

# Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan

Wissenschaftszentrum Weihenstephan  
für Ernährung, Landnutzung und Umwelt  
Technische Universität München



## Jahresbericht 2004

der milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten  
am Wissenschaftszentrum Weihenstephan

# Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan

Jahresbericht 2004  
über die Tätigkeit der  
milchwissenschaftlichen Forschungseinheiten  
am Wissenschaftszentrum Weihenstephan  
der Technischen Universität München  
in der Zeit vom  
1. Januar 2004 bis 31. Dezember 2004

47. Band 2004  
Weihenstephan, März 2005

**Herausgeber und verantwortlich für den Inhalt:**

*Univ.-Prof. Dr. Dr. Heinrich H.D. Meyer, Univ.-Prof. Dr.-Ing. U. Kulozik, Univ.-Prof. Dr. S. Scherer und Univ.-Prof. Dr. H. Weindlmaier sowie die Vereinigung der Förderer der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V.*

**Der „Jahresbericht über die Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan“ 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 an folgende Adresse erbeten:**

*Univ.-Prof. Dr. H. Weindlmaier  
D-85350 Freising  
Deutschland ISSN 1613-7167*

**The Report "Dairy Research at the Life Science Centre Weihenstephan" is published annually and is available to libraries and institutions especially on exchange basis. Please, forward to the following address:**

*Univ.-Prof. Dr. H. Weindlmaier  
D-85350 Freising  
Deutschland ISSN 1613-7167*

Alle Rechte des Nachdrucks, auch das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten.

# Inhaltsverzeichnis

Seite

<b>Vorwort</b> .....	1
<b>ZIEL - Abteilung Physiologie</b>	
<b>Lehrstuhl für Physiologie</b> .....	2
Personal.....	2
Nachruf Prof. Heinrich Karg.....	4
Forschung.....	5
I. Laktationsphysiologie.....	5
II. Lebensmittelsicherheit, Ernährung und Umwelt.....	10
III. Reproduktionsbiologie .....	12
1) Ovidukt und Uterus .....	12
2) Ovar.....	14
a) Follikulogenese.....	14
b) Gelbkörperfunktion und induzierte Luteolyse .....	16
IV. Bioanalytik .....	18
Dissertationen, Diplomarbeiten, Masterarbeiten, Bachelorarbeiten .....	26
Lehre, Vorträge, Tagungen des Lehrstuhls.....	28
Vorträge .....	29
Tagungen des Lehrstuhls .....	34
Öffentlichkeitsarbeit, Exkursionen .....	36
Ehrungen, Ernennungen.....	36
Veröffentlichungen .....	36
<b>Versuchsstation Veitshof</b> .....	43
<b>Professur für Betriebswirtschaftslehre der Milch- und Ernährungsindustrie</b> .....	45
Personal.....	45
Forschung.....	45
I. Forschungsprojekte zur Milch- und Molkereiwirtschaft.....	45
II. Forschungsprojekte zur Fleischwirtschaft.....	64
Dissertationen, Diplomarbeiten .....	74
Lehre, Vorträge .....	75
Beratung, Seminare, Workshops, Medienarbeit .....	77
Beratung / Wissenschaftliche Gutachten.....	77
Workshop für Molkereifachleute.....	79
Workshop zur Wertschöpfungskette Fleisch.....	80
Medienarbeit.....	81
Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen.....	81
Besucher der Professur .....	81
Veröffentlichungen .....	82

	Seite
<b>ZIEL - Abteilung Mikrobiologie</b> .....	84
Adresse, Einführung .....	84
Forschung.....	85
Arbeitsgruppe: Identifizierung lebensmittelrelevanter Mikroorganismen .....	85
Arbeitsgruppe: Toxinbildung und Identifizierung von <i>Bacillus cereus</i> .....	90
Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an <i>Salmonellen</i> und <i>Listerien</i> .....	94
Arbeitsgruppe: Ökologie von pathogenen Bakterien aus Lebensmitteln .....	99
Arbeitsgruppe: Mikrobielle Ökologie von Starter- und Reifungskulturen.....	105
Arbeitsgruppe: Stabilität des BSE-Erregers in Lebensmitteln .....	108
Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten .....	110
Vorträge und Posterpräsentationen .....	111
1. Wissenschaftliche Vorträge.....	111
2. Posterpräsentationen.....	113
Veröffentlichungen .....	114
 <b>ZIEL - Arbeitsgruppe Rohmilchqualität</b> .....	 115
Personal.....	115
Forschung.....	115
Lehre, Vorträge .....	119
Beratung, Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen .....	121
Veröffentlichungen .....	121
 <b>ZIEL - Arbeitsgruppe Proteinanalytik</b> .....	 123
Personal.....	123
Forschung.....	123
Beratung, Tagungen, Exkursionen.....	125
 <b>ZIEL - Abteilung Technologie</b>	
<b>Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie</b> .....	126
Personal.....	126
Vorwort .....	127
Forschung.....	129
Arbeitsgruppe: Bioprozesstechnik / Aseptik .....	129
Arbeitsgruppe: Proteintechnologie / Membrantechnik.....	137
Arbeitsgruppe: Rheologie und Mikrostruktur .....	150
Diplomarbeiten und Masterarbeiten .....	166
Semesterarbeiten und Bachelorarbeiten.....	167
Vorträge, Posterpräsentationen .....	168
Technologietransfer .....	172
Exkursionen .....	172
Medienarbeit.....	173

---

	Seite
Partnerschaft Technische Universität München in den bayerischen Gymnasien .....	173
Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen .....	173
Besucher / Besuche .....	174
Veröffentlichungen .....	175
<b>Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologe n e.V.....</b>	<b>176</b>
<b>Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der TUM in Freising-Weihenstephan e.V.....</b>	<b>180</b>
<b>Technischer Teil .....</b>	<b>182</b>

## 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 nicht nur zu erhalten, sondern über alle beteiligten Disziplinen hinweg auszubauen.

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

---

## ZIEL – Abteilung Physiologie Lehrstuhl für Physiologie

---

### Adresse

Weihenstephaner Berg 3  
D- 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3508  
Telefax: 08161-71-4204  
Internet: <http://www.weihenstephan.de/fml/physio>  
E-mail: [physio@wzw.tum.de](mailto:physio@wzw.tum.de)

### Personal

Institutsleitung:	o. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Heinrich H.D. Meyer	71-3508
Sekretariat:	Gertraud Mayer	-3508
	Renate Schöpf	-5549
Mitarbeiter:	Dr. rer. nat. Christiane Albrecht	-3994
	Elisabeth Aberl, TA	-5549
	Dr. agr. Bajram Berisha	-3510
	Prof. Dr. agr. Rupert M. Bruckmaier	-4429
	Inge Celler, TA	-5559
	Tamara Dicker, TA	-5552
	Brigitte Dötterböck, TA	-4422
	Christine Fochtmann, Veterinärtechnikerin	-4422
	Gossmann Robert, AzuBi	-4422
	Monika Partsch, TA	-5545
	PD Dr. agr. Michael W. Pfaffl	-3511
	Angela Sachsenhauser, TA	-4422
	em. Professor Dr. med. vet. Dieter Schams	-3509
	Waltraud Schmid, TA	-4422
	Anett Schröder (AzuBi seit 01.09.2004)	-4422
	Gabriele Schwentker, LTA	-5544
	Tamara Stelzl, TA	-4422
	Dr. med. vet. Olga Wellnitz (seit 01.01.2004)	-4202
Gäste:	Dr. Monika Kaczmarek, Humboldt-Stipendiatin, Polish Academy of Sciences, Institute of Animal Reproduction and Food Research Olsztyn, Polen: 01.10.2004 – 31.03.2005	
	Prof. Dr. Shehadeh Kaskous, Sektion Tierproduktion, Landwirtschaft Fakultät, Damaskus, Syrien: 13.07. – 12.09.2004	



Dipl. Ing. Arthur Kroismayr, Universität für Bodenkultur Wien Department für Lebensmittelwissenschaften und -technologie, Wien Österreich: 03.12.2004 – 31.03.2005

Jasna Lalic, University of Zagreb, Faculty of Science, Department of Biology, Zagreb: 30.09. – 01.12.2004

Prof. Dr. Bukkaraya S. Prakash, Deemed University, National Dairy Research Institute, Indian Council of Agricultural Research, Karnal, Indien: 02.09. – 30.11.2004

Dr. Enrique Viturro del Rio, Universidad Autonoma de Madrid, Spanien: 19.01.2004 – 30.06.2005

Dr. Maristela Rovai, Sao Paulo, Brasilien: 20.02. – 16.12.2004

Dr. Pananeh Assa, Istanbul, Türkei: 01. – 30.08.2004

Dr. Azel Swemmer, Toxicology Department, Onderstepoort Veterinary Institute, Onderstepoort, Südafrika: 05. – 15.12.2004

**Im Berichtsjahr waren folgende Doktoranden am Institut tätig:**

Lebensmittel-Chemiker:	Anita Hartel (bis 31.10.2004); Hande Sarikaya (seit 01.02.2002)
Diplom-Agrar-Ingenieure:	Simone Helmreich (bis 31.03.2004); Maria Kollmann (seit 01.04.2004); Juliana Macuhova (bis 30.06.2004); Christian Prgomet (seit 01.06.2001); Julia Sehm (seit 01.11.2002); Susanne E. Ulbrich (seit 01.10.2001); Daniel Weiß (bis 30.09.2004)
Tierärzte:	Simone Keßel (seit 01.09.2002); Heike Kliem (seit 01.07.2004); Peter Reith (seit 15.04.2004); Vera Steinberg (seit 01.06.2004); Claudia Werner-Misof (seit 01.09.2002); Steffie Wiedemann (seit 01.07.2003)
Diplom-Biologen:	Carolin Farke (seit 15.01.2004); Bodo Lutz (seit 01.01.2003); Ekterina Shedova (bis 31.12.2004); Harald Welter (bis 31.12.2004)
Molekular-Biologin:	Aline Rabot (seit 16.01.2004)
Diplom Ökotrophologin:	Simone Fleige (seit 01.06.2004)

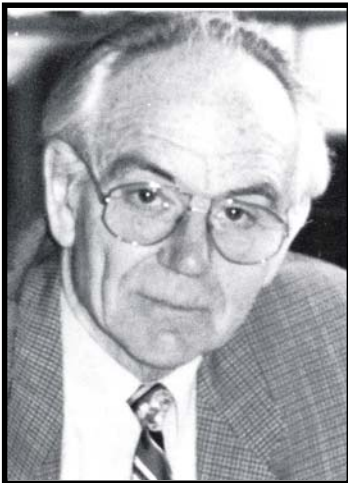
## Nachruf

Am 26. September 2004 starb Prof. Heinrich Karg, emeritierter Ordinarius für Physiologie der Fortpflanzung und Laktation der TU München, im Alter von 76 Jahren.

Prof. Heinrich Karg war einer der weltweit prägenden Wissenschaftler der modernen Endokrinologie. Drei Jahrzehnte hat er mit großem persönlichen Einsatz den Lehrstuhl für Physiologie der Fortpflanzung und Laktation an der Technischen Universität München sowie das Institut für Physiologie des Forschungszentrums für Milch und Lebensmittel in Weihenstephan geleitet.

Heinrich Karg, gebürtiger Münchener, studierte in seiner Heimatstadt bis 1952 Tiermedizin. Dem physiologischen Institut der LMU gehörte er nach seiner Promotion 1953 und Habilitation 1958 noch bis 1966 an. Mehrere Studienaufenthalte in Industrie und Forschung führten ihn unter anderem in die USA, nach Kanada und Kenia. Nach seinen früheren Arbeiten zum Thema „Vitamin D in der Milch“ führte er in der Veterinärmedizin in München die Endokrinologie als neue Fachrichtung der Physiologie ein. 1966 ging er nach Weihenstephan und baute hier das Institut für Physiologie mit einem endokrinologischen Schwerpunkt auf.

Dank seiner innovativen Ideen sowie hervorragender junger und motivierter Mitarbeiter er-



langte sein Institut bald internationale Bekanntheit. So kamen aus diesem Institut 1968 einer der ersten Radioimmunoassays (RIA) für das Luteinisierungshormon, 1969 der weltweit erste Prolaktin-RIA und Anfang der 70er Jahre die ersten RIA für Steroide. Derart sensitive Testverfahren waren eine völlig neue Grundlage für die Routinemessung von Hormonen und Erarbeitung der Regelmechanismen von Reproduktion und Laktation – Basis für viele Kooperationen mit medizinischen, veterinärmedizinischen und agrarwissenschaftlichen Einrichtungen, für DFG-Schwerpunkte und Sonderforschungsbereiche. Ende der 70er Jahre wurden die noch empfindlicheren Enzymimmunoassays (EIA) entwickelt, in den 80ern wurde die molekulare Endokrinologie ins Methodenrepertoire eingegliedert. Auch die Justiz nutzte das Wissen des Instituts, etwa bei Verfahren mit Kälbermästern. Hier hatte das

Institut für Diäthylstilbestrol, Sexualsteroiden und Clenbuterol vorausschauend Nachweisverfahren entwickelt – auch dies ist als Verbraucherschutz anzusehen.

Heinrich Karg lehnte mehrere Rufe an andere Universitäten ab. Mit seiner Arbeit baute er eine eigene Schule auf. Acht seiner Mitarbeiter habilitierten sich, sieben haben einen Ruf auf C4-Professuren angenommen. Heute wirken sie alle weltweit und tragen sein Gedankengut weiter. Kennzeichnend für das weltoffene Institut sind die vielen internationalen Gastwissenschaftler und die internationalen Aktivitäten sowie seine Mitarbeit in WHO oder FAO. In Anerkennung seiner Verdienste erhielt er mehrere Ehrenpromotionen und Auszeichnungen wie das Bundesverdienstkreuz.

In Dankbarkeit und Trauer haben wir Abschied von Heinrich Karg genommen. Er wird uns in lebhafter Erinnerung bleiben.

## Forschung

### I. Laktationsphysiologie

#### **Veränderungen der mRNA Expression im Milchdrüsengewebe der Kuh innerhalb von 12 Stunden nach einer Belastung mit *E. coli* Endotoxin**

*Short-term changes of mRNA expression of various inflammatory factors and milk proteins in mammary tissue during PLS-induced mastitis*

Schmitz, S.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M.: Domestic Animal Endocrinology 26 (2004) S. 111-126

*mRNA expression of apoptosis-related in mammary tissue and milk cells in response to lipopolysaccharide challenge and during subclinical mastitis*

Didier, A.; Bruckmaier, R.M.: Milk Science International 59 (2004) S. 119-123

In der Untersuchung wurde die Regulation der Immunabwehr in der frühen Phase einer Mastitis untersucht. Durch eine neu entwickelte und äußerst schonende Biopsie-Methode konnten in Intervallen von 3 Stunden wiederholte Eutergewebeproben entnommen werden. Durch die quantitative real-time RT-PCR war es möglich, trotz kleinster Probenmengen (20-40 mg Gewebe) die mRNA-Expression einer Vielzahl von Faktoren zu messen. Der Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) erreichte bereits 3 Stunden nach der Stimulation sein höchstes Expressionsniveau, während die mRNA Expression von Lactoferrin, Lysozym und induzierbarer Stickoxidsynthetase (iNOS) ebenfalls anstieg, aber erst nach 6 Stunden ihr Maximum erreichte. Auch die Expression mehrerer anderer Entzündungsmediatoren stieg infolge der Stimulation an, allerdings geringer als die der oben genannten. Außerdem kam es zu einem deutlichen Anstieg zentraler Faktoren (Caspasen, FAS, FAS-Ligand), die die Apoptose (= programmierter Zelltod) der Milchdrüsenzellen steuern. So ist es nicht erstaunlich, dass die Expression zentraler Milchproteine wie des  $\alpha$ -Lactalbumin, das über die Steuerung der Lactose-Synthese unmittelbar mit der Milchmengenleistung korreliert ist, und die Expression des  $\kappa$ -Caseins infolge der Endotoxin-Stimulation innerhalb weniger Stunden abnahmen.

