzahlen beider Methoden nur geringfügig voneinander abwichen (Tabelle 1). Der Assay kann somit in kürzerer Zeit (verglichen mit der Zellzahlzahlbestimmung durch Ausplattieren) eine gleichwertige Aussage über die *Pseudomonas*-Gesamtkeimzahl treffen.

Tabelle 1: Vergleich der Pseudomonas-Gesamtkeimzahlen von 14 industrieller Rohmilchproben, die mittels Ausplattieren und qPCR Assay (Sonde 6) bestimmt wurden.

Probennummer	*Pseudomonas*-Gesamtkeimzahl	
	CFC-Agar	qPCR-Assay (Sonde 6)
1	2.44E+06	5.00E+06
2	2.04E+05	3.86E+05
3	1.02E+05	5.44E+04
4	6.24E+04	2.62E+05
5	5.94E+04	3.90E+03
6	4.92E+04	8.80E+04
7	4.31E+04	5.53E+04
8	4.18E+04	5.80E+04
9	3.77E+04	3.55E+04
10	2.83E+04	6.71E+04
11	1.93E+04	1.30E+03
12	1.92E+04	8.10E+04
13	1.92E+04	1.87E+04
14	1.69E+04	2.25E+04

Neben der *Pseudomonas*-Keimzahl wurden die 14 verschiedenen Rohmilchen auch auf die Präsenz der verschiedenen Zielspezies hin untersucht. Die Spezies-Zusammensetzung der Pseudomonaden-Population aller analysierten Rohmilchproben unterschied sich hierbei stark, wobei Vertreter der stark proteolytischen Spezies *P. proteolytica, P. gessardii und P. meridiana* häufig vertreten waren (Abb. 2). Die Komplexität der Zusammensetzung der Pseudomonadenpopulation in Rohmilch verdeutlicht die Relevanz des etablierten qPCR-Assays.

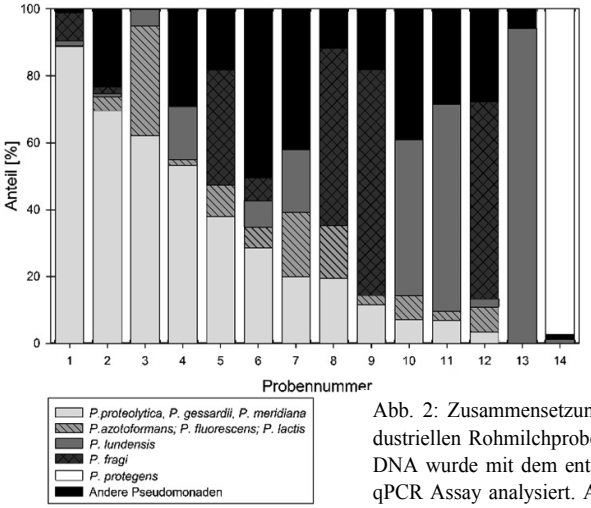


Abb. 2: Zusammensetzung der Pseudomonas-Population in 14 industriellen Rohmilchproben. Die aus den Rohmilchproben isolierte DNA wurde mit dem entwickelten spezies-spezifischen Multiplex-qPCR Assay analysiert. An-hand der Regressionsgeradengleichung wurden aus den erhaltenen Ct-Werten die jeweiligen Zellzahlen errechnet. Die Anteile der jeweiligen Pseudomonaden an der Gesamtpopulation wurden mittels der spezies-spezifischen Sonden (1-5) bestimmt und anteilig von der durch Sonde 6 bestimmten Pseudomonas-Gesamtkeimzahl subtrahiert. Die Anzahl anderer Pseudomonaden geht aus der Differenz der Pseudomonas-Gesamtkeimzahl und der Summe der Keimzahlen der detektierbaren Spezies hervor.

Referenz: von Neubeck, M., Baur, C., Krewinkel, M., Stoeckel, M., Kranz, B., Stressler, T., Fischer, L., Hinrichs, Scherer, S., & Wenning, M. (2015). Biodiversity of refrigerated raw milk microbiota and their enzymatic spoilage potential. *International Journal of Food Microbiology*, *211*, 57–65.

Das Forschungsvorhaben (AiF 18326 N) wird im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)" vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.

Arbeitsgruppe: Neue und überlappende Gene, ihre Regulation und Funktion in pathogenen Bakterien

Gruppenleiter: Siegfried Scherer

Unsere Arbeiten konzentrieren sich auf pathogene *E. coli* (EHEC, AIEC) und zum Vergleich, nicht-pathogene K12 Stämme von *E. coli*, bzw. pathogene *Pseudomonas aeruginosa*. Alle pathogenen Bakterien haben genetische Anpassungen, die es ihnen erlauben im Körper des Menschen an verschiedenesten Stellen zu persistieren, das Immunsystem zu umgehen und Krankheiten zu verursachen. Gleichzeitig kommen diese Stämme an vielen Orten in der Natur vor, in Pflanzen, an Insekten, im Wasser usw. Viele Anpassungsleistungen von diesen Bakterien an die verschiedenen Habitate beruhen auf jeweils ihnen eigenen Genen, doch wo kommen diese Gene her? DNA kann, aufgrund des Triplett-Codes, an einem gegebenen Ort mehr als einem offenen Leseraster tragen. Diese überlappenden offenen Leseraster scheinen eine mögliche Kodierungsreserve für Bakterien darzustellen. Trotzdem sind diese überlappenden Gene aus Bakterien vergleichsweise selten beschrieben worden. Das Projekt widmet sich überlappenden und neuen Genen, die für EHEC und weitere Pathogene wichtig sind, um sich an verschiedene Umwelten anpassen zu können bzw. an deren Evolution.

Identifizierung überlappender Gene in dem Humanpathogen *Pseudomonas aeruginosa*

Identification of overlapping genes in the human pathogen Pseudomonas aeruginosa

Michaela Kreitmeier, Klaus Neuhaus

Der experimentelle Nachweis, dass ein offener (überlappender) Leserahmen für ein funktionales Protein kodiert, stellt nach wie vor eine große Herausforderung dar. Zunächst muss gezeigt werden, dass das potentielle neue Gen in RNA transkribiert wird. Allerdings könnte es sich in diesem Fall auch um eine nicht-kodierende RNA handeln, daher muss auch die Translation oder im Idealfall das Protein direkt nachgewiesen werden.

Eine von Ingolia *et al.* (2009) etablierte Methode zur Genom-weiten Analyse der Translation stellt das sogenannte *Ribosome Profiling* dar. Bei dieser Methode werden ausschließlich die mit Ribosomen bedeckten Bereiche der mRNA (*ribosomal footprints*), die sich im Prozess der Translation befinden, durch einen Verdau mit Ribonukleasen gewonnen und anschließend sequenziert (siehe Abbildung 1). In Kombination mit einer Transkriptomsequenzierung (RNA-seq) kann die Protein-kodierende Natur neuer mRNAs nachgewiesen werden.

Unter Verwendung dieser Methode wurden strangspezifische Transkriptome und Translatome von *Escherichia coli* LF82 erstellt und die Translation für 245 offene Leserahmen, die auf dem Gegenstrang mit bereits annotierten Genen überlappen, bestätigt. Um die ubiquitäre Existenz von überlappenden Genen in anderen bakteriellen Genera verifizieren zu können,

soll die *Ribosome profiling* Methode künftig für das Humanpathogen *Pseudomonas aeruginosa* adaptiert und optimiert werden. Ferner sind Basen-genaue *ribosomal footprints* in der Implementierung, um den Leserahmen für einzelne Gene bestimmen zu können.

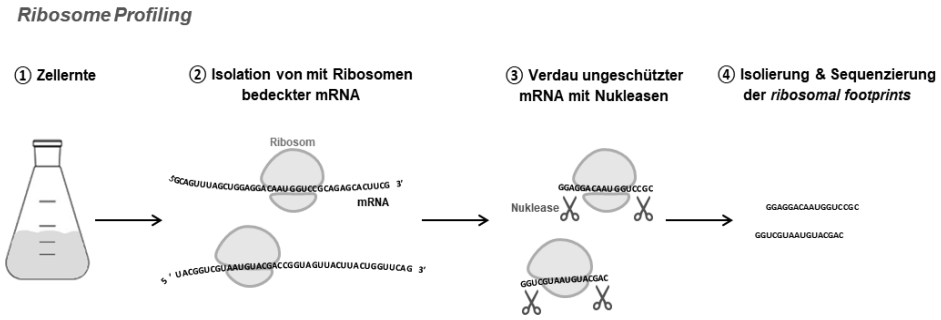


Abb. 1: Schematische Übersicht der Methode des Ribosome Profilings. Nach Zellernte und -lyse werden selektiv mRNA-Ribosomen-Komplexe isoliert und freiliegende mRNA mit Ribonukleasen verdaut. Anschließend werden die generierten mRNA-Fragmente (ribosomal footprints) isoliert und sequenziert.

Die Evolution überlappender Gene

The evolution of overlapping genes

Sonja Vanderhaeghen, Klaus Neuhaus

Bei zwei einander überlappenden Genen besteht eine gegenseitige Abhängigkeit in der Evolution beider Gene. Eine Mutation in einem Gen führt zwangsläufig zu einer Mutation im überlappenden Gen. Ob Mutationen eine Auswirkung auf die Aminosäure-Zusammensetzung und damit auf die zelluläre Funktion haben, hängt von der Position im Codon und vom relativen Leserahmen ab. Diese Abhängigkeit wurde bei funktionalen überlappenden Gen-Paaren auf Sequenzebene phylostratigraphisch untersucht. Die überlappenden Gen-Paare setzen sich zusammen aus einem annotierten, meist hoch konservierten Gen und einem neuen, unbekannten, durch *overprinting* entstandenen Gen. Dies ermöglicht es anhand der Sequenz des konservierten Gens die Evolution des neuen Gens entlang einer Speziesevolution nachzuvollziehen. Die zentrale Frage war, wie der Übergang von einem nicht-intakten bzw. nicht-funktionalen zu einem intakten und somit funktionalen offenen Leserahmen aussieht und ob die Genentstehung ‚plötzlich' oder durch kontinuierliche Evolution stattfindet. Diese Analyse wurde auf 19 in *antisense* überlappende Gene in *E. coli* O157:H7 Stamm EDL933 oder Sakai angewendet, die bereits experimentell charakterisiert worden waren. Es konnte nachgewiesen werden, dass bei manchen neuen Genen die „Unversehrtheit" vom überlappenden, konservierten Gen abhängt, was auf eine kontinuierliche Evolution beider Gene hinweist. Es konnte weiterhin beobachtet werden, dass eine Anpassung in der Sequenzidentität unabhängig davon stattfindet, ob das neue Gen intakt ist (keine internen Stop-codons). Es scheint eher so zu sein, dass neue, intakte Gene entlang des Speziesbaumes immer wieder verloren gehen, was auch aus der Literatur beschrieben wurde. Interessanterweise ist eine voneinander unabhängige Evolution beider Gene bis zu einem gewissen Grad möglich. Da eine im Genom vorgefunden „intakte" Sequenz, d.h. ein ensprechend langer offener Leserahmen der für Protein kodieren könnte, keine Aussage über deren Funktionalität zulässt, ist der nächste Schritt zu überprüfen, ob das neue, überlappende Gen in einem Organismus (z.B. EHEC) in anderen Organismen gefunden wird und ob es weitere bioinformatische und experimentelle Hinweise auf Funktionalität gibt.

Funktionale Charakterisierung von überlappenden Genen in EHEC
Functional characterization of overlapping genes in EHEC
Barbara Zehentner, Klaus Neuhaus

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

Experimentell konnte bereits mittels RNA-Seq und Ribo-Seq die Transkription sowie die Translation von über 200 überlappenden offenen Leserahmen nachgewiesen werden. Proteine der meisten Kandidaten konnten durch einen antikörperbasierten Nachweis visualisiert werden. In Überexpressionsversuchen wurden zahlreiche Kandidaten mit Wachstumsphänotypen gefunden. Einer dieser Kandidaten ist im Detail analysiert worden. Die Besonderheit dieses überlappenden Gens ist zum einen seine außerordentliche Länge von mehr als 200 Aminosäuren, zum anderen seine Lage im Genom gegenüber eines hochkonservierten Membranproteins. Neben Phänotyp und Protein konnten strukturelle Gencharakteristika wie Transkriptionsstart, Promotor und Terminator bioinformatisch prädiktiert sowie experimentell verifiziert werden. Durch diese Ergebnisse wurden experimentelle Fakten geschaffen, die die Funktionalität dieses überlappenden Gens unterstützen.

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Breitenwieser, Franziska, Dr. rer. nat., 25.07.2018, Technische Universität München
„Analyse der bakteriellen Biodiversität von boviner Rohmilch mittels kultureller und kulturunabhängiger Verfahren“

Doll, Etienne, Vallerie, Dr. rer. nat., 17.01.2018, Technische Universität München
„Extended-Shelf-Life Milch – Populationsdynamik während der Herstellung und Kühllagerung“

Hellinckx, Jessica Athina, Dr. rer. nat., 18.01.2018, Technische Universität München
„Analyse des Repressors IoIR im *myo*-Inositol-Stoffwechsel von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium“

Huptas, Christopher, Dr. rer. nat., 18.10.2018, Technische Universität München
„Speziesabgrenzung innerhalb der Gattung *Pseudomonas* und *Bacillus cereus s.I.* auf der Basis von Genomsequenzen“

Hücker, Sarah Maria Margret, Dr. rer. nat., 08.02.2018, Technische Universität München
„RIBOseq-based discovery of non-annotated genes in *Escherichia coli* O157:H7 Sakei and their functional characterization“

Schardt, Jakob Johannes, Dr. rer. nat., 20.06.2018, Technische Universität München
„Characterization of Listeria sensu stricto specific genes involved in colonization of the gastrointestinal tract by Listeria monocytogenes“

Schmidt, Verena, Dr. rer. nat., 21.11.2018, Technische Universität München
„Microbiota of raw and microfiltered ESL milk“

Masterarbeiten

Jentsch, Katharina: „Entwicklung eines Multiplex-qPCR-Assays zur Quanitfizierung von *Pseudomonas*-Spezies in Rohmilch“

Nickel, Patricia: „*Anoxybacillus flavithermus* in Rohmilch und Milchpulver - Eine vergleichende Analyse des dominierenden thermophilen Sporenbildners in Milchpulver“

Bachelorarbeiten

Engler, Sonja: „Intrazelluläre Dynamiken der Transkription und Translation während heterologer Proteinproduktion in *Pseudomonas putida*“

Klinger, Carman: „Persistenz thermophiler Sporenbildner in Milchpulverprodutkionsanlagen und ihr Überleben in Reinigungslösung“

Gibisch, Jessica: „Wachstum, Sporulation und Biodiversität thermophiler Sporenbildner in Milch - am Beispiel von *A.flavithermus und G. stearothermophilus*“

Urban, Marlene: „Analyse der Peptidaseaktivität und aprA-Transkription von Pseudomonas spp. in Rohmilch“

Naumann, Annika M: „Methodenevaluierung für die Sequenzierung der vollständigen 16S rRNA-Gene aus Bakterien“

Sewald, Zeno: „The gut microbiome after fibre-enriched intervention“

Klinger, Carman: „Persistenz thermophiler Sporenbildner in Milchpulverprodutkionsanlagen und ihr Überleben in Reinigungslösung“

Veröffentlichungen

Ardern, Zachary (2018) Dysfunction, Disease, and the Limits of Selection. Biological Theory, 13:4-9. doi: 10.1007/13752-017-0288-0

Bader M, Dunkel A, Wenning M, Kohler B, Medard G, del Castillo E, Gholami A, Küster B, Scherer S, Hofmann T (2018) Dynamic Proteome Alteration and Functional Modulation of Human Saliva Induced by Dietary Chemosensory Stimuli. Journal of Agricultural and Food Chemistry 66:5621-5634 doi: 10.1021/acs.jafc.8b2092

Bossert M, Kracht D, Scherer S, Landstorfer R, Neuhaus K (2018) Improving the reliability of RNA-seq: Approaching single-cell transcriptomics to explore individuality in bacteria. In: Martin Bossert: Information- and Communication Theory in Molecular Biology, Springer, pp 181-198. doi: 10.1007/978-3-319-54729-9_7

Dauner M, Eichinger A, Lücking G, Scherer S, Skerra A (2018) Reprogramming Human Siderocalin to Neutralize Petrobactin, the Essential Iron Scavenger of Anthrax Bacillus. Angewandte Chemie 57:14619-14623, doi: 10.1002/angie.201807442

Franz CMA, Wenning M, Bockelmann W, Neve H.; Heller KJ, (2018) Lactobacillus – Mikrobe des Jahres 2018, Unser täglich Brot: Helfer in der Lebensmittelfermentation. BIOspektrum 1/18:27-30

Hücker, S.M., Vanderhaeghen, S., Abellan-Schneyer, I, Wecko, R., Simon, S., Scherer, S., Neuhaus K (2018) A novel short L-arginine responsive protein-coding gene *(laoB)* anti-parallel overlapping to a CadC-like transcriptional regulator in *Escherichia coli* O157:H7 Sakai originated by overprinting. Evolutionary Biology 18:21. doi: 10.1186/s12862-018-1134-0

Hücker, S.M, Vanderhaeghen S, Abellan-Schneyder, I, Scherer S, Neuhaus K (2018) The Novel Anaerobiosis-Responsive Overlapping Gene *ano* Is Overlapping Antisense to the Annotated Gene ECs2385 of *Escherichia coli* O157:H7 Sakai. Frontiers in Microbiology Vol. 9, 931, doi: 10.3389/fmicb.2018.00931

Koberg S, Gieschler S, Brinks E, Wenning M, Neve H, Franz CM.A.P. (2018) Genome sequence of the novel virulent bacteriophage PMBT14 with lytic activity against *Pseudomonas fluorescens* DSM 50090^{R} Archives of Virology Vol.163, 9:2575-2577. doi.org/10.1007/s00705-018-3882-y

Kröger C, Rothhardt JE, Brokatzky D, Felsl A, Kary SC, Heermann R, Fuch TM (2018) The small RNA RssR regulates *myo*-inositol degradation by *Salmonella enterica*
Scientific Reports 8:17739, Doi:10.1038/s41598-018-35784-8

Oguntoyinbo FA, Cnockaert M, Cho GS, Kabisch J, Neve H, Boeckelmann W, Wenning M, Franz CMAP, Vandamme P (2018) *Halomonas nigrificans* sp. nov., isolated from cheese. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 68:371-376. doi: 10.1099/ijsem.0.002515

Scherer S, Neuhaus K, Bossert M, Mir K, Keim D, Simon S (2018) Finding new overlapping genes and their theory (FOG Theory). In: Martin Bossert: Information- and Communication Theory in Molecular Biology, Springer, pp 137-159. doi: 10.1007/978-3-319-54729-9_5

Springer K, Reuter S, Knüpfer M, Schmauder L, Sänger P-A, Felsl A, Fuchs TM (2018) Activity of a Holin-Endolysin System in the Insecticidal Pathogenicity Island of *Yersinia enterocolitica.* Journal of Bacteriology 2018 Jul 25;200(16). pii: e00180-18. doi: 10.1128/JB.00180-18

Springer K, Sänger P-A, Moritz C, Felsl A, Rattei T, Fuchs TM (2018) Insecticidal Toxicity of *Yersinia frederiksenii* Involves the Novel Enterotoxin YacT. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 8:392. doi: 10.3389/fcimb.2018.00392

Wedel C, Wunsch A, Wenning M, Dettling A, Kayser K-H, Lehner W-D, Hinrichs J (2018) Thermal treatment of skim milk concentrates in a novel shear-heating device: Reduction of thermophilic spores and physical properties. Food Research International 107:19-26. doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.005

Vanderhaeghen S, Zehentner B , Scherer S, Neuhaus K, Ardern Z (2018) The novel EHEC gene *asa* overlaps the TEGT transporter gene in antisense and is regulated by NaCl and growth phase
Scientific Reports 8:17875, Doi:10.1038/s41598-018-35756-y

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik und Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung

Adresse

Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik
TU München-Weihenstephan
Weihenstephaner Steig 22
D-85354 Freising

Telefon: 0 81 61-71-3126
Telefax: 0 81 61-491-111

Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung
Giggenhauser Str. 35
D- 85354 Freising

Telefon: 0 81 61/491-124
Telefax: 0 81 61/491-222
Internet: www.ivv.fraunhofer.de
E-Mail: info@ivv.fraunhofer.de

Personal

Leitung: Prof. Dr. Horst-Christian Langowski
E-Mail: h-c.langowski@tum.de,
horst-christian.langowski@ivv.fraunhofer.de

Forschung

Nutzung des Sauerstoffhaushalts von handelsüblich verpackter UHT-Milch für ein einfaches Haltbarkeitsmodell

Matthias Reinelt[2], Nadine Böhner[1,2], Andreas Haas[2,3]
[1]TUM, Lehrstuhl für Lebensmittelverpackungstechnik, [2]Fraunhofer IVV,
[3]Kompetenzzentrum für angewandte Forschung in der Lebensmittel- und Verpackungstechnologie KLEVERTEC, Kempten

1 Motivation/Einleitung

Die Milchindustrie reagiert auf Anforderungen aus dem Handel und Präferenzen der Endkunden mit der Entwicklung neuer Verpackungssysteme. Wegen ihrer besonders langen Haltbarkeit sind Entwicklungen rund um UHT-Milch, bedingt durch langwierige Lagerversuche, besonders herausfordernd. Es liegt daher nahe, die Mechanismen beim Qualitätsabbau quantita-

tiv zu beschreiben, um genauere Vorhersagen der Mindesthaltbarkeit zu treffen und gegebenenfalls verkürzte Lagerversuche konzipieren zu können. Die grundlegenden Mechanismen des Qualitätsabbaus von UHT-Milch sind zwar seit langem bekannt, jedoch fehlen spezifische Daten über die Variabilität von Produktchargen und Verpackungssystemen in der industriellen Praxis und über deren Zeitverhalten. Durch die UHT-Erhitzung ist die Milch über mehrere Monate bei Raumtemperatur haltbar [Renner]. Die Haltbarkeit von UHT-Milch wird ohne mikrobiellen Einfluss vor allem durch Oxidationsprozesse begrenzt, deren Rate wiederum durch die Eigenschaften der Verpackung bestimmt wird. Da die Oxidation der Milch wiederum die Permeation durch Veränderung der Kopfraumatmosphäre und der Sauerstoffkonzentration in der Milch beeinflusst, entsteht so ein komplexes dynamisches Wechselspiel der Prozesse. Im Hinblick auf Verpackungsentwicklung und -optimierung für eine möglichst lange Haltbarkeit entstehen so erhebliche Schwierigkeiten bei der Interpretation von Lagertests. Einfache Differentialgleichungssysteme können mathematisch diese Zusammenhänge abbilden. Um die Haltbarkeit von UHT-Milch in handelsüblichen Verpackungssystemen unter üblichen Lagerbedingungen besser zu verstehen, wurden mit marktverfügbarer UHT-Milch umfangreiche Lagertests an insgesamt 1600 Packungen durchgeführt. Es wurden regelmäßig verschiedene relevante Parameter des Systems bestimmt, wie Sauerstoff- und Fettgehalt. Da die Haltbarkeit im Sinne einer Qualitätsgrenze jedoch typischerweise durch sensorische Bewertung festgelegt wird, wurde während der Lagertests zusätzlich der ranzige Geruchs- und Geschmackseindruck der Milch durch ein geschultes Sensorikpanel bewertet. Da dieser Geschmackseindruck bekanntermaßen vor allem durch die Oxidation von ungesättigten Fettsäuren entsteht, kann nun ein Zusammenhang zwischen dem Sauerstoffgehalt in der Milch, der Sauerstoffpermeabilität der Verpackung und der Haltbarkeit hergestellt werden. Die Ergebnisse wurden mit einem kinetischen Modell verglichen, das einen vereinfachten Autoxidations-Reaktionsmechanismus mit der Permeation durch die Verpackung koppelt.

2 Methoden

Probenmaterial und Lagerung

Es wurde UHT Milch von 2 verschiedenen Herstellern in 2 unterschiedlichen Fettstufen (1,5 % und 3,5 % Fett) untersucht. Dazu wurden die handelsüblichen 1 Liter Aluminiumfolien-Verbundkartons direkt vom Hersteller bezogen und je Hersteller und Fettstufe 400 Verpackungen à 1 Liter bei 20 °C eingelagert. Über einen Zeitraum von 40 Wochen wurden alle 7 Tage je 3 Packungen untersucht. Damit entspricht jeder Messpunkt der unten dargestellten Ergebnisse des Lagertests dem Mittelwert von 3 Proben.

Es wurden folgende Qualitätsparameter gemessen:

Gelöster Sauerstoff

Der gelöste Sauerstoff in der UHT-Milch wurde mithilfe eines Microx 4 Trace (PreSens Precision GmbH, Deutschland) unter Verwendung eines mikroinvasiven Sensors PST 7 (Messbereich: 0 - 200 hPa Partialdruckäquivalent Sauerstoff) gemessen. Das Messprinzip beruht auf dem Effekt der dynamischen Lumineszenz-Löschung durch Anwesenheit von Sauerstoff. Dabei wird Licht mit einer bestimmten Wellenlänge in definierten Intervallen vom Messgerät ausgegeben und durch eine Lichtleitfaser auf einen Messdot mit einem Lumineszenzfarbstoff

geleitet. Durch das Licht wird der Farbstoff angeregt und gibt in Abhängigkeit vom Sauerstoffgehalt ein Lumineszenzsignal zurück, welches das Messgerät mit dem Sauerstoffpartialdruck korreliert [Presens]. Der Messdot mit dem Fluoreszenzfarbstoff ist an einer Lichtleitfaser im Inneren einer Kanüle fixiert. Mithilfe der Kanüle kann durch ein Septum in die Verpackung eingestochen werden, anschließend der anhaftende Messdot ausgefahren und der gelöste Sauerstoffgehalt in der wässrigen Phase der Milch gemessen werden. Das Messsystem wird zu Beginn jedes Messtages über zwei Punkte linear kalibriert (Kalibrationspunkt 1: Wasser, versetzt mit 2 mg/L Natriumsulfit, daher sauerstofffrei, Kalibrationspunkt 2: 200 hPa O_2 aus synthetischer Luft im Gleichgewicht mit Wasser)

Kopfraumsauerstoff

Das Kopfraumvolumen ist für die Berechnung des verfügbaren Sauerstoffs im System, der für Oxidationsreaktionen zur Verfügung steht, eine wichtige Größe und wurde durch Auslitern bestimmt. Unter der Annahme, dass der Kopfraumsauerstoff und der gelöste Sauerstoff im Gleichgewicht stehen, kann über die gemessene Konzentration des gelösten Sauerstoffs und das Kopfraumvolumen die gesamte Sauerstoffmenge in der Verpackung berechnet werden. Diese Annahme ist insofern gerechtfertigt, als bei UHT-Milch als Flüssigkeit die diffusive / konvektive Durchmischung und Einstellung eines Lösungs-gleichgewichts schnell geschieht im Vergleich zur Zeitskala der betrachteten Haltbarkeit von mehreren Monaten. Durch gleichzeitige Messungen des Kopfraumsauerstoffs und der Konzentration des gelösten Sauerstoffs in der Milch konnte diese Annahme auch experimentell bestätigt werden. Als Sauerstofflöslichkeit der Milch bei Raumtemperatur unter normaler Atmosphäre bei 1 bar Gesamtdruck wurden 8 mg/L ermittelt.

Fettgehalt

Der Fettgehalt der Milch wird mittels FT-IR-Spektroskopie und chemometrischer Auswertung mit einem MilkoScan FT1 von Foss ermittelt.

Sensorische Bewertung

Die sensorische Analyse sollte zeigen, welche geruchlichen und geschmacklichen Fehlaromen in der Milch während der Lagerung gebildet wurden. Dazu wurden Untersuchungen mit einem trainierten Panel parallel zu jeder analytischen Untersuchung über die sensorischen Eigenschaften der Milch durchgeführt. Dabei wurde die Intensität des ranzigen Geruchs und Geschmacks bewertet. Zusätzlich wurden die geschmacklichen Attribute Koch- und Lichtgeschmack, süß, bitter und sauer abgefragt. Die Teilnehmer beurteilten die geruchlichen und geschmacklichen Eigenschaften mit einer Intensität von 9 (nicht wahrnehmbar) bis 1 (sehr intensiv).

Sauerstoffpermeation

Die Sauerstoff-Durchlässigkeit der Verpackungen wurde experimentell am Deckelteil ermittelt. Dazu wurden die Deckelbereiche aus den Verpackungen zusammen mit einem überstehenden Bereich aus Aluminiumfolien-Kartonverbund herausgeschnitten und mit Epoxidharz auf eine metallische Interfaceplatte geklebt. Die Durchlässigkeit wurde an MOCON OXTRAN Geräten isostatisch im Trägergasverfahren bei 23 °C bestimmt. Die Messwerte waren deutlich

geringer als erwartet bzw. lagen unterhalb der Messgrenze. Es kann deshalb weiterhin davon ausgegangen werden, dass ein Großteil der Sauerstoffpermeation nicht über den Deckelverschluss, sondern über andere Teile des Verpackungs-systems stattfindet. Der typische Bereich der Sauerstoff-Transmissionsrate (OTR) von Aluminium-Verbundkartons liegt zwischen 0.001-0.1 cm^3(STP)/Pck/d/bar [Müller]. Für die Simulationen wurde eine mittlere Sauerstofftransmissionsrate von konstant 0.05 cm^3(STP)/Pck/d/bar verwendet. Aus den unten dargestellten Messungen des Sauerstoffgehalts der Einzelpackungen lässt sich auf erhebliche individuelle Abweichungen schließen, die im Projektverlauf weiter untersucht werden.

Modellentwicklung

Die Entwicklung von ranzigem Geschmack in UHT-Milch in lichtdichten Verpackungen beruht auf einem Autoxidationsprozess [Day]. Bei diesem werden im fetthaltigen Lebensmittel ungesättigte Fettsäuren zu kürzerkettigen Aldehyden und Ketonen umgesetzt, welche u.U. zu Säuren weiteroxidieren können. Zwischenstufen dieser Reaktionen sind Hydroperoxide. Im Kern dieser Reaktion stehen jedoch freie Radikale, die die Reaktion sowohl auslösen als auch durch einen Vervielfältigungsschritt immer weiter beschleunigen. Dieser exponentielle Anstieg der Reaktionsgeschwindigkeit führt zu der oft beobachteten Initialisierungsphase („lagtime“) beim Auftreten von Ranzidität. Das Reaktionsschema mit vielen Zwischenschritten ist bereits sehr gut untersucht (Abb. 1), jedoch stehen die meisten Reaktionskonstanten für UHT-Milch aus der industriellen Produktion nicht zur Verfügung. Nach der radikalindizierten Oxidation einer Doppelbindung „RH“ und Spaltung der ungesättigten Fettsäure (siehe Schritt „Kettenwachstum“ in Abb. 1), findet die Vermehrung der Radikale durch die Spaltung des reaktiven Hydroperoxids statt („Kettenverzweigung“). Die Reaktion wird terminiert durch die Reaktion von zwei Radikalen zu wieder stabilen Produkten („Kettenabbruch“).

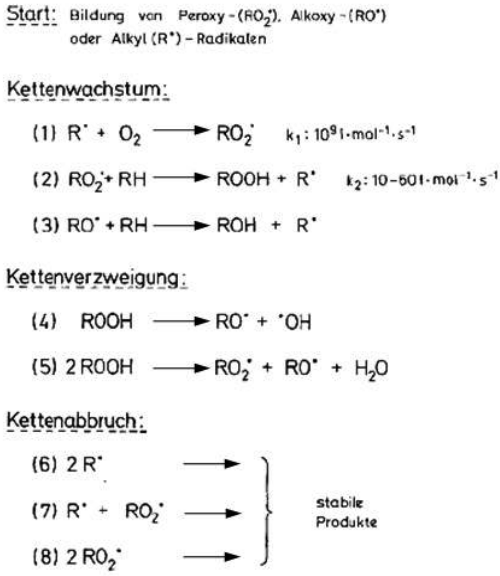


Abb. 1: Das allgemeine Reaktionsschema der radikalischen Autoxidation aus [Belitz] wurde als Grundlage verwendet für die radikalische Autoxidation von ungesättigten Fettsäuren in UHT-Milch. „RH“ entspricht in diesem Kontext der Doppelbindung der Fettsäuren.

Um die Kinetik der Autoxidation im Sinne einer Haltbarkeitsprognose modellieren zu können, muss ein möglichst einfaches Reaktionsschema identifiziert werden, welches dennoch die wichtigsten, d.h. limitierenden Bestandteile enthält und das Gesamtverhalten genau genug abbildet. Im Gegensatz zu reversiblen Gleichgewichtsreaktionen können mehrstufige irreversible Prozesse in guter Näherung als eine einstufige Netto-Reaktionsgleichung zusammengefasst werden, wenn sie durch äußere Einflüsse (z.B. Sauerstoffpermeation) oder einen langsamsten Reaktionsschritt limitiert werden. Diese Vereinfachung wurde auf die Autoxidations-Reaktion angewendet, wobei aufsummiert wurde, welche Edukte dem System zugeführt werden und welche Produkte am Ende des Reaktionsschemas übrig bleiben. Die terminierenden Reaktionen (Kettenabbruch) werden als eine Reaktion erster Ordnung angesetzt, welche nur von der Konzentration freier Radikale abhängt. Eventuelle antioxidative Reaktionen der Lebensmittelmatrix würden in diesem Modell als Konkurrenzreaktion parallel zur Terminierungsreaktion ablaufen oder in die Kinetik der Terminierung durch eine höhere Reaktionskonstante k_2 integriert werden.

Die resultierenden globalen chemischen Reaktionsgleichungen des Modells sind damit:

$$FS + O_2 + R^* \xrightarrow{k1} 3\,R^* + \text{"Ranzidität"} \quad (1)$$

$$R^* \xrightarrow{k2} stabile\ Produkte \quad (2)$$

Reaktion 1 ist formal dritter Ordnung, die Reaktionskonstante k_1 hat die SI-Einheit [$m^6/mol^2/s$]. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist damit abhängig von der Konzentration an Radikalen R^*, Sauerstoff O_2 und verbleibenden Doppelbindungen in ungesättigten Fettsäuren *FS*. Bei jeder vollständigen Hydrolyse einer freien Fettsäure an einer Doppelbindung werden zwei zusätzliche Radikale durch die Spaltung eines Hydroperoxids (siehe Abb. 1) gebildet.