#### **Anpassungsvermögen individueller Kühe an ein automatisches Melksystem nach der Umstellung vom konventionellen Melkstand**

*Coping capacity of dairy cows during the change from conventional to automatic milking*

Weiss, D.; Helmreich, S.; Möstl, E.<sup>1</sup>; Dzidic, A.; Bruckmaier, R.M.: Journal of Animal Science 82 (2004) S. 563-570

Nach der Neuinstallation von automatischen Melksystemen führt die Umstellung von Kühen vom konventionellen zum automatischen Melken während laufender Laktation häufig zu Leistungseinbußen, die nachfolgend kaum mehr kompensiert werden. In der Untersuchung an 17 Kühen variierte die Milchleistung beim ersten automatischen Melken individuell zwischen 8 % und 96 % der erwarteten Milchleistung vor der Umstellung, d.h. dass teilweise erhebliche Störungen der Milchejektion auftreten, während ein Teil der Tiere kaum negativ auf die Umstellung reagiert. Der Grad der Ejektionsstörung nach der Umstellung war umso stärker, je stärker während dieser Melkungen ein Anstieg der Herzfrequenz messbar war. Zusätzlich

<sup>1</sup> Institut für Biochemie, Veterinärmedizinische Universität, Wien, Österreich

wurde unabhängig vom Melken bei den Versuchstieren eine Stimulation der Nebennierenrinde (Freisetzung von Cortisol) durch die Injektion von adrenocorticotropem Hormon (ACTH) durchgeführt. Dabei wurde festgestellt, dass die Milchejektionsstörung bei der ersten automatischen Melkung umso stärker war, je weniger Cortisol aufgrund der ACTH-Stimulation freigesetzt wurde. Damit ist aufgrund der ACTH-Stimulation eine Vorhersage möglich, wie sich eine individuelle Kuh an eine Stresssituation anpasst.

### **Oxytocinfreisetzung, Milchejektion und Milchabgabe in verschiedenen automatischen Melksystemen**

*Oxytocin release, milk ejection and milking characteristics in a single stall automatic milking system*

Dzidic, A.; Weiss, D.; Bruckmaier, R.M.: *Livestock Production Science* 86 (2004) S. 61-68

*Effects of cleaning duration and water temperature on oxytocin release and milk removal in an automatic milking system*

Dzidic, A.; Macuhova, J.; Bruckmaier, R.M.: *Journal of Dairy Science* 87 (2004) S. 4163-4169

*Oxytocin release and milk removal after delayed or long-lasting teat cup attachment during automatic milking*

Macuhova, J.; Tancin, V.<sup>2</sup>; Bruckmaier, R.M.: *Livestock Production Science* 87 (2004) S. 237-244

In mehreren Studien wurde die Stimulationswirkung der Euterreinigungssysteme verschiedener automatischer Melksysteme bezüglich Oxytocinfreisetzung, Milchejektion und Milchabgabe untersucht. Dabei wurde festgestellt, dass sowohl die Reinigungssysteme mit rotierenden Bürsten wie auch die Reinigung mit Wasser eine intensive Stimulationswirkung ausüben. Die optimale Stimulationsdauer hängt unabhängig vom System vom Füllungsgrad des Euters ab. Da in automatischen Melksystemen aufgrund der exakten Datenerfassung auch unter Routinebedingungen die erwartete Gemelksmenge automatisch errechnet wird, ist die Realisierung einer bei jeder Melkung der Euterfüllung angepassten Vorstimulationsdauer technisch kein Problem und wäre wünschenswert.

In automatischen Melksystemen kommt es vereinzelt vor, dass der Melkbeginn nach der Zitzenreinigung aufgrund von Fehlversuchen beim Ansetzen der Melkbecher für mehrere Minuten verzögert ist. In unseren Untersuchungen wurde gezeigt, dass sich diese Verzögerung nicht negativ auf die Milchejektion auswirkt, solange der Roboterarm am Euter weiterhin eine minimale taktile Stimulation gewährleistet. Nur bei einer völligen Unterbrechung der Stimulation für mehrere Minuten kommt es nachfolgend zu Ejektionsstörungen.

### **Auswirkungen einer chronischen Oxytocinanwendung auf die endogene Oxytocinfreisetzung und die Milchejektion**

*Effects of oxytocin administration on oxytocin release and milk ejection*

Macuhova, J.; Tancin, V.<sup>2</sup>; Bruckmaier, R.M.: *Journal of Dairy Science* 87 (2004) S. 1236-1244

Der chronische Einsatz von Oxytocin beim Melken führt zu Störungen der Milchejektion und zu reduzierten Gemelksmengen, wenn die Oxytocinbehandlung abgesetzt wird. Ziel der vorliegenden Studie war es, die pathophysiologischen Ursachen für diese Ejektionsstörungen zu untersuchen. In den Experimenten wurde Oxytocin im Blutplasma analysiert, sowie der

<sup>2</sup> Research Institute of Animal Production, Nitra, Slowakische Republik

Intramammärdruck und der Milchfluss aufgezeichnet. Es wurde festgestellt, dass die chronische Oxytocinbehandlung keinen negativen Einfluss auf die Freisetzung von Oxytocin während des Melkens hat. Auch die Milchejektion aufgrund der Oxytocinfreisetzung beginnt beim Melken unverändert. Allerdings entleeren sich in der Regel die Alveolen aufgrund des endogenen Oxytocins nur unvollständig. Nur die sehr hohen Blutkonzentrationen von Oxytocin, wie sie nach der Injektion von Oxytocin zu messen sind, gewährleisten eine vollständige Euterentleerung. Die Ejektionsstörung findet demnach peripher im Euter auf Ebene des Oxytocinrezeptors und der Myoepithelzellen statt. Vor dem Hintergrund dieser Ergebnisse ist der chronische Einsatz von Oxytocin auch bei Ejektionsstörungen und Mastitiden soweit wie möglich einzuschränken.

#### **mRNA Expression von immunologischen Faktoren und Milchproteinen in Milchdrüsen-gewebe und Milchezellen und ihre Konzentration in der Milch während einer subklinischen Mastitis**

*mRNA expression of immune factors and milk proteins in mammary tissue and milk cells and their concentration in milk during subclinical mastitis*

Schmitz, S.; Pfaffl, M.W.; Miller, M.<sup>3</sup>; Buchberger, J.<sup>3</sup>; Meyer, T.<sup>4</sup>; Sauerwein, H.<sup>4</sup>; Bruckmaier, R.M.: *Milk Science International* 59 (2004) S. 351-355

Mastitis bedingt Veränderungen der Milchproteinzusammensetzung und der Synthese immunologischer Faktoren. In dieser Arbeit wurde untersucht, ob Veränderungen bei einer subklinischen Mastitis mit einer somatischen Zellzahl (SCC) zwischen 150.000 und 300.000 Zellen/ml stattfinden. Das Experiment umfasste 8 Kontrolltiere mit einer SCC unter 150.000 Zellen/ml (C) und 5 Kühe mit teilweise erhöhten Zellzahlen. Deren SCC war wenigstens in einem Viertel >150.000 und ≤300.000 Zellen/ml (H) und in einem Viertel <150.000 Zellen/ml (L). Die Gemelke eines Viertels der Kontrolltiere und zweier Viertel der Tiere mit teilweise erhöhtem SCC wurden am Tag vor der Schlachtung gesammelt. Am Tag der Schlachtung wurde das Milchdrüsen-gewebe der jeweiligen Viertel entnommen. Die κ-CN-mRNA-Expression im Milchdrüsen-gewebe war gegenüber den L-Vierteln in den H-Vierteln erniedrigt, während bei allen anderen Parametern keine Expressionsunterschiede zwischen den Gruppen auftraten. Die mRNA-Expression der untersuchten immunologischen Faktoren war in den Milchezellen der H-Viertel erhöht. Die beschriebenen Veränderungen traten trotz einer nur leichten subklinischen Mastitis auf.

#### **Größe der Euterzisterne, Zisternenmilchmenge und Milchejektion bei indischen Murrah-Büffeln**

*Mammary cisternal size, cisternal milk and milk ejection in Murrah buffaloes*

Thomas, C.S.<sup>5</sup>; Svennersten-Saunja, K.<sup>5</sup>; Bhosrekar M.R.<sup>6</sup>; Bruckmaier, R.M.: *Journal of Dairy Research* 71 (2004) S. 162-168

<sup>3</sup> Lehrstuhl für Chemie der Biopolymere, Technische Universität München, Freising

<sup>4</sup> Institut für Physiologie, Biochemie und Hygiene der Haustiere, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn

<sup>5</sup> Dept of Animal Nutrition and Management, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Schweden

<sup>6</sup> B.G. Chitales Dairy Pvt. Ltd., Bhilawadi, Maharashtra, Indien

Die Einführung des Maschinenmelkens bei Wasserbüffeln gestaltet sich teilweise wegen der damit verbundenen ungenügenden Milchabgabe sehr problematisch. In einer ersten Studie wurde durch Ultraschall die Form und Größe der Euterzisterne untersucht, die Zisternenmilchmenge bestimmt und durch exogenes Ocytocin die Milchejektion ausgelöst. Die Zisternengröße war im Vergleich zu Milchkühen außerordentlich klein. Dementsprechend gering war die Zisternenmilchmenge mit nur ca. 300 g bzw. 5 % Anteil am Gesamtgemelk. Die Milchejektion nach Ocytocinverabreichung erfolgte jedoch ähnlich wie bei Milchkühen innerhalb von weniger als 30 Sekunden. Folglich muss die oft beobachtete verspätete Milchejektion bei Büffeln auf einer verspäteten Freisetzung von Ocytocin beruhen. Durch die Kombination der späten Milchejektion mit den beobachteten geringen Zisternenmilchmengen lassen sich die Probleme beim Maschinenmelken erklären. Abhilfe ist nur über eine ausreichende Vorstimulation zu schaffen, um die Freisetzung von Ocytocin rechtzeitig auszulösen.

### **Veränderungen physikalisch-chemischer Eutergesundheitsindikatoren während Mastitis und ihre Beeinflussung durch die Milchejektion**

*Changes of physicochemical indicators during mastitis and the effects of milk ejection on their sensitivity*

Bruckmaier, R.M.; Weiss, D.; Wiedemann, M.<sup>7</sup>; Schmitz, S.; Wendl, G.<sup>7</sup>: Journal of Dairy Research 71 (2004) S. 316-321

In der Studie wurde der Einfluss akuter Mastitis, induziert durch E. coli Endotoxin (LPS) auf die somatische Zellzahl sowie auf die Konzentrationen von Natrium- und Chloridionen und die elektrische Leitfähigkeit in der Milch untersucht. Außerdem wurde der Einfluss der Milchejektion bei der Entnahme von Vormilchproben auf die selben Parameter ermittelt. Während der Entzündungsreaktion nach LPS-Verabreichung stiegen alle untersuchten Parameter innerhalb von 3 Stunden stark an und erreichten 12 Stunden nach der Verabreichung die höchsten Werte. Während die Ionenkonzentrationen und die elektrische Leitfähigkeit nach ca. 30 Stunden wieder auf das Basalniveau abgefallen waren, blieb die somatische Zellzahl auch 60 Stunden nach der LPS-Gabe noch erhöht. Es wurde gezeigt, dass die Ionenkonzentrationen und die elektrische Leitfähigkeit in Vormilchproben eine gute Vorhersage des Zellzahl-niveaus und der Eutergesundheit erlauben, solange nicht innerhalb von 40 bis 60 s aufgrund der Stimulation durch die Probenahme die Milchejektion erfolgt. Nach erfolgter Milchejektion kam es zu einem leichten Abfall der somatischen Zellzahl. Im Gegensatz dazu wurde während der Milchejektion ein Abfall der Ionenkonzentrationen und der Leitfähigkeit beobachtet, der umso stärker war, je mehr die Werte vor der Ejektion erhöht waren. Damit waren Zellzahl-niveau und Eutergesundheitsstatus nach erfolgter Milchejektion durch die physikalisch-chemischen Parameter nicht mehr zu unterscheiden. Bei der Beprobung aller Viertel zur Untersuchung dieser Parameter ist daher zu beachten, dass die Probenahme aller Viertel innerhalb ca. 40 s abgeschlossen sein muss, um eine optimale Aussagekraft zu erreichen.

---

<sup>7</sup> Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Landtechnik, Bauwesen und Umwelttechnik, Freising

**Differenzierung von Leukozyten in Kuhmilch***Differentiation of leukocytes in bovine milk*

Sarikaya, H.; Prgomet, C.; Pfaffl, M.W.; Bruckmaier, R.M.: *Milk Science International* 59 (2004) S. 581-696

Die somatische Zellzahl der Milch wird als Indikator für den Eutergesundheitsstatus verwendet. Erhöhte Zellzahlen werden im Allgemeinen als Anzeichen für Mastitis betrachtet. Zusätzlich kann die Zusammensetzung der Populationen der somatischen Zellen der Milch eine weitergehende Information liefern, da jeder Zelltyp eine spezifische Funktion in der Immunantwort der Milchdrüse hat.

Ziel dieser Studie war die Entwicklung und Validierung einer Färbemethode für die somatischen Zellen der Milch. Daher wurde die panoptische Färbemethode nach Pappenheim für die Differenzierung von somatischen Zellpopulationen aus der Milch optimiert. Die Viertelgemelke von 28 Deutschen Braunvieh x Brown Swiss Kühen wurden hinsichtlich ihrer Zellzahl-niveaus in 3 Gruppen eingeteilt. Gruppe 1 bestand aus 12 Proben mit einem Mittelwert von  $4.57 \pm 0.10$ , Gruppe 2 aus 8 Proben mit einem Mittelwert von  $5.39 \pm 0.06$  und Gruppe 3 aus 8 Proben mit einem Mittelwert von  $6.15 \pm 0.07$   $\log_{10}$  Zellen/ml. Die Ergebnisse zeigten eine Verteilung von Lymphozyten, Makrophagen und Neutrophilen von 20.9, 45.6 bzw. 33.5% in Gruppe 1, von 11.4, 25.1 bzw. 63.5% in Gruppe 2 und von 3.3, 9.5 bzw. 87.2% in Gruppe 3. Somit konnte gezeigt werden, dass der Anteil von Lymphozyten und Makrophagen mit steigender Zellzahl abnimmt wohingegen der Anteil der Neutrophilen zunimmt.

**Die azyklische Periode *Post Partum* in automatischen und konventionellen Melkssystemen***The acyclic period postpartum in automatic and conventional milking*

Weiss, D.; Reist, M.<sup>8</sup>; Bruckmaier, R.M.: *Journal of Veterinary Medicine Series A* 51 (2004) S. 268-272

Die azyklische Phase nach der Geburt ist bei Kühen durch häufig saugende Kälber gegenüber zweimaligem Melken verlängert. Da beim automatischen Melken vor allem am Beginn der Laktation der Melkfrequenz mit bis zu 4 gegenüber derjenigen beim konventionellen Melken deutlich höher ist, sind auch hier im Vergleich Unterschiede bezüglich der zyklischen Aktivität denkbar. In unserer Studie wurden zweimal wöchentlich Milchproben auf ihren Progesteron-Gehalt untersucht, die von Kühen aus der gleichen Herde stammten, die aber entweder 2 mal täglich im konventionellen Melkstand oder bis zu 4 mal im automatischen Melkssystem gemolken wurden. Basierend auf den Progesteron-Profilen unterschieden sich die Behandlungsgruppen nicht bezüglich des Zeitraums bis zu ihrer ersten und zweiten Ovulation und bis zur erfolgreichen Besamung.

---

<sup>8</sup> Swiss Federal Veterinary Office, Bern, Schweiz

## II. Lebensmittelsicherheit, Ernährung und Umwelt

### Verbleib von rekombinanten Futtermolekülen während der Verdauung und bakterielle Pansenzusammensetzung bei transgen gefütterten Rindern

*Tracing residual recombinant feed molecules during digestion and rumen bacterial diversity in cattle fed transgene maize*

Einspanier, R.; Lutz, B.; Rief, St.; Berezina, O.<sup>9</sup>; Zverlov, V.<sup>10</sup>; Schwarz, W.<sup>10</sup>; Mayer, J.<sup>11</sup>: European Food Research and Technology 218 (2004) S. 269-273

Diese Studie verfolgte die Verdauung von Komponenten in isogenem und transgenem Mais im Gastrointestinaltrakt (GIT) des Rindes, nach der Fütterung von 22 Rindern mit Bt176 Mais über einen Zeitraum von 4 Wochen. Weiterhin wurden für den Vergleich von isogen und transgen gefütterten Tieren 16rDNA Sequenzierungen zur Charakterisierung der Pansenbakterien durchgeführt.

Fragmente des Chloroplasten-Genoms, der maisspezifischen *invertase*- bzw. *zein*-Gene und des Bt-Toxins (*Cry1Ab*) wurden in Proben aus dem Inhalt von verschiedenen GIT Abschnitten (Pansen, Labmagen, Dünndarm, Dickdarm) mittels quantitativer real-time PCR analysiert. Vorweg wurden die ursprünglichen Mengen dieser Gene in der Maissilage bestimmt.

Während der Verdauung konnte eine signifikante Abnahme, sowohl von allen pflanzlichen Genen und Genfragmenten in Abhängigkeit der Verweildauer festgestellt werden.

Die Messung des immunoaktiven Cry1Ab Proteins mittels ELISA ergab eine signifikante Abnahme des Proteins in den untersuchten Darmproben. Es konnte sowohl in allen Inhalten des GIT, als auch im Kot das Cry1Ab Protein gemessen werden. Zum ersten Mal wurde der Einfluss von Cry1Ab Protein des transgenen Mais auf die Population der Pansenflora im Vergleich zum isogenen Mais durch die Analyse von 497 individuellen 16S rDNA Sequenzen untersucht. Prinzipiell konnten spezifische vorherrschende Bakterienspezies in allen Pansenextrakten gefunden werden. Es war kein signifikanter Einfluss der Fütterung von Bt176 Mais auf die Zusammensetzung der Pansenflora nachweisbar. Diese Untersuchung liefert ergänzende Daten zur Degradation von rekombinatem Fremdmaterial aus transgenem Lebens- oder Futtermittel im GIT des Säugetieres.

### Mobilität der Wachstumsförderer Trenbolon und Melengestrolacetat in landwirtschaftlichen Böden

*Mobility of the growth promoters trenbolone and melengestrol acetate in agricultural soil: column studies*

Schiffer, B.; Totsche, K.U.<sup>12</sup>; Jann, S.<sup>12</sup>; Kögel-Knabner, I.<sup>12</sup>; Meyer, K.<sup>13</sup>; Meyer, H.H.D.: The Science of the Total Environment 326 (2004) S. 225-237

Seit einigen Jahren wächst die Besorgnis über industriell erzeugte Umweltchemikalien, die in dem Verdacht stehen, für eine Vielzahl schädlicher Effekte auf das Hormonsystem von Tieren

<sup>9</sup> Institute of Molecular Genetics RAS, Moskau, Russland

<sup>10</sup> Institut für Mikrobiologie, Technische Universität München, Freising

<sup>11</sup> Bayer. Landesanstalt für Landwirtschaft, Poing-Grub

<sup>12</sup> Lehrstuhl für Bodenkunde, Technische Universität München, Freising

<sup>13</sup> Lehrstuhl für Tierhygiene, Technische Universität München, Freising



und möglicherweise auch des Menschen verantwortlich zu sein. Sexualhormone sind dabei von besonderem Interesse, da sie regulatorisch in Entwicklungsprozesse wie z.B. die sexuelle Differenzierung eingreifen können. Sowohl endogene Hormone menschlichen oder tierischen Ursprungs als auch exogene Sexualsteroiden, die als Kontrazeptiva bzw. als Anabolika in der Tierhaltung Anwendung finden, werden ausgeschieden und gelangen in die Umwelt.

Mit Hilfe von Bodensäulenexperimenten wurde der Transport der synthetischen Wachstumsförderer Trenbolon (TbOH) und Melengestrolacetat (MGA) in landwirtschaftlichen Böden untersucht. Dazu wurden mittels Enzymimmunoassay bzw. HPLC (RP-18) die Hormonkonzentrationen in den Säuleneffluents sowie die Tiefenprofile ermittelt. Die Bestätigung der Analyseergebnisse erfolgte mittels LC-MS. Bei allen Bodensäulen wurde ein schneller Durchbruch geringer Mengen an TbOH und MGA beobachtet. Dennoch zeigten beide Hormone eine hohe Affinität zur organischen Bodenmaterie, welche dazu führte, dass beide Substanzen stark innerhalb der oberen Schichten der Bodensäulen zurückgehalten wurden. Aufgrund ihrer Durchbruchverhalten im Modellexperiment ist damit zu rechnen, dass TbOH und MGA unter Feldbedingungen Grundwasser führende Zonen erreichen können.

### **Charakterisierung der Steroidrezeptorexpression in einer humanen Prostata Karzinom Zelllinie 22RV1 und Quantifizierung der mRNA Regulation von prostataspezifischen Genen durch Androgene**

*Characterisation of steroid receptor expression in the human prostate carcinoma cell line 22RV1 and quantification of androgen effects on mRNA regulation of prostate specific genes*

Hartel, A.; Didier, A.; Ulbrich, S.E.; Wierer, M.; Meyer, H.H.D.: The Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 92 (2004) S.187-197

Zahlreiche Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Vielzahl anthropogener Chemikalien durch hormonähnliche Wirkungen einen schädigenden Einfluss auf Mensch und Tier haben können. Während bereits eine große Anzahl an östrogen- oder antiöstrogenwirkenden Verbindungen durch etablierte Testsysteme identifiziert werden konnte, ist der Kenntnisstand bei den endokrinen Disruptoren mit einem androgenen oder antiandrogenen Potential weitaus geringer.

Der Status des Androgenrezeptors (AR), Östrogenrezeptors  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) und Östrogenrezeptors  $\beta$  (ER $\beta$ ) sowie aller drei Isoformen des Gestagenrezeptors in der 22RV1 Zelllinie wurden auf der mRNA- und Proteinebene analysiert. Mittels real-time RT-PCR konnte mRNA nur vom AR und Glukokortikoidrezeptor  $\beta$  (GluR $\beta$ ) detektiert werden. Nicht nachweisbar war hingegen die mRNA von ER $\alpha$  und ER $\beta$ , den drei Isoformen des Gestagenrezeptors sowie von GluR $\alpha$ . Der Sequenzvergleich der H-Domäne vom Wild-Typ des humanen AR mit der H-Domäne des humanen AR der Zelllinie 22RV1 zeigte eine Mutation im Codon 874 von CAT, welches für Histidin codiert, zu TAT für Tyrosin. Es wurde aber keine veränderte Ligandenspezifität festgestellt. Für neun „Androgen Regulierte Gene“ (ARG) und prostataspezifische Gene wurde ein sensitives real-time RT-PCR System etabliert. Die Ergebnisse zeigen einen signifikanten Verlauf der mRNA Expression nach einer Behandlung mit den natürlichen Steroiden Dihydrotestosteron (DHT), Testosteron und 19-Nortestosteron. Alle Substanzen zeigen einen deutlichen zeithabhängigen und androgenspezifischen Einfluss auf die Transkription. In dem hier vorgestellten Zellkulturmodell konnte gezeigt werden, dass die Li-

ganden messbare Effekte auf die Expression des ARG auslösen und damit eine selektive Charakterisierung der untersuchten Substanzen aufgrund der Genexpressionsmuster ermöglichen.

### **Immunmodulatorische Wirkungen von Mykophenolsäure**

*Effects of mycophenolic acid treatment on the Fc receptor (FcRn) and polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) mRNA expression in adult sheep tissues*

Dzidic, A.; Mohr, A.<sup>13</sup>; Meyer, K.<sup>13</sup>; Bauer, J.<sup>13</sup>; Meyer, H.H.D.; Pfaffl, M.W.: Croatian Medical Journal 45 (2004) S. 130-135

Mykophenolsäure (MPS) zeigt immun-suppressive Wirkungen und wird in der Humanmedizin bei Organtransplantationen eingesetzt. In der Landwirtschaft trifft man es oft in schlechten Silagen an. Ziel der Studie war es den Einfluss von MPS auf die Expression von Immunglobulinrezeptoren (FcRN und pIgR) in Wiederkäuern zu untersuchen. Der Rezeptorsubtyp FcRN ist für den Transport der IgGs verantwortlich und pIgR für den trans-zellulären Transport von IgA und IgM.

Es wurden 9 gesunde Schafe für 9 Wochen mit 300 mg MPS pro Tier und Tag behandelt und 9 unbehandelten Schafen gegenübergestellt. Nach der Schlachtung der Tiere wurde die mRNA Expression in acht unterschiedlichen Organen (Leber, Niere, Jejunum, Ileum, Milz, Thymus, mesenterialer und pharyngealer Lymphknoten) bestimmt. Mittels real-time qRT-PCR konnten die beiden Rezeptoren exakt und zuverlässig quantifiziert werden. Jedes Gewebe zeigt ein gewebe-spezifisches Expressionsmuster für jeden Subtypen, dabei wurden extrem hohe Expressionen in der Leber, Niere und im gastro-intestinalen Trakt gemessen. In der Milz, Thymus, und den beiden Lymphknoten konnten mittlere bis niedrige Expressionslevel beider Rezeptoren bestimmt werden. Eine signifikante Abregulation der FcRN mRNA Expression konnte für die Leber ( $p=0,02$ ) gezeigt werden. Eine signifikante Aufregulation der pIgR mRNA Expression wurde im Ileum ( $p=0,04$ ) und in der Leber ( $p=0,04$ ) gefunden. Folgende Reihung der Expressionsstärken wurde für die FcRN mRNA (Leber > Niere > Jejunum > Ileum > Milz > Thymus > mesenterialer Lymphknoten > pharyngealer Lymphknoten) sowie pIgR mRNA gefunden (Leber > Niere > Jejunum > Ileum > pharyngealer Lymphknoten > Milz > Thymus > mesenterialer Lymphknoten).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass MPS immun-modulatorische Effekte zeigt. Es kann immun-suppressive Wirkungen in der Leber über die verringerte Expression des IgG Rezeptors vermitteln. Das könnte zu einem verminderten Transport der IgGs in die Galle führen. Im Gegensatz unterstützt es den Transport der IgAs und IgMs in der Leber und im Ileum.

## **III. Reproduktionsbiologie**

### **1) Ovidukt und Uterus**

#### **Hyaluronsäure im Rindereileiter – ausgeprägte Regulierung von Synthesen und Rezeptoren während des Zyklus**

*Hyaluronan in the bovine oviduct – distinct regulation of synthases and receptors during the oestrus cycle*

Ulbrich, S.E.; Schoenfelder, M.; Thoene, S.; Einspanier, R.: Molecular and Cellular Endocrinology 214 (2004) S. 9-18

**Monitoring der Genexpression in Epithelzellen des Rindereileiters während des Zyklus***Monitoring gene expression changes in bovine oviduct epithelial cells during the oestrous cycle*

Bauersachs, S.<sup>14</sup>; Rehfeld, S.<sup>14</sup>; Ulbrich, S.E.; Mallok, S.<sup>15</sup>; Prella, K.<sup>14</sup>; Wenigerkind, H.<sup>16</sup>; Einspanier, R.; Blum, H.<sup>15</sup>; Wolf, E.<sup>14</sup>: *Journal of Molecular Endocrinology* 32 (2004) S. 449-466

Der Eileiter spielt eine zentrale Rolle für den Transport und die Reifung der unbefruchteten Eizelle und der Spermien; auch die ersten Tage der frühen embryonalen Entwicklung finden im Eileiter statt. Während des Zyklus finden ausgeprägte morphologische und funktionelle Veränderungen statt, die hauptsächlich durch die Sexualhormone gesteuert werden. Im Mittelpunkt der Untersuchungen am Eileiter steht daher die Frage, welche Faktoren dazu beitragen, eine erfolgreiche Befruchtung zu ermöglichen.

Einen wesentlichen Beitrag hierzu leistet vermutlich Hyaluronsäure (HA). Dieses Mukopolysaccharid, dessen Rezeptoren (CD44, RHAMM, HARE) und die HA-synthetisierenden Enzyme (HAS2, HAS3) konnten mittels real-time RT-PCR bzw. Immunhistochemie im Rindereileiter identifiziert werden. Der Nachweis unterschiedlicher Konzentration an mRNA und Protein in den verschiedenen Kompartimenten des Eileiters (Ampulle und Isthmus sowie Stroma und Epithel) gibt Hinweise auf mögliche Interaktionen, u.a. mit den Eizellen, den Spermien und dem Embryo.

Darüber hinaus konnten mit Hilfe von subtraktiven cDNA-Bibliotheken und Array-Hybridisierungen 77 Markergene gefunden werden, die im Eileiterepithel während der beiden Zykluszeitpunkte Östrus und Diöstrus signifikant reguliert waren. Die Untersuchung des Transkriptom ist geeignet, um neue, an der Regulation beteiligte Gene, zu entdecken. Während des Östrus waren vor allem solche Gene aufreguliert, die an der Proteinsekretion und –modifikation beteiligt sind (z.B. TRA1, GRP78, ERP70). Gene, die an der Regulation der Transkription beteiligt sind, waren während der Gelbkörperphase leicht erhöht. Mit Hilfe der sensitiven real-time RT-PCR konnte die Genexpression exakt quantifiziert werden. Die Array-Technik und die real-time RT-PCR ergaben sehr gute Korrelationen ( $r > 0,92$ ) der Ergebnisse. Diese und weitere Kandidatengene können anschließend Ausgangspunkt für weitere grundlegende Untersuchungen sein, um die komplexen Mechanismen der Regulation genauer zu verstehen.

**Entwicklungs- und hormonell regulierte Expression des Fibroblastenwachstumsfaktors FGF und seiner Rezeptoren im Endometrium des Schweines***Developmental and hormonal regulated gene expression of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) and its receptors in porcine endometrium*

Welter, H.; Wollenhaupt, K.<sup>17</sup>; Einspanier, R.: *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 88 (2004) S. 295-304

---

<sup>14</sup> Institut für molekulare Nutztierhaltung und Biotechnologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München

<sup>15</sup> Genzentrum der Ludwig-Maximilians-Universität, München

<sup>16</sup> Bayerisches Forschungszentrum für Reproduktionsbiologie, Oberschleißheim

<sup>17</sup> Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere, Dummerstorf

### **Expression des Epidermalwachstumsfaktorrezeptors, VEGF- und FG-Rezeptor-Systems im Eileiter und Ovidukt des Schweines während des Implantationszeitpunktes**

*Expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R), vascular endothelial growth factor receptor (VEGF-R) and fibroblast growth factor receptor (FGF-R) systems in porcine oviduct and endometrium during the time of implantation*

Wollenhaupt, K.<sup>17</sup>; Welter, H.; Einspanier, R.; Manabe, N.<sup>18</sup>; Brussow, K.P.<sup>17</sup>: Journal of Reproduction and Development 50 (2004) S. 269-278

Ein optimales endometriales Milieu ist entscheidend für eine Trächtigkeit. Neben den Sexualsteroiden wird Wachstumsfaktoren und Zytokinen eine unterstützende Rolle bei diesem Prozess zugesprochen. Die Erforschung der Syntheseleistung von Fibroblastenwachstumsfaktoren (FGF) und Stickstoffmonoxidsynthasen (NOS) im Endometrium des Schweines und Pferdes auf mRNA und Proteinebene war Gegenstand dieses Projektes. Im Schwein konnte eine hormonelle Regulation dieser beiden Systeme während des Zyklus und der Trächtigkeit nachgewiesen werden. FGF-2, FGF-7, FGFR1 und FGFR2IIIb waren während der Implantationsphase stark exprimiert. Immunhistochemisch wurden FGF-2, FGF-7 und FGFR1 im Epithel, Stroma sowie in Blutgefäßen nachgewiesen.