Die Reaktionsrate von Reaktion 1 bestimmt weiterhin, wieviel Abbauprodukte entstehen, welche nachfolgend den ranzigen Geschmackseindruck im Lebensmittel entstehen lassen. Dies kann stark vereinfacht über eine Proportionalitätskonstante im Modell abgebildet werden, unter der Annahme, dass nachfolgende Abbau-Schritte nur zu kurzen Zeitverzögerungen führen. Da die Haltbarkeit von UHT-Milch viele Monate beträgt, sollte diese Annahme gerechtfertigt sein. In der Praxis wird Hexanal als ein leicht detektierbarer Marker für Ranzidität verwendet, welcher bei der Abbaureaktion von Linolsäure entsteht. Die Konzentration von Hexanal ist jedoch nur mittelbar ein Maß für die Autoxidationsrate, da dieses nur intermediär auftritt und eventuell weiter oxidativ abgebaut wird. Als Hauptindikator für den Reaktionsfortschritt wird hier deshalb die Sauerstoffzehrung verwendet. Dies ist gerechtfertigt unter der Annahme, dass keine weiteren sauerstoffzehrenden Reaktionen neben der Autoxidation in dunkel gelagerter UHT-Milch stattfinden.

Der Konzentrationsanstieg der Abbauprodukte der Autoxidation bedingt in ihrer Summe den sensorischen Eindruck „Ranzig“. Die Ableitung der tatsächlichen sensorischen Bewertung nach einem beliebigen Skalensystem kann deshalb ebenfalls über Proportionalität oder einer Kopplungsfunktion realisiert werden. Jedoch kann die Kopplung auch komplexer sein, da der Zusammenhand zwischen der Konzentration der Substanzen, die den ranzigen Eindruck hervorrufen und der quantitativen Beurteilung im Geschmackstest nicht linear sein muss. Wir möchten an dieser Stelle explizit darauf hinweisen dass es sich bei der Ableitung der sensorischen Bewertung aus der Autoxidationsrate um eine stark vereinfachte und rein phänomenologische Beschreibung handelt, die keinen strengen physikalisch-chemischen Zusammenhang darstellt.

Um die Kinetik des chemischen Reaktionssystems berechnen zu können, wird das Differentialgleichungs-system mit folgenden Prozessraten Q_i formuliert:

$$Q_{Ox} = k_1[O_2][FS][R^*] \tag{3}$$

$$Q_{Perm} = OTR\frac{f[O_2]T}{V} \tag{4}$$

$$Q_{R^*} = k_2[R^*] \tag{5}$$

Q_{Ox} entspricht der Umsatzrate von Reaktion (1), Q_{R*} ist die Rate der Terminierungsreaktionen (2). Die Permeationsrate, welche von der Sauerstoffdurchlässigkeit (OTR) der Verpackung, der Temperatur T und dem gesamten Verpackungsvolumen V abhängt, entspricht Q_{Perm}. Obwohl es sich im Innenraum um zwei Phasen (Milch/Kopfraum) handelt, kann wegen der Annahme eines lokalen Gleichgewichts (siehe unter Methoden „Kopfraumsauerstoff“) der Sauerstoff-Partialdruck im Inneren verwendet werden, um den für die Permeation relevanten Partialdruckgradienten zu berechnen. Für die Berechnung der Gesamtmenge des verfügbaren Sauerstoffs ist auf eine korrekte Berücksichtigung des Volumenverhältnisses Milch/Kopfraum zu achten. Weiterhin gilt für Q_{Ox} nur die Konzentration des in der Milch gelösten Sauerstoffs $[O_2]$. Diese bewegt sich unter diesen Lagerbedingungen zwischen 0-8 mg/L, was einem Sauerstoffpartialdruck zwischen 0 und 210 hPa im Gleichgewicht entspricht. Analog dazu entspricht dies einem Konzentrationsbereich an gasförmigen Sauerstoff im Kopfraum zwischen 0 und ~290 mg/L.

Die Prozessraten (3)-(5) können zusammen mit den Reaktionsgleichungen (1)-(2) zu folgendem Differentialgleichungssystem formuliert werden:

$$\frac{d[O_2]}{dt} = -Q_{Ox} + Q_{Perm} \tag{6}$$

$$\frac{d[FS]}{dt} = -Q_{Ox} \tag{7}$$

$$\frac{d[R^*]}{dt} = 3Q_{Ox} - Q_{R^*} \tag{8}$$

$$\frac{d[SEN]}{dt} = -k_3 Q_{Ox} \tag{9}$$

Gleichung 6 beinhaltet damit die mechanistische Kopplung zwischen Autoxidation und Permeation. In Gleichung 8 werden die Vervielfältigung der Radikale und die bilanzierenden Terminierungsreaktionen gekoppelt. Der Vervielfältigungsfaktor 3 entsteht dadurch, dass netto bei jeder Reaktion (1) aus einem Radikal drei Radikale entstehen (siehe Abbildung 1). Daher ist die Produktionsrate von Radikalen auch die 3-fache Rate der Autoxidation (3). Schließlich leitet Reaktion (9) über die Proportionalitätskonstante k_3 die sensorische Bewertung „SEN“ des ranzigen Geschmacks aus der Autoxidation ab. Diese Annahme geht von

einer Proportionalität zwischen der Rate des Fettsäureabbaus und der sensorischen Bewertung des ranzigen Geschmacks (bzw. des daraus resultierenden Qualitätsverlustes) aus, was angesichts der Ergebnisse zu hinterfragen ist.

3 Ergebnisse und Diskussion

Das Gleichungssystem (6)-(9) kann sehr leicht numerisch durch finite Differenzen (z.B. mittels forward differencing scheme) gelöst werden. Die freien Parameter können durch Vergleich mit den experimentellen Daten ermittelt werden („benchmarking"). Als Randbedingungen für die Lösung müssen aber noch die Anfangswerte angegeben werden. Für die Sauerstoffkonzentration ist dies der erste Messwert des Lagertests. Für die Konzentration der Doppelbindungen in ungesättigten Fettsäuren wird eine konstante mittlere Fettsäurezusammensetzung angenommen, die der bekannten Fettsäurezusammensetzung frischer Milch entspricht [Fiebig] und mit dem Gesamtfettgehalt (1.5% und 3.5%) der UHT-Milch verrechnet. Für die Konzentration der Doppelbindungen, welche für die Autoxidation zur Verfügung stehen, ergibt sich für UHT-Milch mit einem Fettgehalt von 1.5% eine Anfangskonzentration für [FS] von etwa 1.6 x 10^{-3} mol/L bzw. 3.7 x 10^{-3} mol/L für 3.5% UHT-Milch). Die Anfangskonzentration der Radikale ist wie die Reaktionskonstanten k_1-k_3 ein freier Parameter. Da die genaue Art der Radikale im Modell nicht näher spezifiziert ist, es sich also um eine Parametrisierung handelt, kann diese experimentell auch zunächst nicht näher bestimmt werden.

Abbildung 2 zeigt einen typischen Simulationslauf des Modells. Der Verlauf der Konzentration der Radikale zeigt den erwarteten, anfangs exponentiellen Anstieg bis zum dynamischen Gleichgewicht mit der Terminierungsreaktion. Erwartungsgemäß steigt auch die Sauerstoffkonzentration im System bei niedrigen Radialkonzentrationen zunächst an (d.h. der Einfluss der Sauerstoff-Permeation von außen überwiegt) und sinkt danach wieder (die Autoxidation überwiegt). Parallel dazu sinkt die Konzentration an Doppelbindungen in ungesättigten Fettsäuren mit Reaktionsfortschritt unterschiedlich schnell. Werden die ungesättigten Fettsäuren immer weiter abgebaut, steigt der Sauerstoffgehalt im System wieder an da jetzt die Permeation wiederum überwiegt. Dies lässt erkennen, dass bereits ein sehr einfaches Modell wie Gl (1)-(8) ein komplexes Verhalten erzeugen kann. Im direkten Benchmark-Vergleich mit den Messdaten (Abbildung 3) lassen sich so verschiedene Verhalten interpretieren.

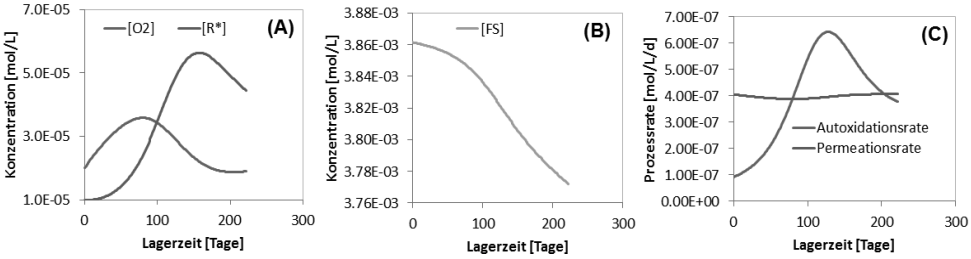


Abb. 2: Beispielhafte Kinetik des Autoxidationsmodells mit Permeation aus Gleichungen (1)-(8) für die Konzentration von (A): Sauerstoff [O_2], freien Radikalen [R^*], (B): Doppelbindungen in ungesättigten Fettsäuren [FS] und den konkurrierenden Prozessraten (C) der Autoxidation (Q_{Ox}, Gleichung 3) und Permeation (Q_{Perm}, Gleichung 4)

Ein direkter Vergleich mit den experimentellen Ergebnissen zeigt, dass das einfache Modell insgesamt die Verläufe der Messdaten interpretieren kann (Abb. 3). Die gemessene Sauerstoffkonzentration in der Milch wird mit der Variable [O_2] des Modells verglichen. Der über die Lagerdauer spektroskopisch gemessene gesamte Fettgehalt wird für den Vergleich mit [FS] des Modells wie weiter oben beschrieben in die Konzentration an verfügbaren Doppelbindungen in ungesättigten Fettsäuren umgerechnet. Die sensorische Bestimmung der Ranzidität kann direkt mit der Modellvariablen [SEN] verglichen werden. Eine manuelle Anpassung der Modellkonstanten für eine konsistente Beschreibung der Messdaten ergibt für k_1 = 1 x 10^5 $L^2/mol^2/d$, k_2 = 3 x 10^{-2} 1/d und k_3 = 3 x 10^4 1/d.

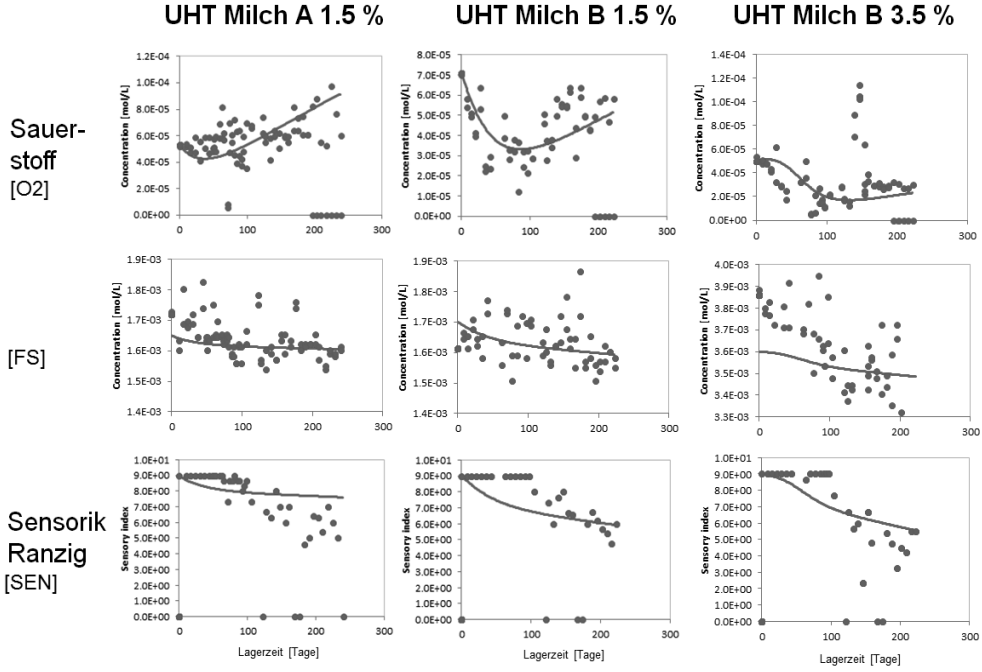


Abb. 3: Vergleich der Simulationen des Modells aus Gleichung (1)-(9) mit den experimentellen Daten des Lagerversuchs für UHT-Milch von Hersteller A und B mit Fettgehalt 1.5% bzw. 3.5% in handelsüblichen Verpackungen aus Aluminium-Verbundkarton. Zu beachten: Der Nullpunkt der Ordinate der Graphen zur Konzentration der Doppelbindungen aus ungesättigten Fettsäuren [FS] ist unterdrückt, um den geringen Abbau besser darzustellen.

Zunächst fällt auf, dass der Sauerstoffgehalt im Experiment über die Lagerzeit von über 200 Tagen sich verändert (abfällt, ansteigt), die Konzentration der ungesättigten Fettsäuren und die sensorischen Bewertungen aber stetig abnehmen. Dies ist in Übereinstimmung mit dem erwarteten generellen Verhalten des Modells nach Abbildung 2. Weiterhin streuen die gemessenen Sauerstoffkonzentrationen in der Milch erheblich stärker als die ermittelte Messgenauigkeit der Methode von Presens (Standardabweichung von 0.07 mg/L, bzw. 2 x 10^{-6} mol/L) erwarten lässt. Da die Milch in den einzelnen Verpackungen jeweils aus derselben Produktion stammt, kann davon ausgegangen werden, dass die Streuung des Sauerstoffgehalts durch unterschiedliche Sauerstoff-Transmissionsraten der jeweiligen individuellen Verpackungen ver-

ursacht wird. Dies ist auch in Übereinstimmung mit der großen Streubreite von Sauerstofftransmissionsraten, über welche bei Aluminium-Verbundkartons berichtet wurde [Müller]. Diese Beobachtung wird weiter verfolgt und muss bei der Abschätzung von Haltbarkeitsdauern auf jeden Fall in Betracht gezogen werden.

Ein Vergleich der generellen Kinetik des Modells (Abb. 2) mit den Sauerstoffmessungen zeigt, dass sich die Milch zu Beginn der Messungen offenbar bereits in unterschiedlichen Phasen der Autoxidation befindet (Anstieg/Abfall der Sauerstoffkonzentration). Unter der Annahme, dass nicht weitere signifikante Prozesse außerhalb des Modells die Kinetik bestimmen, kann hieraus geschlussfolgert werden, dass die Milch zum Startzeitpunkt der Messung unterschiedliche Radikalanfangskonzentration hatte. Dies könnte durch leicht unterschiedliche Herstellungsverfahren bedingt sein und wurde bei der Anpassung der Daten durch unterschiedliche Radikal-Anfangskonzentrationen $R^*(t=0)$ berücksichtigt.

Die Annahme einer Proportionalität zwischen der Autoxidationsrate nach Gleichung (9) und der sensorischen Bewertung führt auf systematische Abweichungen zwischen Modell und Experiment. Die Einführung einer Schwellenkonzentration für den sensorischen Eindruck, wie sie für viele Substanzen bekannt ist, könnte hier eine deutlich bessere Anpassung liefern, dafür bedarf es jedoch weiterer dedizierter Experimente.

4 Zusammenfassung und Ausblick

Es wurde ein einfaches Modell für die radikalische Autoxidation entwickelt und mit Permeationsprozessen in Milchverpackungen gekoppelt. Das Modell wurde mit Daten eines umfangreichen Lagerversuchs mit insgesamt 1600 Packungen handelsüblicher UHT-Milch verglichen und angepasst. Damit standen erstmalig praxisrelevante Daten in großem Umfang für systematische Untersuchungen zur Verfügung. Es wurde gezeigt, dass ein Modell mit nur 3 Reaktionskonstanten die experimentellen Daten annähernd nachbilden kann. Es konnten weiterhin einige Beobachtungen/Merkmale aus den Messdaten interpretiert werden:

- Der sich über die Lagerzeit ändernde Sauerstoffgehalt in der Milch resultiert aus der dynamischen Bilanz zwischen Autoxidationsrate und Permeationsrate durch die Verpackung.
- Der Abbau von ungesättigten Fettsäuren passt näherungsweise zum Sauerstoffverbrauch aus der Autoxidation.
- Die breite Streuung der Messdaten der Sauerstoffkonzentration kann durch individuell unterschiedliche OTR-Werte der Aluminium-Verbundkarton Verpackungen erklärt werden. Diese Streuung muss noch adäquat in ein verbessertes Haltbarkeitsmodell integriert werden.
- Die sensorische Bewertung der Ranzidiät kann voraussichtlich aus der Autoxidationrate abgeleitet werden. Es wird jedoch deutlich, dass eine einfache Proportionalität nicht ausreicht und stattdessen eine nichtlineare Kopplung oder ein Offset im Modell angesetzt werden muss.

In der derzeitigen Fassung kann das Modell für erste Abschätzungen der Produkthaltbarkeit bei der Verpackungsentwicklung, z.B. für den funktionellen Ersatz von Verpackungsmaterialien eingesetzt werden. Eine Integration weiterer Messdaten und eine Ausweitung auf weitere Produkte ist vorgesehen. Weiterhin kann das Modell um die für transparente oder lichtdurchlässige Verpackungen kritischen photooxidativen Prozesse erweitert werden. Diese führen sehr schnell zu dem bekannten „Lichtgeschmack“. Im Kontext des Modells bilden photosensitive Substanzen wie Riboflavin eine weitere Quelle für reaktive Spezies wie Singulett-Sauerstoff oder Radikale.

Quellen

Belitz, H.-D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2008): Lehrbuch der Lebensmittelchemie: Mit 634 Tabellen. Springer-Lehrbuch, 6., vollst. überarb. Aufl. Springer, Berlin und Heidelberg.

PreSens - Precision Sensing GmbH: Dynamische Lumineszenz-Löschung. URL: www.presens.de

Renner, E. (Ed.). (1988). Lexikon der Milch: mit 3530 Stichworten u. 40 Tab. VV, Volkswirtschaftl. Verlag.

Töpel, A. (2015). Chemie und Physik der Milch. Behr's Verlag DE.

Müller, K.; „Gasdurchlässigkeit von Getränkeverpackungen“, 8. Flaschenkellerseminar (2001), Freising.

Fiebig, H.-J.; „Fettsäurezusammensetzung wichtiger pflanzlicher und tierischer Speisefette und –öle“, Münster, 21. Dezember 2011. URL: www.dgfett.de/material/fszus.php

Day, E.A.; „Autoxidation of Milk Lipids”, Journal of Dairy Science, 43/9 (1960), p 1360-1365.

Die Untersuchungen wurden dankenswerterweise gefördert durch Mittel des Bayrischen Staatsministeriums für Wirtschaft, Energie und Technologie, sowie des Bayrischen Staatsministeriums für Wissenschaft und Kunst.

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

Adresse

Weihenstephaner Berg 1
85354 Freising-Weihenstephan
Telefon: 08161-71-3535 und -4205
Telefax: 08161-71-4384
Internet: http://www.lebensmittelverfahrenstechnik.de
E-Mail: Vorname.Name(at)tum.de

Personal

Leitung:	Univ.-Prof. Dr.-Ing. habil. Ulrich Kulozik	-3535
Sekretariat:	Sabine Becker	-4205
	Friederike Schöpflin	-5851
Mitarbeiter:	Sabine Ambros, M.Sc.	-3536
	David Andlinger, M.Sc.	-3856
	Agnetha Behrendt	-3939
	Annette Brümmer-Rolf	-3937
	Jannika Dombrowski, Dr.-Ing.	-3536
	Christian Ederer	-3537
	Franz Fraunhofer	-3537
	Oliver Gmach, M.Sc.	-5317
	Sabine Grabbe, Dipl.-Ing. (FH)	-3534
	Eva Guyot, Dr.-Ing.	-3855
	Regina Haindl, M.Sc.	-3534
	Martin Hartinger, M.Sc.	-3719
	Hans-Jürgen Heidebrecht, Dipl.-Ing./M.Sc.	-3481
	Claudia Hengst	-3937
	Martin Hilz	-3937
	Ingrun Kieferle, M.Sc.	-5032
	Peter Kubbutat, M.Sc.	-5317
	Franziska Kurz, M.Sc.	-3939
	Yuhong Mao, M.Sc.	-3855
	Mine Özçelik Kocak, M.Sc.	-5056
	Michael Reitmaier, Dipl.-Ing. (FH)	-3942
	Hermine Roßgoderer	-3937
	Simon Schiffer, M.Sc.	-3939

Erich Schneider	-3537
Roland Schopf, M.Sc.	-5056
Stefanie Sedlmeier, LM-Chemikerin	-3719
Philipp Stier, M.Sc.	-5032
Günther Unterbuchberger	-3942
Malou Warncke, M.Sc.	-2474
Maria Weinberger, M.Sc.	-3856
Heidi Wohlschläger	-3941

2018 neu dazugekommen:

Judith Delius, Dr. rer. nat. (ab 28.05.2018)	-4198
Christine Haas (ab 01.01.2018)	-5056
Franz Kuhnert (ab 27.08.2018)	-3481
Priska Pröll, M.Sc. (ab 15.11.2018)	-5056
Marius Reiter, M.Sc. (ab 15.03.2018)	-3856
Eva Scheidler (ab 15.11.2018)	-5032
Caren Tanger M.Sc. (ab 01.10.2018)	-3634
Somayeh Taghian Dinani (ab 24.09.2018)	-5317

2018 ausgeschieden:

Steffen Benteler, M.Sc. (bis 28.02.2018)	-3481
Evelyn Dachmann, Dipl.-Ing. (FH) (bis 30.09.2018)	-5317
Nicole Haller, M.Sc. (bis 31.05.18)	-3534
Alexander Herzum (bis 31.12.2018)	-2474
Melanie Marx, M.Sc. (bis 31.07.2018)	-3855
Daniel Saalfeld, Dipl.-Chem. (bis 28.02.2018)	-3856
Anne-Martha Schwarz, B.Sc. (bis 30.06.2018)	-5031
Mirjana Stulac (bis 30.06.2018)	-3942
Magdalena Wolz, Dr.-Ing. (bis 31.05.2018)	-5032

Gäste

- Prof. Carmen I. Moraru, Cornell University, Department of Food Science, Ithaca, NY, USA, 19.10. – 30.11.2018
- Klaus Muuronen, M.Sc., Valio, Finnland, 05.02.2018 – 31.05.2018
- Prof. Attila Yetismeyen, Universität Ankara, Landwirtschaftliche Fakultät - Abteilung Milchtechnologie, Diskapi – Ankara, Türkei 10.10. – 12.10.2018

Vorwort

In vieler Hinsicht war das Jahr 2018 (fast wie gewohnt) wieder sehr erfolgreich: Mit mehreren wissenschaftlichen Auszeichnungen und 26 Publikationen in angesehenen wissenschaftlichen Journalen konnte gezeigt werden, dass der Lehrstuhl nicht nur wieder erfolgreich im Einwerben von Forschungsmitteln war (im Jahr 2018 auf einem „All-time-High“), sondern dass diesem `Input´ auch ein entsprechender `Output´ als von außen sichtbare Leistung gegenübersteht. Als `Output´ wurden aber auch 18 Master- und 12 Bachelorand*innen zum Abschluss gebracht, die nun neue wissenschaftliche Ergebnisse und Methodik mit in die Praxis nehmen, wenn sie in der Lebensmittel-, Milch-, Maschinenindustrie oder bei Zulieferern von funktionellen Ingredients aufgenommen werden und Verantwortung übernehmen. Besonders deutlich wurde die Bedeutung der Weihenstephaner forschungsgeleiteten Ausbildung bei einer Veranstaltung des Milch-Industrieverbandes in Fulda, wo die Mehrzahl der dort vertretenen R&D-Leitungen und andere leitende Funktionen eine Weihenstephaner Historie hatte.

Dies auch weiterhin leisten und ermöglichen zu können, beschäftigt die Fakultät in Weihenstephan intensiv. Berufungsverfahren für in absehbarer Zeit ausscheidende Professuren werden derzeit so vorbereitet, dass kompetente Expert*innen als nächste Generation in den Lehrstuhlleitungen gewonnen werden können. Dafür ist die förderliche Begleitung und die Unterstützung durch die Lebensmittel- und Milchindustrie und verwandter Bereiche hoch willkommen. Erste Voraussetzung für qualifizierte Neubesetzungen ist eine gute Bewerberlage, auch und gerade von kompetenten, wissenschaftlich denkenden und geschulten Fachleuten aus der Praxis.

Die angesprochenen Auszeichnungen sind ein klares Indiz dafür, dass die Weihenstephaner Forschung auch auf internationalem Niveau à la Champions-League vorne mitspielt.

Dr.-Ing. Joseph Dumpler gelang es (nach Dr.-Ing. Wolfgang Kühnl im Jahr 2010 mit einem ersten und Dr.-Ing. Jannika Dombrowski 2017 mit einem zweiten Platz) im letzten Jahr wieder, bei dem Doktoranden-Wettbewerb von national vorausgewählten Kandidat*innen der `European Federation of Chemical Engineering´ (EFCE) den 1. Platz und damit den international sehr hoch angesehenen, von der Fa. Nestlé gestifteten `Julius-Maggi-Award´ zu erringen und damit zum zweiten Mal an den Lehrstuhl zu holen.

Frau Dr.-Ing. Magdalena Wolz wurde für ihre Dissertation der erstmals ausgeschriebene `Bernhard-van-Lengerich-Preis´ für die Arbeit mit dem Titel `Thermal aggregation of whey proteins under shear stress and the effects on microparticulation in a high moisture extrusion´ zugesprochen und im Rahmen einer Veranstaltung an der TU Berlin überreicht.

Katharina Hinrichs konnte den vom VDI (Region Süd, mit Österreich und Schweiz) über alle Bereiche der industrierelevanten Forschung (incl. Maschinenbau, Elektrotechnik etc.) ausgeschriebenen Preis für die beste Bachelor-Arbeit erringen. Ausgezeichnet wurden überhaupt nur jeweils eine Bachelor-, eine Master- und eine Doktorarbeit. Johannes Golda für seine Masterarbeit und Maike Limmer für ihre Bachelorarbeit konnten mit Auszeichnungen des `WMBL´ für Weihenstephaner Abschlussarbeiten punkten, Joseph Dumpler gleich ein zweites Mal für seine Doktorarbeit.

Allen Ausgezeichneten nochmals herzlichen Glückwunsch und allen Mitarbeiter*innen ganz herzlichen Dank für die wieder überaus engagierte und erfolgreiche Arbeit im letzten Jahr.

Auszeichnungen 2018

Dr.-Ing. Joseph Dumpler, 1. Platz, Julius Maggi Award, 12th European PhD Workshop on Food Engineering and Technology der `European Federation of Chemical Engineering´ (EFCE), ausgezeichnet am 18.04.2018 in Freising für die Arbeit mit dem Titel `Heat Stability of Concentrated Milk Systems´.

Dr.-Ing. Magdalena Wolz, Bernhard van Lengerich Preis, ausgezeichnet am 18.1.19 in Berlin für die Arbeit mit dem Titel `Thermal aggregation of whey proteins under shear stress and the effects on microparticulation in a high moisture extrusion´.

Johannes Golda, Herausragende Masterarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. (WMBL), ausgezeichnet am 11.10.2018 in Weihenstephan für die Arbeit mit dem Titel `Einfluss des Gefrier-Tau-Prozesses auf granula- und plasmastabilisierte Öl-in-Wasser Emulsionen´.

Maike Limmer, Herausragende Bachelorarbeit, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. (WMBL), ausgezeichnet am 11.10.2018 in Weihenstephan für die Arbeit mit dem Titel `Einfluss bivalenter Salze auf die Hitzestabilität Peptid- stabilisierter Emulsionen´.

Dr.-Ing. Joseph Dumpler, Herausragende Promotion, Preis des Verbandes der Ehemaligen Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V., ausgezeichnet am 11.10.2018 in Weihenstephan für die Arbeit mit dem Titel `Heat Stability of Concentrated Milk Systems´.

Katharina Hinrichs, VDI Preis für die beste Bachelor-Arbeit 2018 im Bereich VDI-Süd, ausgezeichnet am 16.11.2018 in München für die Arbeit mit dem Titel `Mikrowellenunterstützte Gefriertrocknung von β-Galactosidase in einer Schaummatrix – Einfluss der Maltosekonzentration auf die Lagerstabilität´.

Forschung

Forschungsgebiet Bioprozesstechnik
Working area Bioprocess Engineering

Etablierung eines in vitro Systems zur Kultivierung der humanen intestinalen Mikrobiota

Establishment of an in vitro system for the cultivation of the human intestinal microbiota

Haindl, Regina

Eine intakte und funktionsfähige Darmflora besteht aus einer Vielzahl an Mikroorganismen. Deren Diversität wirkt sich essentiell auf das Immunsystem und die Gesundheit des Menschen aus. Chronisch-entzündliche Darmerkrankungen oder Infektionen, zum Beispiel mit *Clostridium difficile*, können dieses Gleichgewicht gefährden. Ein Therapieansatz hierfür ist der Transfer eines gesunden humanen Mikrobioms (Fäkale Mikrobiota Transplantation = FMT) auf Patienten mit Darmerkrankungen. Die Wirksamkeit dieser Methode liegt bei circa 90 % (Kelly et al., 2015), was ein großes Potential hinsichtlich der Entwicklung neuer Medikamente und Behandlungsmethoden darstellt. Die FMT birgt aber auch einige Nachteile. Der Spenderstuhl muss im Vorfeld aufwändig analysiert werden, um die Übertragung pathogener Keime und anderer Krankheiten zu verhindern. Zudem ist die Lagerfähigkeit frischer Stuhlproben sehr kurz und es fehlt bislang die Standardisierung dieser Behandlungsmethode.

Ziel des Gesamtprojekts ist es, eine Methode zu entwickeln, die es erlaubt, ein getrocknetes und damit lagerfähiges, sowie in Kapselform oral leicht transferfähiges Mikrobiom verfügbar zu machen. Dazu werden aus einer humanen Stuhlprobe (welche alle Anforderungen für die FMT erfüllt) Mikroorganismen extrahiert und anschließend *in vitro* im Bioreaktor kultiviert. Nach einer Konzentrierung mittels Zentrifugation folgt der Konservierungsschritt in Form der Gefriertrocknung. Um das Überleben und die Re-Kultivierbarkeit zu ermitteln, werden die getrockneten Proben erneut im Fermenter angezüchtet (Abb. 1).

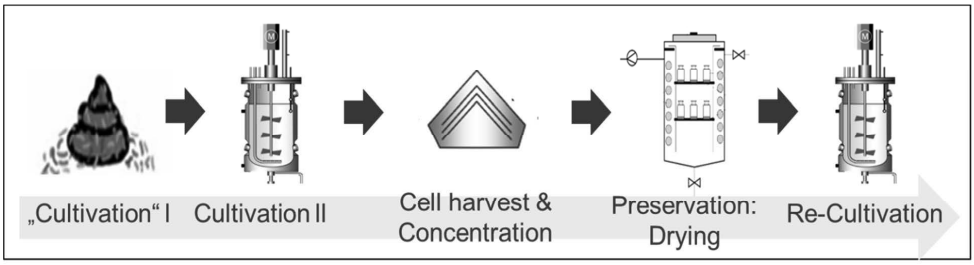


Abb. 1: Schematische Darstellung des Prozessesablaufes im Gesamtprojekt

Hauptziel dabei ist es, eine Methode zu entwickeln, die es erlaubt, die humane intestinale Mikrobiota *in vitro* zu kultivieren, sowie zu rekultivieren. Diese Mikrobiome sollten nach Wahl geeigneter Fermentationsparameter ein stabiles System hinsichtlich Zellzahl und Zelldichte aufweisen. Die Kultivierung erfolgte über 190 h mittels *Continuous Flow Fermentation* in einem BioStat B Fermenter (siehe Abb. 2) mit einem Volumen von 850 ml. Als Medium wurde ein angepasstes, komplexes Vollmedium nach McDonald (2013) verwendet. Dieses ähnelt in der Zusammensetzung dem Nährstoffangebot im humanen Dickdarm. Durch die Begasung mit 8 ccm Formiergas (95 % N_2, 5 % CO_2) wurden anaerobe Bedingungen generiert. Nach 24 h Fermentationsdauer wurde der Batchprozess durch eine Medienzufuhr von 0,5 ml · min^{-1} kontinuierlich gestaltet.

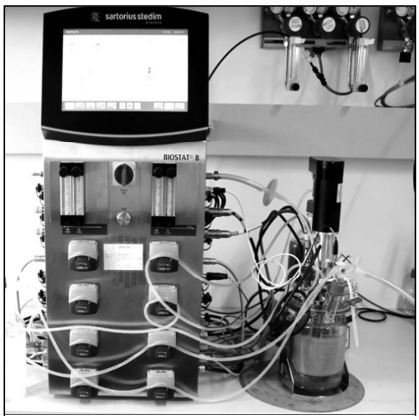


Abb. 2: Biostat B Fermenter zur Kultivierung der humanen intestinalen Mikrobiota Rechts vorne der Bioreaktor (Volumen 850 ml)

Alle weiteren Fermentationsparameter sind in Tabelle 1 aufgeführt und wurden an die im humanen Dickdarm vorliegenden Bedingungen soweit wie möglich angepasst.

Tabelle 1: Einstellungen im Kultivierungsprozess

Parameter	Einstellung
Volumen [ml]	850
Temperatur [°C]	37
pH-Wert [-]	6,5
Rührgeschwindigkeit [rpm]	200
Begasung [ccm]	8
Medienzufuhr [ml · min^{-1}]	0,5

Zur Bestimmung des Kultivierungserfolges wurde die Zellzahl (Koloniebildende Einheiten) sowohl durch anaerobe (WCA-Agar) als auch aerobe (PC-Agar) Bebrütung bestimmt. Die Zelldichte wurde mittels eines in-line NIR-Sensors detektiert. Der Prozess wurde mit 120 ml Überstand einer zentrifugierten (180 g/ 10 min/ 4 °C) und 1:10 mit Medium verdünnten Stuhlprobe inokuliert. Die anaerobe Zellzahl lag zu Beginn der Fermentation bei $5{,}7 \cdot 10^7$ KbE ml^{-1}, sowie bei $2{,}7 \cdot 10^6$ KbE ml^{-1} (aerob). Nach 24,17 h konnte eine Zellzahl von $8{,}45 \cdot 10^9$ KbE $\cdot$ ml^{-1} (anaerob) und $5{,}9 \cdot 10^8$ KbE $\cdot$ ml^{-1} (aerob) erreicht werden. Im weiteren Verlauf des Versuchs wurden konstante Werte von 10^{10} KbE $\cdot$ ml^{-1} (anaerob) und 10^8 KbE $\cdot$ ml^{-1} (aerob) erreicht (vgl. Abb. 3).

Dieses Verhältnis obligat anaerober und fakultativ anaerober Mikroorganismen von 1:100 entspricht der Zusammensetzung im humanen Dickdarm (Marteau et al., 2001). Wird zudem die gemessene Trübung verglichen, wird deutlich, dass das System bereits nach 15 h einen stabilen Wert von 0,54 AU aufweist. Dieser Wert ist anschließend, abgesehen von geringfügigen, messungsbedingten Schwankungen, konstant im Bereich zwischen 0,48 und 0,58 AU. Durch die gestrichelte Kurve lässt sich der Verlauf mit einem $R^2 = 0{,}92$ fitten. In der Plateauphase liegt so durchschnittlich eine Trübung von 0,55 AU vor.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass eine Anzucht des humanen intestinalen Mikrobioms *in vitro* unter den getesteten Bedingungen möglich ist. Bereits nach kurzer Zeit konnte ein System generiert werden, welches in Bezug auf Zelldichte und -zahl einen Gleichgewichtszustand erreicht. Die ermittelte Zellzahl von etwa 10^{10} KbE $\cdot$ ml^{-1} liegt dabei im Bereich humaner Stuhlproben (10^8 – 10^{12} KbE $\cdot$ ml^{-1}) (Payne et al., 2012). Weitere Untersuchungen sollen die Zusammensetzung der Metaboliten sowie der Mikroorganismen selbst (durch *Next Generation Sequencing Analysis*) aufklären. Zudem soll ein Vergleich zwischen der natürlichen und *in vitro* Mikrobiota gezogen werden.