Im Pferd gelang erstmals der Nachweis dieser beiden Systeme. Es konnte eine zyklus- und trächtigkeitsabhängige Expression dokumentiert werden. Während der Trächtigkeit wurden FGF-2 und FGF-7 im Epithel, der Basalmembran und in Blutgefäßen lokalisiert. Die unterschiedlich starke Expression von Mitgliedern der FGF- und NOS-Familie im Endometrium beider Tierarten deutet auf eine wichtige Rolle für die Gefäßbildung, Blutversorgung und epitheliale sowie stromale Differenzierung des Endometriums hin.

## **2) Ovar**

### **a) Follikulogenese**

#### **Expression und Lokalisation von Mitgliedern der FGF Familie während des Endwachstums von Rinderovarfollikeln**

*Expression and localization of fibroblast growth factor (FGF) family members during the final growth of bovine ovarian follicles*

Berisha, B.; Sinowatz, F.<sup>19</sup>; Schams, D.: Molecular Reproduction and Development 67 (2004) S. 162-171

Die Vorgänge, welche die Selektion, das weitere Wachstum des dominanten Follikels sowie die Ovulation regulieren, sind bis jetzt immer noch unklar. Diese Untersuchungen zeigen, inwieweit die Fibroblasten Wachstumsfaktor (FGF) Familie für das Endwachstum des dominanten Follikels wichtig ist. Hierzu wurden Follikel aufgrund der Östradiolkonzentration in der Follikelflüssigkeit (FF) in fünf Klassen unterteilt (<0,5; >0,5-5; >5-20; >20-180; >180 ng/ml). Die Follikelklassen wurden zusätzlich charakterisiert durch die mRNA Expression von LH- und FSH-Rezeptor sowie der Aromatase in Theka und Granulosazellen.

Die mRNA Expression von Mitgliedern der FGF Familie (Liganden und Rezeptoren), getrennt in Theka und Granulosazellen, sowie die Lokalisation mittels Immunhistochemie wur-

<sup>18</sup> Unit of Anatomy and Cell Biology, Department of Animal Science, Kyoto University, Kyoto, Japan

<sup>19</sup> Lehrstuhl für Tieranatomie II, Ludwig-Maximilians-Universität, München

de geprüft. Die Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung von Mitgliedern der FGF Familie für die Proliferation von Kapillaren (Angiogenese), die Selektion und das Endwachstum des dominanten Follikels.

### **Expression von Mitgliedern der FGF Familie in Rinderovarfollikeln während der periovulatorische Phase**

*The expression of fibroblast growth factor (FGF) family members in bovine follicles during peri-ovulatory phase*

Berisha, B.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: 37. Jahrestagung über Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung gleichzeitig 29. Veterinär-Humanmedizinische Gemeinschaftstagung, München, 19.-20.02.2004. Veterinary Medicine Austria / Wiener Tierärztliche Monatsschrift 91 (2004) S. 10-11

Unsere früheren Untersuchungen haben gezeigt, dass Mitglieder der FGF Familie mit an der Angiogenese, besonders an der vom dominanten Follikel, sowie an der Granulosazellen Funktion und Proliferation beteiligt sind. Ziel der vorliegenden Arbeiten war die Auswertung von zeitlich definierten Follikelproben, gewonnen vor und nach dem LH-Gipfel bis zur Ovulation. Genügend Material für die Studien zur mRNA Expression, Proteinkonzentration und Proteinlokalisierung war nur zu erhalten, wenn genügend Follikel zur Verfügung standen. Dies konnte nur mit Hilfe der Superovulation bewerkstelligt werden: Nach Induzierung der Luteolyse mit Prostaglandin (PG), Stimulation des Follikelwachstums mit FSH und 40h nach der PG Applikation von GnRH zur Induktion der Ovulation wurden Follikel bzw. frische CL durch transvaginale Ovariectomie gewonnen (4 – 5 Tiere/Gruppe).

Follikel wurden in folgende Gruppen eingeteilt: (I) Vor GnRH-Injection (vor LH Gipfel); (II) 3-5h nach GnRH (während des LH-Gipfels); (III) 10h nach GnRH; (IV) 20h nach GnRH; (V) 25h nach GnRH (während der Ovulation); (VI) 48-72h nach GnRH (nach der Ovulation; CL Tag 2-3)

Als Charakterisierungsparameter für unsere Follikelgruppen dienten die Spiegel von Östradiol, Progesteron, PGF<sub>2</sub> $\alpha$  und PGE<sub>2</sub> in der FF. Die Ergebnisse zeigten einen typischen Verlauf in der FF mit signifikantem Abfall 10h nach LH für E<sub>2</sub> sowie gleichbleibenden niedrigen Progesteronwerten, die erst um die Ovulation deutlich ansteigen. Typischer war der Verlauf der Prostaglandine mit signifikantem Anstieg 20h nach GnRH und weiterem Anstieg um die Ovulation.

Die ersten Ergebnisse zeigten eine ausgeprägte mRNA Expression, Proteinkonzentration und deutliche Lokalisationswechsel von FGF2 in Follikelgruppen während der periovulatorischen Phase (vor LH-Gipfel: Lokalisation hauptsächlich in Endothelzellen und Pericyten von Blutgefäßen; nach LH-Gipfel: nur im Zellkern von Granulosazellen). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass FGF2 bei der Follikelzelldifferenzierung (Luteinisierung der Granulosazellen in Lutealzellen), sowie Gelbkörperanbildung eine wichtige Rolle spielen kann.

### **Expression von Mitgliedern des Angiopoietin-Tie Systems in Granulosa Zellen während des Follikelwachstums im Eierstock des Rindes**

*Expression of mRNA for the angiopoietin-tie system in granulosa cells during follicular development in cows*  
Hayashi, K.G.<sup>20</sup>; Berisha, B.; Matsui, M.<sup>20</sup>; Schams, D.; Miyamoto, A.<sup>20</sup>: Journal of Reproduction and Development 4 (2004) S. 477-480

Diese Untersuchungen zeigen, dass die spezifischen Wachstumsfaktoren des Angiopoietin-(ANPT)-Tie-System für das Endwachstum des dominanten Follikels eine wichtige Rolle spielen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war mRNA Expression von Mitgliedern der Angiopoietin Familie im Follikel des Rindes nachzuweisen. Eine Einteilung der Follikel in fünf Gruppen (<0,5; >0,5-5; >5-20; >20-180; >180 ng/ml) erfolgte nach dem Östradiol-17 $\beta$ (E<sub>2</sub>)-Gehalt in der Follikelflüssigkeit (FF). Das Follikelgewebe wurde in *Theka interna* (TI) und Granulosazellen (GZ) getrennt. Die Follikelklassen wurden zusätzlich durch die mRNA Expression von LH- und FSH-Rezeptoren sowie durch Aromatase charakterisiert.

Die mRNA Expression von ANPT-1 während des Follikelwachstums war ohne regulatorische Änderungen. Im Gegensatz dazu fiel die Expression der ANPT-2 mRNA und die ANPT-2/ANPT-1 Ratio in TI mit dem Follikelwachstum bis zum preovulatorischen Follikel ab. Die Tie-1 und Tie-2 mRNA Expression in der *Theka interna* stieg signifikant im preovulatorischen Follikel. Die Ergebnisse zeigen komplexe Interaktionen und geben Hinweise für eine wichtige Rolle des Angiopoietin-Tie Systems während dem Follikelendwachstum im Ovar des Rindes.

### **b) Gelbkörperfunktion und induzierte Luteolyse**

#### **Regulation der Corpus Luteum Funktion des Rindes**

*Regulation of corpus luteum function in cattle – an overview*

Schams, D.; Berisha, B.: Reproduction in Domestic Animals 39 (2004) S. 241-251

#### **Expression von Mitgliedern der FGF und VEGF Familie in Endothelzellen vom Corpus Luteum des Rindes nach der Stimulation mit FGF2, VEGF oder Estradiol**

*Expression pattern of fibroblast growth factor (FGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) system members in bovine corpus luteum endothelial cells during treatment with FGF-2, VEGF or oestradiol*

Gabler, C.; Plath-Gabler, A.; Killian, G.J.<sup>21</sup>; Berisha, B.; Schams, D.: Reproduction in Domestic Animals 39 (2004) S. 321-327

In den letzten Jahren ist deutlich geworden, dass neben den endokrinen Systemen auch autokrine und parakrine Faktoren an dem Komplex der Ovarfunktionsregulation beteiligt sind. Ziel der Arbeiten war es, lokal im Rinderovar produzierte regulatorische Faktoren über den gesamten Brunstzyklus zu charakterisieren, um so Prozesse wie Selektion und Dominanz des Follikels, der Ovulation und CL-Bildung und -Funktion, sowie die Luteolyse besser zu verstehen.

<sup>20</sup> Department of Agricultural and Life Science, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro, Japan

<sup>21</sup> The John O. Almqvist Research Center, The Pennsylvania State University, University Park, P.A., USA

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass lokal produzierte Wachstumsfaktoren (VEGF, FGF, IGF usw.), Zytokine (TNF, NOS usw.) und vasoactive Peptide (Angiotensin, Endothelin usw.), wichtige regulierende Funktionen im Ovar des Rindes während des Follikelwachstums, sowie während der Gelbkörperbildung, -entwicklung und -funktion übernehmen.

### **Relative Änderungen der mRNA Expression von Angiopoiet-Tie System im Corpus Luteum des Rindes während Brunstzyklus und induzierter Luteolyse: mögliche Mechanismen für die Einleitung der Regression**

*Relative changes in mRNA expression for angiopoietin and receptors tie in bovine corpus luteum during estrous cycle and prostaglandin F2 $\alpha$ -induced luteolysis: a possible role in luteolysis*

Tanaka, J.<sup>20</sup>; Acosta, J.T.<sup>20</sup>; Berisha, B.; Tetsuka, M.<sup>20</sup>; Matsui, M.<sup>20</sup>; Kobayashi, S.<sup>20</sup>; Schams, D.; Miyamoto, A.<sup>20</sup>: Journal of Reproduction and Development 50 (2004) S. 619-626

### **Die Beteiligung von pro-inflammatorischen Zytokinen, Entzündungsmediatoren und des basischen Fibroblasten-Wachstumsfaktors an der PGF2 $\alpha$ induzierten Luteolyse des Rindes**

*Involvement of pro-inflammatory cytokines, mediators of inflammation and basic fibroblast growth factor in PGF2 $\alpha$ -induced luteolysis in bovine corpus luteum*

Neuvians, T.P.; Schams, D.; Berisha, B.; Pfaffl, M.W.: Biology of Reproduction 70 (2004) S. 473-480

### **Die Expression von VEGF und FGF während der induzierten Luteolyse im Gelbkörper des Rindes**

*Vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor (FGF) expression during induced luteolysis in the bovine corpus luteum*

Neuvians, T.P.; Berisha, B.; Schams, D.: Molecular Reproduction and Development 67 (2004) S. 389-395

Zahlreiche lokale Faktoren regulieren den Ablauf der PGF2 $\alpha$  induzierten Luteolyse und sorgen dafür, dass sich der Gelbkörper innerhalb kürzester Zeit ohne entzündliche Reaktion und Funktionsbeeinträchtigung des restlichen Ovars zurückbildet. Ziel der Untersuchungen war es, das Zusammenspiel dieser lokalen Regulationsfaktoren weiter aufzuklären. Dazu wurden Corpora lutea verschiedener Zyklusstadien (Tag 1-2, 3-4, 5-7, 8-12, 13-18 und >18), sowie früh- und spätgravider Kühe gesammelt. Für Untersuchungen zur induzierten Luteolyse wurden Kühen am Zyklustag 8-12 Corpora lutea vor und 2, 4, 12, 48 und 64 h nach i. m. Applikation von 500  $\mu$ g Cloprostenol (PGF2 $\alpha$  Analogon) mittels transvaginaler Ovarioektomie entnommen. Mit Hilfe der konventionellen Block-PCR, sowie der real-time RT-PCR wurde die mRNA Expression der verschiedenen Faktoren bestimmt (Mitglieder folgender Wachstumsfaktor Familien: VEGF, FGF, IGF, Angiopoietin, Endothelin, Angiotensin, TNF, NOS, pro-inflammatorische Zytokine usw.). Außerdem wurde durch einen Radioimmunoassay die Proteinkonzentration von VEGF ermittelt. Im Verlauf der Untersuchungen konnte die Isoform A des Insulin-Rezeptors beim Rind bestätigt werden. Die prädominante Expression der Isoform A lässt auf eine bedeutende Rolle für die Übertragung mitogener Effekte des IGF II auf das Wachstum des Gelbkörpers schließen. Die unterschiedliche Expression der beiden Isoformen A und B kann den Einfluss von IGF II und Insulin auf Entwicklung, Aufrechterhaltung und Funktion des Gelbkörpers regulieren. Während das IGF-Bindungsprotein 1 bereits zu Beginn der funktionellen Luteolyse eine ausschlaggebende Rolle zu spielen scheint, ist IGFBP 5 eher an der strukturellen Luteolyse maßgeblich beteiligt. Des weiteren konnte zu Beginn der indu-

zierten Luteolyse ein deutlicher Anstieg pro-inflammatorischer Zytokine (TNF $\alpha$ , IL-1b, IFN $\gamma$ ) festgestellt werden, der möglicherweise direkt die Produktion von gelbkörpererhaltendem Progesteron beeinträchtigt und somit die Rückbildung des Corpus luteum einleitet. Der gleichzeitige Anstieg von bFGF, das die Transkription von Entzündungsmediatoren, wie z.B. iNOS, verhindern kann, mag dazu beitragen, dass trotz des Zytokinanstiegs keine entzündliche Reaktion im Ovar abläuft. Der Anstieg primär Angiogenese fördernder und luteotroper Faktoren, wie z.B. aFGF und bFGF, könnte aber auch Ausdruck einer kurzfristigen Gegenregulation sein, um das Corpus luteum zu erhalten. Während der strukturellen Luteolyse aber werden angiogene Faktoren (VEGF und FGF) vermindert exprimiert, vermutlich im Zusammenhang mit der Degradation von Luteal- und Endothelzellen.

In Zusammenarbeit mit Mitarbeitern an anderen Universitäten wurde folgende wissenschaftliche Arbeit veröffentlicht:

**Einfluss einer niedrigen PGF2 $\alpha$ -Dosis auf Zykluscharakteristika, Lutealfunktion, Sekretion von Oxytocin und Plasmakonzentration von 15-keto-13,14-dihydro-PGF2 $\alpha$  in Ponys**

*Estrous cycle characteristics, luteal function, secretion of oxytocin (OT) and plasma concentrations of 15-keto-13,14-dihydro-PGF2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ -metabolite) after administration of low doses of prostaglandin F2 $\alpha$  (PGF2 $\alpha$ ) in pony mare*

Handler, J.,<sup>22</sup> Wüstenhagen, A.<sup>22</sup>; Schams, D.; Kindahl, H.<sup>23</sup>; Aurich, C.<sup>24</sup>; *Theriogenology* 61 (2004) S.1573-1582

## IV. Bioanalytik

### 1. Internationales qPCR Symposium & Application Workshop

<http://www.wzw.tum.de/gene-quantification/qpcr2004/>

Pfaffl, M.W.: Proceedings of the 1st International qPCR Symposium & Application Workshop "Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification" 03.-06.03.2004, Freising-Weihenstephan, Germany, ISBN 3-00-013404-2, (2004) S. 1-99

Nach der erfolgreichen Entschlüsselung der Genomsequenz des Menschen sowie einiger prominenter pathogener Mikroorganismen liegt ein Schwerpunkt der biomedizinischen Forschung jetzt auf der gezielten Analyse des Zusammenwirkens einzelner Gene bzw. Genprodukte bei den unterschiedlichsten entwicklungsbiologischen, pathogenetischen oder auch pharmakokinetischen Fragestellungen. Aus Sicht der Humanmedizin stehen unter anderem die Aufklärung von Genexpressionsprofilen bei bestimmten Gendefekten, genetisch bedingten Stoffwechselstörungen oder bei der Entstehung von Tumoren sowie der möglichst schnelle und präzise Nachweis von pathogenen Mikroorganismen im Vordergrund. Die qPCR entwickelte sich dabei schnell zu dem zentralen und universell einsetzbaren analytischen Werkzeug der Molekularbiologen.