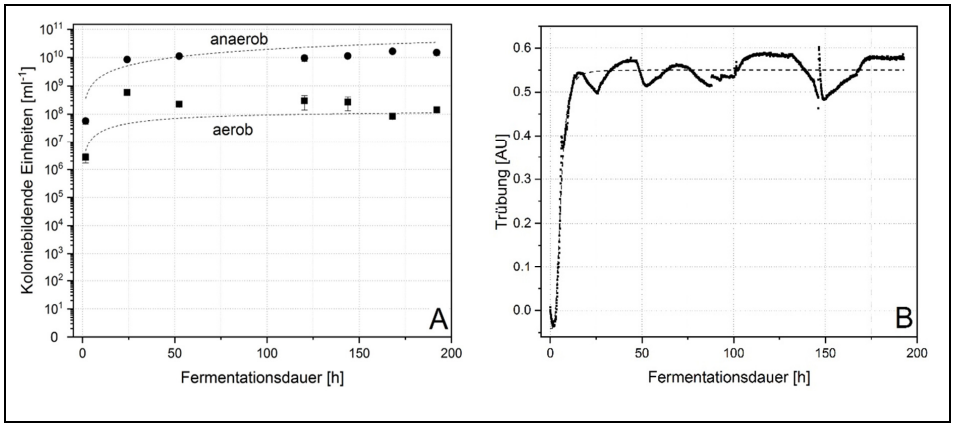


Abb. 3: Verlauf von Zellzahl (A) und Zelldichte (B) über die Fermentationszeitdauer von 190 h

Literatur:

- Kelly, C.R.; Kahn, S.; Kashyap, P.; Laine, L.; Rubin, D.; Atreja, A.; Moore, T.; Wu, G. (2015): Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook. Gastroenterology. 149 (1): 223–237.
- Marteau, P.; Pochart, P.; Doré, J.; Béra-Maillet, C.; Bernalier, A.; Corthier, G. (2001): Comparative Study of Bacterial Groups within the Human Cecal and Fecal Microbiota. Applied and Environmental Microbiology. 67 (10): 4939–4942.

- McDonald, J. (2013): Development of an In Vitro Fermentation Model to Culture the Human Distal Gut Microbiota. Dissertation. Guelph: University of Guelph.
- Payne, A.N.; Zihler, A.; Chassard, C.; Lacroix, C. (2012): Advances and perspectives in in vitro human gut fermentation modeling. Trends in Biotechnology. 30 (1): 17–25.

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

Influences of hydrolytic conditions on β-Lactoglobulin hydrolysis using a flow-through monolith based immobilized trypsin reactor

Yuhong Mao

Whey is a major co-product of cheese manufacture in the dairy industry. Its main proteins are β-lactoglobulin (β-Lg) and α-lactalbumin (α-La). β-Lg acts as a main allergen, especially in infant formula, since it does not present in human milk. Enzymatic hydrolysis of β-Lg is a common way to reduce its allergenicity, as well as to generate several bio-functional peptides. To improve the industrial implementation of this enzymatic process, the immobilized enzyme represents an alternative approach. Thus, a flow-through monolith based immobilized trypsin reactor (MITR) was developed and used for the hydrolysis of β-Lg.

Hydrolytic conditions exerted significant influences on the enzymatic hydrolysis of proteins. As shown in Fig. 1A, no significant difference in the evolutions of DH at pH 7.8 and 8.7 was observed. The addition of 0.02 M or 0.1 M NaCl significantly increased DH, while 0.5 M NaCl seriously retarded the hydrolysis. In the presence of 20% ethanol, DH increased slightly, lower than those with the addition of 0.02 or 0.1 M NaCl. Besides, the DH increased generally in a linear model within 180 min, in other words, the decrease in the reaction velocity was slow. This is mainly because of the absence of autodigestion, as well as the fast removal of products.

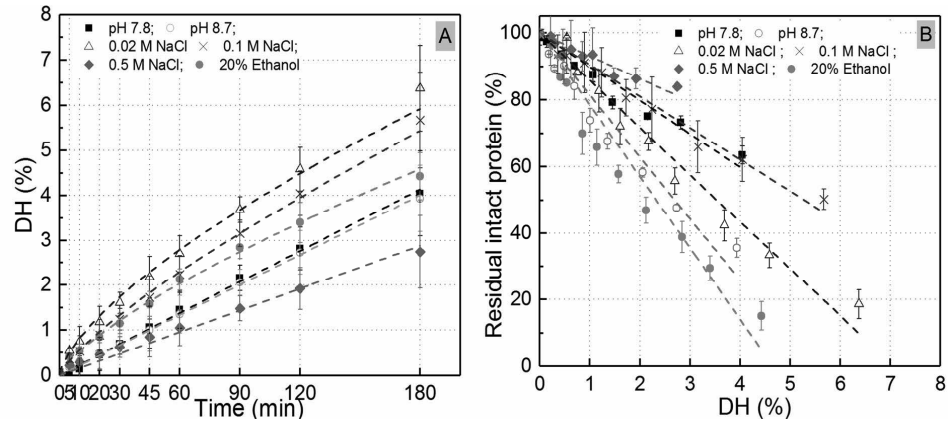


Fig. 1: The influence of hydrolytic conditions on β-Lactoglobulin hydrolysis using a flow-through monolith based immobilized trypsin reactor. (A) The influence on DH; (B) The influence on the depletion of intact protein.

Regarding the hydrolysis of intact protein, the Linderstrøm-Lang theory on protein hydrolysis presents two models: “zipper” and “one-by-one”[1]. In a “one-by-one” model, intact protein will slowly break down and no appreciable amounts of intermediate peptides will be accumulated, while a much faster degradation of intact protein at the initial stage of hydrolysis will be

observed in a "zipper" model. As shown in Fig. 1B, linear decreases in intact protein amount dependent on the DH were observed at all explored concentrations, close to the "one-by-one" model. A greater accessibility to intact β-Lg was observed at increasing pH values. In addition, the ability to hydrolyze intact protein continuously decreased with increasing NaCl at pH 8.7. Contrast to NaCl, the fastest depletion rate of intact β-Lg was observed in the presence of 20% ethanol. The significant differences in susceptibility of intact β-Lg to tryptic hydrolysis are probably due to its conformational transitions at different hydrolytic conditions. For instance, β-Lg exhibits pH-dependent structural characteristics, the so-called Tanford transition occurs at the pH near 7.5.

The increase in pH to values exceeding 8.0 induces further structural changes because the charge states of the side groups of a protein depend on the pH. Thus, the intact protein was generally more accessible with increasing pH values. Similar to the pH increase, the addition of ethanol also rendered the β-Lg more tryptic accessible. In the study of Dufour et al. [2], the secondary structure transformation of β-Lg from a predominantly β-structure into a α-helical one is influenced by solvent polarity changes, and the mid-points of the observed structural transformation occur at dielectric constant ≈ 60 (30–40% ethanol). Some studies [2-5] suggest that β-Lg exhibits an intermediate state around 20% ethanol. However, the presence of NaCl generally prevented intact β-Lg from hydrolysis. The addition of high concentration of NaCl significantly increased the ionic strength of the reaction media, which might hinder enzyme–substrate interactions through charge shielding. In addition, NaCl contributes to the dimerization of β-Lg, which might decrease its depletion rate as well.

Literatur:

[1] Linderstrøm-Lang, K. U., *Medical Sciences* 1952, *6*, 19.
[2] Dufour, E., Bertrand-Harb, C., Haertlé, T., *Biopolymers: Original Research on Biomolecules* 1993, *33*, 589-598.
[3] Mousavi, S. H.-A., Chobert, J.-M., Bordbar, A.-K., Haertlé, T., *J. Agric. Food Chem.* 2008, *56*, 8680-8684.
[4] Dufour, E., Haertl´, T., *Protein Engineering, Design and Selection* 1990, *4*, 185-190.
[5] Renard, D., Lefebvre, J., Robert, P., Llamas, G., Dufour, E., *Int. J. Biol. Macromol.* 1999, *26*, 35-44.

Acknowledgements: The author thanks China Scholarship Council (CSC) for the support of her personal cost, and thanks Urh Černigoj from BIA Separations (Ajdovščina, Slovenia) for his technical help in developing the MITR.

Einfluss der Produktionsbedingungen bakterieller Sporen auf die Eignung zur Verwendung als biologische Indikatoren für die Beurteilung der Oberflächenentkeimung mit Wasserstoffperoxid

Influence of the production conditions of bacterial spores on the suitability for use as biological indicators for the evaluation of surface disinfection with hydrogen peroxide

Philipp Stier

In der Lebensmittel- und Pharmaindustrie ist Keimfreiheit in der Produktion und Abpackung überaus wichtig. Besonders von Sporen pathogener Sporenbildner kann eine große Gefahr ausgehen, da sie aufgrund ihrer Resistenz Pasteurisation und unzureichende Sterilisationsprozesse überleben, wieder auskeimen und schließlich schädlich wirken können.

Bakterielle Sporen sind kryptobiotische Dauerformen einiger Bakterienarten, die als Schutzmechanismus gegen ungünstige Umgebungsbedingungen gebildet werden. Sie besitzen eine hohe Resistenz gegenüber chemischen Einflüssen, ionisierender Strahlung, Dehydratation oder Hitze und kommen zu einem Großteil ubiquitär vor.[1,2]

Um in der Lebensmittel- und Arzneiproduktion ein Überleben solcher Keime auszuschließen, müssen die verwendeten aseptischen Anlagen validiert, d. h. auf ihre Sterilisationsleistung hin geprüft werden. Dies kann z. B. durch einen *Count Reduction Test* erfolgen, in dem Sporen nicht-pathogener Sporenbildner dem Sterilisationsprozess unterzogen werden und die Inaktivierungsrate durch die Keimreduktion bestimmt wird. Je nach Entkeimungsmethode verwendet man hierbei unterschiedliche Surrogate, die unter dem Begriff „Bioindikatoren“ kommerziell vertrieben werden – bei der Entkeimung mittels Wasserstoffperoxid als Sterilisationsreagenz verwendet man vor allem Sporen von *Bacillus atrophaeus* und *Geobacillus stearothermophilus*.

Je nach Herstellungsverfahren dieser Bioindikatoren können jedoch Unterschiede im Inaktivierungsverlauf von *Count Reduction Tests* festgestellt werden. So kommt es bei submers im Bioreaktor produzierten Sporen von *Bacillus atrophaeus* während der Sterilisation zu einer linearen Reduktion der Keimzahl (Abb. 1A). Bei *Bacillus atrophaeus* Sporen, die auf Agar-Platten im *Solid State* Verfahren hergestellt wurden, tritt in den ersten Sekunden der Sterilisation stattdessen ein Plateau auf (Abb. 1B), in dem die Keimzahl trotz fortschreitender Sterilisation gleichzubleiben scheint. Erst danach kommt es zu einer linearen Keimreduktion.

Der Grund für den unterschiedlichen Inaktivierungsverlauf während der Sterilisation könnte in den Eigenschaften der vegetativen Vorläuferzellen während der Kultivierung zu finden sein. Auf Festmedium differenzieren Bacillen zu unterschiedlichen Zelltypen. So sind für die Ausbreitung der Kolonie motile Zellen verantwortlich, die Struktur bekommt die Kolonie durch sogenannte Matrixbilder und auf diesen aufliegend bzw. in den oberen Schichten der Matrixbildner entstehen zumeist Sporen aufgrund des Nährstoffgradienten, der vom Nährboden aus abnimmt.[3,4] Erntet man die Sporen von den Agar-Platten, neigen diese zur Bildung von Agglomeraten, also Sporen-Verbänden. Im submersen System im Bioreaktor werden die Bakterien hingegen ständig mechanisch beansprucht und durchmischt, wodurch der Großteil der Zellen motil ist und sich nicht zu anderen Zelltypen wie Matrixbildern differenziert. Statt in Zellverbänden liegen die Bakterien einzeln vor, genauso verhält es sich mit den aus ihnen gebildeten Sporen. Die Bildung von Agglomeraten kann nicht beobachtet werden.

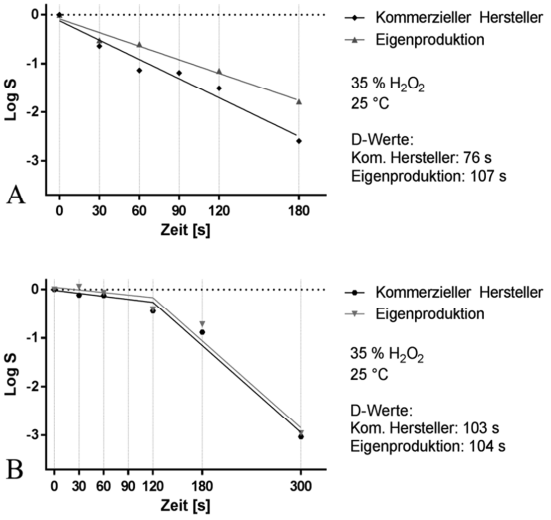


Abb. 1: *Count Reduction Test* in 35%igem Wasserstoffperoxid bei 25 °C mit Sporen von *Bacillus atrophaeus*. A: Submers im Bioreaktor hergestellte Sporen. Ab Beginn der Sterilisation tritt eine lineare Inaktivierung ein. Die Keimzahl nimmt konstant ab. B: Sporen hergestellt auf Agar-Platten. Zwischen 0 und 60 s ist ein Plateau im Inaktivierungsverlauf zu beobachten. Trotz fortschreitender Inaktivierung scheint die Keimzahl nicht signifikant abzunehmen. Erst nach ca. 60 s geht die Inaktivierung in einen linearen Verlauf über (Hier dargestellt durch segmentale lineare Regression. Berechnung der D_9-Werte jedoch durch lineare Regression der Gesamtdatenmenge, wie bei A).

Diese Agglomerate zerfallen während der Sterilisation, wodurch die Zellzahl vermeintlich gleichbleibt oder sogar zunehmen kann. Erst wenn alle Agglomerate aufgeschlossen sind, geht die Keimreduktion in einen linearen Verlauf über. Dies ist ein Nachteil der Quantifizierungsmethode, da sowohl eine einzelne Spore, als auch ein Sporen-Agglomerat aus mehreren Sporen, nur als eine koloniebildende Einheit (KbE) erkannt werden kann. Versuche haben gezeigt, dass die Zellkonzentration von Suspensionen mit Sporenagglomeraten um bis zu 1 Log schwanken kann, abhängig vom Zerfallsgrad der Agglomerate.

In Abb. 2 sind zwei Sporensuspensionen von *Bacillus atrophaeus* abgebildet, die in/auf gleichem Medium bei gleicher Temperatur hergestellt wurden. Eine Suspension wurde jedoch von Sporen auf Agar-Platten gewonnen, die andere submers im Bioreaktor hergestellt. Deutlich sichtbar sind die Sporenagglomerate der Sporen vom Festmedium (Kreise, Abb. 2A), verglichen mit den einzeln vorliegenden Sporen der submersen Produktion (Abb. 2B).

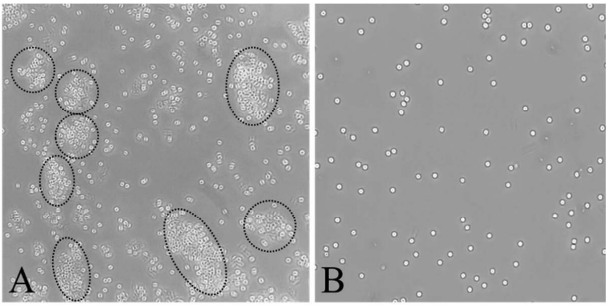


Abb. 2: Sporen von *Bacillus atrophaeus* (weiße Punkte) unterschiedlicher Herstellungsverfahren auf/in gleichem Medium bei 30 °C. A: Herstellung auf Agar-Platten, sichtbare Agglomerate sind eingekreist. B: Submerse Herstellung im Bioreaktor. Sporen liegen einzeln vor.

Rückbezogen auf Abb. 1B verfälscht der Zerfall der Agglomerate und die Bildung des Plateaus während der Inaktivierung selbstverständlich das Sterilisationsergebnis, da die Sporen resistenter zu sein scheinen als sie es als einzeln vorliegende Sporen tatsächlich wären. So kann nur die Resistenz der Gesamtsuspension betrachtet werden, nicht aber die der durchschnittlichen Sporen darin. Das bedeutet auch, dass die Sterilisationsgeschwindigkeit von der Zerfallsrate der Agglomerate abhängt, wobei diese von Suspension zu Suspension schwanken kann. Eindeutigere Ergebnisse zur Messung der Inaktivierungsrate liefern hingegen agglomeratfreie Sporensuspensionen aus der submersen Produktion. Da die Keimreduktion ab Beginn der Behandlung linear verläuft, können direkte Rückschlüsse auf die Resistenz der durchschnittlichen Sporen der Suspension gezogen werden. Die Sterilisationsgeschwindigkeit hängt direkt mit der Resistenz der Sporen zusammen und ist nicht vom Zerfall von Agglomeraten abhängig. Dies macht den Vergleich von verschiedenen Sterilisationsversuchen wesentlich sicherer, weshalb diese Sporensuspensionen für die Validierung von Sterilisationsprozessen besser geeignet scheinen.

Literatur:

[1] Higgins, D; Dworkin, J (2012): Recent progress in Bacillus subtilis sporulation. *FEMS microbiology reviews* 36 (1), 131–148.

[2] Setlow, P (2014): Spore Resistance Properties. In: *Microbiology spectrum* 2 (5) 1-14.

[3] Lopez, D; Vlamakis, H; Kolter, R (2009): Generation of multiple cell types in Bacillus subtilis. *FEMS microbiology reviews* 33 (1), 152–163.

[4] Vlamakis, H; Aguilar, C; Losick, R; Kolter, R (2008): Control of cell fate by the formation of an architecturally complex bacterial community. *Genes & development* 22 (7), 945–953.

Dank: Das IGF-Vorhaben 19358 N des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Forschungsgebiet Strukturbildung und -charakterisierung
Workgroup Structure formation and -characterization

Enhancement of pea protein techno-functionality by Osborne fractionation

Verbesserung der Erbsenproteintechnofunktionalität durch Fraktionierung nach Osborne

Jannika Dombrowski, Anna Cäcilie Möller, Caren Tanger

In our constantly growing population, the demand for highly nutritious and functional food is increasing. Moreover, foods are expected to provide beneficial health effects. For that reason low sugar, salt as well as fat contents, and instead, high protein levels are striven for. Furthermore, vegan nutrition gains more attention. Due to their adverse ecological footprint, proteins of animal origin are increasingly replaced by alternative protein sources. New strategies using proteins derived from plants could cover the growing requirement for proteins and the demands for healthy, high-quality food. With the well-directed exploitation of the functional and nutritional properties of plant proteins in food formulations, at least a partial replacement of ingredients of animal origin could be achieved. After cereals, legumes such as peas are the second most important plant-based human food source. Although peas contain anti-nutritional factors, which may have deleterious effects and can inhibit digestion, they are considered highly nutritious and are even associated with health benefits beyond basic nutrition [1]. Despite the fact that peas are widely consumed, the application of protein-based ingredients from pea in food is not yet well established. This can be attributed to the limited knowledge of the contained protein structures and their respective functionality, which in turn, is due to insufficient separation and purification processes that provide native and pure pea protein isolates (PPI). Besides a certain off-taste, a major drawback of current pea protein products refers to their poor solubility. This is mainly reducible to phenolic compounds, fatty acids, fatty acid oxidation products as well as saponins [2]. However, protein solubility is considered a prerequisite for protein's techno-functionality [3]. In Fig. 1, protein solubility of three different, commercially available pea protein isolates ($c_{protein}$ ~ 82%; PPI 1, PPI 2 and PPI 3; *Pisum sativum* L.) is displayed as a function of pH value. Protein solubility was probed by means of bicinchoninic acid protein assay (BCA Protein Assay), whereby bovine serum albumin (BSA) served as standard.

Depending on pH, solubility of pea protein isolates ranged from < 0.1 up to 0.6. Similar to milk proteins, minimal solubility was observed for pH values of 4-5, which conforms to the isoelectric region of the protein molecules. Overall, solubility of the selected pea protein products clearly differed, which can be attributed to differences in processing history, and presumably protein composition.

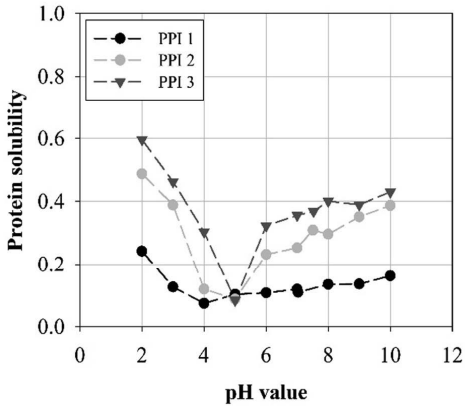


Fig. 1: Protein solubility of three different, commercially available pea protein isolates.

In general, pea proteins can be classified into four groups: albumins, globulins, prolamins and glutelins. Related to the total protein content of peas, the salt-soluble globulin fraction (65-80%) is the main component, followed by the water-soluble albumin fraction (15-25%). EtOH-soluble prolamins and lye-soluble glutelins account for less than 10% of the total pea protein [4]. Concluding, globulins and albumins are most relevant regarding structure formation in terms of e.g., foam formation and stabilization due to their amount as well as solubility behavior, presumably. Based on its comparatively high solubility across a wide pH range, further experiments were conducted with PPI 3.

To establish a comprehensive knowledge of a complex product such as PPI, protein fractionation represents a reasonable initial approach. As already mentioned, pea proteins differ in their solubility behavior, wherefore a procedure of sequential dissolution and separation steps involving different solvents (i.e., water, sodium chloride, ethanol and sodium hydroxide) as originally proposed by Osborne [5] was performed. Accordingly, four fractions, i.e., albumins, globulins, prolamins and glutelins, were obtained. The resulting protein solutions were adjusted to a protein concentration of 0.1%, whereby the solvent milieu was maintained, respectively. Subsequently, the protein fractions were characterized in view of their foaming behavior using the Dynamic Foam Analyzer DFA100 (Krüss GmbH, Hamburg). Results on the time-dependent evolution of foam height are displayed in Fig. 2. The left diagram refers to the obtained pea protein fractions, whereby the ethanol-soluble prolamin fraction and the lye-soluble glutelin fraction were omitted. For evaluation of the effect of fractionation, non-fractionated PPI dissolved in either water or sodium chloride also was examined for its foaming properties ($c_{protein}$ = 0.1%; Fig. 2, right diagram).

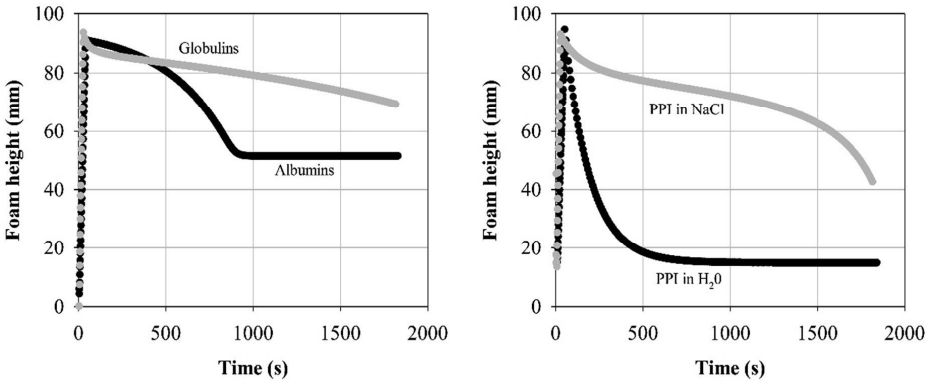


Fig. 2: Evolution of foam height of pea protein fractions (left) and pea protein isolate (PPI) as a function of solvent (right).

Relating to the results of pea protein fractions, globulins and albumins showed a similar behavior in terms of foam formation: by means of air sparging ($\dot{V}$ = 0.2 L min^{-1}, t = 30 s) a volume increase of 200% was achieved for both fractions. However, foam decay behavior of globulins and albumins differed significantly. For the globulin fraction, a decrease of initial foam volume by 27% within 30 min was detected. In comparison, albumins were less effective in stabilizing the newly formed air/water interfaces, which in turn led to a foam volume reduction by 43%. A possible explanation for this finding can be derived from zeta potential measurements (data not shown). Due to the comparatively high ionic strength of the salt-dissolved globulins, surface charge of the protein molecules was relatively low. Consequently, higher packing density within the interfacial film as well as more pronounced protein-protein interactions can be held responsible for the higher foam stability of the globulin fraction as compared to the water-dissolved albumins. Regarding the results of PPI as a function of solvent in comparison to the corresponding pea protein fractions, fractionation clearly had an enhancing effect on foam stability. This observation can be attributed to the separation of insoluble protein fractions as well as presumably insoluble impurities. On the one hand, this entails a higher effective amount of soluble protein being available for surface adsorption and stabilization. On the other hand, surface film formation is not impeded by competition of soluble and insoluble molecules.

Concluding, pea proteins offer promising functionality. However, profound mechanistic knowledge on pea protein structural and functional characteristics is lacking, wherefore efficient and targeted use of pea proteins is a challenge so far. Comprehensive research is needed to fully exploit the potential of this alternative protein source. Therefore, our new IGF Project (AiF 20197 N) aims at creating a new platform of knowledge and methodology for the value-adding application of pea proteins in food products.

Literatur:

[1] Roy, F.; Boye, J.I.; Simpson, B.K. (2010). Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. Food Research International, 43, 2, 432-442.
[2] Price, K.R.; Griffiths, N.M.; Curl, C.L.; Fenwick, G.R. (1985). Undesirable sensory properties of the dried pea (*Pisum sativum*). The role of saponins. Food Chemistry, 17, 2, 105-115.
[3] Kinsella, J.E. (1981). Functional properties of proteins: possible relationships between structure and function in foams. Food Chemistry, 7, 273-288.
[4] Boye, J.I.; Aksay, S.; Roufik, S.; Ribéreau, S.; Mondor, M.; Farnworth, E.; Rajamohamed, S.H. (2010). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. Food Research International, 43, 2, 537-546.
[5] Osborne, T.B. (1909). The vegetable proteins. Wentworth Press, 2016 (new edition).

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

Modellverkapselungssystem auf der Basis von Kartoffelprotein

Model encapsulation system on the basis of potato protein

David Andlinger

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, um pharmazeutische und ernährungsphysiologisch relevante Stoffe vor Umwelteinflüssen zu schützen, wurde [1]. Bei der Herstellung werden Proteinlösungen über thermische Denaturierung in den Hydrogelzustand überführt. Durch einen anschließenden Lösungsmittelaustausch

wird das enthaltene Wasser durch Ethanol ersetzt, und ein Alkogel entsteht. Das CO_2-lösliche Ethanol wird anschließend durch das Verfahren der überkritischen Extraktion dem Gelnetzwerk entzogen.

Es entsteht ein feinporiges Grundgerüst mit hoher spezifischer innerer Oberfläche und Volumen, welches mit den zu verkapselnden Stoffen beladen werden kann [2]. Zur Erzeugung dieser Aerogelstrukturen sollen nun erstmals Proteinisolate aus Kartoffeln (PPI) eingesetzt werden. Kartoffelprotein besitzt eine hohe ernährungsphysiologische Wertigkeit, vergleichbar mit der von Ei, und ist darüber hinaus noch hypoallergen. Um dieses neuartige Protein als Verkapselungsmatrix verwenden zu können, müssen strukturelle Eigenschaften der wässrigen und alkoholischen Gele charakterisiert werden. Aus dem Vorgängerprojekt (AiF 17485 N „Hochporöse Aerogele aus Protein") war bekannt, dass die Struktur des Hydrogelnetzwerks während des Lösungsmittelaustausches erhalten bleibt und somit die Härte des Alkogels bestimmt. Für Gele aus Molkenproteinisolat (WPI) und Eiklar konnte gezeigt werden, dass steigende pH-Werte der Ausgangslösungen mit steigender Widerstandskraft der Alkogele korrelierten.

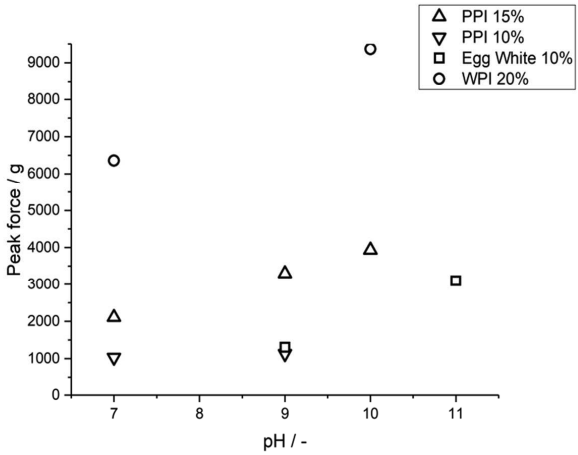


Abb. 1: Widerstandskraft von Alkogelen aus verschiedenen Lebens mittelproteinen in Abhängigkeit des pH-Wertes der Ausgangslösung. Die Prozentangaben geben den Proteingehalt der Ausgangslösung an.

Bei hohen pH-Werten sind globuläre Proteine stark geladen und stoßen sich somit stärker voneinander ab, gleichzeitig ist die Reaktivität von Thiolgruppen stark erhöht.

Dies führt zu einem verstärkten Thiol-Disulfid-Austausch zwischen den Proteinen. Es entsteht ein Gelnetzwerk, welches aufgrund der hohen Ladung der Proteine geordnet und aufgrund der entstandenen kovalenten Disulfidbindungen sehr stabil ist. 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, da es zu keinem Thiol-Disulfid Austausch kommen kann. Wie sich dieser Mangel an Disulfidbindungen auf die Strukturbildung von PPI auswirkt, sollte in dieser Arbeit untersucht werden. Um die Herstellung von Aerogelen aus Kartoffelprotein zu untersuchen, wurden makroskopische Hydrogelkapseln erzeugt und in Ethanol gewaschen. Wie bereits für WPI und Eiklar festgestellt, wiesen Alkogele eine vielfach höhere Widerstandskraft als die Ausgangshydrogele auf. Darüber hinaus beeinflusst der pH-Wert der Ausgangslösung die Widerstandskraft der Gelkapseln nach einem vollständigen Lösungsmittelaustausch. Abb. 1 zeigt diesen Zusammenhang für die beiden untersuchten PPI Proteinkonzentrationen.

Zum Vergleich wurden Ergebnisse für WPI und Eiklar aus dem Vorgängerprojekt, dargestellt. Die Widerstandskraft der PPI Kapseln liegen im Bereich der von Eiklar. Bei PPI 10 % bildet sich bei pH 10 kein Gel, weshalb dieser Wert fehlt. WPI bildete stärkere Gele aus, allerdings war die Proteinkonzentration für dieses System auch am höchsten von allen untersuchten Lö-

sungen. Mit steigenden pH-Werten weisen die Kapseln eine höhere Widerstandskraft auf, was auf die höhere Ordnung des Netzwerkes zurück zu führen ist. Nach der Trocknung der Alkogele mit überkritischem CO_2 wurde durch das BET-Verfahren die innere Oberfläche der Kapseln bestimmt. Abb. 2 zeigt die innere Oberfläche pro Gramm Aerogel für verschiedene Proteinsysteme. Die Werte für WPI und Eiklar wurden auch hier aus dem Vorgängerprojekt übernommen. PPI Gele wiesen ähnliche innere Oberflächen wie WPI auf, unabhängig von der PPI Konzentration.

Ein hoher pH-Wert führt somit auch in PPI Gelen zu einer geordneten Struktur und bleibt während des Lösungsmittelaustausches und der Trocknung erhalten. Die Ergebnisse zeigen, dass PPI geeignet ist Aerogelstrukturen ausbilden, obwohl ein stabilisierender Thiol-Disulfid Austausch nicht stattfinden kann. Dabei weisen PPI Gele ähnliche hohe innere Oberflächen wie WPI Gele auf, und dies sogar bei geringerer Proteinkonzentration.

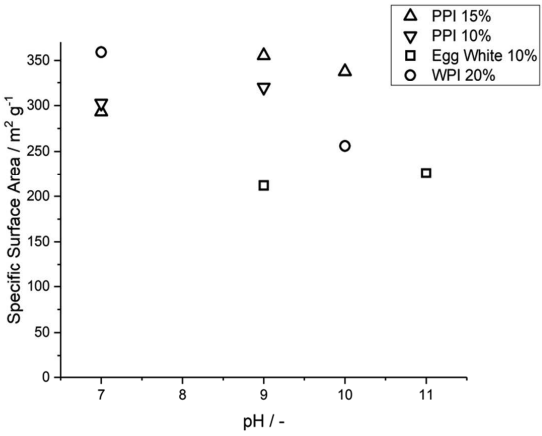


Abb. 2: Spezifische innere Oberfläche von Aerogelen aus verschiedenen Lebensmittelproteinen in Abhängigkeit des pH Wertes der Ausgangslösung. Die Prozentangaben geben den Proteingehalt der Ausgangs lösung an.

Literatur:

[1] Kleemann C, Selmer I, Smirnova I, Kulozik U. Tailor made protein based aerogel particles from egg white protein, whey protein isolate and sodium caseinate: Influence of the preceding hydrogel characteristics. Food Hydrocolloids. 2018;83:365–74. doi:10.1016/j.foodhyd. 2018.05. 021.

[2] Betz M, García-González CA, Subrahmanyam RP, Smirnova I, Kulozik U. Preparation of novel whey protein-based aerogels as drug carriers for life science applications. The J. Supercritical Fluids. 2012;72:111–9. doi:10.1016/j.supflu.2012.08.019.