<sup>22</sup> Universitätsklinik für Geburtshilfe, Gynäkologie und Andrologie, Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich

<sup>23</sup> Dept. Obstetrics and Gynaecology, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Schweden

<sup>24</sup> Zentrum für künstliche Besamung und Embryotransfer, Veterinärmedizinische Universität Wien, Österreich



Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT) bieten ein breites Spektrum an Methoden, die für den gezielten Nachweis von Nukleinsäuren entwickelt wurden. In vielen Bereichen der modernen mikrobiologischen Diagnostik erweist sich der Einsatz dieser enorm sensitiven, spezifischen und zumeist auch sehr schnellen Testsysteme als ideale Ergänzung zu konventionellen Untersuchungsverfahren wie Mikroskopie und Zellkultur. Sowohl die ständig zunehmende Zahl von pathogenen Erregern (emerging diseases), die Fortschritte bei der Aufklärung von komplexen Pathogenitätsmechanismen, aber auch die Verbesserung der antibiotischen und antiviralen Medikation zur gezielten Behandlung von Infektionserkrankungen erfordern eine adäquate infektiologische Diagnostik.

Quantitative Verfahren zur *in vitro*-Amplifikation und Detektion bestimmter Nukleinsäurefragmente und die sequenzspezifische Charakterisierung der Amplifikationsprodukte eröffnen in den letzten Jahren ungeahnte Möglichkeiten eines kulturunabhängigen Erregernachweises. Um die notwendige Reproduzierbarkeit der Untersuchungen zu erzielen, besteht großer Bedarf an der Entwicklung effizienter Probenaufschlussverfahren sowie der Etablierung von geschlossenen und standardisierten Amplifikations- und Detektionsformaten.

Nukleinsäuregestützte Testsysteme werden derzeit in enger Zusammenarbeit von Klinikern und Molekularbiologen für eine Reihe von maßgeschneiderten routinegängigen Anwendungsverfahren entwickelt, mit denen beispielsweise im geschlossenen real-time PCR-Format ein Nachweis von langsam wachsenden oder nicht kultivierbaren Erregern innerhalb weniger Stunden erfolgen kann.

Nach mehr als einem Jahrzehnt intensiver Forschungs- und Entwicklungsarbeit an der eigentlichen Methodik, der permanenten Optimierung einzelner Teilschritte und Reaktionskomponenten sowie der Einbeziehung von Microarray-Technologien finden diese Verfahren derzeit breiten Einzug in die tägliche Praxis der Laboratoriumsmedizin und haben das Potenzial, sich bei vielen diagnostischen Fragestellungen als "Goldstandard" zu etablieren.

Da der Anwender in diesem äußerst dynamischen Umfeld meist einer nahezu unüberschaubaren Vielfalt von erregerspezifischen PCR-Protokollen und Detektionsplattformen gegenübersteht, wurde im Rahmen des Symposiums an ausgewählten Beispielen der mikrobiologischen Praxis das derzeit Machbare, d.h. der "Stand der Technik", aufgezeigt. Neben der umfassenden Darstellung neuester Amplifikations- und Detektionsstrategien wurden dabei auch die wichtigen Aspekte der Präanalytik, der Nukleinsäureextraktion aus komplexen klinischen Untersuchungsmaterialien, der Automatisierung und Standardisierung sowie der Qualitätskontrolle in angemessener Weise berücksichtigt.

### **Real-time RT-PCR: Neue Ansätze zur exakten mRNA Quantifizierung**

Pfaffl, M.W.: BIOSpektrum, Sonderausgabe PCR, 10 (2004) S. 92-95

#### *Quantification strategies in real-time RT-PCR*

Pfaffl, M.W.: The real-time PCR Encyclopaedia A-Z of quantitative PCR. International University Line (Bustin, St. A. ed.), La Jolla, CA, (2004) S. 87-120

#### *Nucleic acids: mRNA identification and quantification*

Pfaffl, M.W.: Encyclopaedia of Analytical Science, 2<sup>nd</sup> Edition, (Worsfold, P.J.; Townsend, A.; Poole, C.F., eds.) Elsevier Ltd., Philadelphia, USA, ISBN 0-12-764100-9, (2004) S. 417-426

*Comparison of reverse transcriptases in absolute and relative gene expression analysis*

Stahlberg, A.<sup>25</sup>; Kubista, M.<sup>25</sup>; Pfaffl, M.: *Clinical Chemistry* 50 (2004) S. 1678-1680

*Inhibition of real-time RT-PCR quantification due to tissue specific contaminants*

Tichopad, A.; Didier, A.; Pfaffl, M.W.: *Molecular and Cellular Probes* 18 (2004) S. 45-50

*Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: Best-Keeper – Excel-based tool using pair-wise correlations*

Pfaffl, M.W.; Tichopad, A.; Prgomet, C.; Neuvians, T.P.: *Biotechnology Letters* 26 (2004) S. 509-515

Die molekularen Technologien *Genomics*, *Transcriptomics* und *Proteomics* erobern immer mehr die klassischen Forschungsgebiete der Biowissenschaften. Die enorme Flut an gewonnenen Daten und Ergebnissen ist von überproportionalem Nutzen in der molekularen Diagnostik und Physiologie sowie den „*Functional Genomics*“. Immer neue ausgeklügelte Methoden und Anwendungen sind daher nötig um komplexe physiologische Vorgänge zu beschreiben. Da wir uns erst am Anfang dieser molekularen Ära befinden, ist es notwendig diese Techniken zu optimieren und komplett zu verstehen.

Eine dieser technisch ausgefeilten Methoden zur zuverlässigen und exakten Quantifizierung spezifischer mRNA, stellt die real-time RT-PCR dar. Diese Zusammenfassung beschreibt im wesentlichen die effizienz-korrigierte relative Quantifizierung, die Normalisierung der Expressionsergebnisse anhand eines nicht regulierten „*Housekeeping Gens*“, die Berechnung der real-time PCR Effizienz sowie die Verrechnung und statistische Auswertung der Expressionsergebnisse.

### Einleitung

Die Anwendung der Reversen Transkription (RT) mit folgender Polymerase Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis einer spezifischen mRNA ist heute ein Routinewerkzeug in der Molekularbiologie. Der Nachweis kann qualitativ in klassischen RT-PCR Blockcyclern oder quantitativ mittels Echtzeit RT-PCR (real-time RT-PCR oder qRT-PCR) durchgeführt werden. Voraussetzung für einen zuverlässigen quantitativen Nachweis ist eine funktionierende mRNA Analytik, die exakte mRNA Quantifizierungsergebnisse bei ausreichender Genauigkeit und hoher Wiederholbarkeit liefert. Es stehen zwei generelle Quantifizierungsstrategien in der real-time RT-PCR zur Verfügung (Abb. 1):

- Die **absolute Quantifizierung** wird anhand einer gegebenen Kalibrierkurve durchgeführt, basierend auf einer Verdünnungsreihe von RT-PCR Produkten, Plasmid DNA, *in vitro* transkribierter RNA, synthetisierter DNA oder RNA Oligomere.
- Bei der **relativen Quantifizierung** wird die Genexpression eines Zielgens auf ein weiteres nicht reguliertes „*Housekeeping Gen*“ (HKG) oder auf einen HKG Index, der sich aus mehreren HKG zusammensetzt, bezogen (Abb. 1). Man nennt diesen Vorgang auch Normalisierung der Expressionsergebnisse. Die relative Quantifizierung lässt sich weiter optimieren, indem man die unterschiedlichen real-time PCR Effizienzen der untersuchten Faktoren mit berücksichtigt. Die effizienz-korrigierte relative

<sup>25</sup> Department of Chemistry and Biosciences, Chalmers University of Technology, Göteborg, Sweden und TATAA Biocenter, Göteborg, Sweden

Quantifizierung mittels real-time RT-PCR stellt bis dato die genaueste Form der mRNA Quantifizierung dar.

## Quantifizierungsstrategien in der real-time RT-PCR

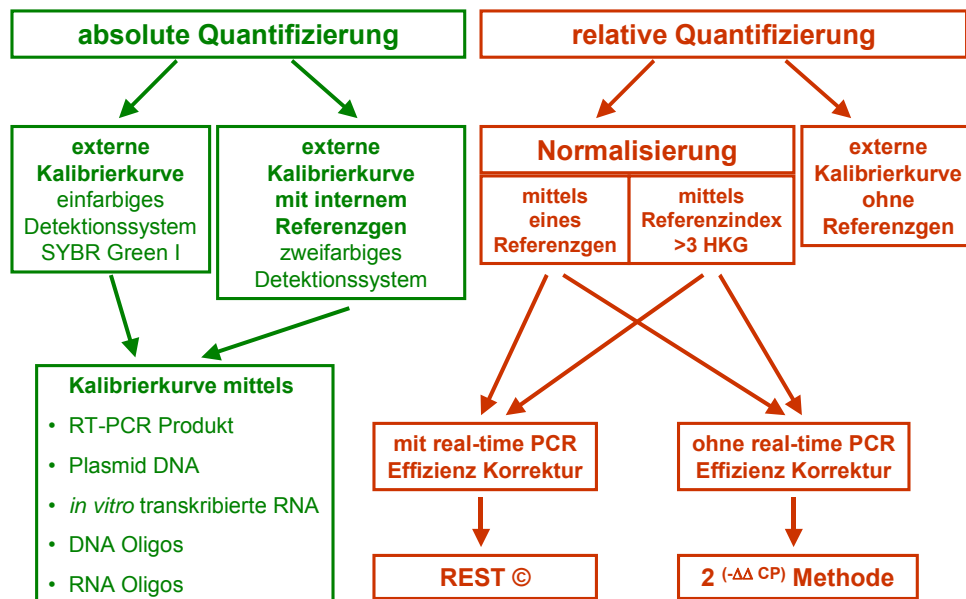


Abb. 1: Quantifizierungsstrategien in der quantitativen real-time RT-PCR

### Crossing Point

In der real-time PCR wird heute nicht mehr primär in DNA-Produktmengen oder Konzentrationen gerechnet, sondern als Maß für die Quantifizierung der Startmenge werden die sog. Ct oder CP (= Crossing Point) Werte herangezogen. Sie entsprechen der Anzahl der PCR Zyklen, die nötig sind um ein konstant definiertes Fluoreszenzniveau zu erreichen. Am CP befindet sich in allen Reaktionsgefäßen die gleiche Menge an neu synthetisierter DNA. Im Falle einer 100% Effizienz der PCR verdoppelt sich mit jedem Zyklus die DNA Produktmenge und analog dazu das Fluoreszenzsignal. Ein um eine Einheit geringerer CP entspricht der doppelten Menge an eingesetzten cDNA; respektive mRNA Startmenge.

### Relative Quantifizierung

Bei der relativen Quantifizierung wird die Expression des Zielgens mit der eines nicht regulierten HKG normalisiert. Dabei werden nicht die absoluten Startkopienzahlen oder -konzentrationen bestimmt, sondern die Expression des zu untersuchenden Gens wird auf ein zweites, ubiquitär und homogen exprimiertes Gen bezogen. Die Vorteile der Normalisierung liegen in der Reduzierung der Varianz der Expressionsergebnisse, da Gewebe- und Matrixeffekte, unterschiedliche RNA-Extraktionseffizienzen sowie Fehler bei der RT innerhalb einer experimentellen Probe gleichermaßen das Zielgen und das HKG betreffen. In den folgenden Berechnungen des Expressionsunterschiedes heben sich diese individuellen Probeneffekte

wieder auf. GAPDH, ribosomale Untereinheiten (18S und 28S), Ubiquitin, Histon-Untereinheiten und  $\beta$ -Aktin sind wohl die geläufigsten HKG die zur Normalisierung herangezogen werden. Die relative Expression des zu untersuchenden Gens in den behandelten experimentellen Proben wird auf ein Kontrollprobenmaterial bezogen. Die Berechnung des Expressionsunterschiedes (Ratio) kann über die sog.  $\Delta\Delta\text{CP}$  Methode oder über genauere Effizienz korrigierte Modell erfolgen. Dabei wird im ersten Schritt für jede untersuchte Probe der CP Wert des Referenzgens vom CP Wert des zu untersuchenden Gens subtrahiert ( $\Delta\text{CP} = \text{CP Zielgen} - \text{CP Referenzgen}$ ). Nach dieser Normierung wird vom  $\Delta\text{CP}$  Wert der experimentell behandelten Proben der  $\Delta\text{CP}$  Wert einer Kontrolle abgezogen ( $\Delta\Delta\text{CP}$ ); man kommt zum sog. „delta-delta CT“ Berechnungsmodell. Der relative Expressionsunterschied einer Probe zwischen der Behandlung und der Kontrolle (Ratio), normalisiert zum Referenzen und bezogen auf eine Standardprobe ergibt sich aus der arithmetischen Formel  $2^{-\Delta\Delta\text{CP}}$ .

$$\Delta\text{CP} = \text{CP Zielgen} - \text{CP Referenzgen}$$

$$\Delta\Delta\text{CP} = \Delta\text{CP Behandlung} - \Delta\text{CP Kontrolle}$$

$$\text{Ratio} = 2^{-\Delta\Delta\text{CP}}$$

Dieses Berechnungsschema setzt eine Verdoppelung der DNA Menge in jedem Zyklus voraus. Man geht von einer optimale real-time PCR Effizienz in allen Proben aus, was natürlich nicht der Praxis entspricht. Die „wahre real-time PCR Effizienz“ dürfte sich unter optimierten Reaktionsbedingungen im Bereich von 1,7 bis 1,9 bewegen und weist Schwankungsbreiten von 1,5 bis über 2,0 auf. Geringste Schwankungen in den Effizienzen von Zielgen zu Referenzen führt zu enormen Unterschieden in den Expressionsunterschieden. Deswegen sind Berechnungsmodelle entwickelt worden die den unterschiedlichen Effizienzen in den experimentellen Proben Rechnung tragen. Ausgehend vom oberen „delta-delta CT“ Modell wurde das effizienz-korrigierte relative Quantifizierungsmodell entwickelt.

$$\text{Ratio} = \frac{(E_{\text{Zielgen}})^{\Delta\text{CP}_{\text{Zielgen}} (\text{Kontrolle} - \text{Behandlung})}}{(E_{\text{Referenzgen}})^{\Delta\text{CP}_{\text{Referenzgen}} (\text{Kontrolle} - \text{Behandlung})}}$$

Das Berechnungsmodell setzt sich aus der Berechnung des Expressionsunterschiedes zwischen Behandlung und Kontrolle im Zielgen im Zähler und aus der Berechnung des Expressionsunterschiedes des Referenzgens im Nenner zusammen. Idealerweise ist das Referenzgen nicht reguliert und in der Behandlung als auch in der Kontrolle sind die CP identisch, d.h. die CP heben sich in der Berechnungsformel auf. Der Nenner wird gleich eins, das Referenzgen fällt heraus und die berechnete Ratio ist nur von den Expressionsunterschieden des Zielgens abhängig.

$$\text{Ratio} = \frac{(E_{\text{Zielgen}})^{\Delta\text{CP}_{\text{Zielgen}} (\text{Kontrolle} - \text{Behandlung})}}{(E_{\text{Referenzgen}})^0}$$

$$\text{Ratio} = (E_{\text{Zielgen}})^{\Delta\text{CP}_{\text{Zielgen}} (\text{Kontrolle} - \text{Behandlung})}$$

### Berechnungssoftware – REST

Hat man nun, wie üblich in einem wissenschaftlichen Experiment, mehrere Probanden oder Wiederholungen, die behandelt sind und weitere die als Kontrolle dienen, so kommt man mit dem oben beschriebenen relativen Modell ( $n = 1$ ) nicht mehr weiter. Man muss die Gruppe der Behandelten als auch die Gruppe der Kontrollen zusammenfassen. Dies führte dazu eine Software zu schreiben, die dem Problem Rechnung trägt und die Expressionsunterschiede von zwei unterschiedlich großen Gruppen berechnet, als auch statistisch ausgewertet (REST = Relative Expression Software Tool). Diese Software fasst die Gruppen als Mittelwerte zusammen und berechnet daraus die mittleren Expressionsunterschiede (**R**) der Gruppen, normalisiert über ein bestimmtes HKG sowie die Varianzen der einzelnen Expressionen. Die Ergebnisse werden statistisch getestet und die Expressionsunterschiede werden in einem Ausgabefenster mit ihren Signifikanzlevels ausgegeben. Die Statistik basiert auf einem sehr robusten und von einer Normalverteilung unabhängigen Randomisierungstest, bei dem beliebig viele tausend Randomisierungen und Wiederholungen durchgeführt werden können.

$$R = \frac{(E_{\text{Zielgen}})^{\Delta\text{CP}_{\text{Zielgen}} (\text{MW Kontrolle} - \text{MW Behandlung})}}{(E_{\text{Referenzgen}})^{\Delta\text{CP}_{\text{Referenzgen}} (\text{MW Kontrolle} - \text{MW Behandlung})}}$$

### Real-time PCR Effizienzberechnung

Die PCR Effizienz eines bestimmten Faktors lässt sich durch verschiedenste Methoden bestimmen. Am häufigsten wird eine Standardkurve aus unterschiedlichen Verdünnungsstufen erstellt, aus deren Steigung die real-time PCR bestimmt werden kann (Abb. 2a). Hat man genügend cDNA (respektive mRNA) Startmatrize zur Verfügung, so verwendet man dafür eine probenindividuelle cDNA Verdünnungsreihe. Falls nicht, wird die Verdünnungsreihe aus einer repräsentativen Mischprobe, die sich aus allen verwendeten experimentellen Proben cDNA eines Gewebes zusammensetzt, erstellt. Die eingesetzte Menge an cDNA (mRNA) wird in einer logarithmischen Funktion gegen die Zyklenzahl dem CP dargestellt. Die Effizienz berechnet sich nach der Formel:  $E = 10^{[-1/\text{Steigung}]}$ . Diese Methode ist sehr arbeitsaufwendig und weist in der Mischbestimmung erhebliche Mängel auf, weil sie nicht auf probenindividuelle Unterschiede eingeht. Im übrigen überschätzt sie die eigentliche real-time PCR Effizienz. Nicht selten errechnen sich Effizienzen über 2,0 bis 2,2, was theoretisch nicht plausibel ist.

Eine zweite Möglichkeit bietet die Berechnung der Effizienz aus dem absoluten Fluoreszenzanstieg (Abb. 2b) in der exponentiellen Phase. Die exponentielle Phase wird in einer linearen Regression probenindividuell zusammengefasst. Die Steigung der Regression entspricht der PCR Effizienz. Diese Methode unterliegt großen Schwankungen, da der Wissenschaftler selbst entscheidet, welche Punkte er in die Effizienzberechnung mit einbezieht und welche nicht. Bei dieser Methode liegen die Effizienzen von 1,3 bis 1,6 und das Verfahren unterschätzt die wahre Effizienz.

Eine weitere Methode ist die Berechnung anhand mathematischer Algorithmen innerhalb einer einzelnen experimentellen Probe. Dies hat den Vorteil, dass man für jede Probe eine individuelle PCR Effizienz erhält und diese in der Effizienz korrigierten relativen Quantifizierung berücksichtigen kann. Dabei werden nicht nur einzelne arbiträr ausgesuchte Zyklen zur Berechnung herangezogen sondern die Fluoreszenz Kurve, die alle 40 oder mehr Zyklen berücksichtigt (Abb. 2c). Der Fluoreszenzverlauf wird an ein 4-parametrisches sigmoidales oder logistisches Modell mit sehr hoher Korrelation ( $r = 0.99$ ) angepasst und mittels der Variablen **b** kann die wahre Effizienz geschätzt werden. Bei dieser Methode erfasst man die Effizienz nur im Wendepunkt und die Variable **b** gibt nicht die eigentliche real-time PCR Effizienz an. Man muss sie noch umrechnen und erhält dabei ähnliche niedrige Effizienzen von 1,3 bis 1,7 und unterschätzt wiederum die wahre Effizienz.

Abb. 2a:

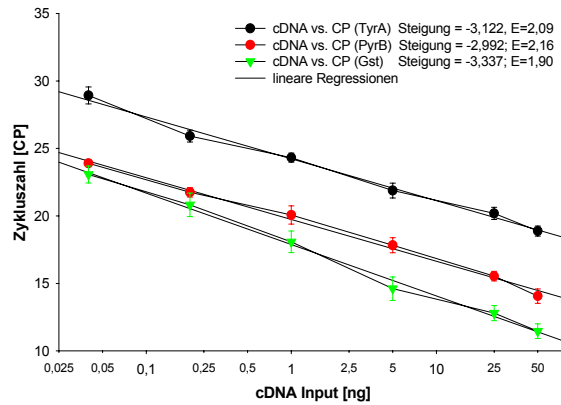


Abb. 2b:

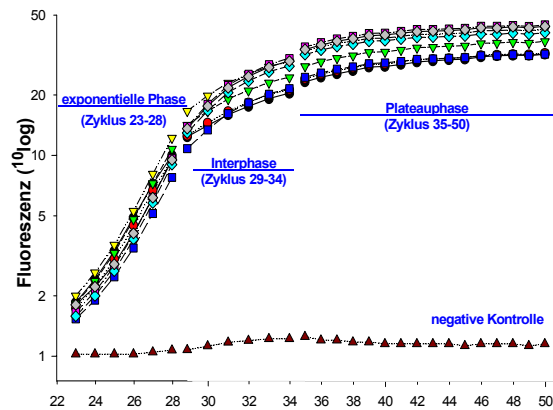


Abb. 2c:

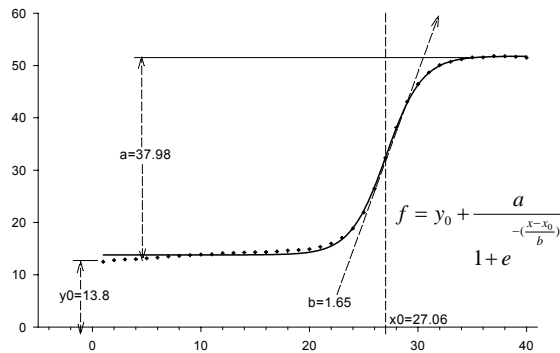


Abb. 2: Berechnungsmodelle für die real-time PCR Effizienz. **2a:** Berechnung anhand einer Verdünnungsreihe; **2b:** Berechnung anhand des absoluten Fluoreszenzanstiegs; **2c:** Berechnung anhand mathematischer Algorithmen ( $y_0$  = Hintergrundfluoreszenz;  $a$  = maximale Fluoreszenz –  $y_0$ ;  $x_0$  = erstes Maximum = Wendepunkt der Funktion;  $b$  = Steigung der Gerade in  $x_0$ )

Die innovativste Methode der Effizienzberechnung basiert auf einer Berechnung der Effizienz anhand eines exponentiellen Modells, was der Kinetik der PCR am besten entspricht (Abb. 3). Das gesamte Berechnungsschema setzt sich aus mehreren Schritten zusammen: Als erstes wird die Hintergrundfluoreszenz anhand einer linearen Regression bestimmt. Mittels eines „standardized residual“ Algorithmus werden die Fluoreszenzpunkte gesucht, die nicht mehr auf dem leicht steigenden linearen Trend der Hintergrundfluoreszenz liegen (Abb. 3 Inlay).

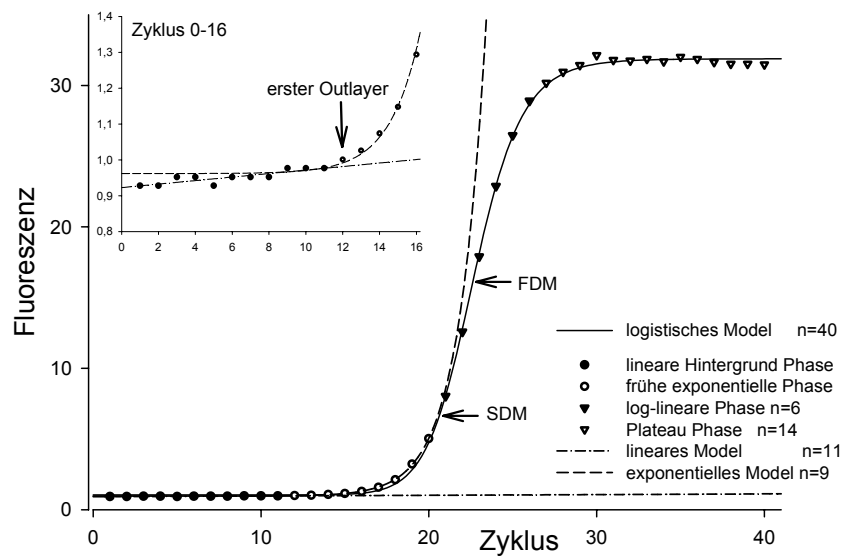


Abb. 3: Standardisierte Berechnung der real-time PCR Effizienz in einem einzigen Reaktionsansatz anhand eines exponentiellen Berechnungsmodell

Dies sind die ersten CP, die sich anhand eines neuen Trends, einer exponentiellen PCR Funktion, verhalten. Nun sucht man die CP, die nicht mehr dem exponentiellen Verhalten der PCR Reaktion entsprechen. Dafür werden alle CP in ein logistisches Modell mit einbezogen und das zweite Maximum (Second Derivative Maximum = SDM) berechnet. Ab dem SDM nimmt die Fluoreszenz nicht mehr im exponentiellen Trend zu. Der letzte CP vor dem SDM ist auch der letzte Punkt mit exponentiellem Fluoreszenzzuwachs und bildet den letzten Datenpunkt im exponentiellen PCR Modell. Im allgemeinen werden 6-10 CP zur Berechnung der Effizienz herangezogen. Das vorgestellte Modell zeigt Effizienzen von 1,65 bis 1,90 und im Vergleich mit anderen Effizienz-Berechnungsmodellen die geringste Varianz und höchste Genauigkeit.

In Zukunft soll eine Software erarbeitet werden, die die Effizienz innerhalb einer einzelnen experimentellen Probe aus den Fluoreszenzrohdaten der real-time Plattform berechnet und dann in eine neue effizienz-korrigierte Quantifizierungs- und Statistiksoftware mit einbezieht.

## Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten

### Dissertationen

**Alan Dzidic**, Dr. Ing. agr., Technische Universität München, 07.04.2004: "Studies on milk ejection and milk removal during machine milking in different species"

**Anita Hartel**, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 26.10.2004: "Funktionelle Genexpressionsassays für androgen / antiandrogen wirksame Liganden"

**Juliana Macuhova**, Dr. Ing. agr., Technische Universität München, 15.07.2004: "Physiology and pathophysiology of milk removal in conventional and automatic milking"

**Bettina Schiffer**, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 03.08.2004: "Degradation von Anabolika nach Einsatz bei landwirtschaftlichen Nutztieren"

**Susanne Schmitz**, Dr. med. vet., Universität Bern, 23.02.2004: "Alteration of inflammatory factors and milk proteins during spontaneous and endotoxin-induced mastitis"

**Martin Schönfelder**, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 02.02.2004: "Intercellular communication during *in vitro* maturation of bovine cumulus oocyte complexes"

**Ales Tichopad**, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 15.10.2004: "Quantitative real-time RT-PCR based transcriptomics: Improvements of evaluation methods"

**Daniel Weiss**, Dr. Ing. agr., Technische Universität München, 06.09.2004 "Interaction between dairy cow physiology and milking technology"

**Harald Welter**, Dr. rer. nat., Technische Universität München, 21.12.2004: "Expression of growth factors and nitric oxide synthases: Distinctive players in the gravid and non-gravid porcine and equine uterus"



## Diplomarbeiten und Masterarbeiten

**Livia Blank**, Dipl. Ing. agr.: "Expression von Membranproteinen im Rind und deren potentielle Bedeutung im bovinen Organismus"

**Claudia Dummer**, Dipl. Ing. agr.: "Auswirkungen der Fütterung von gentechnisch verändertem Mais auf den Immunstatus des Rindes"

**Patrick Gürtler**, Biologe: "Feeding genetically modified maize – effect on ruminal bacteria and analysis of recombinant DNA in milk samples"

**Sandra Christiane Haas**, Molekulare Biotechnologie: "Effects of mammary epithelial infection with mastitis pathogens on leukocytes *in vitro*"

**Maria Kollmann**, Dipl. Ing. agr.: "Physiologisch-anatomische Untersuchungen an Kühen mit Incontinentia lactis"

**Manuela Locher**, Dipl. Ing. agr.: "Einfluss einer Tryptophan-Zufuhr auf die circadianen Profile von Serotonin und Melatonin sowie auf die Milchejektion beim Wiederkäuer"

**Gregor Schlamberger**, Dipl. Ing. agr.: "Zusammensetzung der Milchezellpopulationen in verschiedenen Gemelkfraktionen in Abhängigkeit vom Eutergesundheitsstatus"

**Vanessa M. Walf**, Molekulare Biotechnologie: "Einfluss anaboler Hormone auf die Genexpression in der bovinen Leber"

## Bachelorarbeiten

**Sandra Baumann**: "Etablierung und Charakterisierung von primären Schweine-Prostata-Epithelzellkulturen (SPE): Titration von Trenbolon, R1881, Methyltestosteron, Nortestosteron, Progesteron sowie Estradiol und Erfassung von androgen-abhängigen Genexpressionsmustern"

**Livia Blank**: "Kolostragenese als Funktionsstadium der Milchdrüse"

**Julia Feldmeyer**: "Etablierung einer Western Blot Methode zur Plasminogenbestimmung in boviner Milch"

**Arwen Hodina**: "*In situ*-Abbau von gentechnisch verändertem Mais: Nachweis des Cry1Ab-Proteins im Pansen von fistulierten Rindern"

**Nina Vanessa Leuschen**: "Abbau von pflanzlicher und rekombinanter DNA im Rinderpansen am Beispiel von isogenem und transgenem Mais"

**Solveig Peters**: "Influence of Lactoferrin and Lactoferricin B on the cytokine expression in cultivated bovine blood cells in comparison to LPS treated cells"

**Isabel Poschke**: "Expression of nitric oxide synthases in the bovine ovary"

**Katharina Werkstetter**: "Entwicklung und Optimierung einer Caspase-3 immunhistologischen Färbung in Ileum und Colon zur Messung der Apoptoserate"

**Michael Wierer:** "Etablierung und Charakterisierung einer primären Schweine-Prostata-Epithelzellkultur (SPE). Titration von Dihydrotestosteron, Fentinacetat, Difenconazol, Tetramethrin und Cortisol zur Erfassung von androgen-abhängigen Genexpressionsmustern"

## **Lehre, Vorträge, Tagungen des Lehrstuhls**

Im Grundstudium erfolgte die Ausbildung in der Physiologie für die Studierenden der Agrarwissenschaften, Biochemie, Molekulare Biotechnologie, Ernährungswissenschaft, Biologie und Medizintechnik. Im Hauptstudium umfasste die Ausbildung die Vertiefung in den Fächern Endokrinologie, Reproduktionsbiologie, Laktationsphysiologie und Wildtierbiologie sowie tier- und molekularbiologische Praktika.