Dank: Das IGF-Vorhaben 19712 N des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

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

Analyse von oberflächenrheologischem Verhalten mittels Lissajous-Plots
Analysis of surface rheological behavior with Lissajous plots
Oliver Gmach

Emulsionen und Schäume gehören aufgrund ihres Aufbaus zu den SIDMs (soft interface dominated materials). Aufgrund ihrer großen Oberfläche ist ihr Verhalten direkt von der Beschaffenheit des Grenzflächenfilms abhängig. Neben der Grenzflächenspannung sind oberflächenrheologische Messgrößen wie Grenzflächenelastizität (Speichermodul) und Grenzflächenviskosität (Verlustmodul) ausschlaggebend für die Stabilität des Systems gegenüber Scherung, beispielsweise während Pump- oder Rührprozessen (Sagis und Fischer, 2014). Die Messung grenzflächenrheologischer Größen erfolgt in diesem Fall mittels der „oscillating drop method“ (ODM). Dabei wird ein Flüssigkeitstropfen am Ende einer Kanüle erzeugt und sein Volumen oszillierend in Form einer Sinusschwingung verringert und vergrößert (Abb. 1). Die Tropfenkontur wird mit Hilfe einer Hochgeschwindigkeitskamera mit mehreren Bildern pro Sekunde aufgezeichnet. Durch den Zusammenhang der Tropfenkontur, des Tropfenvolumens und der Tropfenradii kann mit Hilfe von Software die Grenzflächenspannung errechnet werden. Diese folgt der Oszillation des Tropfenvolumens und kann zur graphischen Veranschaulichung als sog. Lissajous-Plot dargestellt werden. Benannt sind sie nach dem französischen Physiker Jules Antoine Lissajous.

Abb. 1: Oszillierender Tropfen

Diese Plots sind Kurvengraphen, die durch die Überlagerung zweier harmonischer, rechtwinkelig zueinanderstehender Schwingungen entstehen. In diesem Fall wird die Veränderung der Grenzflächenspannung (Y-Achse) über der Deformation (X-Achse) aufgetragen. Die gezeigten schematischen Lissojous-Plots (Abb. 2) zeigen mögliche Formen und ihre Interpretation hinsichtlich der Grenzflächenrheologie. Dabei werden linear-viskoelastisches Verhalten (A), scherverdünnendes (B) sowie scherverdickendes Verhalten (C) als auch nichtlineares Verhalten (D) beschrieben. Die rheologischen Phänomene entstehen durch strukturelle Veränderungen der Grenzfläche. Beispielsweise können sich adsorbierte Phospholipide oder Proteine unter Scherung in Fließrichtung ausrichten, sich von der kleiner werdenden Grenzfläche lösen oder neu geschaffenen Grenzfläche besetzen. Diese Nicht-Linearität wird bei der Anwendung oszillierender Scherversuche genutzt, um anhand des Antwortsignals der Grenzflächenspannung auf die Deformation Aufschluss über das Verhalten des Grenzflächenfilms zu erhalten.

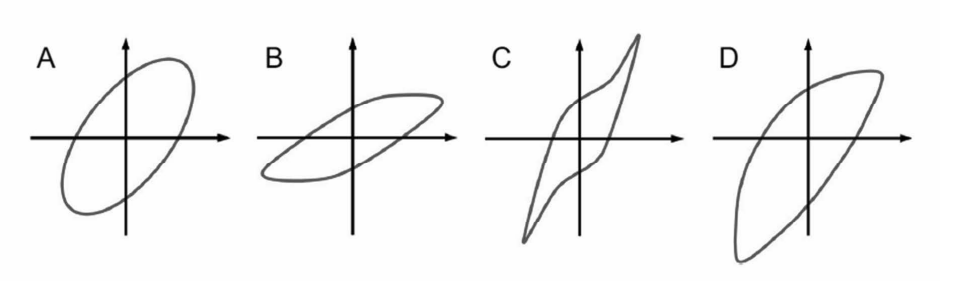


Abb. 2: Schematische Lissajous-Plots für grenzflächenrheologische Effekte (Sagis und Fischer, 2014)

In dieser Arbeit wurden die Eigelbfraktionen Plasma und Granula, die aufgrund ihrer Zusammensetzung vollkommen verschiedene Grenzflächenzusammensetzungen hervorrufen, hinsichtlich ihrer oberflächenrheologischen Eigenschaften mittels oszillierendem Tropfen bei

verschiedenen Amplituden untersucht. Bei der Verwendung von Plasma adsorbieren vor allem Phospholipide und kleine Proteine an der Grenzfläche, wohingegen im Granula große Partikel und Aggregate die Grenzfläche stabilisieren, weshalb sie auch als pickering-stabilisiert angesehen werden können (Rayner et. al, 2014). Für die Untersuchung wurde eine sinusförmige Veränderung des Tropfenvolumens verwendet, um die Grenzfläche, ausgehend von einem eingestellten Gleichgewicht (Wartezeit 7200 s), zu vergrößern und zu verringern. Die Angaben der Amplituden beziehen sich auf die maximal mögliche Auslenkung. Während der Oszillation wurde die Grenzflächenspannung gemessen und diese als Lissajous-Plot über der Deformation aufgetragen. Dies ist für die Plasmafraktion bei Amplituden von 10 und 100 % in Abb. 3 und 4 dargestellt.

Bei einer geringen Deformation (Amplitude 10 %) zeigt Plasma linear-viskoelastisches Verhalten (vgl. Abb. 2). Der Lissajous-Plot des oszillierenden Tropfens verläuft in der Form einer Ellipse, wobei Form der Kurve für Vergrößerung und Verringerung des Tropfenvolumens gleich verläuft. Dies bedeutet, dass der im Gleichgewicht befindliche Grenzflächenfilm ausreichend große Elastizität besitzt, die größer werdende Grenzfläche zu besetzen oder dass neu entstandene Grenzflächen schnell durch zusätzliche grenzflächenaktive Komponenten besetzt werden. Bei stärkerer Volumenänderung (Amplitude 100 %) verändert sich die Antwortfunktion und das Bild des Lissajous-Plots. Die Grenzfläche zeigt bei dieser Verformung nichtlineares Verhalten. Bei der Expansion des Tropfenvolumens kann aufgrund der Form des Plots scherverdünnendes Verhalten angenommen werden und nichtlineares Verhalten während der Verringerung des Volumens.

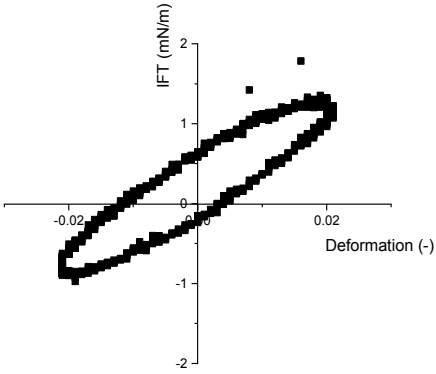


Abb. 3: Plasma, Amplitude 10 %

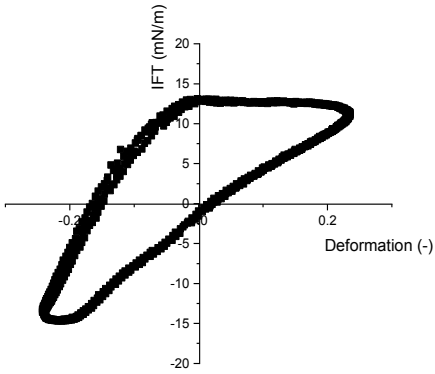


Abb. 4: Plasma, Amplitude 100 %

Ein möglicher Grund dafür könnte sein, dass die neue geschaffene Grenzfläche aufgrund ihrer Größe während der Volumenzunahme nicht sofort durch weitere grenzflächenaktive Stoffe besetzt wird, und es dadurch zu scherverdünnendem Verhalten kommt. Bei Verringerung des Volumens ist ein Teil der Grenzfläche noch immer unbesetzt, sodass dieser Abschnitt beinahe linear verläuft. Die Lissajous-Plots von granulastabilisierten Grenzflächen verlaufen sowohl bei geringer als auch bei starker Deformation in Form einer Ellipse, was den Rückschluss auf linear-viskoelastisches Verhalten zulässt. Die Grenzflächenfilme, welche aus Granulakomponenten gebildet werden, weisen ein gleichbleibendes Verhalten bei unterschiedlich starker Deformation auf. Dies bedeutet, dass neu geschaffene Grenzflächen sofort von Granulakomponenten besetzt werden oder der ausgebildete Grenzflächenfilm ausreichende Elastizität besitzt, die vergrößerte Oberfläche zu besetzen.

Die Messung oberflächenrheologischer Eigenschaften liefert Anhaltspunkte dafür, das Verhalten von Grenzflächenfilmen unter Scherung und Deformation zu erklären. Dadurch können z.B. Destabilisierungsvorgänge und unterschiedliche Stabilitäten von Emulsionen, welche durch die Zusammensetzung des Grenzflächenfilms hervorgerufen werden, besser verstanden und erklärt werden. Grenzflächen, die gleichmäßiges viskoelastisches Verhalten bei Scherung und Deformation aufweisen, neigen weniger dazu, bei Belastungen durch z.B. Pump- oder Rührprozesse aufzubrechen.

Literatur:

- Sagis, L.; Fischer, P. (2014): Nonlinear rheology of complex fluid-fluid interfaces, Current Opinion in Colloid & Interface Science, 19, 6, 520-529.
- Rayner, M.; Marku, D.; Eriksson, M.; Sjöö, M.; Dejmek, P.; Wahlgren, M. (2014): Biomass-based particles for the formulation of Pickering type emulsions in food and topical applications, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 458, 48-62

Dank: Das IGF-Vorhaben 18122 N des Forschungskreises 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.

Vergleich von stufenförmiger und stetiger Temperaturführung während der Messung der dielektrischen Eigenschaften zur Erhitzung von Produkten in der Mikrowelle

Comparison of steady and unsteady control of temperature during the measurement of dielectric properties for microwave heating

Peter Kubbutat

Mikrowellen können im Prinzip Produkte über das gesamte Volumen gleichmäßig erhitzen. Dadurch haben sie klare Vorteile gegenüber der Erhitzung mit Hilfe von Stellflächen oder konvektivem Luftstrom. Die Erwärmung ist dabei direkt mit den dielektrischen Eigenschaften, wie der dielektrischen Konstante oder des dielektrischen Verlustfaktors, des zu prozessierenden Gutes verbunden. Diese bestimmen unter anderem die Eindringtiefe und die Energieaufnahme des Produkts, wobei sich Wasser durch eine gute Absorption von Mikrowellen auszeichnet. Durch ungünstige Formulierungen, wie beispielsweise ein sehr hoher Salzgehalt, können Probleme wie das Anbrennen der Probe oder eine unzureichende Erhitzung auftreten. Besonders kritisch ist dies zu bewerten bei Prozessen, die zur Verbesserung der Produktsicherheit durchgeführt werden wie beispielsweise die Pasteurisation. Da die dielektrischen Eigenschaften temperaturabhängig sind und sich die Pasteurisation über einen breiten Temperaturbereich erstreckt, muss eine entsprechende Untersuchung der dielektrischen Eigenschaften durchgeführt werden. Diese kann sowohl stufenförmig, z. B. für relevante Grenztemperaturen, als auch stetig über einen Temperaturbereich stattfinden. Auf die Vor- und Nachteile soll im Folgenden genauer eingegangen werden.

Zur Messung der dielektrischen Eigenschaften für eine zielgerichtete Mikrowellenerhitzung können verschiedene Verfahren wie das Resonanzmessverfahren oder das open-ended coaxial Verfahren verwendet werden. Dabei hat jede Methode ihre Vor- und Nachteile, die sich beispielsweise durch eine Limitierung der nutzbaren Frequenz oder der möglichen Messauflösung kennzeichnet. Für die Messung von Mikrowellen im Bereich zwischen 1500 und 2600 MHz wurde in dieser Studie daher ein µWaveAnalyser (PÜSCHNER GMBH + CO KG MicrowavePowerSystems, Schwanewede, Deutschland) verwendet. Dieser besitzt eine Resonanzkammer aus Aluminium, in der der S_{11}-Faktor für die Berechnung der dielektrischen Eigenschaften verwendet wird.

Abb. 1: Standartmäßiger Aufbau des dielektrischen Kits für Messungen bei einer festgelegten Temperatur

Dadurch ist die Berechnung von Resonanzfrequenz, Qualitätsfaktor, dielektrischer Konstante und dielektrischen Verlustfaktor möglich. Zur temperaturabhängigen Messung wurden zunächst sowohl das Gerät, als auch die Proben in einer Klimakammer temperiert (Aufbau siehe Abb. 1). Dadurch kann eine schnelle und genaue Probenanalyse durchgeführt werden. Nachteilig ist allerdings, dass die angeschlossenen elektrischen Geräte z. T. sehr tiefen bzw. hohen Temperaturen ausgesetzt sind und die Messung stufenweise erfolgt. Daher sollte ein System entwickelt werden, welches die Messzelle über einen Doppelmantel temperiert und somit eine stufenlose Messung der Eigenschaften über einen weiten Temperaturbereich ermöglicht. Der Doppelmantel wurde mittels eines Huber 161w (Peter Huber Kältemaschinenbau AG, Offenburg, Deutschland) temperiert, sowie über die SpyEvaluation Software (Peter Huber Kältemaschinenbau AG, Offenburg, Deutschland) kontrolliert werden konnte (siehe Abb. 2).

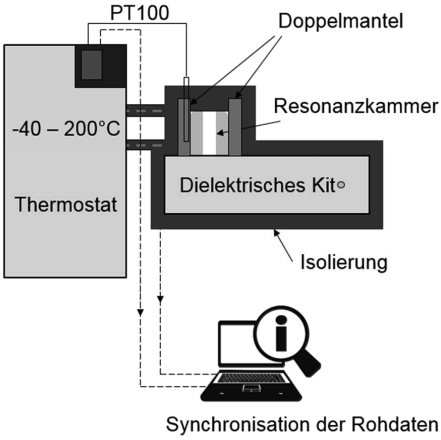


Abb. 2: Schematischer Aufbau für stufenlose dielektrische Messung.

Dies ermöglicht es, sowohl einzelne Temperaturen zwischen -40 und 90 °C zu vermessen, als auch definierte Temperaturrampen einzustellen. Zudem wird bei Einsatz des Doppelmantels ausschließlich der Resonanzkopf temperiert, wodurch die restliche elektronische Peripherie bei Raumtemperatur betrieben werden kann. In Abbildung 3 sind die dielektrischen Eigenschaften von MilliQ-Wasser in einem Temperaturbereich zwischen -35 – 40 °C dargestellt. Dabei ist zu erkennen, dass die dielektrische Konstante und der Verlustfaktor geringerer Temperatur ansteigen und bei ca. -10 °C stark abnahmen, was durch das Gefrieren des Wassers zu erklären ist. Zudem fällt auf, dass das Wasser nicht bei 0 °C, sondern erst bei ca. -10 °C die für Eis typischen niedrigen dielektrischen Eigenschaften aufweist. Ursache hierfür sind die höheren Werte der dielektrischen Eigenschaften von flüssigen Proben im Vergleich zu Feststoffen (Küchler 2009) und ein Konzentrieren der flüssigen Phase während des Gefrierprozesses. Dadurch steigen die dielektrischen Eigenschaften zunächst weiter an, bis das

verbleibende Wasser ausgefroren ist. Dieser Prozess konnte mit Messungen aus der DSC (TA Instruments, New Castle USA) für das verwendete System und Parameter validiert werden (Daten nicht gezeigt). Daher können die stetigen Messungen auch eingesetzt werden, um kritische Prozessabschnitte wie den Gefrierprozess mit definierten Temperaturrampen darzustellen.

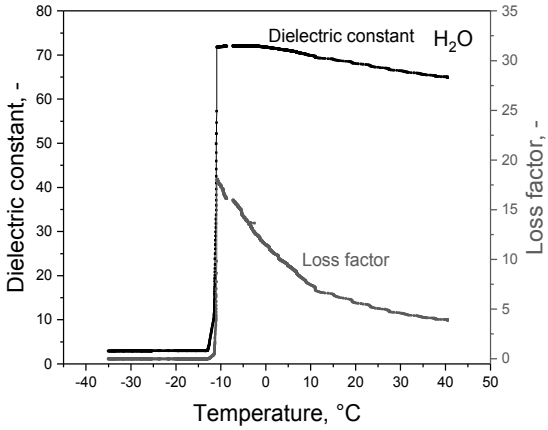


Abb. 3: Kontinuierliche Messung der dielektrischen Eigenschaften von Wasser bei einer Temperatur zwischen -35 - 40°C

Beim Vergleich von konventioneller und kontinuierlicher Methode ergibt sich folgendes Bild: Da mit der konventionellen Methode viele Proben parallel temperiert werden können, ist der Probendurchsatz bei einer definierten Anzahl an Temperaturpunkten sehr hoch.

Durch die beim Wechseln der Vials entstehende Durchmischung der Proben finden beispielsweise Kristallisationsprozesse schneller statt und die Proben befinden sich schneller im Gleichgewicht. Daher eignet sich diese Methode gut zum Probenscreening. Bei der kontinuierlichen Messmethode können hingegen Temperaturrampen verwendet werden, die ein Probenverhalten über einen Prozess hinweg beschreiben können. Zudem kann eine stufenlose Auflösung der dielektrischen Eigenschaften helfen, Ursachen für instabile Prozesse zu identifizieren. Aufgrund der Messdauer der kontinuierlichen Messungen eignen sich diese aber nur für ausgewählte Proben. Somit ist der Einsatz der jeweiligen Methode entsprechend der Zielsetzung der Messung zu wählen.

Literatur:
- Küchler, A. (2009): Hochspannungstechnik. Grundlagen-Technologie-Anwendung. 3. Aufl. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag

Dank: Das IGF-Vorhaben 18819 N des Forschungskreises 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.

Herstellung, Charakterisierung und Emulgiereigenschaften proteinbasierter Partikel

Production, characterization and emulsifying properties of protein based particles

Kurz, Franziska

Emulsionen sind thermodynamisch instabile Systeme mit großer Bedeutung in der Lebensmittelindustrie. Neben niedermolekularen Emulgatoren wie Tensiden eignen sich aufgrund ihrer ausgeprägten Grenzflächenaktivität auch Molkenproteine zur Stabilisierung der Grenzfläche. Hierbei lag der Schwerpunkt bisher vor allem auf den kleinen nativen Proteinen. Daneben sind aber auch hitze-induzierte Molkenprotein-Partikulate in der Lage an der Öl/Wasser-Grenzfläche zu adsorbieren. Der Fokus im Bereich partikelstabilisierter Emulsionen, sog. „Pi-

ckering“-Emulsionen lag bisher v. a. auf der Herstellung und Verwendung synthetischer Modellpartikel. Im Vergleich zu konventionell stabilisierten Emulsionen weisen diese Emulsionen eine erhöhte Stabilität auf. Dadurch bedingt ergibt sich der Ansatz, lebensmitteltaugliche Partikel herzustellen und die Emulgieraktivität der Proteinpartikel derjenigen der nativen Proteine gegenüber zu stellen [1] [2].

Die Molkenproteinfraktion β-Lactoglobulin (β-Lg) aus der Milch eignet sich zur Herstellung thermisch induzierter biogener Partikel. Durch die thermische Behandlung der nativen Proteine (ϑ: 80 °C/ 90 min, $c_{\beta\text{-Lg}}$: 1 %) in Kombination mit der Variation des Erhitzungsmilieus (pH: 3,0; 5,8; 6,8 & 8,5; NaCl: 0 – 80 mM) ist es möglich, Partikel unterschiedlicher Größe und Grenzflächeneigenschaften herzustellen.

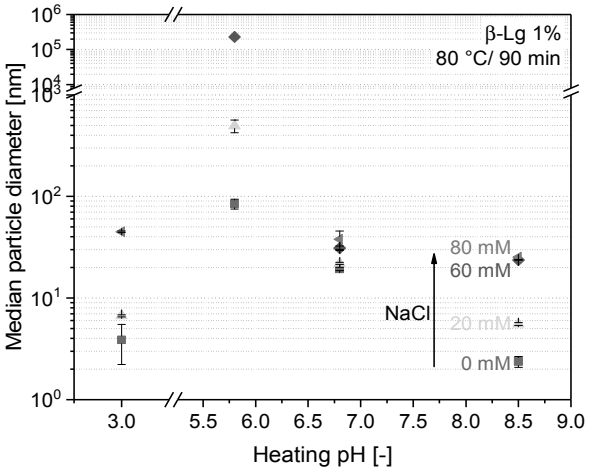


Abb. 1: Partikelgröße in Abhängigkeit des pH-Werts sowie der NaCl-Konzentration während der thermischen Behandlung von β-Lg (ϑ: 80 °C/ 90 min, $c_{\beta\text{-Lg}}$: 1 %).

Aus Abb. 1 geht hervor, dass eine Erhöhung der NaCl-Konzentration von 0 auf 80 mM sowie eine Annäherung des pH-Werts an den isoelektrischen Punkt (~5.2) mit einer Zunahme der Partikelgröße einhergehen. Dadurch ist es möglich, Aggregate mit volumenbezogenen Medianwerten im Größenbereich zwischen 2 nm bis hin zu 100 µm herzustellen.

Um eine Beeinflussung der Charakterisierung und der späteren Grenzflächenstabilisierung der hergestellten Partikel durch Reste von nativem Protein sowie durch NaCl zu verhindern, wurden die Partikel im Anschluss an die Erhitzung mittels isoelektrischer Fällung bzw. Membrantrennfahren aufgereinigt. Da sich die Eigenschaften der gewonnenen Proteinpartikel beim Herstellen von emulgierten Produkten aufgrund der auftretenden Scherkräfte verändern könnten, wurde die Robustheit bzw. Veränderlichkeit der aufgereinigten Proteinagglomerate im simulierten Prozessumfeld untersucht. Hierzu wurden die Partikel (c: 1%, pH 6,8) gezielt relevantem mechanischen Stress (Hochdruckhomogenisierung) ausgesetzt und in Bezug auf Veränderungen in ihrer Größe untersucht. Abb. 2 zeigt exemplarisch die Partikelgröße der bei pH 6,8 und ohne Salz hergestellten Partikel in Abhängigkeit des Homogenisierdrucks. Daraus geht hervor, dass sich die Partikelgröße nicht signifikant mit steigendem Druck ändert und folglich die Partikel eine hohe Robustheit aufweisen.

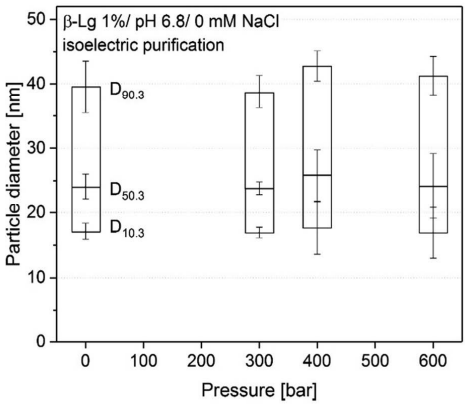


Abb. 2: Partikelgröße der Agglomerate in Abhängigkeit vom Homogenisierdruck (ohne NaCl, pH 6,8).

Zur Untersuchung der Grenzflächeneigenschaften wurden sowohl die Grenzflächenspannung als auch die Öltropfengrößenverteilung in Abhängigkeit des eingesetzten Emulgators untersucht. Anhand von Abb. 3 ist zu erkennen, dass durch die Verwendung der Partikel (pH 6,8; 0 mM NaCl; aufgereinigt) eine Absenkung der Grenzflächenspannung (c: 1%; pH 6,8) entsprechend derjenigen des nativen Proteins erreicht werden kann. Die Grenzflächenaktivität spiegelt sich dabei auch in der Öltropfengrößenverteilung der hergestellten Öl-in-Wasser Emulsionen (c: 1 %; pH 6.8; 10/90 (o/w), Hochdruckhomogenisierung (300 bar, einstufig)) wider. Wie aus Abb. 4 hervorgeht, unterscheiden sich die Größenverteilungen lediglich geringfügig in Abhängigkeit vom eingesetzten Emulgator, wodurch auf eine vergleichbare Emulsionsstabilität geschlossen werden kann. In diesem Zusammenhang werden gegenwärtig die partikelstabilisierenden Kräfte sowie die Emulgiereigenschaften weiterer Partikel untersucht.

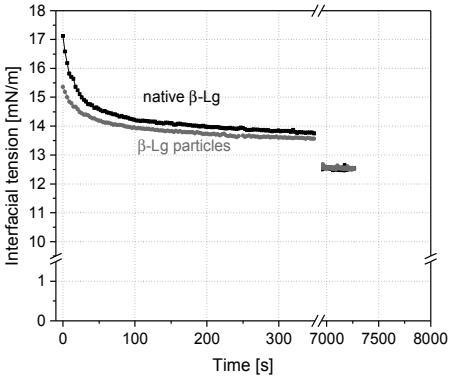


Abb. 3: Grenzflächenspannung in Abhängigkeit des eingesetzten Emulgator (c: 1 %).

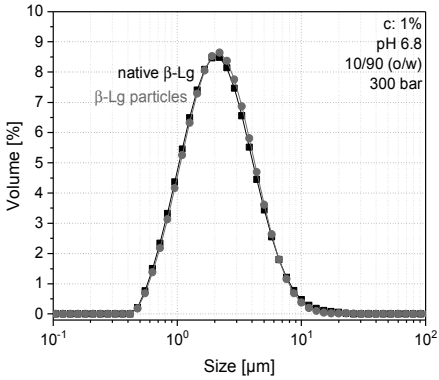


Abb. 4: Öltropfengrößenverteilung (10/90 (o/w), Hochdruckhomogenisator (300 bar, einstufig) in Abhängigkeit des eingesetzen Emulgators bei einer Konzentration von 1 %.

Literatur:

[1] Berton-Carabin, C.C.; Schroen, K. (2015): Pickering emulsions for food applications: background, trends, and challenges. Annual review of food science and technology. 6: 263–297.

[2] Binks, B.P. (2002): Particles as surfactants—similarities and differences. Current Opinion in Colloid & Interface Science. 7 (1-2): 21–41.

Dank: Das IGF-Vorhaben 18621 N des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Dielectric properties of raspberry foams

Dielektrische Eigenschaften von Himbeerschäumen

Mine Ozcelik, Deborah Kracheletz, Sabine Ambros

Snack foods have become widespread, sought-after grocery items. This rise in popularity is mainly because of the fact that snack food products meet the convenience demands of people having a busy lifestyle. Foams made out of fruit purees can be dried and consumed as snacks. Liquid or semi-liquid food is whipped to a mechanically and thermodynamically stable foam with the aid of foaming agents and foam stabilizers such as hydrocolloids. Recently, food producers have shown great interest in replacing animal proteins with plant proteins. In order to obtain a stable fruit foam, we utilized potato protein isolate (PPI) as the foaming agent, and maltodextrin (MD) and pectin (P) as foam stabilizers. PPI proved to be a pertinent plant-based foaming agent thanks to its favorable functional properties. Raspberries were used as model fruit, as they have beneficial effects on health, an attractive color, and a unique flavor. Dried fruit foam emits a strong aroma, which is appealing to consumers, thanks to its highly porous structure.

The combined use of microwaves and a foamed structure was intended to accelerate the drying process, while creating an innovative product structure with intense aroma impact for consumption as a snack. Since the electromagnetic radiation of microwaves heats the product in bulk volumetrically without direct contact, the application of microwave (MW) energy to a freeze-drying process yields higher drying rates and accordingly shorter overall processing times [1]. However, there are some difficulties associated with the implementation of microwave-assisted freeze drying (MWFD) on the industrial scale which is primarily due to non-uniform temperature distribution. It is critical to regulate microwave power and chamber pressure to avoid occurrence of "hot spots" during the process. Dielectric properties of a product provide information of how the material interacts with electromagnetic energy. If electromagnetic waves penetrate into non-conducting dielectric materials, the wave changes its velocity of propagation depending on the dielectric losses of the material. Reflection, absorption, transmission and refraction are typical modes of interaction between material and electromagnetic waves.

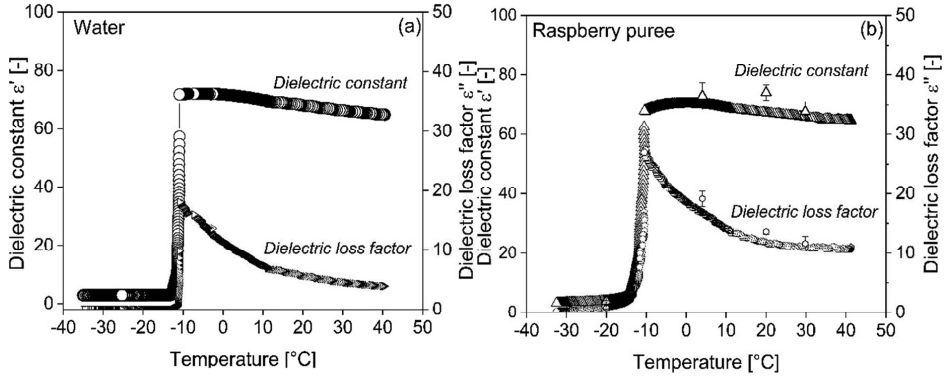


Fig. 1: Dielectric properties of (a) water, (b) raspberry puree

The measurement of these conditions allows calculating the dielectric losses of the material within the electromagnetic wave. The formation of ice is of great concern in MWFD, with the dielectric behavior of a material affecting its heating characteristics. The dielectric loss factor describes energy conversion to heat. While solid water (ice) has a low dielectric loss factor and is almost transparent to microwaves, the dielectric loss factor of liquid water is very high. Dielectric properties of the materials mainly depend on the frequency of electromagnetic field, temperature and chemical composition of the material [2]. In our previous study, we reported that MD and PPI are strongly correlated with drying speed and MW power, respectively [1]. The occurrence of hot/cold spots, which influences the product quality, was further investigated. We observed that the occurrence of hot spots, especially at high MW power levels, strongly depend on the formulations. Therefore, the effect of different concentrations of the ingredients on the dielectric behavior was examined. For the measurement of dielectric properties, a dielectric measurement kit (Model *µWave-Analyser* Püschner Micro-waves, Schwanewede) was used. The open-ended coaxial cavity method was used. Water used as a reference and raspberry puree was used as a blank sample.

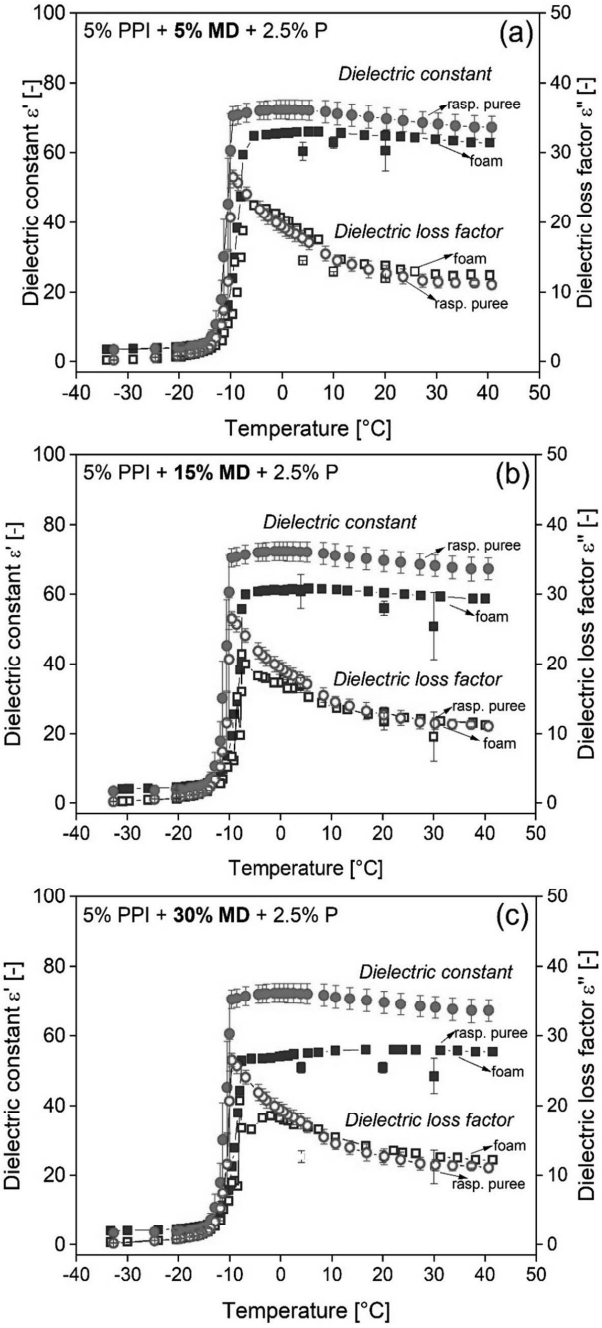


Fig. 2: Dielectric properties of varying MD concentrations

The foam recipes were chosen based on considering different drying behaviors of different foam formulations [1]. The PPI concentration was fixed at 5% (w/w) while testing various concentrations of MD (5, 15, and 30%, w/w). The pectin concentration was kept constant at 2,5 (w/w).

The raspberry puree, foaming agent, and stabilizers were mixed. Fig. 1a shows the dielectric properties of water and 1b shows the raspberry puree. The raspberry puree resulted similar dielectric behavior like water but lower dielectric constant and higher dielectric loss factor.

Fig. 2 depicts the varying MD concentration in comparison to raspberry puree. Increasing MD concentration resulted lower dielectric constant. However dielectric loss factor of the tested foams was not different significantly. The binding of water to the hydroxyl groups of the carbohydrates is suspected to be the main cause of this phenomenon. Slight inhomogeneity of the sample could affect the dielectric properties of the material. Furthermore, during the drying process the dielectric properties also vary depending on the moisture content and whether the water is in free or bound state. The polar molecules of water in free state react more freely than those of bound water. It can be speculated that the impact on the foam structure is more pronounced than that on the dielectric properties of tested recipes.

Literatur:

[1] Ozcelik, M., Ambros, S., Heigl, A., Dachmann, E., & Kulozik, U. (2019). Impact of hydrocolloid addition and microwave processing condition on drying behavior of foamed raspberry puree. Journal of Food Engineering, 240, 83–98.

[2] Ozcelik, M., Püschner, P.-A., (2017). Microwave plant requirements and process control for advanced applications, in: The Microwave Processing of Foods (Second Edition): Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing, pp. 350–380.

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

Partikelgrößenanalytik ohne den Einfluss einer methodisch erforderlichen Verdünnung

Particle size analysis without influence of a methodically required dilution

Marius Reiter

In kolloidalen Systemen wie Milch sowie in milchähnlichen Systemen wie Milchkonzentraten ist die Partikelgrößenverteilung der Caseinmizellen von großer Bedeutung. Änderungen in der Partikelgröße bzw. der Partikelgrößenverteilung liefern nützliche Hinweise über Aggregations- und Dissoziationsphänomene, die dazu beitragen, die Stabilität und makroskopischen Eigenschaften von kolloidalen Systemen zu bewerten. Zur Messung der Partikelgrößenverteilung von mizellarem Casein kommt üblicherweise die dynamische Lichtstreuung (DLS) zum Einsatz. Hierbei wird die Partikelgröße aus der Brown'schen Molekularbewegung der Partikel abgeleitet. Die durch die Bewegung der Partikel schwankende durchschnittliche Intensität des gestreuten Lichts wird mit der Partikelgröße korreliert. Über den gemessenen Diffusionskoeffizienten und der Stokes-Einstein Gleichung kann die Partikelgröße bestimmt werden. Eine der Herausforderungen bei der Analyse der Partikelgrößenverteilung in Caseinsystemen ist, dass die Messungen zur Vermeidung von Sekundärstreuung in klaren Lösungen durchgeführt werden müssen (Alexander und Dalgleish, 2006). Dafür müssen die zu untersuchenden Proben stark verdünnt werden (Dalgleish und Hallett, 1995). Untersuchungen von Beliciu und Moraru (2009) zeigten, dass das verwendete Verdünnungsmedium bei der Bestimmung der

Partikelgrößenverteilung in Caseinsystemen mittels DLS einen starken Einfluss auf die gemessenen Partikelgrößen ausübt. Nach Broyard und Gaucheron (2015) ist die Zusammensetzung und Größe der Caseinmizellen maßgeblich von der Art und Stärke der Ionen bzw. des Ionenmilieus abhängig. Daher ist für eine fehlerfreie Analyse der Partikelgrößenverteilung mittels DLS darauf zu achten, dass ein geeignetes Verdünnungsmedium verwendet wird, womit die jeweiligen Milieubedingungen konstant gehalten werden können.

Zur Vermeidung von sehr langen Filtrationszeiten und dem anschließenden Reinigungsaufwand zur Herstellung eines Verdünnungsmediums mittels Filtrationsanlagen sollte eine Methode entwickelt werden, mit der ohne großen zeitlichen Aufwand eine möglichst hohe Anzahl unterschiedlicher Verdünnungsmedien hergestellt werden können. Mittels Ultrazentrifugation wurde das mizellare Casein in der jeweiligen Ausgangssuspension gezielt abgetrennt und so im Unterstand bzw. Pellet angereichert. Der Überstand setzte sich lediglich aus nicht sedimentierbarem Material zusammen und entspricht somit dem umgebenden Milieu des mizellaren Caseins. Zur Evaluierung des Abtrennungserfolgs der Caseinmizellen wurde die Partikelgrößenverteilung des klaren Überstands mittels DLS sowie die Proteinzusammensetzung mittels RP-HPLC analysiert. Da die in der Caseinsuspension enthaltenen Molkenproteine durch geeignete Bedingungen in der Ultrazentrifuge nicht abgetrennt wurden, wurde der Überstand zur Herstellung der jeweiligen proteinfreien Serumphase im Anschluss mittels eines 10 kDa Zentrifugenfilters in einer Laborzentrifuge erneut zentrifugiert. Dadurch wurden die im Überstand enthaltenen Molkenproteine im Retentat zurückgehalten. Das erhaltene Permeat stellt die jeweilige Serumphase der ursprünglichen Caseinsuspension dar und kann somit als Verdünnungsmedium zur Messung der Partikelgrößenverteilung mittels DLS der Caseinsuspensionen verwendet werden.

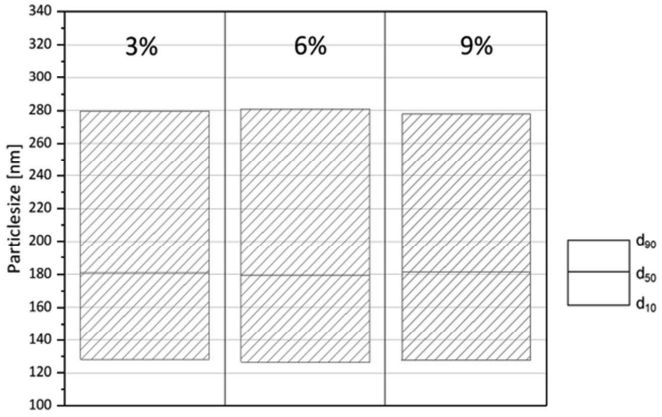


Abb. 1: Partikelgrößen von Caseinsuspensionen mittels DLS durch Verdünnung mit korrespondierender Serumphase in Abhängigkeit der Proteinkonzentration

Abb. 1 zeigt die Partikelgröße von Caseinsuspensionen mit unterschiedlichen Proteinkonzentration, welche mittels DLS und der jeweils korrespondierenden Serumphase als Verdünnungsmedium gemessen wurde. Wie zu erkennen, hat eine methodisch erforderliche Verdünnung mit den hergestellten korrespondierenden Serumphasen keinen signifikanten Einfluss auf die Partikelgröße. Die d_{10}-, d_{50}- und d_{90}-Werte liegen unabhängig von der Proteinkonzentration der Ausgangssuspensionen auf einem Niveaue.

Literatur:
- Alexander, M; Dalgleish, DG (2006): Dynamic Light Scattering Techniques and Their Applications in Food Science. In: *Food Biophysics* 1 (1), 2–13.
- Beliciu, C. M.; Moraru, C. I. (2009): Effect of solvent and temperature on the size distribution of casein micelles measured by dynamic light scattering. In: *Journal of dairy science* 92 (5), 1829–1839.
- Broyard, C; Gaucheron, F (2015): Modifications of structures and functions of caseins: a scientific and technological challenge. In: *Dairy Sci. & Technol.* 95 (6), 831–862.
- Dalgleish, DG; Hallett, FR (1995): Dynamic light scattering: applications to food systems. In: *Food Research International* 28 (3), 181–193.

Morphologie hochkonzentrierter Proteinextrudate

Morphology of highly concentrated protein extrudates

Eva Scheidler, Franz Kuhnert, Eva Guyot

Die Eigenschaften und Funktion von Lebensmitteln beruhen in der Herstellung proteinbasierter Produkte auf der Morphologie strukturierter Proteine. Dies wird in einem neu begonnenen Projekt in Kooperation mit dem KIT (Karlsruhe) untersucht, das hier kurz vorgestellt wird. Durch den Prozess der Extrusion kann der native Zustand von Proteinen durch Einfluss thermischer und mechanischer Beanspruchung verändert werden, sodass Strukturen unterschiedlicher Art (Aggregate, Gelpartikel, Fibrillen) verschiedener Größe, Form und Cluster entstehen. In einem Extruder wird ein Gemisch aus Wasser und einem Proteinpulver definierten thermischen und mechanischen Beanspruchungen unterzogen. Zusätzlich kann die Verweilzeit im Extruder gesteuert werden. Durch diesen Prozess können native, teilstrukturierte, aber auch unterschiedlich vernetzte Strukturen generiert werden.

Für die Produktion von Fleischersatzprodukten (FEP) wird dabei die Generierung hochkonzentrierter anisotroper Strukturen angestrebt, welche nur durch Mehrphasen- und Mehrkomponentensysteme hergestellt werden können. Das Mehrkomponentensystem besteht in diesem Fall aus zunächst unabhängig vorstrukturierten Soja- und Milchproteinen, welche anschließend kombiniert werden (Abb. 1). Unter Variation thermomechanischer (Temperatur im Extruder und Scherung) Einflüsse sowie des pH-Wertes und der Ionenstärke kann die Beschaffenheit der Vorläuferstrukturen verändert werden und somit auch Einfluss auf das entstehende Endprodukt (Teilprozess 3) genommen werden.

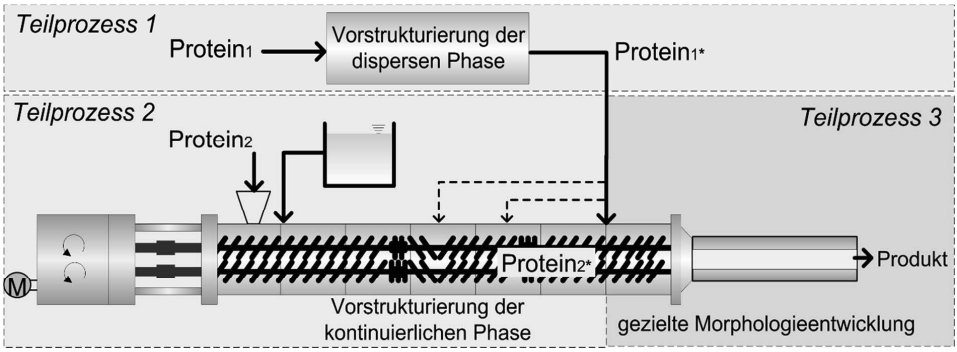


Abb. 1: Prinzip der gezielten Strukturierung von Biopolymeren (Teilprozesse 1 & 2) zur gezielten Morphologieentwicklung in Teilprozess 3.

Die Hypothese ist, dass die Vorstrukturierung des „Protein1“ zu sog. Matrices oder Templaten die Ausbildung der Gesamtstruktur nach Hinzukommen und Co-processing mit „Protein2“ beeinflussen bzw. steuern kann. Aus diesen Erkenntnissen soll die Steuerung der Morphologieentwicklung während der Extrusion ermöglicht werden, um eine Vielfalt an Produkten zu erhalten. Die Aufklärung der Vorgänge während der Extrusion soll weiterhin die Grundlage für die Übertragung auf andere Proteinsysteme schaffen.

Dank: Das IGF-Vorhaben 20249 N des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Veränderung der Fettkugelgrößen und Proteinbesetzung an der O/W Grenzfläche während der thermischen Prozessierung von mehrphasigen, hochkonzentrierten Proteinsystemen

Changes in fat globule size distribution and protein concentration at the O/W interface during thermal processing of multi-phased, highly concentrated protein systems

Stefanie Sedlmeier

In vielen mehrphasigen, thermisch prozessierten Lebensmitteln wie Frisch- oder Schmelzkäse laufen Strukturbildungsreaktionen ab, die bisher nur ansatzweise und phänomenologisch geklärt wurden. Dabei spielt die Art und Weise, wie die disperse Phase, respektive das Fett, in die Matrix eingebunden wird, eine zentrale Rolle. Zum einen beeinflussen anziehende bzw. abstoßende Wechselwirkungen zwischen disperser und kontinuierlicher Phase die Konsistenz und sensorischen Eigenschaften des Produkts, zum anderen führt die Dispersität eines Systems zu einem thermodynamischen Ungleichgewicht [1].

Systeme dieser Art lassen sich als emulsionsgefüllte Gele beschreiben. Die Proteine in der kontinuierlichen Phase bilden einerseits ein dreidimensionales Gelnetzwerk aus, andererseits emulgieren sie die disperse Phase und „verankern“ die Fettkugeln durch Protein-Protein-Wechselwirkungen im Gel. Vorarbeiten [2] zeigten, dass mittels bildgebender Verfahren eine Veränderung der Proteinkonzentration an der Fettgrenzfläche existiert. Auf Grund der hohen Konzentration an Protein als strukturgebende Einheit ist die Analyse des „Emulsionsstatus“, also die Proteinbesetzung an der Grenzfläche, nicht ohne vorangehende Aufarbeitung der Matrix möglich. Durch die Neuentwicklung einer Zentrifugationsmethode, ist es möglich die Fettphase eines emulsionsgefüllten Gels aufzurahmen. Damit sind kompositorische und morphologischen Analysen der Proteinbesetzung möglich.

Zur Herstellung eines Modellsystems, wurden 15% micellares Casein, als strukturbildende Einheit, und 20% Sonnenblumenöl, als disperse Phase, bei 80°C in einem Thermomix prozessiert. Zur Abkühlung wurde das Modellsystem in Probengefäße gefüllt.

Durch vorangehende Homogenisierung wurden unterschiedliche, initiale Fettkugelgrößen mit einem mittleren Partikeldurchmesser d50,3 von 1 µm und 3 µm, generiert. Als Kontrolle dient die Modellmatrix ohne vorangegangene Homogenisierung. Die so erzeugten emulsionsgefüllten Gele wurden verdünnt, dispergiert und bei 10°C kontrolliert aufgerahmt. Die aufgerahmte Fettphase wurde gewaschen, bis kein Protein im wässrigen Unterstand mehr zu detektieren war. Die gewaschene Fettphase wurde mittels RP-HPLC untersucht. Abb.1 zeigt die Proteinkonzentration an der gewaschenen Fettgrenzfläche über der Prozesszeit, in Abhängigkeit der initialen Fettkugelgröße.

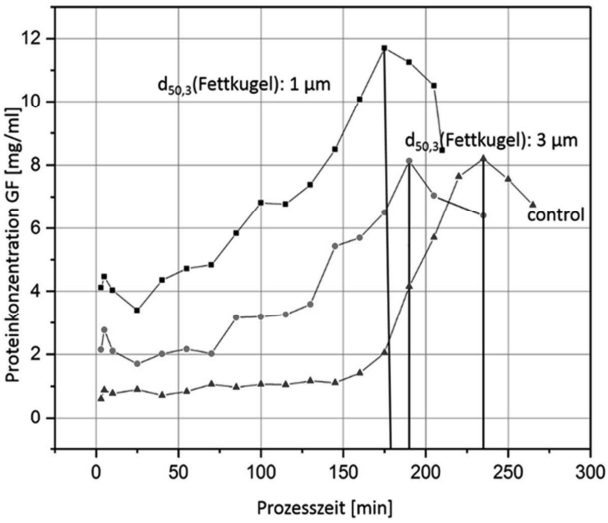


Abb.1: Proteinkonzentration an der Fettgrenzfläche über der Prozesszeit in Abhängigkeit unterschiedlich homogenisierter Matrizes und daraus resultierenden, unterschiedlichen inititalen Fettkugelgrößn.

In allen drei Proben zeigt sich zunächst eine, zum Teil stufenweise, Adsorption von Proteinen an die Fettgrenzfläche im Laufe des Prozesses bevor eine Desorption stattfindet. Dabei zeigen die Proben mit kleineren initialen Fettkugeln eine höhere Proteinkonzentration, dies kann durch die größere hydrophobe Oberfläche erklärt werden. Untersuchungen der Fettkugelgröße über den Verlauf des Prozesses zeigten jedoch keine weitere starke Zerkleinerung der Fettkugeln der vorhomogenisierten Proben (Daten nicht gezeigt).

Erst gegen Ende des Prozesses verschiebt sich das Profil hin zu immer größeren Fettkugeln, hier (Abb. 2) exemplarisch gezeigt für Fettkugeln mit einer initialen Größe von 3 µm ab einer Prozesszeit von 220 min.

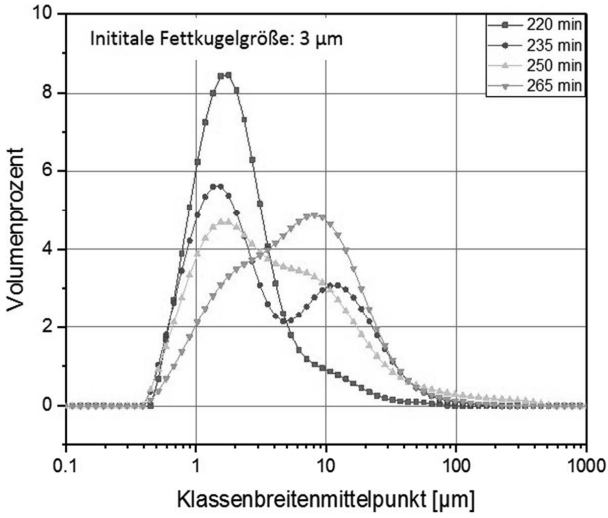


Abb.2: Volumenprozentverteilungen der Fettkugeln über den Verlauf der thermischen Prozessierung einer vorhomogenisierten, dispersen Caseinmatrix: initiale Fettkugelgröße 3µm.

Dies lässt darauf schließen, dass die initialen Fettkugelgrößen von 1 µm bzw. 3 µm ungefähr die Größe besitzen, welche sich durch das Casein durch Chemiesorption und ohne vorangehende Homogenisierung einstellen lässt. Im Rückschluss bedeutet das zudem, dass der Anstieg an Protein an der Grenzfläche nicht durch eine weitere Vergrößerung der hydrophoben Oberfläche zu Stande kommt. Vielmehr nutzen die verbleibenden Proteine im System das vorhandene Fett als Reaktionsoberfläche zur hydrophoben Aggregation untereinander.

Der fortlaufende Eintrag von Hitze und Scherung führt am Ende des Prozesses dazu, dass die Proteine die Grenzfläche verlassen, um sich an der Netzwerkbildung der kontinuierlichen Phase zu beteiligen. Die immer schlechter emulgierten Fettkugeln flokkulieren, bzw. aggregieren, bis sie zusammenschmelzen und am Ende nur noch mechanisch, auf Grund der hohen Viskosität der kontinuierlichen Phase, im Gelnetzwerk gehalten werden.

Diese Analyse zeigt, dass es bei der Prozessierung hochkonzentrierter, disperser Systeme zu einer Art Emulsionsbruch in einem Gelsystem kommen kann. Zunächst fungieren die Proteine als Emulgatoren für die disperse Phase, bevor sie im Verlauf der thermischen Prozessierung ihre Affinität zur Grenzfläche verlieren, weshalb ein Zusammenschmelzen der Fettkugeln auftritt. So gewonnene Erkenntnisse können einerseits zur Prozessstabilisierung disperser Lebensmittel- oder Kosmetikmatrizes beitragen, andererseits erlauben sie eine Aussage über das Aggregationsverhalten amphoterer Moleküle in einer konzentrierten, mehrphasigen Umgebung.

Literatur:
[1] Fenema's Food Chemistry; Damodaran, Parkin; CRC Press; 2017
[2] Lenze, S, Wolfschoon-Pombo, A, Schrader, K, Kulozik, U: Effect of protein and fat content, milkfat globule size and rework addition on the so-called creaming reaction in process cheese manufacture. Food and Bioprocess Technology, DOI: 10.1007/s11947-019-2234-6

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

Heating of Potato Spheres using Microwave Semiconductor or Magnetron Devices

Erhitzung von Kartoffeln mit halbleiter- oder magnetronbasierten Mikrowellen

Somayeh Taghian Dinani, Peter Kubbutat

Microwaves are non-ionizing electromagnetic waves with frequency between 300 MHz and 300 GHz. The frequency of 2.45 GHz is allocated for domestic microwave systems, but the frequencies of 915 MHz and 2.45 GHz are allocated for industrial microwave systems [1]. Microwave thermal processing is an innovative thermal technology that provides rapid volumetric heating within food materials and overcomes the long heating time of traditional thermal processes [2]. Microwave thermal processing has different applications in food industries such as pasteurization, sterilization, drying, blanching, cooking, [3], tempering [4], and thawing. Microwave pasteurization provides more appropriate quality of products (less changes of flavor and nutritional qualities) compared to traditional thermal technologies because of its little treatment time [1].

Generally, pasteurization is used to prolong the shelf life of beverages and foods since it prevents or decreases the growth of pertinent pathogens [5] and it inactivates undesirable enzymes. The influence of microwaves on microorganisms may be due to heat production or a direct non-thermal effect such as cell membrane rupture, electroporation of the cell membrane, and magnetic field coupling with critical molecules of microorganism such as protein or DNA causing death of microorganisms. Therefore, it is possible to destruct microorganisms and inactivate undesirable enzymes at temperatures less than that of conventional pasteurization due to substantial improvement or intensification of microwave thermal effects.

Microwave systems can result in uniform pasteurization process by optimizing food properties (size, shape, and dielectric properties), package geometry, product location inside the microwave applicators [2], microwave power and frequency, and the microwave heating duration [1]. If these parameters are not optimized in the microwave systems, the phenomenon of cold and hot spots in the heated product can be recognized. In this condition, hot spots in the sample are heated very fast and may be overcooked and damaged, whereas the remaining sections of sample especially cold spots are heated less. Therefore, microorganisms and undesirable enzymes are not completely destroyed during microwave pasteurization [1] and it is essential to ensure that cold spots are adequately heated for achieving appropriate pasteuriza-

tion. It is important to notice that cold spot issue is more hazardous for solid food products since convection does not happen in these samples. In this condition, the survival of pathogenic microorganisms and undesirable enzymes in the cold spots are the major obstacles for the extensive development of microwave pasteurization in food industry [4].

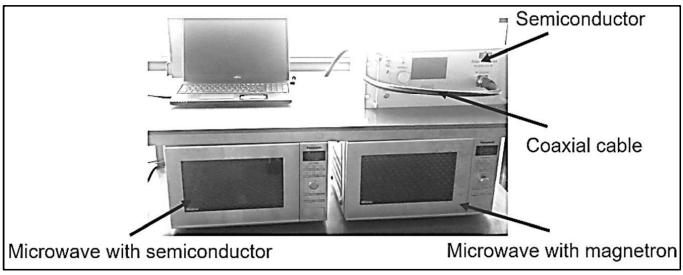


Fig. 1: Microwave semiconductor and magnetron devices.

Microwaves are traditionally produced by magnetrons. However, magnetrons only have on and off control to give the different power levels and the frequency and phase of produced microwaves cannot be changed. One solution for decreasing non-uniformity of microwave heating is using semiconductor instead of magnetron for production of microwaves. It is possible to change the frequency and phase of waves using the semiconductors. Therefore, the cold and hot spots are moved around the cavity and homogeneous microwave field can be obtained. In this condition, heating the products at large-scale can be obtained without the problem of hot and cold spots. In this study, microwave semiconductor and magnetron devices (Fig. 1) were used for pasteurization of potato balls. The hypothesis of this study was applying microwave with semiconductor for pasteurization of potato balls can increase the quality of microwave heated samples and can result in more uniform microwave heating process. Potato balls with diameter of 3 cm were heated for 25 s in both microwave systems at frequency of 2450 MHz and applied power of 165 W. Next, they were cut to five slices (a, b, c, d, e and e slices) and the pictures of potato slices were taken after incubation at 37 ºC for 1 h.

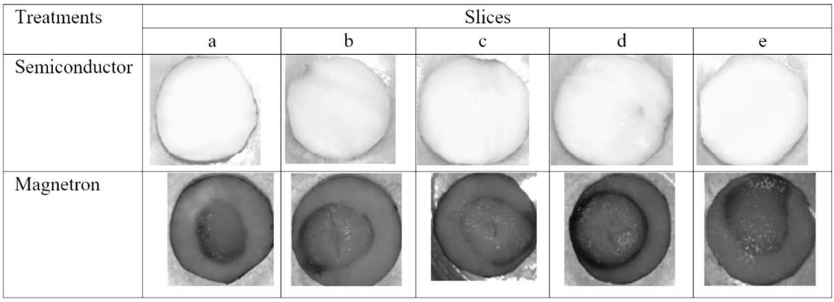


Fig. 2: Potato slices after processing with microwave semiconductor and magnetron devices.

It can be seen in Fig. 2 that the quality of processed potato slices using the microwave semiconductor device was better than those processed by magnetron. In other words, potato slices processed with microwave semiconductor device did not show the browning phenomenon. It means that their polyphenol oxidase enzyme was completely inactivated during the pasteurization process. Therefore, the cold spots were not existent in pasteurization process using microwave semiconductor device.

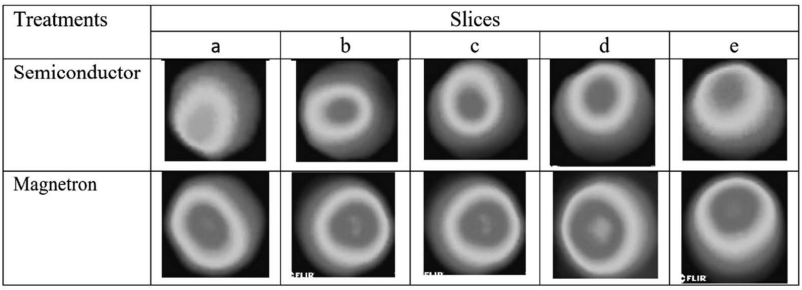


Fig. 3: Thermal images of potato slices processing with microwave semiconductor and magnetron devices.

In addition, the overcooked sections resulting from hot spots were not observed in processed potato slices using the microwave semiconductor device. Therefore, the problem of cold and hot spots was omitted in pasteurization process using the microwave semiconductor device. Fig. 3 shows that potato slices using the magnetron show wider temperature variations than potato slices using microwave semiconductor device. It means that pasteurization process using traditional microwave magnetron device result in non-uniform microwave field and cold and hot spot problem.

Literatur:
(1) Chandrasekaran S, Ramanathan S, Basak T (2013) Microwave food processing-A review. Food Res Int 52:243–261.
(2) Zhang W, Liu F, Nindo C, Tang J (2013) Physical properties of egg whites and whole eggs relevant to microwave pasteurization. J Food Eng 118:62–69.
(3) Dehghan A, Jamalian J, Farahnaky A, et al (2012) The effect of microwave pasteurization on some physical and chemical characteristics of milk. Int J Food Eng 8:1–12.
(4) Boillereaux L, Curet S, Hamoud-Agha MM, Simonin H (2013) Model-based settings of a conveyorized microwave oven for minced beef simultaneous cooking and pasteurization. IFAC Proc Vol 12:193–198.
(5) González-Monroy AD, Kaur Kataria T, Olvera-Cervantes JL, et al (2018) Dielectric properties of beverages (tamarind and green) relevant to microwave-assisted pasteurization. J Food Sci 83:2317–2323.

Gelbildungsverhalten von kaltverlabten Milchkonzentratpulvern

Gelling behavior of cold-renneted milk concentrate powders

Malou Warncke

Molke ist ein essentieller Inhaltsstoff für Lebensmittel wie Getränke oder Babynahrung. Bei der traditionellen Käseherstellung fallen etwa 70 % Molke an, die anschließend aufbereitet und weiterverarbeitet werden können. Jedoch ist Molke in vielen Teilen der Erde aufgrund mangelnder technologischer Ausstattung nach wie vor ein Abfallprodukt. Ein neuartiges Konzept um den Molkeverlust zu reduzieren, ist der Herstellung von pulverbasiertem, molkeablauffreien Käse. Angewandt werden kann das Konzept in Regionen ohne Milchproduktion oder Regionen mit mangelnder Infrastruktur für die Molkesammlung und -verarbeitung.

Molkenproteine können nativ und konzentriert, hitzedenaturiert oder mikropartikuliert in die Käsematrix eingebracht werden [1]. Bulca [2] untersuchte bereits die Labgeleigenschaften von ultrahocherhitzten Milchkonzentraten. Es konnte gezeigt werden, dass es zwei Strategien zur Herstellung eines Labgels aus ultrahocherhitzter Milch gibt: Die Molkenproteine werden vor der Erhitzung entfernt oder die Caseinfraktion konzentriert, um den negativen Effekt der Molkenproteindenaturierung auszugleichen. Diese Erkenntnisse werden sich für das neue Konzept zunutze gemacht. In Kombination mit Sprühtrocknung und Rehydrierung des Pulvers bei hohen Trockenmassen, kann die Molkendrainage reduziert werden.

Es gibt zwei Hauptproteinfraktionen in der Milch: Caseine und Molkenproteine. Nur Erstere ist direkt an der Labgelbildung beteiligt. Das Labenzym Chymosin hydrolysiert das κ-Casein auf der Micelloberfläche in Para-κ-Casein und Caseinmakropeptid. Durch Verlust der Caseinmakropeptide verlieren die Micellen ihre Hydrathülle und werden hydrophob; sie nähern sich einander an und aggregieren [3] (Abb. 1).

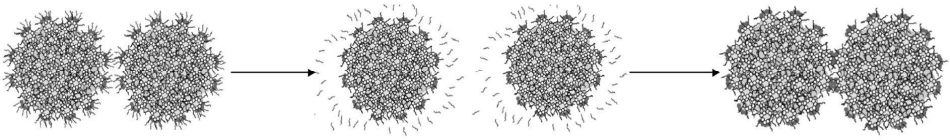


Abb. 1: Schematische Darstellung der Labgelbildung.

Dieser Prozess kann durch folgende Faktoren beeinflusst werden: Enzymkonzentration, Temperatur, pH-Wert und Calciumkonzentration. Des Weiteren bestimmt die Caseinkonzentration die Koagulationsrate. Die Caseinkonzentration sowie das Verhältnis von Caseinen zu Molkenproteinen können mit Hilfe von Membrantrenntechniken variiert werden.

Die Molkenproteine bleiben vom Chymosin unberührt und drainieren mit der Serumphase. Dennoch können sie durch Erhitzung in das Gelnetzwerk eingebunden werden und so die Käseausbeute steigern. Durch Hitze denaturieren die Molkenproteine und das β-Lactoglobulin bindet an das κ-Casein – Hydrolyse und Aggregation werden infolge dessen negativ beeinflusst.

Es gilt, den Grad an Molkenproteindenaturierung zu identifizieren, bei dem die Labgelfähigkeit nicht beeinträchtigt wird. Beurteilt werden kann dies anhand der Gelbildungsgeschwindigkeit und Gelfestigkeit – Rheometer, Gelograph und Texture Analyzer sind hier eingesetzte Messinstrumente.

Das Ziel ist, das Gelbildungsverhalten von kaltverlabten Milchkonzentratpulvern zu charakterisieren. Es wird herausgearbeitet, wie der Denaturierungsgrad der Molkenproteine, die Trockenmasse, die Proteinzusammensetzung und die Trocknungstemperatur interagieren und die Labgelbildung beeinflussen. Die daraus resultierenden Ergebnisse erlauben die Entwicklung des Herstellungskonzeptes für molkenablauffreien Käse.

Literatur:

1. Steffl A (1999) Integration von denaturierten Molkenproteinen in die Matrix von Weichkäse. Technical University of Munich
2. Bulca S (2007) Hitzebedingte Veränderungen an der Caseinmicelle unter UHT-Bedingungen und deren Auswirkungen auf die Käsereitechnologie. Technische Universität München
3. Würth R (2017) Development and characterization of a spray drying microencapsula tion process for probiotics in a cold-renneted skim-milk matrix, Technische Universität München

Forschungsgebiet Trenntechnik
Working area Separation Techniques

Einfluss der Spacergeometrie auf das Filtrationsverhalten in Spiralwickelmembranen

Influence of spacer geometry on filtration performance in spiral-wound membranes

Martin Hartinger

Membrantrenntechnik wird in allen Bereichen der Lebensmittelindustrie eingesetzt, sei es zur Wasser- und Abwasserbehandlung oder zur Konzentrierung von Produkten. Grundprinzip ist, dass durch die Membran eine oder mehrere Komponenten der Feedlösung zurückgehalten werden und dadurch eine selektive Trennung erfolgt. Die zurückgehaltenen Komponenten reichern sich an der Membranoberfläche an und führen häufig zur Bildung einer unerwünschten Ablagerungsschicht. Im Falle der Mikrofiltration verringert sie nicht nur die Filtrationsleistung. Die Deckschicht kann sogar die Eigenschaften der Membran überlagern und als sekundäre Filtrationsschicht die Trenngrenze des Systems bestimmen. Es ist bekannt, dass die Deckschichtbildung durch die Strömungsverhältnisse an der Membran entscheidend beeinflusst wird. Im Falle von Spiralwickelmembranen (SWM) werden feedseitig Spacer unterschiedlicher Geometrie eingesetzt, um die Strömung zu beeinflussen und dadurch Deckschichtabtrag und Filtrationsleistung zu verbessern.

Um den Einfluss der Geometrie auf das Filtrationsverhalten zu ermitteln, wurden ein derzeit gängiger diamantförmiger Spacer und ein neuartiger Parallelspacer (jeweils 44 mil Höhe) in einer Flachmembrantestzelle eingesetzt (Abb. 1). Konzentrierte Magermilch (Konzentrierungsfaktor CF 3) wurde bei einem Transmembrandruck (TMP) von 0,5 bis 3,0 bar und einem Druckverlust von 1,0 bar/m filtriert. Die Proteinpermeation oder auch -transmission wurde mittels reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) bestimmt.

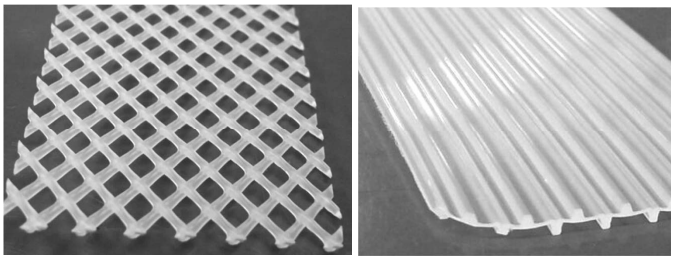


Abb. 1: Diamantförmiger (links) und neuartiger Parallelspacer (rechts).

Abb. 2 zeigt den Flux als Funktion des TMP für den diamantförmigen und den Parallelspacer. Der Flux steigt unabhängig von der Geometrie mit dem TMP an bis zwischen 0,5 und 1,0 bar der limitierende Flux erreicht wird. Dieser unterscheidet sich bei beiden Spacertypen nur geringfügig (ca. 5,2 und 4,9 l/m²h für den diamantförmigen und den Parallelspacer). Mit dem TMP nimmt die Intensität der Deckschichtbildung zu.

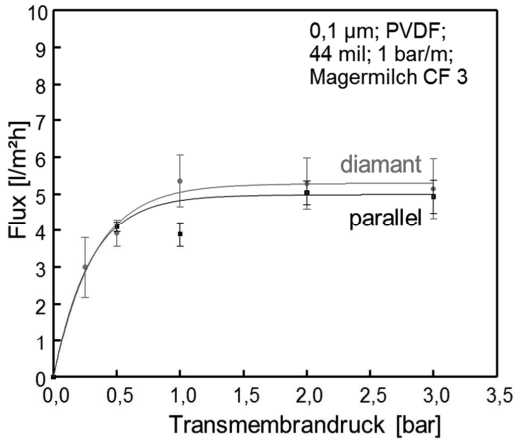


Abb. 2: Flux als Funktion des TMP beim diamantförmigen und Parallelspacer.

Mit zunehmendem TMP sinkt die Transmission unabhängig vom Spacertyp. Die Abweichung der beiden Spacertypen liegt bei ca. 1-3 Prozentpunkten. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass der Einfluss der Spacergeometrie auf das Filtrationsverhalten bei der Testzelle zu vernachlässigen ist. Trotz des abweichenden Ablagerungsverhaltens ist die Filtrationsleistung nahezu gleich. Es ist aber zu beachten, dass bei der Testzelle Abweichungen zum Verhalten in einem realen SWM auftreten.

Aus diesem Grund muss eine Untersuchung im realen Modul erfolgen, um eine endgültige Aussage treffen zu können.

Allerdings ist bei gleichem Druckverlust nahezu kein Einfluss der Geometrie und des damit einhergehenden unterschiedlichen Ablagerungsverhaltens auf den Flux zu beobachten. Gleiches gilt auch für die Transmission des majoren Molkenproteins β-Lacto-globulin (β-Lg) in Abb. 3. Mit zunehmendem TMP sinkt die Transmission unabhängig vom Spacertyp.
den Flux zu beobachten. Gleiches gilt auch für die Transmission des majoren Molkenproteins β-Lactoglobulin (β-Lg) in Abb. 3.

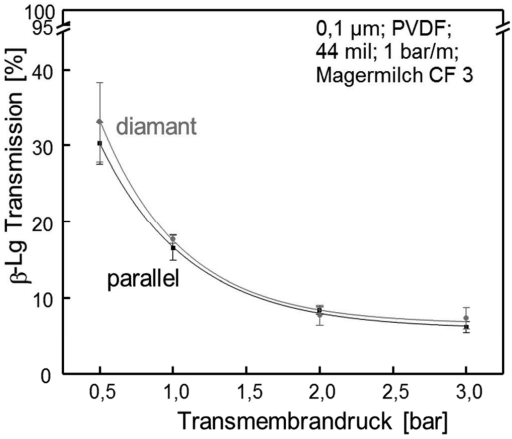


Abb. 3: Transmission von β-Lg als Funktion des TMP beim diamantförmigen und Parallelspacer.