### **Seminar Tierwissenschaft**

#### **Endokrinologisch-molekularbiologisches Kolloquium**

Folgende Vorträge wurden von Gastreferenten übernommen:

- 10.05.2004: „Auswirkungen von elastisch ummantelten Spaltenböden auf das Verhalten und die Klauengesundheit sowie ausgewählte Blutparameter bei Milchkühen“  
Referenten: J. Bendel, C. Link, S. Platz und Prof. Dr. Michael H. Erhard, Lehrstuhl für Tierschutz, Verhaltenskunde, Tierhygiene und Tierhaltung, Ludwig-Maximilians-Universität München
- 12.05.2004 „Rohmilchanalytik als Informationsquelle für das Herdenmanagement“  
Referent: Dr. Christian Baumgartner, Milchprüfing Bayern e.V., Wolnzach
- 14.06.2004: „Physikalisch-biochemische und histologische Untersuchungen an pflanzlichen Polyphenolen“  
Referenten: Prof. Dr. Jürgen Polster, Lehrstuhl für Biochemische Chemie, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan
- 16.06.2004: „Histological screening of hormone abuse in cattle“  
Referentin: Dr. Maria Groot, RIKILT - Institute of Food Safety, Wageningen, Niederlande
- 08.07.2004: „Appetite regulatory neuropeptides in sheep“  
Referent: Prof. Dr. James Sartin, College of Veterinary Medicine, Auburn University, Auburn, AL, USA
- 21.07.2004: „Das Reh: Ein uralter Überlebenskünstler unter den Wiederkäuern“  
Referent: Prof. Dr. Reinhold Hofmann, Ehemaliger Gründungsdirektor Institut für Zoo- und Wildtierforschung, Berlin
- 31.08.2004: „The situation of farm animal resources in Syria“  
Referent: Prof. Dr. Shehadeh Kaskous, Damaskus Universität, Syrien

- 27.10.2004: „Somatoliberin administration for growth and puberty enhancement in buffaloes”  
Referent: Prof. Dr. Bukkaraya S. Prakash, National Dairy Research Institute, Karnal, Indien
- 28.10.2004: „Einflüsse unterschiedlicher Stoffwechsellagen auf die Eutergesundheit und die Fruchtbarkeit beim Milchrind“  
Referenten: Yvonne Nubling, Andreas Glindemann, Michael Schmaußer  
Gynäkologische und Ambulatorische Tierklinik, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität, München
- 29.11.2004: „Dopingkontrolle beim Pferd“  
Referent: Prof. Dr. Franz Ellendorf, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Mariensee
- 01.12.2004 „Leistungsphysiologische und trainingswissenschaftliche Grundlagen beim Pferd”  
Referent: Prof. Dr. Franz Ellendorf, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Mariensee

## Vorträge

### **Albrecht, Chr.:**

„Defective expression of ABCA1 in a patient with Scott syndrome – novel links between apoptosis, haemostasis and atherosclerosis”

Gordon Research Conference, Les Diablerets, Schweiz, 03.-08.10.2004

„Transgene Futtermittel”

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 08.10.2004

„Aufnahme und Ausbreitung von konventionellem und transgenem Pflanzenmaterial durch Wildtiere sowie Persistenz von GVO-Material in Nichtzielorganismen”

Kolloquium des Bundesamtes für Naturschutz, Bonn, 14.10.2004

„ABC-Transporter”

Gemeinsames Seminar Tierwissenschaft, Technische Universität München, Freising, 27.10.2004

### **Berisha, B.:**

„Molekulare Regulationsmechanismen der Luteolyse beim Rind”

Kolloquium über Ausgewählte Kapitel der Physiologie, Physiologischen Chemie und Tierernährung, Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, 13.07.2004

### **Bruckmaier, R.:**

„Induction of milk ejection during teat cleaning in robotic milking systems”

Symposium Automatic Milking – For a better Understanding, Lelystad, Niederlande, 25.03.2004

„Basiswissen und neue Erkenntnisse für gutes Melken”

12. AFEMA-Tagung 'Umsetzung von EU-Verordnungen und der GAP-Reform – Was kommt auf den Milcherzeuger zu?' Niederösterreichische Lands-Landwirtschaftskammer, St. Pölten, Österreich, 07.05.2004

„Normal and disturbed milk ejection in dairy cows (I-25)“

5<sup>th</sup> International Conference on Farm Animal Endocrinology, Budapest, Ungarn, 04.-07.07.2004

„Evolutionsgeschichte der Milchdrüse vom eierlegenden Säuger bis zur Milchkuh“

Fortbildungsseminar ‚Physiologie und Biotechnologie der Milchabgabe‘, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 02.-03.09.2004

„Störung der Milchejektion nach chronischer Ocytocinanwendung“

Fortbildungsseminar ‚Physiologie und Biotechnologie der Milchabgabe‘, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 02.-03.09.2004

„Immunomediator gene expression by milk cells and mammary tissue“

EAAP/ASAS Workshop 'Biology of Lactation in Farm Animals', Bled, Slovenien, 09.-10.09.2004

„Importance of the milk ejection reflex and the crucial role of the hormone oxytocin for milk removal in cows“

Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Damaskus, Syrien, 14.10.2004

„Was passiert bei einer Euterentzündung?“

Institut für Milchwirtschaftliche Qualitätssicherung, MUVA Kempten, 5. Grundlagenseminar

„Aktuelle Themen zur Rohmilchqualität, Kempten, 11.11.2004

„Adaptaciones fisiológicas de las vacas a los sistemas de ordeno automatizado“

EXPOAVIGA, Sesiones Técnicas, Palacio de Congresos, Barcelona, Spanien, 23.-25.11.2004

#### **Hartel, A.:**

„Biologisches Screening anaboler Wirkstoffe“

Doping-Kleinkonferenz des Bundesinstituts für Sportwissenschaft, Kreischa bei Dresden, 22.10.2004

#### **Lutz, B.:**

„Detektion von DNA und Cry1Ab Protein in Wildtiere (Fasan, Damhirsch, Wildschwein) sowie Untersuchungen zur Verbreitung von ausgeschiedenen keimfähigen Pflanzenmaterial“  
Kolloquium Biotechnologie der Nutztiere, TUM, Freising-Weihenstephan, 15.01.2004

„Aufnahme und Ausbreitung von konventionellem und transgenem Pflanzenmaterial durch Wild- und Nutztiere sowie Persistenz von GVO Material in Nichtzielorganismen“

Genetisches Kolloquium, Institut für Biologie und Umweltwissenschaften Genetik, Carl von Ossietzky Universität, Oldenburg, 22.10.2004

„Nachweis des Cry1Ab-Proteins in tierischem und pflanzlichem Material anhand verschiedener Proteinanalyseverfahren (ELISA, Immunoblotting)“

GVO-Seminar, Bayer. Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futtermittelwirtschaft, Poing-Grub, 10.12.2004

**Meyer, H.H.D.:**

„qPCR and Transcriptomics: Creation of a new tool to understand life“

1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop „Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification“, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004

„Hormone in der Umwelt und in Lebensmitteln“

Schleißheimer Forum der Akademien für Gesundheit, Ernährung und Verbraucherschutz im Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Oberschleißheim, 12.05.2004

„Funktionelle Genomanalyse im tierischen Organismus“

4. Hochschultag „Life Science Engineering“ der Technischen Universität München, Freising-Weihenstephan, 25.06.2004

„Die Laktation als Funktionskomplex der Brutpflege bei den Säugetieren und die besondere Situation bei der Hochleistungskuh“

Fortbildungsseminar ‚Physiologie und Biotechnologie der Milchabgabe‘, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 02.-03.09.2004

„Inhibition of ovulation during lactation: A component of reproductive strategies in wild life and its modification during domestication and nowadays animal husbandry“

EAAP/ASAS Workshop ‘Biology of Lactation in Farm Animals’, Bled, Slovenien, 09.-10.09.2004

„Lipide der Milch: Biosynthese, Transport und Funktion“

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 08.10.2004

„Bewertung von Wirkstoffen aus der Tierhaltung als mögliche Dopingsubstanzen“

Doping-Kleinkonferenz des Bundesinstituts für Sportwissenschaft, Kreischa bei Dresden, 22.10.2004

**Pfaffl, M.:**

„Nutztier Transcriptomics: Quantitative mRNA Analytik in der molekularen Endokrinologie und Physiologie“

Kolloquium über Ausgewählte Kapitel der Physiologie, Physiologischen Chemie und Tierernährung, Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung, Tierärztliche Fakultät, Ludwig-Maximilians-Universität München, 13.01.2004

„Determination of real-time PCR efficiency – An overview of different methods“

1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop „Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification“, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004

„Quantification strategies in real-time PCR“

EMBL qPCR Workshop “Gene Quantification by real-time qRT-PCR”, EMBL Heidelberg, 09.-13.05.2004

„Quantification strategies in real-time PCR - Gene Quantification by real-time PCR”  
Seminarreihe Zell- und Molekularbiologie der Organsysteme am Institut für Anatomie der  
Universität Leipzig, 23.09.2004

„Quantification strategies in real-time RT-PCR”  
TATAA qPCR Workshop Doping, Veterinary School, Oslo, Norwegen, 27.09.-02.10.2004

„LPS effects on the mRNA expression of inflammatory factors in the mammary gland: Quan-  
titative transcriptomics in various cell types using real-time RT-PCR”  
1st International Conference on Basic and Clinical Immunogenomics, Budapest, Ungarn,  
03.-07.10.2004

„qPCR quantification strategies”  
Agro-NanoTech Project, Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Sezione di Foggia, Italy,  
26.-29.10.2004

„Real-time RT-PCR for verification of cDNA array results”  
Agro-NanoTech Project, Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura, Sezione di Foggia, Italy,  
26.-29.10.2004

**Rovai, M.:**

„Incontinentia lactis: physiological and anatomical reasons of milk losses in dairy cows”  
EAAP/ASAS Workshop ‘Biology of Lactation in Farm Animals’, Bled, Slovenien, 09.- 10.09.2004

**Sarikaya, H.:**

„Milchzellpopulationen in verschiedenen Gemelksfraktionen“  
Fortbildungsseminar ‚Physiologie und Biotechnologie der Milchabgabe’, Technische  
Universität München, Freising-Weihenstephan, 02.-03.09.2004

„Somatic cell distribution in the milk of dairy cows during fractionized milking”  
EAAP/ASAS Workshop ‘Biology of Lactation in Farm Animals’, Bled, Slovenien, 09.- 10.09.2004

„Distribution of cell populations in the milk of dairy cows at different somatic cell count levels”  
EAAP/ASAS Workshop ‘Biology of Lactation in Farm Animals’, Bled, Slovenien, 09.- 10.09.2004

**Schams, D.:**

„The role of steroid and gonadotropin receptors in controlling ovarian and mammary gland  
function”  
The First International Conference of the Veterinary Research Division, National Research  
Centre, Kairo, Ägypten, 15.02.2004

„Physiology of GH/IGF and insulin secretion”  
7th Budapest Workshop of Young Endocrinologists (ENDO-2004), Budapest, Ungarn,  
28.06.-02.07.2004

„Specific effects of GH on ovarian and mammary gland function”  
7th Budapest Workshop of Young Endocrinologists (ENDO-2004) ‘Regulatory Proteins in  
Metabolism and Reproduction’, Budapest, Ungarn, 28.06.-02.07.2004

„Role of IGF’s in regulation of ovarian function”

7th Budapest Workshop of Young Endocrinologists (ENDO-2004), 'Regulatory Proteins in Metabolism and Reproduction', Budapest, Ungarn, 28.06.-02.07.2004

„Ovarian function in ruminants”

5<sup>th</sup> International Conference on Farm Animal Endocrinology, Budapest, Ungarn, 04.-07.07.2004

„Anatomische und physiologische Entwicklungsstadien der Milchdrüse des Rindes und ihre endokrine Regulation”

Fortbildungsseminar 'Physiologie und Biotechnologie der Milchabgabe', Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 02.09.2004

„Regulation of corpus luteum function in cattle”

8<sup>th</sup> Annual ESDAR Conference, Warschau, Polen, 25.09.2004

**Ulbrich, S. E.:**

„Molecular aspects of the bovine oviduct”

Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, 19.01.2004

„Quantitative analysis of differentially expressed genes in ipsilateral versus contralateral bovine epithelial cells using real-time RT-PCR”

37. Jahrestagung über Physiologie und Pathologie der Fortpflanzung, Ludwig-Maximilians-Universität München, 19.-20.02.2004

„Using real-time quantitative RT-PCR to validate a transcriptomics analysis advancing embryo-maternal communication”

1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop „Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification”, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004

“Exploring the extracellular matrix of the bovine oviduct-modulations of hyaluronan associated receptors and synthases *in vivo* and *in vitro*”

Joint European Conference in Reproduction and Fertility, Veterinary Faculty, University of Ghent, Belgien, 05.-07.04.2004

„Expressions-Profiling während der embryo-maternalen Kommunikation beim Rind”

Tierbiochemisches Seminar des Instituts für Veterinär-Biochemie, Campus Düppel der Freien Universität Berlin, 18.06.2004

**Viturro del Rio, E.:**

„ABC transporters and cholesterol transport in the mammary gland”

Fundacion Conchita Rabago, Madrid, Spanien, 21.12.2004

**Weiß, D.:**

„Interaction between dairy cow physiology and milking technology”

Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile, 19.01.2004

„Optimization of individual pre-milking stimulation in dairy cows”

EAAP/ASAS Workshop 'Biology of Lactation in Farm Animals', Bled, Slovenien, 09.- 10.09.2004

**Wellnitz, O.:**

„Ein Zellkulturmodell zur Untersuchung der Immunantwort des Milchdrüsenepithels“  
Gemeinsames Seminar Tierwissenschaft, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan 11.02.2004

„Zentrale und periphere Hemmung der Milchejektion und ihre Bedeutung beim Maschinenmelken“

Fortbildungsseminar ‚Physiologie und Biotechnologie der Milchabgabe‘, Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 02.-03.09.2004

„Mammary epithelial cell response to infection with different bacteria“

EAAP/ASAS Workshop ‚Biology of Lactation in Farm Animals‘, Bled, Slovenien, 09.- 10.09.2004

**Wiedemann, S.:**

„Abbau von pflanzlicher und transgener Mais-DNA während der Futtermittelprozessierung und der Verdauung im Pansen des Rindes“

GVO-Seminar, Bayer. Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Tierernährung und Futterwirtschaft, Poing-Grub, 10.12.2004

**Tagungen des Lehrstuhls****1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop on “Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification” an der Technischen Universität München, 03.-06.03.2004, Freising-Weihenstephan**

Die quantitative PCR (qPCR) hat sich in kürzester Zeit zu einer etablierten Standardmethode in der medizinischen Forschung entwickelt. Auch in komplexen Proben lassen sich mittlerweile mit dieser Methode Nukleinsäuren mit höchster Präzision und Spezifität quantitativ bestimmen. Vom 3. bis 6. März 2004 fand das erste internationale qPCR Symposium in Weihenstephan an der TU München statt. Mit Unterstützung durch 32 führende Biotechnologieunternehmen wurde die Veranstaltung vom Lehrstuhl für Physiologie, TU München, und dem TATAA Biocenter, Göteborg, Schweden, organisiert. Mehr als 450 Wissenschaftler aus 44 Nationen nahmen an dem Kongress teil und tauschten im Rahmen von Vorträgen und Diskussionen Erfahrungen und Ideen aus. Begleitet wurde die Veranstaltung von einer Industrieausstellung, auf der die neuesten Systeme für die real-time PCR vorgestellt wurden.