Dank: Das IGF-Vorhaben 18553 N des Forschungskreises 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.

Über die Transmission vom Immunglobulinen bei der Fraktionierung von Milchproteinen mittels Mikrofiltration im Diafiltrationsmodus

On the transmission of immunoglobulins during fractionation of milk proteins by microfiltration in diafiltration mode

Hans-Jürgen Heidebrecht

Hauptfunktionen von bovinen Antikörper sind die Neutralisierung von Toxinen und Viren, die Aktivierung des Immunsystems durch Markierung von Fremdkörpern und die Verhinderung der Anhaftung von pathogenen Keimen an Darmepithelzellen. Diese Funktionen, die durch die Impfung von Kühen für spezifische Antigene funktionalisiert werden können, machen Produkte mit Rinderantikörpern zu einer wertvollen Quelle für verschiedene Lebensmittel- und Pharmaanwendungen. Aufgrund der geringen Konzentration von IgG (0,15-0,8 g L^{-1}), IgA (0,05-0,14 g L^{-1}) und IgM (0,04-1,0 g L^{-1}) in Rohmilch ist jedoch eine Anreicherung der Immunglobuline notwendig. Um die relative Konzentration des Ig zusammen mit den anderen Serumproteinen in der Milch zu erhöhen, kann die Caseinfraktion, die die wichtigste Proteinklasse in der Milch ist und in mizellarer Form vorliegt, entfernt werden. Der Größenunterschied zwischen Caseinmicellen (mittlerer Durchmesser 180 nm) und Serumproteinen (mittlerer Durchmesser 1-30 nm) ermöglicht die Trennung dieser Fraktionen durch Mikrofiltration (MF). Bisherigen Arbeiten zur Milchproteinfraktionierung durch MF konzentrierten sich auf die Trennung von Caseinmizellen und den wichtigsten Molkenproteinen α-Lactalbumin (α-La) und β-Lactoglobulin (β-Lg), aber es gibt Wissenslücken über die Filtrationsleistung der Immunoglobuline sowie anderen minoren Molkenprotein in Bezug auf deren Transmission und Retention. Obwohl das Hauptaugenmerk in dieser Studie auf die Immunglobuline gerichtet war, wurde auch die Transmission der weiteren Molkenproteine Blutserumalbumin (BSA), Lactoferrin (LF) und Lactoperoxidase (LPO) detektiert, weil diese Proteine gleichzeitig mit derselben analytischen Methode quantifiziert werden konnten.

Die kritische Frage hinsichtlich ihrer Fraktionierung ergibt sich daraus, dass die drei Immunglobuline IgG (10.7 nm), IgA (18.1 nm) und IgM (23.8 nm) sowie auch die anderen minorenn Molkenproteinen BSA (7.8 nm), LF und LPO (8.2 nm) einen 2 bis 20-mal größeren mittleren Partikeldurchmesser aufweisen als die majoren Molkenproteine (1.5-4 nm) (Abb. 1). Für die einzelnen Ig-Klassen war daher unklar, ob das Ig zusammen mit den Caseinmicellen zurückgehalten wird und ob oder inwieweit sie mit dem Permeatstrom konvektiv in das Permeat übertragen werden. Abbildung1 zeigt auch, dass es keine Überschneidungen zwischen den Partikelgrößenverteilungen der Immunglobuline und der Caseinmicellen gibt, sodass zumindest theoretisch eine Trennung mittels einer MF-Membran möglich sein sollte.

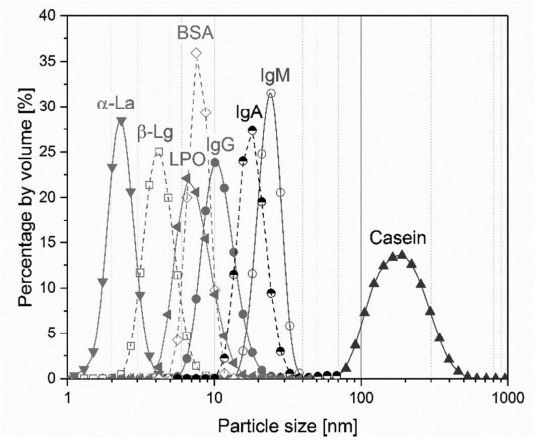


Abb. 1: Partikelgrößenverteilung von nativen Molkenproteinen und Caseinmizellen

Abbildung 2 A zeigt die Abnahme von α-La, β-Lg, IgG, IgG, IgA und IgM im MF-Vorlagebehälter im Vergleich zur idealen Abnahme bei 100% Transmission und der Abnahme der Caseinmicellen in Abhängigkeit des Diafiltrationsschritts. Es ist ersichtlich, dass die Kaseinkonzentration konstant bleibt, während die Konzentration aller Molkenproteine durch die Auswascheffekte der MF sinkt. Im Vergleich zur idealen Abnahme bei einer Transmission von 100% (p = 1) ist die Steigung aller Kurven geringer, d.h. p < 1. Dies ist vor allem auf die Rückhaltung von Caseinmicellen zurückzuführen, die sich auf den Membranoberflächen ablagern und so als sekundäre Trennschicht mit eigenem Rückhaltevermögen wirken.

Für α-La sind 3,8 DF-Schritte erforderlich, für β-Lg 4,2 DF-Schritte, um die Konzentration um 90% zu reduzieren. Dies bedeutet, dass 10% der Anfangskonzentration, bezogen auf den Start des DF, im MF-Zuführtank verbleiben. Diese Ergebnisse liegen im erwarteten Bereich, basierend auf früheren Studien. Für eine 90%ige Entfernung der Immunglobuline aus dem MF-Retentat sind 4,6 DF-Schritte für IgG, 5,3 für IgA und 7,3 für IgM notwendig, was bedeutet, dass die Porosität der Casein-Ablagerungsschicht offen genug ist, um die Transmission der Immunglobuline zu ermöglichen.

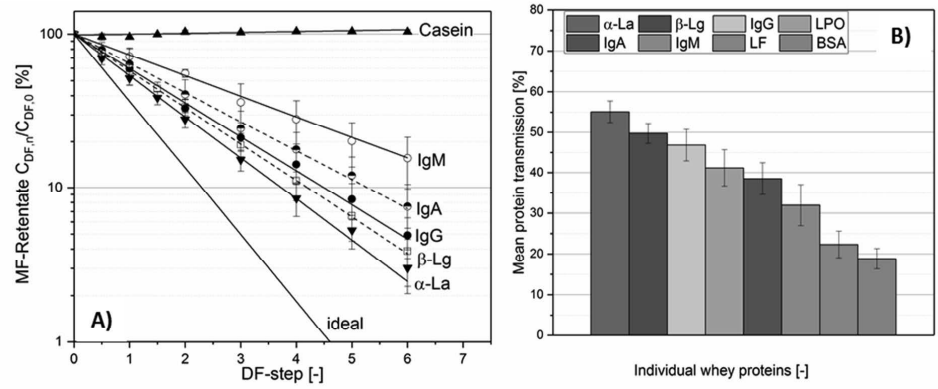


Abb. 2: Abnahme von α-La, β-Lg, IgG, IgA und IgM im Vergleich zur idealen Abnahme bei 100% Transmission und der Abnahme der Caseinmicellen als Funktion der DF-Schritte (A). Mittlere individuelle Proteintransmission bei unterschiedlichen Filtrationsbedingungen (B).

Es gibt fast keinen Unterschied in der Abreicherung von IgG und β-Lg, obwohl IgG bezogen auf den mittleren hydrodynamischen Durchmesser etwa 2,5-fach größer ist. Eine mögliche Erklärung für die gute Transmission von IgG könnte seine natürliche strukturelle Flexibilität oder das Fehlen bzw. geringe elektrostatische Wechselwirkung zwischen den Proteinen und den abgelagerten Caseinmicellen sein. Das heißt, dass sich IgG in seiner Y-Form „verschlanken“ kann uns so membrangängig wird.

Bei einer Filtration mit einem pH-Wert von 6,5 bis 6,55 bei 50 °C sind die Caseinmicellen negativ geladen, während IgG nahezu neutral oder leicht negativ ist. Der isoelektrische Punkt (IEP) des gesamten IgG (IgG1 und IgG2) wurde mit 5,8-6 gemessen. Daher ist IgG bei einem Filtrations pH von 6,5 nahezu neutral oder schwach negativ, was zu einer geringen elektrostatischen Abstoßung zwischen IgG und den abgelagerten Caseinmicellen führt und wiederum die Transmission positiv beeinflussen könnte. IgM (IEP 4.7) und IgA haben einen ähnlichen IEP wie α-La (IEP 4.2-4.5) und β-Lg (IEP 5.13) und sind daher negativ geladen und es ist wahrscheinlich, dass ihre Transmission durch sterische Ausschlüsse dominiert wird. Die Reihenfolge der Transmission der einzelnen Molkenproteine war α-La> β-Lg> IgG > LPO> IgA> IgM > LF> BSA), unabhängig der verwendeten Filtrationsbedingungen und entsprach

55%> 50%> 47%> 41%> 39%> 32%> 22%> 19%. Diese Reihenfolge zeigt, dass die Transmission nicht ausschließlich auf dem Größenausschluss beruht (vgl. Abb. 1), sondern auch andere Faktoren zur Transmission der einzelnen Proteine beitragen müssen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Verwendung von MF nicht nur für die Fraktionierung von Caseinmicellen und der majoren Molkenproteine möglich ist, sondern auch für die Fraktionierung von Casein und Immunglobulinen, was zuvor für IgA und IgM unbekannt war. Die Daten können verwendet werden, um Filtrationssysteme im Hinblick auf die erforderliche Membranfläche auszulegen, wodurch die großtechnische Produktion von an Immunglobulin angereicherter nativer Molke ermöglicht wird. Details können in der unten angebenden Publikation nachgelesen werden.

Literatur:

- Heidebrecht, H.-J.; Kulozik, U. (2019): Fractionation of casein micelles and minor proteins by microfiltration in diafiltration mode. Study of the transmission and yield of the immunoglobulins IgG, IgA and IgM. In: International Dairy Journal, 93, 1-10, 2019

Ausschieben viskoser Produkte aus Spiralwickelmodulen und keramischen Röhrenmembranen

Displacement of viscous products from spiral wound modules and ceramic tube membranes

Ingrun Kieferle

Der Einsatz von Spiralwickelmodulen und keramische Röhrenmembranen ist bei der Herstellung von Milchproteinkonzentraten ist im Rahmen der Milchproteinpulverproduktion weit verbreitet. Nach der Produktion der Konzentrate besteht der ersten Schritt der physikalischen Reinigung im Ausschieben des Konzentrats mit Wasser, wie aus Abbildung 1 hervorgeht. Dabei entsteht unweigerlich eine Mischphase, welche unter Berücksichtigung der hohen Reinigungsfrequenz in der Lebensmittelindustrie zu hohen Produktverlusten führt. Ursächlich hierfür ist, dass das in der Mischphase enthaltene Konzentrat nur unter hohem Energieeinsatz wiedergewonnen werden kann und deshalb auch verworfen wird. Folglich sind beim Ausschieben geringe Mischphasenvolumina erstrebenswert.

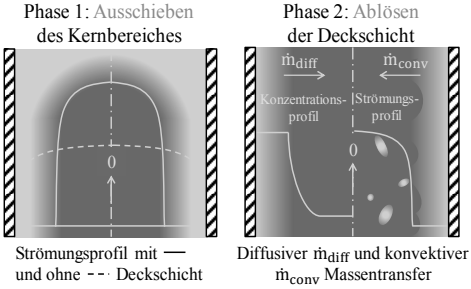


Abb. 1: Ausschieben des Konzentrates und Ablösen der Deckschicht als physikalische Phasen der Reinigung.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Mischphasenvolumina, welche beim Ausschieben des Strömungs-Kernbereiches von Spiralwickelmembranen und keramischen Röhrenmembranen auftreten, experimentell erfasst. Das nachfolgende Ablösen der Deckschicht war nicht Gegenstand der Untersuchung. Als viskoses Modellkonzentrat diente eine aus frischer Magermilch und Milchproteinkonzentratpulver hergestellte Dispersion mit einem Proteingehalt von 13 %. Das Mischphasenvolumen wurde als Produkt des mittleren Zulaufvolumenstroms während des Ausschiebens und der Ausschiebezeit berechnet. Letztere wurde mit Hilfe eines in der Rohrleitung verbauten Trübungssensors ermittelt. Der Ausschiebevorgang wurde beim Erreichen des Detektionslimits von 3 g Protein pro 100 L Wasser als beendet angesehen.

Abb. 2 ist zu entnehmen, welche Mischphasenvolumina beim Ausschieben viskoser Konzentrate aus dem Strömungs-Kernbereich von Spiralwickelmembranen bzw. keramischen Röhrenmembranen bei Zulaufvolumenströmen von 11 m3/h bzw. 7 m3/h entstehen. Da sich die Geometrien der Strömungskanäle sowie die Ausschiebevolumenströme unterscheiden, genügt der Vergleich der absoluten Ausschiebevolumina für eine Beurteilung der ‚Ausspülbarkeit' allerdings nicht. Eine Möglichkeit, die ‚Ausspülbarkeit' zu bewerten ist die Bestimmung des Strömungszustandes mit Hilfe der Reynoldszahl. Die Reynoldszahl Re hängt von der mittleren Geschwindigkeit v, der Dichte ρ und der Viskosität η des betrachteten Fluids (Konzentrat oder Wasser) sowie dem hydraulischen Durchmesser d_h ab (siehe Tabelle 1).

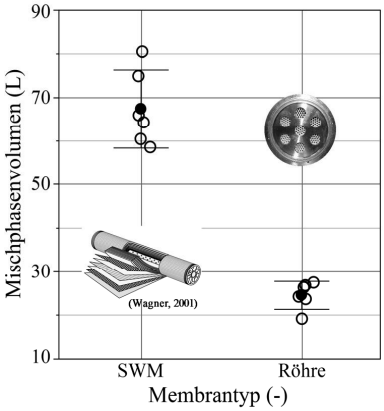


Abb. 2: Mischphasenvolumen (○ Einzelwerte, ● Mittelwert mit 95 %-Konfidenzintervall) beim Ausschieben von Konzentrat aus Spiralwickelmodulen (SWM, Volumenstrom: 11 m^3/h) und keramische Röhrenmembranen (Röhre, Volumenstrom: 7 m^3/h).

Da sich die Zusammensetzung und damit die Viskosität der Mischphase kontinuierlich verändert, wurde die Reynoldszahl jeweils für das voranströmende Konzentrat und das nachströmende Wasser bei den gegebenen Freispülbedingungen nach Schock und Miquel [1] berechnet und in Tabelle 1 aufgelistet. Bei turbulenter Strömung ist der Massentransfer höher als bei Laminarer, wodurch die ‚Ausspülbarkeit' erhöht werden sollte.

Tabelle 1: Vergleich der Reynoldszahlen Re berechnet nach Schock und Miquel [1] mit Standardabweichung für das auszuschiebenden (Milchprotein-) Konzentrat und das nachströmende Wasser im Spiralwickelmodul und in der keramische Röhrenmembran..

$Re = \frac{v \cdot \rho \cdot d_h}{\eta}$	Membrantyp (-)	
	Spiralwickel-modul	Keramische Röhrenmembran
Re(Konzentrat)	254 ± 36	373 ± 40
Re(Wasser)	367 ± 3	3049 ± 83
Kritische Re [1, 2]	300 – 600	2300

Während der Vergleich der Strömungszustände anhand der Reynoldszahl bei geometrisch ähnlichen Strömungskanälen eindeutig ist, ergibt sich im vorliegenden Fall eine Besonderheit: Die kritischen Reynoldszahlen, welche den Übergang vom laminaren zum turbulenten Strömungszustand markieren, unterscheiden sich für Spiralwickelmodule und keramische Röhrenmembranen stark.

Während die kritische Reynoldszahl für eine Rohrgeometrie bei 2300 liegt, werden für Spiralwickelmodule auf Grundlage von Computersimulationen Werte zwischen 300 und 600 angegeben [2, 3]. Damit ist der Strömungszustand des Konzentrates beim Ausschieben in beiden Fällen laminar. Anders verhält es sich in Bezug auf die Wasserphase. Deren Strömungszustand ist beim Ausschieben der keramischen Röhrenmembran mit einer Reynoldszahl von 3049 eindeutig turbulent, während eine Reynoldszahl von 367 für das Spiralwickelmodul auf den Übergangsbereich von laminar zu turbulent hindeutet. Der Tatsache zum Trotz, dass das Ausschieben der Spiralwickelmembran damit nicht im turbulenten Strömungsbereich stattfindet, ergibt sich für diesen Membrantyp ein geringeres auf die Membranfläche bezogenes

Mischphasenvolumen. Beim Ausschieben des Konzentrates aus dem Kernbereich von Spiralwickelmodulen bildet sich eine Mischphase von 4.2 L pro m^2 Membranfläche, wohingegen dieser Wert für Röhrenmembranen 9.5 L pro m^2 Membranfläche beträgt.

Gilt es also, den absoluten Produktverlust und damit das Mischphasenvolumen so gering als möglich zu halten, ist die Verwendung von keramischen Röhrenmembranen zu empfehlen. Das auf die Membranfläche bezogene Mischphasenvolumen ist zwar größer als bei Spiralwickelmembranen, aber es ist zu erwarten, dass die Proteinrestmengen nach dem Ausschieben geringer sind. Der Grund ist, dass die Strömungsschatten, welche hinter den Kreuzungspunkten der Spacerfilamente der Spiralwickelmembran auftreten, Produktansammlungen begünstigen und das Ausschieben derselben im Vergleich zum freien Querschnitt der Röhrenmembranen ungleich behindern.

Literatur:
[1] Schock G. und Miquel A., 1987. Mass transfer and pressure loss in spiral wound modules. Desalination, 64, 339-352.
[2] Geraldes, V., Semião V. und Pinho M.N.d., 2002. Flow management in nanofiltration spiral wound modules with ladder-type spacers. Journal of Membrane Science, 203(1-2), 87-102.
[3] Schwinge, J., Wiley D.E. und Fletcher D.F., 2002c. Simulation of the Flow around Spacer Filaments between Narrow Channel Walls. 1. Hydrodynamics. Ind. Eng. Chem. Res., 41(12), 2977-2987.

Dank: Das IGF-Vorhaben 18770 N des Forschungskreises 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.

Mein besonderer Dank richtet sich an alle an der Durchführung der Versuche beteiligten Mitarbeiter (u. A. Alexander Herzum, Günther Unterbuchberger, Annette Brümmer-Rolf).

Einfluss unterschiedlicher Diafiltrationsmedien auf die Funktionalität von mizellarem Kasein am Beispiel Joghurt

Influence of different diafiltration media on the functionality of micellar casein using the example of yoghurt

Michael Reitmaier

Mizellares Kasein hoher Reinheit kann im industriellen Maßstab durch Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration von Magermilch erzeugt werden. Durch Anwendung einer Diafiltration (DF) wird dabei natives Molkenprotein sukzessive in den Permeatstrom überführt und ebenso als Einzelproteinfraktion gewonnen. Für das Auswaschen mittels nachgeführtem DF-Medium stehen potentiell unterschiedliche proteinfreie Fluide zur Verfügung. Die Rückführung von mittels Ultrafiltration gewonnenem UF-Permeat erlaubt es, das natürliche Ionenmilieu der Milch aufrechtzuerhalten, wohingegen der Einsatz von vollentsalztem Wasser zum nahezu vollständigen Auswaschen von Lactose sowie Salzen der Milchserumphase und somit der Erzeugung von Isolaten geeignet ist [1]. Der alternative Einsatz anderer in Molkereien verfügbarer Medien kann hierbei bei vergleichbarer Auswaschung von Molkenproteinen, Lactose und einem Großteil der Salze Vorteile bzgl. Aufbereitungskosten und Nachhaltigkeit erzielen [2].

Die mittels dieses Verfahrens gewonnenen Proteinfraktionen werden vornehmlich als sprühgetrocknete Pulver vermarktet und können durch ihre differenzierten funktionellen Eigenschaften nach der Auftrennung gezielt zur Produktbeeinflussung z.B. in Joghurt eingesetzt werden [3]. Um Auswirkungen des Einsatzes unterschiedlicher DF-Medien auf die Funktionalität der Kaseinfraktion zu untersuchen, wurde Joghurt unter Anreicherung von Magermilch ($c_{Protein}$ =3,5 %) mit unterschiedlich erzeugten Pulvern auf einen Proteingehalt von je 5 % hergestellt.

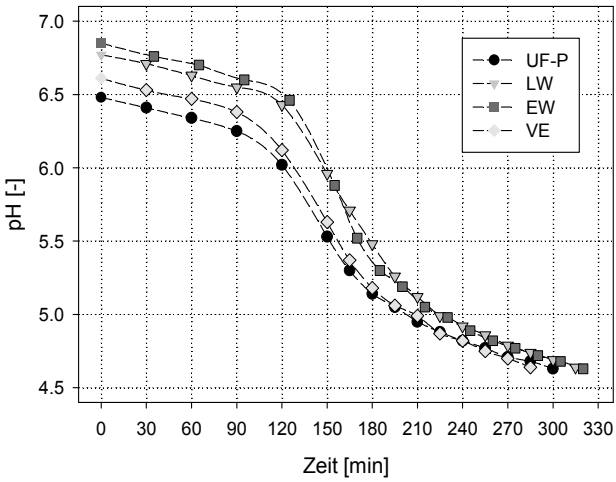


Abb. 1: Verlauf des pH-Wertes während der Joghurtfermentation mit Einstellung des Proteingehaltes mit unterschiedlichen Pulvern.

Im Rahmen der DF vor Sprühtrocknung der zugesetzten Pulver wurden als Medien aus pasteurisierter Magermilch gewonnenes UF-Permeat (UF-P) sowie mehrere Wassertypen unterschiedlicher Härtegrade verwendet. Neben vollentsalztem Wasser (VE), welches durch ein vergleichbares Ionenprofil auch zur Simulation von aufbereitetem Umkehrosmosepermeat oder Brüdenkondensat geeignet ist, wurde zur Aufreinigung der zugesetzten Kaseinanteile auch vor Ort verfügbares hartes Leitungswasser (LW) mit 18 °dH und mittels Ionenaustauscher enthärtetes Wasser (EW) verwendet. Für letzteres ist dabei der vollständige Austausch von im Leitungswasser befindlichen Calcium- und Magnesiumionen durch Natriumionen charakteristisch.

Die mit diesen unterschiedlich erzeugten Pulvern angereicherten Joghurtmilchproben wurde nach Rehydratisierung über Nacht bei 4 °C zur Sicherstellung der vollständigen Lösung der Pulver homogenisiert (200/40 bar). Anschließend wurden sie einer für Joghurtmilch üblichen Erhitzung zur verbesserten Integration von Molkenproteinen ins später ausgebildete Säuregel unterzogen (85 °C, 5 min). Nach Inokulation mit 0,3 % ABT-21® Direktstarterkultur (Chr. Hansen, Dänemark) erfolgte eine Fermentation bei 42 °C bis pH 4,6, gefolgt von einer Abkühlung der Proben auf 4 °C, womit ein vergleichbarer End-pH-Wert von 4,5 nach 18 h Lagerung erreicht wurde. Durch Aufzeichnung des Verlaufs der pH-Wertabsenkung über der Fermentationszeit konnten Unterschiede bzgl. des Ausgangs-pH-Wertes sowie der Zeitspanne bis zum Erreichen des pH-Wertes von 4,6 ermittelt werden. (Abb. 1). Für DF-Medien mit gegenüber Magermilch erhöhtem pH-Wert fand sich ein nach deren pH-Werten (pH_{VE} 7,0, pH_{LW} 7,3, pH_{EW} 7,4) gestaffelter leicht erhöhter pH-Wert der gerade inkubierten Joghurtmilch. Der pH-Wert des für die Herstellung von mizellarem Kasein verwendeten DF-Mediums beeinflusst somit den Ausgangs-pH-Wert der standardisierten Joghurtmilch in Richtung einer leichten Verschiebung zum pH-Wert des Mediums hin.

Die bis zum Erreichen von pH 4,6 benötigte Fermentationszeit wurde so beeinflusst, dass es gegenüber der Verwendung von UF-P-Pulver zu einer Verkürzung mit VE bzw. einer Verlängerung mit EW und LW kam. Bei Einsatz von mit UF-P diafiltriertem Pulver zur Proteinge-

haltsstandardisierung wurde im Gegensatz zu den anderen Pulvern auch der Lactosegehalt und damit einhergehend im Vergleich die Trockenmasse stärker erhöht. Diese Bereitstellung von zusätzlichem Fermentationssubstrat ist dafür verantwortlich, dass trotz höherem Pufferungsvermögen von UF-P der End-pH-Wert schneller als mit LW und EW erreicht wird. Eine im Vergleich zu LW und EW bei VE noch stärker reduzierte Pufferkapazität durch nahezu vollständiges Auswaschen von Ionen der Serumphase während der DF kann diesen Effekt hingegen kompensieren. Während der Fermentation gebildetes Lactat kann hier trotz höherem Ausgangs-pH-Wert in kürzerer Zeit als bei UF-P eine Absenkung des pH-Wertes auf 4,6 erzielen. Zur Bewertung der Eigenschaften der erzeugten Säuregele wurde zunächst die Festigkeit nach Kühllagerung durch Ermittlung der Bruchkraft mittels Eindringtest am Texture-Analyzer bestimmt. Des Weiteren wurde die Serumbindung mittels Zentrifugationstest (3500 xg, 15 min) mit Vergleich der als Überstand abgetrennten Serummasse gegenüber der Masse an Ausgangsprobe herangezogen. Es ergaben sich Unterschiede in der Gelfestigkeit sowie in der Serumlässigkeit (Abb. 2) in Abhängigkeit vom bei der Herstellung des zugesetzten mizellaren Kaseinpulvers verwendeten DF- Medium.

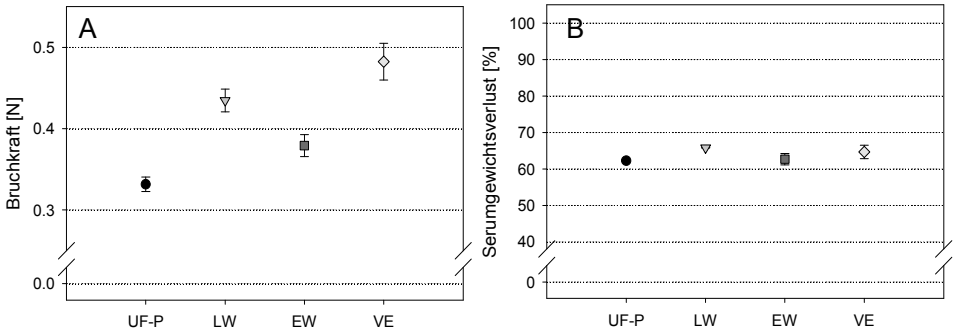


Abb. 2: Bruchkraft (A) und Serumlässigkeit bei Zentrifugation (B) von mit unterschiedlichen Kaseinpulvern angereichertem Joghurt.

Hierbei war erkennbar, dass Joghurt mit mizellarem Kasein aus DF gegen wässrige Medien eine höhere Festigkeit sowie einen höheren Verlust an Serummasse bei Zentrifugation aufweist, als jenes aus DF gegen UF-P. Diese Erhöhungen sind dabei auf eine niedrigere Trockenmasse als auch eine reduzierte Ionenstärke und dadurch erleichterte Gelbildung zurückzuführen. Bei EW könnten durch den überhöhten Anteil an Natriumionen in ihrer Struktur aufgelockerte Kaseinmizellen die ausgebildete Gelmatrix stören und somit eine geringere Bruchfestigkeit aber etwa reduzierten Serumverlust gegenüber LW und VE hervorrufen.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die während der DF induzierten Milieuveränderungen bei Einsatz der Kaseinfraktion in Lebensmitteln über weitere Verarbeitungsschritte hinweg Auswirkungen auf die Produktzusammensetzung haben. Hierdurch werden in der Folge auch Prozessabläufe und relevante Eigenschaften des verarbeiteten Produktes beeinflusst. Dies gilt es somit in der Praxis sowohl bei der Wahl des DF-Mediums bei Durchführung der Milchproteinfraktionierung als auch bei der Auswahl von mizellarem Kaseinpulver unterschiedlichen Ursprungs zu beachten. Die Wahl des DF-Mediums bei der Fraktionierung bzw. des eingesetzten mizellaren Kaseinpulvers ermöglicht in Summe auch eine gezielte Prozess- und Produktbeeinflussung.

Literatur:
[1] Field, R.W.; Bekassy-Molnar, E.; Lipnizki, F.; Vatai, G. (2017): Engineering Aspects of Membrane Separation and Application in Food Processing. CRC Press.
[2] Reitmaier, M., Heidebrecht, H.-J., Kulozik, U. (2017): Milk protein fractionation by means of microfiltration, Influence of preconcentration and diafiltration medium - part 1. International Dairy Magazine, Volume 8, 16-19.
[3] Faber, W.; Bartkowiak, C.; Konrad, G.; Kleinschmidt, T. (2006). Untersuchungen zur Strukturierung von Milchgelen am Beispiel Joghurt. Deutsche Milchwirtschaft, 6/2006, 264-268.

Dank: Das AiF-Vorhaben 18818 N des Forschungskreises 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.

Milchproteinfraktionierung mit keramischen Mehrkanalmembranen bei niedrigen Temperaturen

Milk protein fractionation with ceramic multi-channel microfiltration membranes at low temperatures

Simon Schiffer, Andreas Matyssek

Die Mikrofiltration (MF) (nps ~ 0,1 µm) ist ein schonender Prozess zur Fraktionierung von Magermilch in die beiden Hauptproteinfraktionen Caseine (Ø ~ 50–400 nm) und Molkenproteine (Ø ~ 4–8 nm), um spezifische technologische und ernährungsphysiologische Eigenschaften nutzbar zu machen. Aufgrund eines hohen Massenstroms bei gleichzeitig hoher Reinheit der Molkenproteine im Permeat werden industriell Prozesstemperaturen von ca. 50 °C angewendet. Hohe Filtrationstemperaturen liegen jedoch im Wachstumsoptimum thermophiler Mikroorgansimen (MO), welche zu einem erhöhten Biofouling während der Filtration führen und die Produktionsdauer limitieren. Um das Biofouling zu reduzieren und somit die Zeit zwischen den Reinigungszyklen zu verlängern, kann die Prozesstemperatur auf ca. 10 °C verringert werden. Diese Temperaturänderung hat neben einem reduzierten Mikroorganismenwachstum auch einen Einfluss auf die Filtrationseffizienz. Durch das Herabsetzen der Temperatur wird einerseits die Viskosität des Filtrates erhöht, wodurch der Flux gesenkt wird. Andererseits tritt eine Veränderung der Protein-Protein-Interaktionen auf, welche unter anderem durch eine Abschwächung hydrophober Wechselwirkungen zu einer verstärkten Lösung von Caseinen (insbesondere β-Casein) in der Serumphase führt. Die Partikelgrößenverteilung von gelösten Caseinen liegt in derselben Größenordnung wie die der Molkenproteine, wodurch eine Permeation dieser in das Permeat stattfindet und so eine Verunreinigung der Molkenproteinfraktion verursacht wird.

Zur Reduzierung des Caseingehaltes im Permeat werden unterschiedliche Ansätze untersucht und miteinander kombiniert, sodass die MF bei niedrigen mit derselben Effizienz wie bei hohen Temperaturen durchgeführt werden kann, ohne durch ein MO-Wachstum limitiert zu sein. Eine Optimierung durch einen verbesserten Caseinrückhalt während der MF kann durch Membranmodifikationen vorgenommen werden. Diesbezüglich wurde der Einfluss der Selektivschicht von keramischen Mehrkanalmembranen auf die Effizienz der Milchproteinfraktionierung untersucht. Hierbei wurden 19-Kanal-Membranen mit einer nps von 0,1 µm, einer Länge von 1,178 m und Selektivschichtmaterialien aus ZrO_2 sowie TiO_2 miteinander verglichen. Als Bewertungskriterium für die Filtrationseffizienz diente der spezifische Massenstrom von Caseinen und β-Lactoglobulin (β-Lg) als majores Molkenprotein. Als Bewertungskriterium eignet sich dieser besser als nur die Konzentration der Proteine im Permeat, da er Auskunft über die Geschwindigkeit des Vorgangs der Fraktionierung gibt.

Wie in Gleichung (1) dargestellt, wird der Massenstrom über die Konzentration der Proteine im Permeat und den spezifischen Flux J berechnet.

$$\dot{m} = J * C_{Perm} = \frac{\Delta p_{TM}}{\eta_{Perm} * R_{ges} * A} * C_{perm} \qquad (1)$$

In Gl. (1) sind J der Flux, P die Permeation, Δp_{TM} die transmembrane Druckdifferenz, η die Viskosität des Permeats, A die aktive Membranfläche und c die Konzentration der Proteine im Permeat. Die Filtrationsversuche mit pasteurisierter Magermilch wurden in Doppelbestimmung bei einer konstanten Wandschubspannung von 150,25 Pa bei transmembranen Druckdifferenzen (TMP) zwischen 0,5–1,75 bar mit einer Prozesstemperatur von 10 °C durchgeführt.

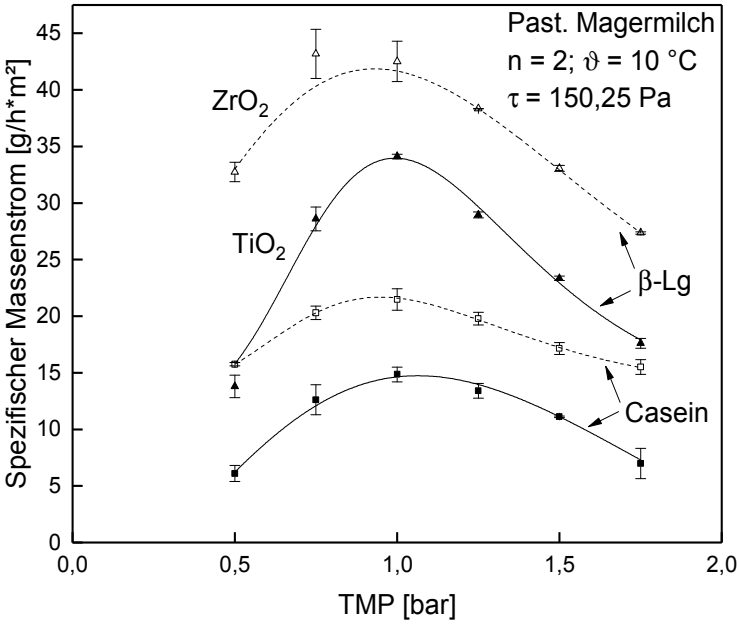


Abb. 1: Vergleich der Massenströme von Casein und β-Lg als Funktion des TMP von Membranen mit TiO_2 und ZrO_2 als Selektivschichtmaterial bei der MF von Magermilch.

Um die Filtrationseffizienz der Membranen zu vergleichen, ist in Abb. 1 der spezifische Massenstrom von Casein und β-Lg über den TMP aufgezeigt. Es ist ersichtlich, dass der spezifische Massenstrom der Proteine bei diesen Membranen unabhängig vom Selektivschichtmaterial mit zunehmendem TMP ansteigt bis bei ca. 1,0 bar ein Maximum erreicht ist. Eine weitere Erhöhung der transmembranen Druckdifferenz führt zu einer Verringerung des spezifischen Massenstroms. Für die Membran mit ZrO_2 als Selektivschichtmaterial kann bei ca. 1,0 ein spezifischer Massenstrom von ca. 42 g/h*m² β-Lg und ca. 21,5 g/h*m² Casein erreicht werden. Dem gegenüber steht ein reduzierter spezifischer Massenstrom bei der Verwendung von TiO_2 als Selektivschichtmaterial, welcher für β-Lg bei ca. 34 g/h*m² und 14 g/h*m² für

Casein liegt. Demzufolge kann über die Wahl des Selektivschichtmaterials entweder die Ausbeute an Molkenproteinen oder die Reinheit an Caseinen optimiert werden. Eine Erhöhung des Massenstroms an β-Lg bei simultaner Verringerung des Casein-Massenstroms ist bei diesen Materialien jedoch nicht umsetzbar.

Auf Grund dieses Zielkonfliktes sind im Anschluss an diese Arbeit Versuchsreihen geplant, in denen neben dem Selektivschichtmaterial eine Veränderung von pH-Wert und Calciumkonzentration stattfindet, sodass die gelösten Caseine in mizellaren bzw. submizellaren Strukturen gebunden und somit abgetrennt werden können, ohne den Massenstrom der Molkenproteine zu reduzieren.

Dank: Das IGF-Vorhaben 19254 N des Forschungskreises 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.

Untersuchung des Proteinmassenstroms auf die Variation des Transmembandrucks und der Wandschubspannung während der Millchproteinfraktionierung mittels keramischer Hohlfasermembranen

Investigation of the protein mass flow on the variation of transmembrane pressure and wall shear stress during milk protein fractionation by means of ceramic hollow fiber membranes

Roland Schopf

Bei der Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration kommt es durch die zurückgehaltenen Caseine aufgrund unzureichender abtragender Strömungskräfte und intermolekularer adhäsiver Haftkräfte zwischen Membran und Protein sowie kohäsiver Haftkräfte zwischen den abgelagerten Proteinen zur Deckschichtbildung mit eigenständigem Retentionseffekt. Dies wirkt sich negativ auf den angestrebten hohen Massenstrom der Molkenproteine aus. Die Prozesseffizienz wird maßgeblich reduziert. Aufgrund ihrer Langlebigkeit und guten Trennschärfe werden für diesen Zweck bisher fast nur keramische Membranen eingesetzt. Als Alternative soll geprüft werden, ob der Einsatz von keramischer Hohlfasermembranen (HFM) in Hinblick auf Durchsatz und Trennleistung im Vergleich zu den keramischen Mehrkanalmembranen bei der Milchproteinfraktionierung von wirtschaftlichem Vorteil ist. Diese HFM weisen im Vergleich zu Mehrkanalmembranen deutlich höhere Packungsdichten bzw. spezifische Filterflächen auf [1].

Keramische HFM haben im Vergleich zu Multikanalelementen (bezogen auf 19 Kanäle) den Vorteil, dass ihre Packungsdichte/Modulvolumen ca. 30 % höher ist, d. h. pro Modul ca. 30 % mehr Membranfläche installiert werden kann. Darüber hinaus dauert der für die Herstellung eingesetzte Sinterprozess bei HFM aufgrund der geringeren Wandstärke nur ca. einen Tag, wohingegen dieser bei der Herstellung von Multikanalelementen ca. 4-7 Tage dauert. Daraus ergeben sich 3-4-mal geringere Energiekosten bei der Herstellung der HFM. Zur Bündelung der HFM ist ein zusätzlicher Arbeitsschritt erforderlich, so dass die Kosten im Vergleich zu Multikanalelementen ca. 20-30 % günstiger sind. Für den Anwender ist neben diesen niedrigeren Investitionskosten der aufgrund der geringeren Wandstärke reduzierte Membranwiderstand wesentlich, d. h. es ist eine geringere Strömungsleistung notwendig, um einen bestimmten Transmembrandruck (Δp_{TM}) einzustellen.

Bei der Mikrofiltration von Magermilch mittels keramischer HFM konnten im Vergleich zu Spiralwickel- und keramischen Mehrkanal-Membranen höhere flächenspezifische Fluxraten erzielt werden, allerdings wurde auch eine unerwünschte Caseinpermeation festgestellt [2].

Ziel ist es somit, die Prozessbedingungen hinsichtlich eines maximalen Molkenproteinmassenstroms bei gleichzeitig möglichst vollständigem Rückhalt der Caseinfraktion zu optimieren. Dafür wurde pasteurisierte Magermilch mit HFM aus Al_2O_3 bei einer Temperatur von 55 °C fraktioniert. Der nominelle Porendurchmesser betrug ~400 nm. Der Transmembrandruck wurde für zwei Wandschubspannung (τ_w) im dem für Mikrofiltration typischen Rahmen variiert. Alle Versuche wurden in Doppelbestimmung durchgeführt. In Batchversuchen, d. h. bei Rückführung von Permeat und Retentat, wurde jeweils der Flux gravimetrisch und die Casein- und Molkenproteintransmission nach einer modifizierten Methode von Toro-Sierra et al. (2013) mittels HPLC bestimmt [3]. Dadurch konnten quantitative Aussagen über die Zusammensetzung und die Proteinmenge des Permeates gewonnen werden (Abbildung 1 A). Für die Filtrationseffizienz wurde der Massenstrom von Caseinen und Molkenproteinen als Bewertungskriterium herangezogen (Abb. 1 B).

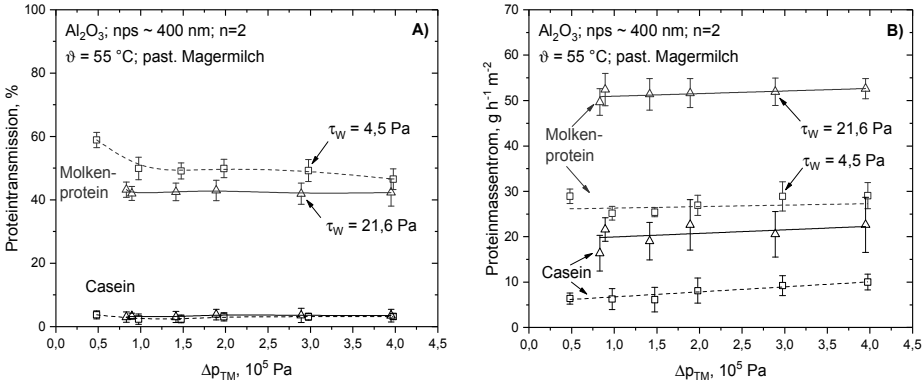


Abb. 1: Transmission (A) und Massenstrom (B) von Caseinen (schwarz) und Molkenproteinen (blau) als Funktion des Transmembrandrucks für zwei Wandschubspannungen (□: τ_w = 4,5 Pa; Δ: τ_w = 21,6 Pa).

Die Variation der Wandschubspannung zeigte für die Caseintransmission keinen deutlichen Unterschied. Die Transmission liegt im untersuchten Δp_{TM}-Bereich unter 4 %. Die Molkenproteintransmission hingegen ist deutlich höher und liegt zwischen 40 – 60 %. Die Molkenproteine mit einer Partikelgröße von $d_{50,3}$ = 3,5 nm sind kleiner als die Poren der Membran. Somit können diese durch die Membran permeieren. Durch die Ausbildung der Caseindeckschicht wird eine Sekundärmembran aufgebaut und dadurch die Trenneffizienz verändert. Eine angestrebte Transmission von 100 % kann nicht erreicht werden. Wie in Abbildung 1 A zu sehen, führt eine Erhöhung der Wandschubspannung zu einer leichten Erniedrigung der Molkenproteintransmission. Dies entspricht nicht den Erwartungen: Durch die Erhöhung der Wandschubspannung wird die auf eine Caseinmicelle wirkende Strömungsschleppkraft erhöht. Folglich findet ein stärkerer Abtrag der Caseindeckschicht statt bzw. der Aufbau dieser wird verhindert. Somit wird durch die Wandschubspannungserhöhung die Molkenproteintransmission begünstigt.

Die Analyse des Proteinmassenstroms in Abbildung 1 B eignet sich als Bewertungskriterium besser als nur die Analyse der Proteinkonzentration im Permeat; darüber können Aussagen über die Fraktionierungsgeschwindigkeit getroffen werden. Dabei werden Flux und Proteinkonzentration gleichzeitig betrachtet. Die Variation der Wandschubspannung hat einen deutlichen Einfluss auf den Proteinmassenstrom. Bei Erhöhung der Wandschubspannung von 4,5 Pa auf 21,6 Pa steigt der Molkenproteinmassenstrom von 29,0 g $h^{-1}m^{-2}$ auf 52,6 g $h^{-1}m^{-2}$. Dies wird auf die Erhöhung der Überströmung, den resultierenden Deckschichtabtrag und

somit der Fluxerhöhung zurückgeführt. Trotz geringer Transmission der Caseine (vgl. Abb. 1 A) kann ein deutlicher Caseinmassenstrom beobachtet werden.

Somit zeigt sich eine Reduktion der Prozesseffektivität durch die Ausbildung der Deckschicht. Dies wirkt sich negativ auf den angestrebten hohen Massenstrom der Molkenproteine aus. Die Erhöhung der Wandschubspannung führt zu einer Erhöhung des Molkenproteinmassenstroms. Allerdings muss gleichzeitig mit erheblichen Caseindurchgang bis zu 22,6 g $h^{-1}m^{-2}$ gerechnet werden. Um diesem Effekt entgegen zu wirken und die Fraktionierung effizienter zu gestalten, muss die Membranperformance verbessert werden. Hier reicht die Optimierung der Prozessparameter nicht mehr aus. In weiteren Studien wird nun zur Milchproteinfraktionierung auf keramische Hohlfasermembranen mit einer nominellen Porengröße von 100 nm zurückgegriffen.

Literatur:
[1] T. Melin, R. Rautenbach, *Membranverfahren: Grundlagen der Modul- und Anlagenauslegung*. Springer-Verlag (2007).
[2] C. Jianhang, L. Lu, S. Yanjun, S. Yanling, Z. Shuwen, K. Fanpi, Pilot scale production process of micellar casein concentrate powder, Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (29 (9)) (2014).
[3] J. Toro-Sierra, A. Tolkach, U. Kulozik, Fractionation of α-Lactalbumin and β-Lactoglobulin from Whey Protein Isolate Using Selective Thermal Aggregation, an Optimized Membrane Separation Procedure and Resolubilization Techniques at Pilot Plant Scale, Food Bioprocess Technol 6 (4) (2013) 1032–1043.

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

Über die Lockerung proteinreicher Deckschichten in der Crossflow-Filtration durch pulsierende Überströmung

On the relaxation of proteinaceous deposits in crossflow microfiltration by pulsed tangential flow

Maria Weinberger, Simon Scheibenzuber

Membranbasierte Trennprozesse sind ein energetisch günstiges Verfahren zur Trennung unterschiedlich großer Komponenten und finden daher in vielen Industriezweigen wie der lebensmittelverarbeitenden, der pharmazeutischen und der Abwasserindustrie Anwendung. Durch die zurückgehaltenen Stoffe, welche an der Membranoberfläche abgelagert werden wird der Permeatvolumenstrom und der Durchgang der kleinen Moleküle durch die Membranporen negativ beeinflusst. Üblicherweise bilden sich Deckschichten aufgrund des Transmembrandrucks als stark kompaktierte Ablagerungen aus und tragen somit als Sekundärmembran maßgeblich zur Rückhaltung von Gelöststoffen bei, sodass selbst kleine globuläre Proteine, wie Molkenproteine, zurückgehalten werden. Sie verändern damit effektiv die tatsächlich vorherrschende Trenngröße, wobei die Kompaktheit der Membran mit dem Rückhalt der Gelöststoffe korreliert.

Die Pulsation einer Überströmung ist bereits aus anderen Systemen, welche mit Problemen durch Ablagerungen belastet sind, wie beispielsweise Wärmeübertragerrohre oder komplexer Rohrgeometrien als ablagerungsmindernd bekannt [1, 2]. Die zugrundeliegenden Effekte sind aber unbekannt und lassen sich nicht ohne weitere Untersuchungen auf Ablagerungen auf semipermeablen Oberflächen übertragen. Für die Milchproteinfraktionierung, bei der die kleinen globulären Molkenproteine von den in mizellaren Strukturen gebundenen Caseinen getrennt werden, konnten wir zeigen, dass niederfrequente Pulsation im Vergleich zu stetiger

Überströmung der Membran zu einer verbesserten Molkenproteintransmission führt (vgl. Abb. 1, A). Obwohl durch die Pulsation ein Verlust an Permeatvolumenstrom aufgrund geringerer aktiver Filtrationszeiten bedingt ist, war die Erhöhung an Transmission ausreichend, um in Summe einen dennoch höheren Massentransfer an Molkenproteinen zu erreichen (vgl. Abb. 4, B).

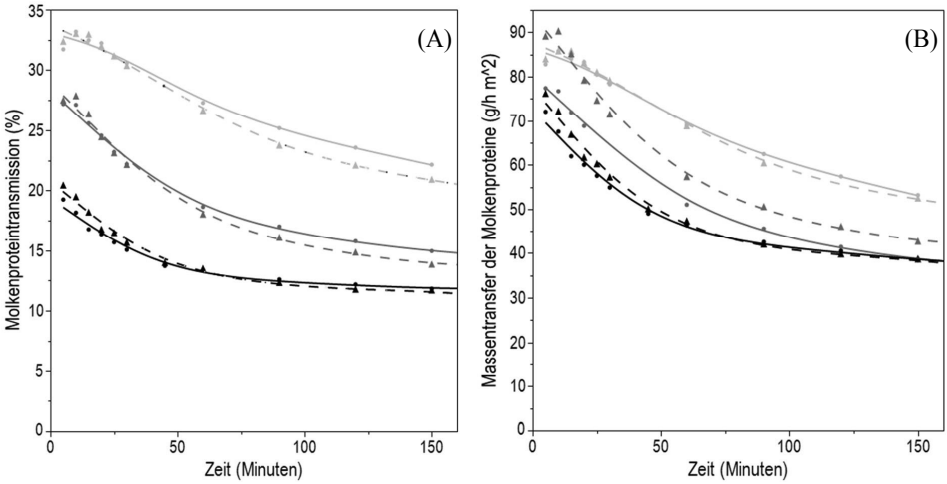


Abb. 1: Zeitlicher Verlauf der Molkenproteintransmission (A) und des Molkenproteinmassentransfers (B) bei der Milchproteinfraktionierung pasteurisierter Magermilch bei stetiger und pulsierender Überströmung. Die Filtration wurde an einer 0,2 µm-Hohlfasermembran aus Polyethersulfon bei 15 °C durchgeführt, ● bei TMP = 2,2 bar, ▲ bei TMP = 1,9 bar.
Die schwarze Linie entspricht einer Filtration mit einer stetigen Überströmgeschwindigkeit von v = 3,0 m/s; graue Linien wurden bei pulsierender Überströmung durchgeführt. – Maximalgeschwindigkeit v = 3,0 m/s für 3s, Minimalgeschwindigkeit v = 1,3 m/s für 1s, -- Maximalgeschwindigkeit v = 3,0 m/s für 2s, Minimalgeschwindigkeit v = 1,3 m/s für 2s.

Der zugrundeliegende Effekt dieser erhöhten Durchlässigkeit ist in der Struktur der Deckschicht zu suchen. Wir gehen davon aus, dass sich aufgrund der wechselhaften Beanspruchung bei pulsierender Überströmung die gebildete Deckschicht entspannt und somit eine lockerere Struktur und eine höhere Durchlässigkeit aufweist. Somit kann selbst bei extrem hohen und MF-unüblichen Transmembrandrücken um die 2,0 bar die Transmission und letztendlich auch der Massentransfer durch Pulsation verbessert werden. Dabei fällt auf, dass eine längere Dauer der Entspannungsphase zu einer größeren Verbesserung von Transmission und Massentransfer führt. Dies ist vermutlich auf eine stärkere Ausprägung des Lockerungseffekts zurückzuführen. Eine Optimierung von Frequenz und Amplitude der Pulsation sowie des Transmembrandrucks, welche als interagierende Faktoren auftreten, erfolgt im weiteren Verlauf des Projektes.

Literatur:
[1] C. R. Gillham, P. J. Fryer, A. P. M. Hasting, and D. I. Wilson, "Enhanced cleaning of whey protein soils using pulsed flows," *Journal of Food Engineering,* vol. 46, pp. 199-209, 11// 2000.
[2] K. Bode, R. J. Hooper, W. R. Paterson, D. Ian Wilson, W. Augustin, and S. Scholl, "Pulsed Flow Cleaning of Whey Protein Fouling Layers," *Heat Transfer Engineering,* vol. 28, pp. 202-209, 2007/03/01 2007.

Dank: Das IGF-Vorhaben 31 EWN der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e. V. (FEI), Godesberger Allee 125, 53175 Bonn, wird über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Typprüfungen im Jahr 2018

- Gebr. Rieger GmbH + Co.KG – Hygiene Doppelsitz Umstellventil N 3 (W-S 2/18)
- Meierhofer Inox AG – Plattendurchlauferhitzer PP-300 (W E 02/18)
- Meierhofer Inox AG – Datenaufzeichnungseinheit mit speicherprogrammierbaren Steuerung (SPS) (W M 01/18)
- Risto GbR – Plattendurchlauferhitzer PAW 400 / (W E 01/18)
- Risto GbR – Umstellventil DLV1 (W S 01/18)
- Valmar – Dauererhitzer SWEETY TTi GREEN (W ED 01/18)

Dissertationen, Master- und Bachelorarbeiten

Dissertationen

Wolz, Magdalena: Thermal aggregation of whey proteins under shear stress and the effects on microparticulation in a high moisture extrusion process, 14.05.2018

Masterarbeiten

Bachmann, Inez: Einfluss des Diafiltrationsmediums auf die Deckschichteigenschaften und -zusammensetzung bei der Mikrofiltration von Magermilch

Beatriz Fernanda Queiroz Barbosa: Effects of different diafiltration media on bovine milk casein micelles and influencing factors

Bertsch, Andreas: Einfluss verschiedener Öle und Milieubedingungen auf plasma- und granulastabilisierte Öl-in-Wasser-Emulsionen

Göttfried, Andrea: Charakterisierung der hydrodynamischen Bedingungen und Optimierung der Prozessparameter in der alternierenden Tangentialflussfiltration (XCell^{TM} ATF)

Greßlinger, Andreas: Charakterisierung des Sedimentationsverhaltens von β-Lactoglobulin-Aggregaten ex situ und des Separationsverhaltens in einem Dekanter

Hoffmann, Dominik: Einfluss von Prozessvariablen auf das Deckschichtverhalten polymerer Mikrofiltrationsmembranen

Hofsommer, Johannes: Untersuchung des chemisch-physikalischen sowie mikrobiologischen Lagerverhaltens von ESL-Molkenkonzentraten in Abhängigkeit der Trockenmasse, des Demineralisierungsgrades und der Lagertemperatur

Kürzl, Christian: Sustainability of Filtration Systems – an Industrial Project

Lüthje, Laura: Optimierung und Upscale der mikrowellenunterstützten Gefriertrocknung von in Schaummatrizen integrierten Modellenzymen

Möller, Anna Cäcilia: Characterization of the surface and foaming properties of pea proteins

Müller, Anna Katharina: Analyse des Sprühtrocknungsprozesses zur Bestimmung des optimalen Betriebspunktes am Beispiel von Kaffeesurrogaten

Reitberger, Vera: Herstellung thermisch induzierter β-Lg-Aggregate und deren Einfluss auf die Stabilität von Emulsionen

Scheidler, Eva: Diffusion of micelle bound casein monomers into the serum phase depending on temperature under variation of pH and ionic strength

Schmieder, Alexander: Einfluss von Schmelzsalzen auf das Quellverhalten von para-Casein in ein- und mehrphasigen Systemen

Schumann, Benjamin Alexander: Impact of freeze-thaw treatment on the emulsifying capacity of egg yolk and its fractions plasma and granules

Siegl, Manuel: Rapid Quantification of Bacteria in Whey of an Italian Hard Cheese Using Flow Cytometry

Weckert, Maximilian: Einflüsse verschiedener Medienbestandteile auf das Wachstum von Bacteroides vulgatus

Wörthmann, Mario: Herstellung von demineralisierten Extended Shelf Life (ESL)-Molkenkonzentraten und Untersuchung der chemisch-physikalischen sowie mikrobiologischen Stabilität

Bachelorarbeiten

Von Beerfelde, Viktoria: Hygienemonitoring: Vergleich des ATP-Tests mit der mikrobiologischen Gesamtkeimzahl

Frey, Anika: Verhalten von gefriergetrockneten *Bifidobacterium longum ssp. longum* Reuter 1963 Suspensionen während der Lagerung in Abhängigkeit von der Temperatur und Maltodextrin-Zugabe

Heidler, Viktoria: Untersuchung der O/W Grenzfläche in dispersen, hochkonzentrierten Proteinsystemen

Hinrichs, Katharina: Mikrowellenunterstützte Gefriertrocknung von β-Galactosidase in einer Schaummatrix – Einfluss der Maltosekonzentration auf die Lagerstabilität

Kouamegne, Blandine Milande Nana: Entwicklung einer rheologischen Analysenmethode zur Untersuchung der Rehydratisierbarkeit unterschiedlich erzeugter mizellarer Kaseinpulver

Kracheletz, Deborah: Dielectric properties of raspberry foams

Limmer, Maike: Einfluss bivalenter Salze auf die Hitzestabilität Peptid stabilisierter Emulsionen

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

Spitzer, Jonathan: Einfluss der Wandschubspannung und der Temperatur auf die Filtrationsleistung von keramischen Hohlfasermembranen während der Milchproteinfraktionierung

Tauchnitz, Annika: Vergleich konventioneller und Mikrowellen-unterstützter Gefriertrocknung zur effizienten Konservierung von in Saccharidschäumen integrierter β-Galactosidase

Thurin, Lorenz: Einfluss der Proteinkonzentration und -zusammensetzung auf die Gelierungseigenschaften pulverbasierter Labgele

Totzauer, Lisa: Lyophilisierung und Wiederanzucht eines humanen Mikrobioms unter Einfluss des pH-Werts

Vorträge

EFFoSt Student of the Year Award, Cargill, Vilvoorde, Belgien, 14.-15.02.2018

- Dombrowski, J., Kulozik, U.: Evaluation of structural characteristics determining the surface and foaming properties of β-lactoglobulin in various molecular states

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Membrantechnik, Unterhaching, 28.02.2018

- Hartinger, M., Kulozik, U.: Untersuchung des Deckschichtbildungsverhaltens polymerer Mikrofiltrationsmembranen
- Heidebrecht, H.-J., Kulozik; U.: Microfiltration in diafiltration mode to obtain a bioactive immunoglobulin rich native whey from milk

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Berlin, 06.03.2018

- Haindl, R., Kulozik, U.: Probiotika 2.0: Konservierung der humanen intestinalen Mikrobiota
- Hartinger, M., Kulozik, U.: Untersuchung des ortsabhängigen Filtrationsverhaltens polymerer Mikrofiltrationsmembranen
- Kieferle, I., Kulozik, U.: Residence Time of Viscous Products in Spiral Wound Membranes during Rinsing
- Weinberger, M., Schopf, R., Schmidt, F., Kulozik, U.: The application of hollow fiber membranes for milk protein fractionation

55. Wissenschaftlicher Kongress der DGE e.V., Stuttgart-Hohenheim, 07.-09.03.2018

- Haller, N., Kulozik, U.: Fraktionierung und zielgerichtete Nutzung von Molkenproteinen

CHI BioProcessing Summit Europe, Lissabon, Portugal, 20.-22.03.2018

- Kulozik, U.: Deposit Formation Control on Membrane Surfaces in Up- and Downstream Continuous Processing

10th INRA Cheese Symposium, Rennes, Frankreich, 04.-06.04.2018

- Sedlmeier S., Kulozik, U.: The role of fat in the creaming reaction

Mitgliederversammlung des Bundesverbands der Deutschen Eiprodukten-Industrie e.V, Dinklage, 24.04.2018

- Gmach, O., Kulozik, U.: Überblick über den aktuellen Stand der Eigelbforschung

17. FEI-Kooperationsforum "Proteinversorgung der Zukunft", Bonn, 24.04.2018

- Kulozik, U.: Stand der Technologie tierischer Proteine und Übertragung auf nicht-tierische Proteine

Arbeitstagung der technischen Sachverständigen / Amtsingenieure, Beratungsingenieure und Architekten für das Molkereiwesen, Weikersheim, 25.-26.04.2018

- Hartinger, M., Kulozik, U.: Methoden zur Detektion von Produktresten bzw. Deckschichtbildung auf Membranen
- Kieferle, I., Kulozik, U.: Ausspülverhalten von Milchkonzentraten aus Spiralwickelmodulen
- Marx, M., Kulozik, U.: Methoden zur Herstellung von ESL-/UHT-Milch- und Molkekonzentraten

TUM@Freising – Wissenschaft für alle, Freising, 15.05.2018
Kulozik, U.: Lebensmittel heute – Woher kommen wir, wo stehen wir, wohin gehen wir?

Membrane and Electromembrane Processes (MelPro), Prag, Tschechien, 16.05.2018
- Kieferle, I, Kulozik, U.: Residence Time of Milk Concentrates During Rinsing of Spiral Wound Membranes with Water
- Schopf, R., Kulozik, U.: Analysys of Deposit Layer Formation in Hollow Fiber Membranes during Milk Protein Fractionation

3rd Food Structure and Functionality Forum Symposium and 3rd IDF Symposium on Microstructure of Dairy Products, Montreal, Kanada, 03.-06.06.2018
- Dombrowski, J., Möller, A., Kulozik, U.: Evaluation of structural characteristics determining the surface and foaming properties of animal and plant proteins

Membrane Technology Forum, Minneapolis, USA, 05.-07.06.2018
- Kulozik, U.: New Insights in Understanding and Prevention of Deposit Formation on Membrane Surfaces

Achema DGMT Seminar/Workshop: Membranes and Membrane Processes, Frankfurt/Main, 11.-15.06.2018
- Reitmaier, M., Kulozik, U.: Milk protein fractionation by microfiltration: influence of the diafiltration medium on deposit formation, filtration performance and functionality of the casein fraction

8th Monolith Summer School & Symposium, Portorož, Slovenia, 15.-20.06.2018
- Mao, Y., Kulozik, U.: Selective hydrolysis of whey proteins by immobilized trypsin in a flow-through monolithic reactor

IMPI's 52nd Annual Microwave Power Symposium, Long Beach (CA), USA, 26.-28.06.2018
- Ozcelik, M., Ambros, S., Kulozik, U.: Microwave-Freeze-Drying of Fruit Foams for the Production of Healthy Snacks

Studienfakultätstag, Freising, 29.06.2018
- Heidebrecht, H.-J., Pfaffl, M. W., Kulozik, U.: Die Kuh als Bioreaktor – Milchkomponenten als therapeutische Wirkstoffe und Methoden für deren Gewinnung

Symposium on Next Generation Processes and Products – NGP², Aachen, 10.-11.07.2018
- Kulozik, U.: New insights in understanding and prevention of deposit formation on membrane surfaces

Euromembrane, Valencia, Spanien, 10.07.2018
- Hartinger, M., Kulozik, U.: Spatial dependency of flux and transmission of small proteins in polymeric spiral-wound microfiltration membranes

ZIEL – Workshop, Hohenkammer, 21.07.2018
- Haindl, R., Kulozik, U.: Culturability and Preservation of the human intestinal microbiota

Microscopy & Microanalysis Meeting, Baltimore, USA, 05.-09.08.2018
- Kulozik, U.: Microscopy in Food Science: Bridging Biology and Materials Science

International Drying Symposium, Valencia, Spanien, 11.-14.09.2018
- Kubbutat, P., Kulozik, U.: Acceleration of freeze drying by microwave application and by stabilized foamed matrices containing sensitive biomolecules with optimized retention of physiological activity
- Ozcelik, M., Ambros, S., Kulozik, U.: Microwave-Freeze-Drying of Fruit Foams for the Production of Healthy Snacks

CDZ-Symposium: Functional and healthy food ingredients generated through state-of-the-art biotechnology, Stuttgart-Hohenheim, 12.-14.09.2018

- Kulozik, U., Leeb, E., Cheison, S.: Engineering of enzymatic processes in the hydrolysis and fractionation of functional peptides

6th ICDS International *C. difficile* Symposium, Bled, Slowenien, 12.-14.09.2018

- Heidebrecht, H.-J., Weisse, W., Pulsee, M., Lange, A., Gisch, K., Kliem, H., Mann, S., Pfaffl, M. W., Kulozik, U., Von Eichel-Streiber, C.: Treatment and prevention of Clostridium difficile infection with functionalized bovine antibody-enriched whey in a hamster primary infection model

Lyo-Conference: Freeze Drying of Pharmaceuticals & Biologicals, Garmisch-Partenkirchen, 18.-21.09.2018

- Kulozik, U., Kubbutat, P.: Gentle microwave freeze-drying of sensitive biomolecules through the application of aerated product matrices

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Freising, 10.-11.10.2018

- Hartinger, M., Kulozik, U.: Optimierungspotentiale polymerer Spiralwickelmembranen für die Milchproteinfraktionierung
- Heidebrecht, H.-J., Pfaffl, M. W., Kulozik, U.: Veränderung der intestinalen Mikrobiota von Clostridium difficile infizierten Hamstern während der Behandlung mit spezifischen bovinen Immunglobulinen
- Kubbutat, P., Kulozik, U.: Mikrowellenunterstützte Gefriertrocknung von sensitiven Proteinen in einer aufgeschäumten Produktmatrix
- Kulozik, U.: Lebensmittel heute – Woher kommen wir, wo stehen wir, wohin geht die Reise?
- Kurz, F., Kulozik, U.: Stabilisierung von Emulsionen und Schäumen durch Molkenproteinpartikel
- Weinberger, M., Schopf, R., Kulozik, U.: Deckschichtbildung und –abtrag auf Membranen bei alternativen Strömungsbedingungen im Vergleich zum konventionellen Crossflow-Modus

19th IUFoST, Mumbai, Indien, 23.-27.10.2018

- Gmach, O., Kulozik, U.: Impact of different vegetable oils and milieu conditions on the oil droplet size of emulsions stabilized by egg yolk fractions

Seminar Schaumanalytik, Krüss GmbH, Hamburg, 05.11.2018

- Dombrowski, J., Kulozik, U.: Stabilisierung von Luft/Wasser-Grenzflächen durch Proteine: Neue Erkenntnisse und Konzepte im Hinblick auf die Ableitung von Struktur-Funktions-Beziehungen

MIV – 10. Ideenbörse Forschung „Milch hat Zukunft“, Fulda, 14.-15.11.2018

- Kulozik, U.: Neue Verfahren und Verfahrensmodifikationen in der Trenntechnik für Milch und Molke

Posterpräsentationen

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Membrantechnik, Unterhaching, 28.02.2018

- Kieferle, I., Kulozik, U.: Rinsing of Spiral Wound Membranes (SWM) from Milk Protein Concentrate
- Weinberger, M.E., Kulozik, U.: Einfluss der Überdruck- und Unterdruckphase in der alternierenden Tangentialflussfiltration (ATF)

Jahrestreffen der ProcessNet-Fachgruppe Lebensmittelverfahrenstechnik, Berlin, 06.03.2018

- Schopf, R., Heidebrecht, H.-J., Kulozik, U.: Längenabhängige Deckschichtbildung in Hohlfasermembranen bei der Milchproteinfraktionierung

Food Colloids Conference, Leeds, Vereinigtes Königreich, 08.-11.04.2018

- Gmach, O., Kulozik, U.: Influence of oil type and pH value on the oil droplet size of egg yolk fraction stabilized oil-in-water emulsions

3rd Food Structure and Functionality Forum Symposium and 3rd IDF Symposium on Microstructure of Dairy Products, Montreal, Kanada, 03.-06.06.2018

- Dombrowski, J., Ambros, J., Kulozik, U.: Milk protein-stabilized foam structures as protective carrier systems during microwave-assisted vacuum drying of probiotics: Evaluation of ingredient interactions in view of their surface and foaming properties

Euromembrane, Valencia, Spanien, 10.07.2018

- Heidebrecht, H.-J., Kulozik, U.: Microfiltration and ultrafiltration in diafiltration mode to obtain bioactive immunoglobulin rich whey from immune milk
- Kieferle, I., Hartinger, M., Kulozik, U.: Residence Time of Milk Concentrates during Rinsing of Spiral Wound Membranes with Water

CDZ-Symposium: Functional and healthy food ingredients generated through state-of-the-art biotechnology, Stuttgart-Hohenheim, 12.-14.09.2018

- Mao, Y., Kulozik, U.: Selective hydrolysis of whey proteins using a flow-through monolithic reactor

Lyo-Conference: Freeze Drying of Pharmaceuticals & Biologicals, Garmisch-Partenkirchen, 18.-21.09.2018

- Kubbutat, P., Kulozik, U.: Influence of polysaccharide content on the properties of an aerated system built with Poloxamer

Veröffentlichungen

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

Peer review-Verfahren

1. Ambros S, Vollmer AH, Youssef NN, Kulozik U: Structural basis of the impact of microwave application on survival and shelf life of *Lactobacillus paracasei*. LWT - Food SciTechnol 98, 291–298, 2018
2. Ambros, S, Foerst, P, Kulozik, U: Temperature-controlled microwave-vacuum drying of lactic acid bacteria: Impact of drying conditions on process and product characteristics. J Food Eng, 224, 80-87, 2018
3. Ambros, S, Hofer, F, Kulozik, U: Protective effect of sugars on storage stability of microwave-freeze-dried *Lactobacillus paracasei* F19. J Appl Microbiol, 125, 1128-1136, 2018
4. Ambros, S, Mayer, R, Schumann, B, Kulozik, U: Microwave-freeze drying of lactic acid bacteria: Influence of process parameters on drying behavior and viability. Innov Food Sci Emerging Technol, 48, 90-98, 2018
5. Böhm, L, Bliatsiou, C, Kraume, M, Krull, R, Kwade, A, Veiter, L, Kulozik, U, et al.: Partikelcharakterisierung und -messtechniken in lebensmittel- und biotechnologischen Systemen. CIT publication aus SPP 1939, 2018
6. Dachmann, E, Hengst, C, Özcelik, M, Kulozik, U, Dombrowski, J (2018): Impact of hydrocolloids and homogenization treatment on the foaming properties of raspberry fruit puree. Food and Bioprocess Technology, 11, 2253-64, 2018
7. Dombrowski, J, Gschwendtner, Saalfeld, D, Kulozik, U: Salt-dependent interaction behavior of β-Lactoglobulin in relation to its surface and foaming properties. Colloids Surfaces A. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, A 558, 455-462, 2018
8. Dumpler, J, Peraus, F, Depping, V, Stefánsdóttir, B, Grunow, M, Kulozik, U: Modelling of heat stability and heat-induced aggregation of casein micelles using a Weibullian model. Int J Dairy Sci Technol, 71 (3) 601-612, 2018
9. Eschlbeck, E, Seeburger, C, Kulozik, U: Influence spore and carrier material surface hydrophobicity on decontamination with condensing hydrogen peroxide vapor. J Appl Microbiol, 124, 1071-81, 2018
10. Heidebrecht, H-J, Kainz, B, Schopf, R, Godl, K, Karcier, Z, Kulozik, U, Förster, B: Isolation of biofunctional bovine immunoglobulin G from milk and colostral whey with mixed-mode chromatography at lab and pilot scale. J Chromatography A, 1562, 59-68, 2018
11. Heidebrecht, H-J, Kainz, B, Schopf, R, Godl, K, Karcier, Z, Kulozik, U, Förster, B: Isolation of bovine immunoglobulin G from milk and colostrum with mixed-mode chromatography on lab and pilot scale. Data in Brief, 21, 527-539, 2018
12. Kleemann, C, Selmer, I, Smirnova, I, Kulozik, U: Tailor made protein based aerogel particles from egg white and milk proteins: influence of the preceding hydrogel characteristics. Food Hydrocolloids, 83, 365-374, 2018
13. Leeb, U, Haller, N, Kulozik, U: Effect of pH on the thermal denaturation and aggregation behavior of bovine ß-lactoglobulin. Int Dairy J, 78, 103-111, 2018

14. Mao, Y, Krischke, M, Hengst, C, Kulozik, U: Comparison of the influence of pH on the selectivity of free and immobilized trypsin for β-lactoglobulin hydrolysis. Food Chemistry, 253, 194–202, 2018
15. Mao, Y, Kulozik, U: Selective hydrolysis of whey proteins using a flow-through monolithic reactor containing immobilized trypsin. Int Dairy J, 85, 96-104, 2018
16. Marx, M, Bernauer, S, Kulozik, U: Manufacturing of reverse osmosis whey concentrates with extended shelf life and high protein nativity. Int Dairy J, 86, 57-64, 2018
17. Marx, M, Kulozik, U: Spore inactivation in differently composed whey concentrates. Int Dairy J, 76, 1-9, 2018
18. Marx, M, Kulozik, U: Thermal denaturation kinetics of whey proteins in reverse osmosis and nanofiltration sweet whey concentrates. Int Dairy J, 85, 270-279, 2018
19. Mueller, D, Richling, E, Jung, K, Winter, M, Rogoll, D, Melcher, R, Kulozik, U, Schwarz, K: Encapsulation of anthocyanins from bilberries - Effects on bioavailability and intestinal accessibility in humans, Food Chemistry, 248, 217-224, 2018
20. Stefánsdóttir, B, Depping, V, Grunow, M, Kulozik, U: Impact of shelf life on the trade-off between economic and environmental objectives: A dairy case. Int J Production Economics, 201, 136-148, 2018
21. Surger, MJ, Angelov, A, Stier, P (group Kulozik), Übelacker, M, Liebl, W: Impact of branched-chain amino acid catabolism on fatty acid and alkene biosynthesis in *Micrococcus luteus*, Frontiers Microbiol, 9 (374) 1-14, 2018
22. Würth, R, Foerst, P, Kulozik, U: Effects of skim milk concentrate dry matter and spray drying air temperature on formation of capsules with varying particle size and the survival of microbial cultures in a microcapsule matrix, Drying Technol, 36 (1) 93-99, 2018
23. Zhuang, Y, Ueda, I, Kulozik, U, Gebhardt, R: Influence of β-Lactoglobulin and calcium chloride on the molecular structure and interactions of casein micelles. Int J Biol Macromol, 107, Part A, 560-566, 2018

Bereits akzeptierte und in 2018 online verfügbare Publikationen (2019)

1. Ambros, S, Dombrowski, J, Boettger, D, Kulozik, U: Structure-function-process relationship for microwave vacuum drying of lactic acid bacteria in aerated matrices. Food Bioprocess Technol, doi.org/10.1007/s11947-018-2218-y
2. Ambros, S, Dombrowski, J, Boettger, D, Kulozik, U: The concept of microwave foam drying under vacuum: A gentle preservation method for sensitive biological material. J Food Sci, accepted
3. Ambros, S, Hofer, F, Kulozik, U: Impact of protectants on drying kinetics and viability of microwave freeze-dried *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* F19. J Food Processing Preservation, DOI: 10.1111/jfpp.13859
4. Dang, B, Wolfschoon-Pombo, A, Kulozik, U: Physico-chemical changes during the so-called creaming reaction in acid curd fresh cheese: Water mobility and forced syneresis. Int J Dairy Technol, DOI:10.1111/1471-0307.12585
5. Goslinska, M, Selmer, I, Kleemann, C, Kulozik, U, Smirnova, I, Heinrich, S: A novel technique for measurement of coating layer thickness of fine and porous particles using focused ion beam (FIB), Particuology, 42, 190-198; 2019
6. Heidebrecht, H-J, Kulozik, U: Fractionation of casein micelles and immunoglobulins IgG, IgA and IgM with microfiltration in diafiltration mode. Int Dairy J, accepted

7. Heidebrecht, H-J, Weiss, WJ, Pulse, M, Lange, A, Gisch, K, Kliem, H, Mann, S, Pfaffl, M, Kulozik, U, von Eichel-Streiber, C: Treatment and prevention of recurrence of Clostridium difficile infection with functionalized bovine antibody-enriched whey in a hamster primary infection model. Toxins, 11, 98; 2019; doi:10.3390/toxins11020098
8. Kieferle, I, Hiller, K, Kulozik, U, Germann, N: Comparison of fresh and reconstituted milk concentrates with regard to their rheological and viscoelastic properties during processing. J. Colloid Interface Sci. 537, 458-464, 2019
9. Lenze, S, Wolfschoon-Pombo, A, Schrader, K, Kulozik, U: Effect of compositional factors and processing conditions on the creaming reaction during process cheese manufacture. Food Bioprocess Technol, DOI: 10.1007/s11947-019-2234-6
10. Lisak-Jakopović, K, Cheison, S, Kulozik, U, Božanić, R: Comparison of selective hydrolysis of α-lactalbumin by acid Protease A and Protease M as alternative to pepsin: potential for β-lactoglobulin purification in whey proteins. J Dairy Research, doi.org/10.1017/S0022029919000086
11. Marx, M, Sixt, A, Hofsommer, J, Wörthmann, M, Kulozik, U: Manufacturing of demineralized ESL whey concentrates by means of nanofiltration combined with diafiltration - Impact of the degree of demineralization on functional and microbial quality criteria. Food Bioproducts Processing, 114, 1-11, 2019
12. Mao, Y, Krischke, M, Hengst, C, Kulozik, U: Influence of salts on β-lactoglobulin hydrolysis by free and immobilized trypsin. Accepted Int Dairy J 12.2.19
13. Mao, Y, Krischke, M, Kulozik, U: β-lactoglobulin hydrolysis by immobilized trypsin in ethanol/aqueous solvents. Process Biochem, 11-2-19
14. Özcelik, M, Ambros, S, Heigl, E, Dachmann, E, Kulozik, U: Impact of hydrocolloid addition and microwave processing condition on drying behavior of foamed raspberry fruit puree. J Food Eng, 240, 83-98, 2019
15. Weidlich, D, Honecker, J, Gmach, O, Wu, M, Burgkart, R, Ruschke, S, Franz, D, Menze, BH, Skurk, T, Hauner, H, Kulozik, U, Karampinos, DC: Measurement of large lipid droplet size by probing lipid diffusion restriction effects using DW-MRS at 3 T. J Magnetic Resonance in Medicine 2019; DOI: 10.1002/mrm.276518
16. Würth, R, Lonfat, J, Kulozik, U: Gelation of pre-renneted milk concentrate during spray drying and rehydration for capsule formation. Food Bioprocess Technol, 12 (2) 211–219, 2019

Congress Proceedings / Praxisorientierte Publikationen

1. Schiffer, S, Schopf, R, Hartinger, M, Kulozik, U: Fraktionierung komplexer Lebensmittel durch Membantrenntechnik am Beispiel von Milch, Global Guide, F + S, 269-276, 2018
2. Schiffer, S, Schopf, R, Hartinger, M, Kulozik, U: Fractionation of complex foods trough the use of membrane separation technology using milk as an example, Global Guide, Filtrieren + Separieren (F+S), 202 – 209, 2018

Technologietransfer/Organisation von wissenschaftlichen Veranstaltungen

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung des Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V., 11.–12.10.2018, Freising-Weihenstephan.

Im Berichtszeitraum aktive, öffentlich und bilateral geförderte Forschungsvorhaben

Öffentlich geförderte Vorhaben

Konservierung der humanen, fäkalen Mikrobiota, 01.01.2016 – 31.12.2018

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

Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration: Einfluss des Diafiltrationsmediums auf Deckschichtbildung, Transmission und Funktionalität der Proteinfraktionen, 01.09.2015 – 31.08.2018

Mikrowellenunterstützte Vakuum- und Gefriertrocknung zur schnellen Konservierung von sensitiven Biomolekülen in einer Schaummatrix, 01.10.2015 – 31.07.2018

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

Mikrowellen-Vakuumtrocknung von Fruchtschäumen und Gewinnung von natürlichen Fruchtaromen, 01.02.2016 – 31.07.2018

Stabilisierung von Emulsionen durch proteinbasierte Partikel, 01.08.2016 – 31.01.2019

Optimierung der Milchproteinfraktionierung mittels Mikrofiltration Einfluss von Temperatur, pH-Wert und Ionenstärke auf die Effizienz des Verfahrens, 01.01.2017 – 30.06.2019

Standardisierte Herstellung von biologischen Indikatoren für die Beurteilung der Oberflächenentkeimung mit Wasserstoffperoxid und Minimierung ihrer Varianz, 01.03.2017 – 31.08.2019

Untersuchung der Deckschichtbildung auf Hohlfaser- und Mehrkanalrohrmembran bei der Milchproteinfraktionierung, 01.04.2017 – 30.09.2019

Anreicherung und Fraktionierung von Protein – und Zellsuspensionen mit alternativen Verfahrensweisen in der Crossflow-Filtration, 01.11.2017 – 30.04.2020

Hochporöse Aerogel in Partikel- und Riegelform aus Molken- und Kartoffelprotein, 01.01.2018 – 30.06.2020

Entwicklung neuer Konzepte zur Optimierung von Struktur und Sensorik fettreduzierter Lebensmittel durch Proteinfunktionalisierung und molekular-sensorische Methoden, 01.07. 2018 – 31.12.2020

Separate Komponentenbehandlung als innovative Prozessführungsstrategie für die Strukturierung proteinbasierter Produkte am Beispiel extrudierter Produkte auf Soja- und Milchproteinbasis, 01.09.2018 – 28.02.2021

Anderweitig finanzierte Forschungsprojekte:

Grenzflächenstabilisierung durch Peptide unterschiedlicher Struktur in Abhängigkeit von Milieu- und Prozessfaktoren

Verkapselung von Mikroorganismen durch Sprühtrocknung in Proteinmatrices

Anreicherung von spezifischen Immunoglobulinen aus Milch und Kolostrum

Exkursionen

21.05. – 25.05.2018	Fachexkursion mit 27 Studenten des Studiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel zu Lebensmittel– und Zulieferbetrieben (Raum Bremen/Hamburg).
21.05. – 25.05.2018	Fachexkursion mit 27 Studenten des Studiengangs Bioprozesstechnik/Molekulare Biotechnologie zu Lebensmittel– und Zulieferbetrieben (Raum Berlin/Dessau/Jena/Leipzig).

Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen bzw. Mitarbeit in Hochschulgremien

Kulozik, U.

- Co-Editor des Journal of Food and Bioproducts Processing
- Mitglied im Editorial Board der Zeitschriften Int. Dairy Journal (IDJ) und Food Science and Technology (LWT)
- Berufenes Mitglied in der International Academy of Food Science and Technology (IAFoST)
- Mitglied im Wissenschaftlichen Ausschuss des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
- Mitglied im Wissenschaftlichen Beirat des Milchindustrieverbandes (MIV) e.V.
- Gewähltes Mitglied des Studienfakultätsrates Brau- und Lebensmitteltechnologie
- Berufenes Mitglied im ProcessNet-Arbeitsausschuss „Membrantechnik“ und im Arbeitsausschuss „Lebensmittelverfahrenstechnik“
- Gewählter Gutachter der Allianz Industrie Forschung (AIF) "Otto von Guericke" e.V. zur Evaluierung von Forschungsanträgen an das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi)

Hartinger, Martin, Marius Reiter, David Andlinger

- Prüfstelle für milchwirtschaftliche Maschinen und Anlagen

Stulac, Mirjana

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

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

Adresse

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

Weihenstephaner Berg 1
D–85354 Freising-Weihenstephan
Telefon: 08161-71-2507
Telefax: 08161-71-4384
Email: info@verband-weihenstephan.de
Internet: www.verband-weihenstephan.de

Struktur des Verbandes

Neuentwicklungen bei den Verbandsmitgliedern

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. ist ein unabhängiger Berufsverband für die Lebensmittel- und Bioprozesstechnikbranche mit derzeit 2017 Mitgliedern (Stand 01.01.2019). Im Geschäftsjahr 2018 konnten wir 132 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 2018 endete die Wahlperiode der Vorstandsmitglieder Frau Rita Schaupp, Herr Prof. Dr.-Ing. Heiko Briesen, Herr Manfred Huß, Herr Prof. Dr. Horst-Christian Langowski und Herr Prof. Dr. Michael Pfaffl. Herr Prof. Dr.-Ing. Heiko Briesen, Herr Manfred Huß, Herr Prof. Dr. Horst-Christian Langowski und Herr Prof. Dr. Michael Pfaffl wurden in der Mitgliederversammlung in ihrem Amt bestätigt. Frau Rita Schaupp, die nicht zur Wiederwahl stand, schied Ende des Jahres aus der Vorstandschaft aus, nachdem sie sich viele Jahre als Vorstandsmitglied für die Belange des Verbands verdient gemacht hat. Der Verband bedankt sich ganz herzlich für die langjährige Unterstützung und wünscht alles Gute. Neugewählt in die Vorstandschaft wurde Frau Melanie Marx. Sie war bis Ende 2016 Geschäftsführerin des Verbandes und möchte sich durch ihre Mitgliedschaft in der Vorstandschaft auch weiterhin für unsere Mitglieder und den Verband einsetzen.

Zielsetzungen des Verbandes

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen e.V. dient der Förderung und Unterstützung seiner studentischen Mitglieder und versteht sich als Netzwerk- und Kontaktplattform zum Informationsaustausch zwischen Universität und Industrie.

Der Verband bietet seinen Mitgliedern:

1. **Finanzielle Unterstützung bei Fachexkursionen**
   a. Bezuschussung privat organisierter Exkursionen zu Messen, Tagungen o.ä.
   b. Bezuschussung universitärer Exkursionen

2. **Hilfe bei der Suche nach Praktika und Arbeitsstellen**
   a. Z. B. studienbegleitende Industriepraktika
   b. Übermittlung von Stellenangeboten

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

4. **Eine Netzwerk-Plattform**
   a. Über 2000 Mitglieder (studiengangübergreifend)
   b. Ein jährlich erscheinendes Mitgliederverzeichnis
   c. Jährliches Ehemaligentreffen

5. **Informationsaustausch zwischen Industrie und Universität**
   a. Wissenschaftlicher Jahresbericht über aktuelle Forschungsthemen
   b. Regelmäßig erscheinende Email-Nachrichten zum Campus Weihenstephan
   c. Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung mit Fachvorträgen, Mitgliederversammlung und Käsebuffet (Ehemaligentreffen)
   d. Einladung zu Weihenstephaner Tagungen, Veranstaltungen und Messen

Bericht aus Weihenstephan und dem Verbandsleben

Eva Guyot, Maria Weinberger, Philipp Stier

Ehrung der besten Bachelorarbeit anlässlich des Hochschultages

Anlässlich des Studienfakultätstages Ende Juni 2018 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 Maike Limmer für ihre mit der Note 1,0 bewertete Bachelorarbeit zum Thema „Einfluss bivalenter Salze auf die Hitzestabilität Peptid stabilisierter Emulsionen“ verliehen.

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

Herbsttagung 2018

Die traditionsreiche Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung fand im Jahr 2018 am 11. und 12. Oktober statt. In diesem Jahr fanden die Vorträge in den neuen Räumlichkeiten der Hochschule Weihenstephan Triesdorf statt. Ein interessantes Vortragsprogramm aus Forschung und Wirtschaft hat über 200 Verbandsmitglieder nach Weihenstephan gelockt, die die Gelegenheit nutzten, sich untereinander fachlich auszutauschen. Im Rahmen des Ehemaligentreffens mit dem traditionellen Käsebuffet bot sich die Gelegenheit über vergangene Zeiten zu plaudern.

Preisverleihungen

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

Der mit 1.000 € dotierte Preis für die beste Masterarbeit ging in diesem Jahr an Frau Katharina Jentsch, sowie Herrn Johannes Golda. Frau Jentschs Masterarbeit mit dem Thema „Entwicklung eines Multiplex-qPCR-Assays zur Quantifizierung von Pseudomonas-Spezies in Rohmilch“ wurde am Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie angefertigt. Herr Golda hat seine Arbeit mit dem Titel „Einfluss des Gefrier-Tau-Prozesses auf granula- und plasmastabilisierte Öl-in-Wasser Emulsionen“ am Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik angefertigt. Beide Masterarbeiten wurden mit der Note 1,0 bewertet.

Den mit 2.000 € dotierten Preis für die beste Doktorarbeit erhielt in diesem Jahr Herr Dr.-Ing. Joseph Dumpler. Er hat seine Doktorarbeit mit dem Thema „On the heat stability of concentrated milk systems – Kinetics of heat-induced dissociation and aggregation of casein micelles“ am Lehrstuhl für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik unter Leitung von Prof. Kulozik mit Auszeichnung abgeschlossen.

Übergabe der Preise für herausragende Masterarbeiten an Frau Katharina Jentsch und Herrn Johannes Golda, sowie für herausragende Doktorarbeiten an Herrn Dr.-Ing. Joseph Dumpler durch den Vorstandsvorsitzenden des Verbandes Professor Langowski. (Foto: Kuhnert)

Ehrungen

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

Im Jahr 2018 wurden Herr Hermann Barth, Frau Dr. Helga Blaim-Groß, Herr Dr. Richard Ellner, Herr Werner Fendt, Frau Renate Härtel, Herr Dr. Konrad Hein, Herr Willi Wall, Herr Heribert Wolf und Herr Wolfgang Würth für 40 Jahre Mitgliedschaft gewürdigt. Der Verband konnte außerdem Herrn Josef Betz und Herrn Helmut Müller zur 50-jährigen Mitgliedschaft gratulieren.

Ehrung von Herrn Willi Wall, Herrn Heribert Wolf und Herrn Josef Betz für ihre langjährige Mitgliedschaft im Verband durch die bayrische Milchkönigin Sonja Wagner und Prof. Langowski. (Foto: Kuhnert)

Deutschlandstipendium - Der Verband als Förderer

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen tritt nach Beschluss der Vorstandschaft im Herbst 2016 bereits seit 2017 als Förderer im Rahmen des Deutschlandstipendiums auf. Die Stipendien kommen jeweils zur Hälfte Studenten der Technischen Universität München und der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf zugute, die sich durch besondere Leistungen im Studium und durch ehrenamtliches Engagement im universitären und privaten Bereich hervorgetan haben, um ihnen die Möglichkeit zu geben, ihre Aktivitäten weiterhin durchzuführen. Die Fördersumme von 3600,- € pro Jahr für jeden Stipendiaten setzt sich dabei zur Hälfte aus den Geldern des jeweiligen Förderers und zur anderen Hälfte aus Mitteln des Bundes zusammen.

Der Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler, Bio- und Lebensmitteltechnologen freut sich sehr, in diesem Jahr Studenten der Lebensmitteltechnologie, der Bioprozesstechnik und der Brau- und Getränketechnologie zu fördern.

Frau Elisabeth Haberl	Studentin des Bachelorstudiengangs Lebensmitteltechnologie (HSWT)
Herr Fabian Hölzl	Student des Bachelorstudiengangs Biotechnologie (HSWT)
Frau Tanja Krüger	Studentin des Bachelorstudiengangs Biotechnologie (HSWT)
Herr Kilian Lupp	Student des Bachelorstudiengangs Brau- und Getränketechnologie (TUM)
Frau Meliessa Penner	
Herr Dennis Röcker	Student des Masterstudiengangs Pharmazeutische Bioprozesstechnik (TUM)
Herr Alexander Rusche	Student des Bachelorstudiengangs Lebensmitteltechnologie (HSWT)
Frau Eva-Maria Schmid	Studentin des Masterstudiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel (TUM)
Herr Stefan Tanrisever	Student des Bachelorstudienganges Bioprozesstechnik (TUM)
Herr Philipp Wetzler	Student des Masterstudiengangs Brau- und Getränketechnologie (TUM)

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

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

Frau Tanja Krüger, Frau Elisabeth Haberl und Herr Alexander Rusche zusammen mit den Geschäftsführern des Verbands und dem Präsidenten der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf Dr. Eric Veulliet bei der offiziellen Verleihung der Deutschlandstipendien in Weihenstephan. (© HSWT)

Herr Philipp Wetzler, Frau Eva-Maria Schmid, Herr Kilian Lupp und Herr Dennis Röcker zusammen mit den Geschäftsführern des Verbands bei der offiziellen Verleihung der Stipendien im Rahmen des Fördermodells Deutschland Stipendium in Garching. (© TUM)

Versammlungen und geförderte Exkursionen

Versammlungen:

Vorstandssitzung am	14.03.2018
Vorstandssitzung am	10.10.2018
Mitgliederversammlung am	11.10.2018

Lehrstuhlexkursionen:

20.03.-22.03.2018 unter der Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 29 Studenten (29 WMBL) zur Anuga FoodTech in Köln.

09.05.-11.05.2018 unter der Leitung der Weihenstephaner IndustrieRunde (WIR) der TUM mit 18 Studenten (16 WMBL) nach Südtirol

21.05.-25.05.2018 unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 27 (20 WMBL) Studenten nach Berlin und Leipzig.

21.05.-25.05.2018 unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittel- und Bioprozesstechnik (Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik) der TUM mit 27 (24 WMBL) Studenten nach Bremen und Hamburg.

22.05.-25.05.2018 unter Leitung des Lehrstuhls für Systemverfahrenstechnik (Prof. Dr.-Ing. Heiko Briesen) der TUM mit 25 (5 WMBL) Studenten im Raum Bodensee.

22.05.-25.05.2018 unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverpackungstechnik (Prof. Dr.-Ing. Horst-Christian Langowski) der TUM mit 30 (14 WMBL) Studenten im Großraum Frankfurt.

18.06.-21.06.2018 unter Leitung von Prof. Dr. Özlem Özmutlu Karslioglu mit 95 (41 WMBL) Studenten des Studiengangs Lebensmitteltechnologie der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Sachen, Niederbayern und Baden-Württemberg.

29.11.2018 unter Leitung der Fachschaft Biowissenschaften zum FORUM Translational Medicine in Würzburg.

Privatexkursionen:

Neben den universitär organisierten Fachexkursionen wurden im Jahr 2018 auch 41 eigeninitiativ organisierte Exkursionen studentischer Mitglieder zu Fachmessen und -tagungen bezuschusst. Informationen zur Förderung sowie der Förderantrag finden sich auf der Homepage des Verbandes.

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

Präambel

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

Dotierung

Die Preise werden je nach Kategorie mit folgenden Beträgen honoriert:

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

In jeder Kategorie wird jährlich jeweils ein Preis verliehen.

Auswahlkriterien

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

Bewerbung und Verleihungsverfahren

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

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

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

Jury

Die Jury besteht aus fünf Professoren der TUM und der Hochschule Weihenstephan Triesdorf. Die Jury kontrolliert, ob die vorgeschlagenen Kandidaten den Bedingungen dieser Verleihungsrichtlinien entsprechen, prüft die eingereichten Unterlagen und benennt die Preisträger. Sie ist berechtigt, sich Beurteilungen von dritter Seite zu beschaffen und Kandidaten zur persönlichen Beurteilung einzuladen. Die Entscheidung der Jury ist unanfechtbar. Ein Rechtsanspruch auf Zuerkennung eines Preises besteht nicht.

Antragsformulare finden sich auf der Homepage des Verbands oder können bei der Geschäftsführung des Verbands 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 Gebiete der Milch- und Lebensmittelwirtschaft, insbesondere der milchwissenschaftlichen Forschung,
- Förderung des Nachwuchses durch Stipendien,
- ständigen Gedanken- und Erfahrungsaustausch mit der Milch- und Lebensmittelwirtschaft, den land- und milchwirtschaftlichen Organisationen, wissenschaftlichen Gesellschaften, Anstalten und Instituten des In- und Auslandes, durch Tagungen und Vorträge.

Unterstützt werden die am Campus Weihenstephan milchwissenschaftlich forschenden Einrichtungen in Form von Mitteln für neue Forschungsgebiete entweder direkt milchbezogen oder auch auf die Lebensmitteltechnologie allgemein bzw. für spezifische Ausstattungen. Oftmals werden dadurch Vorarbeiten initiierbar, die später zu öffentlich geförderten, vorwettbewerblich durchgeführten Gemeinschaftsforschungsprojekten führen, so dass die bereit gestellten Mittel mehrfach multipliziert werden. Die Vergabe der Forschungsmittel bzw. die Auswahl der beantragten Vorhaben nimmt der Vorstand vor, wobei ein aus dem Mitgliederkreis gewähltes Kuratorium mit 12 Industrievertretern den Vorstand berät. Die Kuratoriumsmitglieder haben eine Amtszeit von 3 Jahren.

Die Mitgliedsunternehmen ermöglichen mit ihren nach der Unternehmensgröße (Umsatz) gestaffelten Beiträgen eine substratspezifische Forschung in allen relevanten Disziplinen (Physiologie, Mikrobiologie und Produktsicherheit, Analytik, Technologie und technische Innovation, Betriebswirtschaft und Biofunktionalität), die sich vorrangig mit zukunftsgerichteten Fragestellungen in der Milch- bzw. Lebensmittelwissenschaft befassen kann, die ohne diese Förderung nicht zustande kommen könnten. Insofern übernimmt die Branche ein hohes Maß an Verantwortung und Engagement in Bezug auf stetige Innovation eines Segments der Lebensmittelindustrie, das seit jeher eine Leitfunktion in der gesamten Lebensmittelbranche innehat.

Im laufenden Jahr geförderte Projekte sind nachfolgend aufgeführt:

Lehrstuhl für Produktions- und Ressourcenökonomie

- *Produktivitätsimplikationen von Unternehmenszusammenschlüssen in der Molkereibranche*

Lehrstuhl für Marketing und Konsumforschung

- *Zugang zur* Global New Products Database *der Fa. Mintel für ein Forschungsprojekt zu den Treibern und Ausprägungen von Innovation und Reformulierung bei verarbeiteten Milchprodukten*

Lehrstuhl für Tierphysiologie und Immunologie

- *Biomarker Immun-Monitoring in Milchkühen*

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

- *Untersuchung möglicher Anpassungen von* Anoxybacillus flavithermus *in Anlagen zur Herstellung von Milch- und Molkepulver*

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

- *Beschaffung eines neuen Rheometers*
  *(*Beantragt: *Messgerät zur Bestimmung des Zetapotentials von Oberflächen)*

Eine besondere Rolle spielen in diesem Zusammenhang die öffentlich durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi) geförderten Forschungsprojekte im Rahmen der „Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)“, die über den Arbeitskreis für industrielle Gemeinschaftsforschung (AiF) bzw. den Forschungskreis der Ernährungsindustrie (FEI) ausgeschrieben werden. An derartigen Vorhaben beteiligen sich Mitglieder der Fördervereinigung unter Einsatz von Mitgliedsbeiträgen regelmäßig, so dass eine enge Anbindung der Wissenschaft an industrierelevante Fragestellungen gewährleistet ist.

Beitragsordnung

1. Unternehmen

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

2. Einzelmitglieder

Mindestbeitrag 100,00 €

Informationstransfer – Mitgliederinformation

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

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

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

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

Interessierte Neumitglieder können das nachstehend abgedruckte Beitrittsformular verwenden.

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

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

B E I T R I T T S E R K L Ä R U N G

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

Name: .....

bzw. Firma: .....

Anschrift: .....

....., den ....….....

(Unterschrift)

Technischer Teil

Hinweise auf neue Techniken und Produkte

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

Verzeichnis der Fachfirmen

	Seite
1. Bayerische Milchindustrie eG, Landshut	121
2. Privatmolkerei Bauer GmbH & Co. KG, Wasserburg/Inn	124
3. B&L Mediengesellschaft mbH & Co. KG, Bad Breisig	122
4. DSM Food Specialities Germany GmbH, Düsseldorf	126
5. Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH, Cham	127
6. GQM mbH, Landshut	125
7. Milchindustrie-Verband e.V., Berlin	127
8. Molkerei Weihenstephan GmbH & Co. KG, Freising	128
9. Zentis GmbH & Co. KG, Aachen	123

BMi
Beste Milch Ideen

Beste Milch Ideen
aus Tradition

Beste Qualität
Verantwortungsvoll erzeugte Milch
Innovative Produktideen

www.bmi-eg.com

paladin
Frankenland
BMi Bio Bauern

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

B&L MedienGesellschaft mbH & Co. KG

UNSERE FACH- UND KUNDENZEITSCHRIFTEN BEGLEITEN DEN GESAMTEN WEG DER MILCH:

VON DER VERARBEITUNG ÜBER DIE VERMARKTUNG, AN DEN POS UND DIREKT BIS ZUM VERBRAUCHER

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

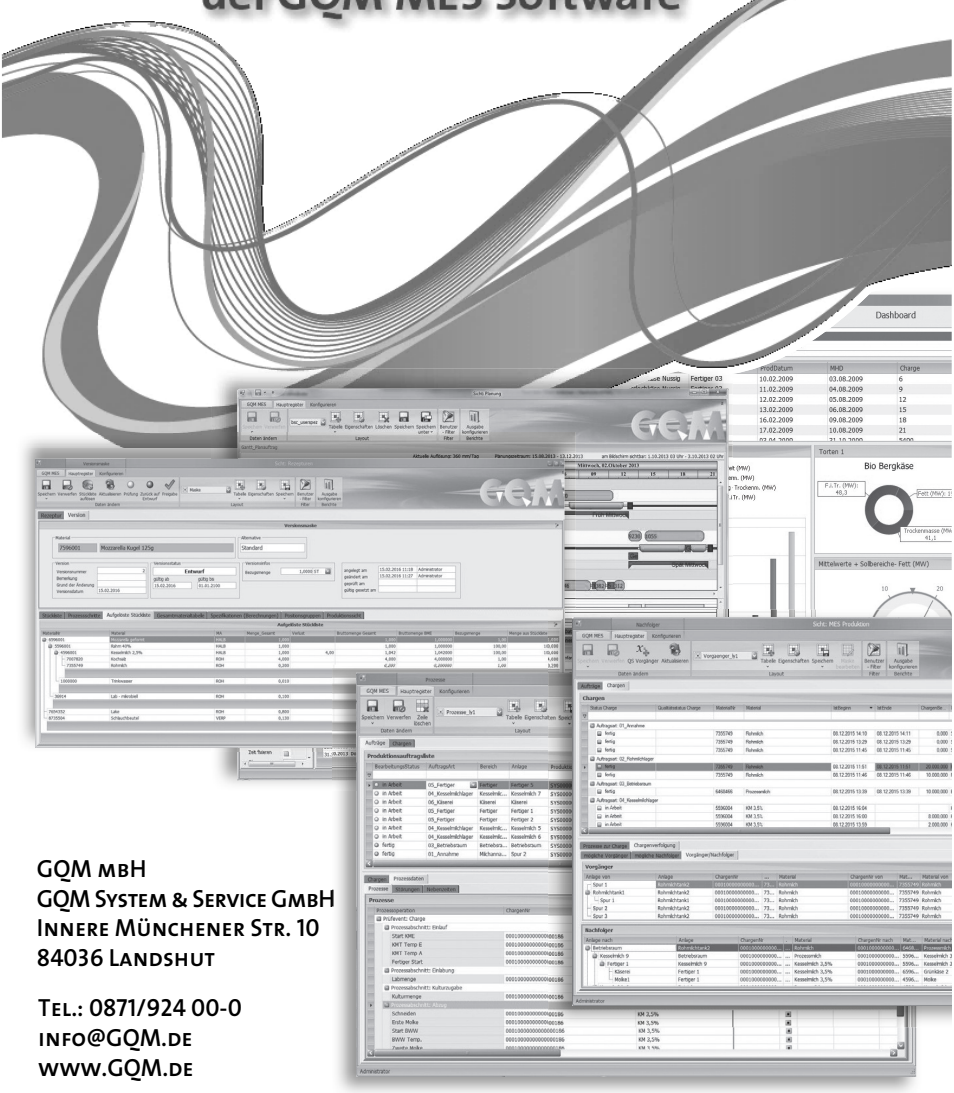
Köstliche Innovationen
an fermentierter Milch
Setzen Sie Ihren Joghurt-, Milch- und Eiskreationen die Krone auf – mit den vielfältigen Fruchtzubereitungen von Zentis. Ob bewährte Standards oder individuelle Rezepturen: Jedes Produkt wird auf die speziellen Bedürfnisse unserer Kunden und auf die Vorlieben der Verbraucher abgestimmt. Und täglich kommen neue Innovationen hinzu. Schonende Herstellverfahren sorgen dabei für dauerhafte Qualität und Frische.
Erfolgsrezepte von Zentis – dem innovativen Partner der Milchindustrie.
ZENTIS
seit 1893
Zentis GmbH & Co. KG ■ Postfach 10 16 37 ■ 52016 Aachen ■ Deutschland
Tel. +49 (0) 2 41/47 60-0 ■ Fax +49 (0) 2 41/47 60-3 69 ■ www.zentis.de ■ info@zentis.de

„Und was kann der?“
Der bringt dich in Urlaubsstimmung!
Die Bauers, die können's einfach.
„Und was kann der?“
Der ist für den Bärenhunger!
Die Bauers, die können's einfach.
„Und was kann der?“
Der ist einfach gut zum Teilen!
Die Bauers, die können's einfach.
„Und was kann der?“
Der ist für besonders feine Momente!
Die Bauers, die können's einfach.

GQM

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

Die neue Generation
der GQM MES Software



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

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

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

CREATING BETTER DAIRY PRODUCTS. TOGETHER.
BRIGHT SCIENCE. BRIGHTER LIVING.™
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.
DSM

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

MIV MILCH INDUSTRIE VERBAND

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

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

Der MIV fördert Forschung und Wissenschaft:

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

Milchwissenschaft und -forschung: eine Chance für Milchindustrie und Wissenschaft

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

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