Im anschließenden qPCR Anwender Workshop konnten sich ca. 80 Teilnehmer über den neusten Stand der Technik informieren. An den 10 Workshopstationen wurden 8 unterschiedliche real-time PCR Plattformen, Pipettierroboter, sowie die unterschiedlichsten Varianten an qPCR Assays von Wissenschaftlern des TATAA Biocenter und Industrievertretern vorgestellt.





*Wegbereiter des 1. qPCR Symposium & Application Workshop: PD Dr. Michael Pfaffl, Lehrstuhl für Physiologie TU München, Professor Mikael Kubista, TATAA Biocenter, Göteborg, Schweden (nicht auf dem Bild), Prof. Dr. Carl T. Wittwer, Department of Pathology, University of Utah, Salt Lake City, und Dr. Udo Reischl, Universitätsklinik Regensburg (v.l.n.r.).*

Abgerundet wurde das aktuelle und hochkarätig besetzte Symposium in bayerischem Ambiente mit einer Industrieausstellung, die selbst in den Zeiten immer knapper werdender Budgets sowohl in der Anzahl der 32 ausstellenden Firmen als auch im Umfang der präsentierten Produkte und Technologieplattformen wirklich beeindruckt hat. Aufgrund des außergewöhnlichen Interesses organisieren wir bereits in 2005 die Folgeveranstaltungen: 2<sup>nd</sup> qPCR Symposium & Application Workshop

(<http://www.wzw.tum.de/gene-quantification/qpcr2004/>)

#### **Fortbildungs-Seminar „Physiologie und Biotechnologie der Milchabgabe“**

Am 2. und 3. September 2004 veranstaltete der Lehrstuhl für Physiologie ein Fortbildungs-Seminar zum Thema „Physiologie und Biotechnologie der Milchabgabe“. Das von Prof. Bruckmaier zusammengestellte Programm war vor allem für Fachpersonen aus der Beratung und Entwicklung im Bereich des maschinellen Milchentzugs konzipiert. In dem zweitägigen Programm wird eine Verbindung zwischen den theoretischen Grundlagen und den praktischen Anwendungen am Tier hergestellt. Jeweils an den Vormittagen wurden im Hörsaal die Grundlagen vermittelt, während an den Nachmittagen die Inhalte mit den entsprechenden experimentellen Methoden direkt am Tier demonstriert wurden. Das Seminar war innerhalb weniger Tage nach seiner Ankündigung ausgebucht, zumal die Teilnehmerzahl auf 30 beschränkt war. Zu den Teilnehmern zählten vor allem führende Vertreter der Melkmaschinenindustrie sowie von Landeskontrollverbänden und Forschungseinrichtungen.

## Öffentlichkeitsarbeit, Exkursionen

### Öffentlichkeitsarbeit

Unsere Ergebnisse zur Degradation der speziellen Inhaltsstoffe aus transgenen Pflanzen sowie deren Bewertung in Futter- und Lebensmitteln führten zu einem außergewöhnlichen Interesse im Berichtsjahr. Eine große Anzahl von Interviews in unserem Hause durch Fernsehen, Rundfunk, Zeitungen, Magazine und Online-Medien konnten hier erheblich zur Versachlichung der öffentlichen Diskussion beitragen.

Auf unserer „web-site“ <http://www.weihenstephan.de/fml/physio/sonstig/Mitteilung> haben wir eine umfangreiche Übersicht zur Fragestellung, sowie zu Ergebnissen und Literatur aufgebaut. Hinzu kamen Interviews und Berichte zur Dopingproblematik im Olympiajahr 2004.

### Exkursionen

Exkursion zum Bayer. Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Oberschleißheim am 30.06.2004. Thema: „Staatliche Lebensmittelkontrolle und Vorsorge“

Exkursion zur Besamungsstation Landshut am 08.07.2004.

Exkursion zur Firma System Happel, Friesenried, am 27.10.2004

## Ehrungen, Ernennungen

Frau Dipl. agr. Ing. Juliana Macuhova wurde am 25. Juni 2004 im Rahmen der 4. Hochschultagung des Wissenschaftszentrums Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München aufgrund Ihrer herausragenden Arbeiten zu ihrer Dissertation der Dr. Heinrich-Baur-Reise-Preis 2004 verliehen.

Während der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung wurde Frau Dipl. agr. Ing. Maria Kollman am 07. Oktober 2004 für die beste Diplomarbeit im Jahr 2004 vom Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologien e.V. geehrt.

## Veröffentlichungen

### 45 Experimentelle Originalarbeiten

Bauersachs, S.; Rehfeld, S.; Ulbrich, S.E.; Mallok, S.; Prella, K.; Wenigerkind, H.; Einspanier, R.; Blum, H.; Wolf, E.: Monitoring gene expression changes in bovine oviduct epithelial cells during the oestrous cycle. – In: *Journal of Molecular Endocrinology* 32 (2004) S. 449-466

Berisha, B.; Sinowatz, F.; Schams, D.: Expression and localization of fibroblast growth factor (FGF) family members during the final growth of bovine ovarian follicles. – In: *Molecular Reproduction and Development* 67 (2004) S. 162-171

Bruckmaier, R.M.; Ontsouka, C.E., Blum, J.W.: Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis. – In: *Vet. Med. – Czech* 49 (2004) S. 283-290

Bruckmaier, R.M.; Weiss, D.; Wiedemann, M.; Schmitz, S., Wendl, G.: Changes of physico-chemical indicators during mastitis and the effects of milk ejection on their sensitivity. – In: Journal of Dairy Research 71 (2004) S. 316-321

Cao Y.; Wei, H.; Pfaffl, M.; Da, B.; Li, Z.: Apoptosis of human trabecular meshwork cells induced by transforming growth factor- $\beta$  *in vitro*. – In: Journal of Huazhong University of Science and Technology 24 (2004) S. 87-90

Didier, A.; Bruckmaier, R.M.: mRNA expression of apoptosis-related in mammary tissue and milk cells in response to lipopolysaccharide challenge and during subclinical mastitis. – In: Milk Science International 59 (2004) S: 119-123

Didier, A.; Kessel, S.: Novel *in-vitro* co-culture system for studies on leukocyte-mammary gland epithelial cell cross-talk. – In: Milk Science International 59 (2004) S. 236-239

Didier, A.; Windisch, W.; Pfaffl, M.W.: Elevated caspase-3 and Fas mRNA expression in jejunum of adult rats during subclinical zinc deficiency. – In: Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 18 (2004) S. 41-45

Dzidic, A.; Kaps, M.; Bruckmaier, R.M.: Machine milking of Istrian dairy crossbred ewes: udder morphology and milking characteristics. – In: Small Ruminant Research 55 (2004) S. 183-189

Dzidic, A.; Macuhova, J.; Bruckmaier, R.M.: Effects of cleaning duration and water temperature on oxytocin release and milk removal in an automatic milking system. – In: Journal of Dairy Science 87 (2004) S. 4163-4169

Dzidic, A.; Mohr, A.; Meyer, K.; Bauer, J.; Meyer, H.H.D.; Pfaffl, M.W.: Effects of mycophenolic acid (MPA) treatment on expression of Fc receptor (FcRn) and polymeric immunoglobulin receptor (pIgR) mRNA in adult sheep tissues. – In: Croatian Medical Journal 45 (2004) S. 130-135

Dzidic, A.; Weiss, D.; Bruckmaier, R.M.: Oxytocin release, milk ejection and milking characteristics in a single stall automatic milking system. – In: Livestock Production Science 86 (2004) S. 61-68

Einspanier, R.; Lutz, B.; Rief, St.; Berezina, O.; Zverlov, V.; Schwarz, W.; Mayer, J.: Tracing residual recombinant feed molecules during digestion and rumen bacterial diversity in cattle fed transgene maize. – In: European Food Research and Technology 218 (2004) S. 269-273

Einspanier, R.; Ulbrich, S.; Schönfelder, M.: Communication within the female genital tract: Analysis of paracrine mediators in the reproductive epithelium. – In: Andrologia 36 (2004) S. 130-132

Gabler, C.; Gabler-Plath, A.; Killian, G.J.; Berisha, B.; Schams, D.: Expression pattern of fibroblast growth factor (FGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) system members in bovine corpus luteum endothelial cells during treatment with FGF-2, VEGF or oestradiol. – In: Reproduction in Domestic Animals 39 (2004) S. 321-327

Garcés R.; Boza J.L.; Acevedo, P.S.; Brandl, E.; Bruckmaier, R.M.; López J.L.F.: Persistence index and description of first 100 days of the lactation curve of primiparous and multiparous sanen goats maintained in confinement. – In: Agricultura Técnica (Chile) 63 (2004) S. 319-326

Handler, J.; Wüstenhagen, A.; Schams, D.; Kindahl, H.; Aurich C.: Estrous cycle characteristics, luteal function, secretion of oxytocin (OT) and plasma concentrations of 15-keto-13,14-dihydro-PGF $2\alpha$  (PGF $2\alpha$ -metabolite) after administration of low doses of prostaglandin F $2\alpha$  (PGF $2\alpha$ ) in pony mares. – In: Theriogenology 61 (2004) S. 1573-1582

Hartel, A.; Didier, A.; Ulbrich, S.E.; Wierer, M.; Meyer, H.H.D.: Characterisation of steroid receptor expression in the human prostate carcinoma cell line 22RV1 and quantification of androgen effects on mRNA regulation of prostate-specific genes. – In: Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 92 (2004) S. 187-197

- Hayashi K.-G.; Berisha, B.; Matsui, M.; Schams, D.; Miyamoto, A.: Expression of mRNA for the angiopoietin-tie system in granulosa cells during follicular development in cows. – In: *Journal of Reproduction and Development* 50 (2004) S. 477-480
- Hiss, S.; Mielenz, M.; Bruckmaier, R.M.; Sauerwein, H.: Haptoglobin concentrations in blood and milk after endotoxin challenge and quantification of mammary Hp mRNA expression. – In: *Journal of Dairy Science* 87 (2004) S. 3778-3784
- Hoedemaker, M.; Prange, D.; Zerbe, H.; Frank, J.; Daxenberger, A.; Meyer, H.H.D.: Peripartur propylene glycol supplementation and metabolism, animal health, fertility, and production in dairy cows. – In: *Journal of Dairy Science* 87 (2004) S. 2136-2145
- Kindermann, B.; Döring, F.; Pfaffl, M.; Daniel, H.: Identification of Genes Responsive to Intracellular Zinc Depletion in the Human Colon Adenocarcinoma Cell Line HT-29. – In: *Journal of Nutrition* 134 (2004) S. 57-62
- Kiossis, E.; Bruckmaier, R.M.; Riedl, J.: Milchmenge, Melkbarkeit, Abgangsursachen und langfristige Eutergesundheit nach Zitzenteilamputation beim Rind. – In: *Tierärztliche Umschau* 59 (2004) S. 75-83
- Macuhova, J.; Tancin, V.; Bruckmaier, R.M.: Effects of oxytocin administration on oxytocin release and milk ejection. – In: *Journal of Dairy Science* 87 (2004) S. 1234-1244
- Macuhova, J.; Tancin, V.; Bruckmaier, R.M.: Oxytocin release and milk removal after delayed or long-lasting teat cup attachment during automatic milking. – In: *Livestock Production Science* 87 (2004) S. 237-244
- Neuvians, T.P.; Berisha, B.; Schams, D.: Vascular endothelial growth factor (VEGF) and fibroblast growth factor (FGF) expression during induced luteolysis in the bovine corpus luteum. – In: *Molecular Reproduction and Development* 67 (2004) S. 389-395
- Neuvians, T.P.; Schams, D.; Berisha, B.; Pfaffl, M.W.: Involvement of pro-inflammatory cytokines, mediators of inflammation, and basic fibroblast growth factor in prostaglandin F<sub>2α</sub>-induced luteolysis in bovine corpus luteum. – In: *Biology of Reproduction* 70 (2004) S. 473-480
- Pfaffl, M.W.; Tichopad, A.; Prgomet, C.; Neuvians, T.P.: Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper – Excel-based tool using pair-wise correlations. – In: *Biotechnology Letters* 26 (2004) S. 509-515
- Sarikaya, H.; Prgomet, C.; Pfaffl, M.W.; Bruckmaier, R.M.: Differentiation of leukocytes in bovine milk. – In: *Milk Science International* 59 (2004) S. 586-589
- Schiffer, B.; Totsche, K.U.; Jann, S.; Kögel-Knabner, I.; Meyer, K.; Meyer, H.H.D.: Mobility of the growth promoters trenbolone and melengestrol acetate in agricultural soil: column studies. – In: *Science of the Total Environment* 326 (2004) S. 225-237
- Schlupp, A.; Anielski, P.; Thieme, D.; Müller, R.K.; Meyer, H.; Ellendorff, F.: The  $\beta$ -agonist clenbuterol in mane and tail hair of horses. – In: *Equine Veterinary Journal* 36 (2004) S. 118-122
- Schmitz, S.; Pfaffl, M.W.; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.: Short-term changes of mRNA expression of various inflammatory factors and milk proteins in mammary tissue during LPS-induced mastitis. – In: *Domestic Animal Endocrinology* 26 (2004) S. 111-126
- Schmitz, S.; Pfaffl, M.W.; Miller, M.; Buchberger, J.; Meyer, T.; Sauerwein, H.; Bruckmaier, R.M.: mRNA expression of immune factors and milk proteins in mammary tissue and milk cells and their concentration in milk during subclinical mastitis. – In: *Milk Science International* 59 (2004) S. 351-355
- Soto, A.M.; Calabro, J.M.; Prechtel, N.V.; Yau, A.Y.; Orlando, E.F.; Daxenberger, A.; Kolok, A.S.; Guillet, Jr. L.J.; le Bizec, B.; Lange, I.G.; Sonnenschein C.: Androgenic and estrogenic activity in water bodies receiving cattle feedlot effluent in Eastern Nebraska, USA. – In: *Environmental Health Perspectives* 112 (2004) S. 346-352

- Stahlberg, A.; Kubista, M.; Pfaffl, M.: Comparison of reverse transcriptases in gene expression analysis. – In: *Clinical Chemistry* 50 (2004) S. 1678-1680
- Tanaka, J.; Acosta, T.J.; Berisha, B.; Tetsuka, M.; Matsui, M.; Kobayashi, S.; Schams, D.; Miyamoto, A.: Relative changes in mRNA expression of angiopoietins and receptors Tie in bovine corpus luteum during estrous cycle and prostaglandin F<sub>2</sub>α-induced luteolysis: a possible mechanism for the initiation of luteal regression. – In: *Journal of Reproduction and Development* 50 (2004) S. 619-626
- Thomas, C.S.; Svennersten-Sjaunja, K.; Bhosrekar, M.R.; Bruckmaier, R.M.: Mammary cisternal size, cisternal milk and milk ejection in Murrah buffaloes. – In: *Journal of Dairy Research* 71 (2004) S. 162-168
- Tichopad, A.; Didier, A.; Pfaffl, M.W.: Inhibition of real-time RT-PCR quantification due to tissue-specific contaminants. – In: *Molecular and Cellular Probes* 18 (2004) S. 45-50
- Ulbrich, S.E.; Schoenfelder, M.; Thoene, S.; Einspanier, R.: Hyaluronan in the bovine oviduct-modulation of synthases and receptors during the estrous cycle. – In: *Molecular and Cellular Endocrinology* 214 (2004) S. 9-18
- Weiss, D.; Helmreich, S.; Möstl, E.; Dzidic, A.; Bruckmaier, R.M.: Coping capacity of dairy cows during the change from conventional to automatic milking. – In: *Journal of Animal Science* 82 (2004) S. 563-570
- Weiss, D.; Reist, M.; Bruckmaier, R.M.: The acyclic period postpartum in automatic and conventional milking. – In: *Journal of Veterinary Medicine A* 51 (2004) 268-272
- Weiss, D., Weinfurtner, M.; Bruckmaier, R.M.: Teat anatomy and its relationship with quarter and udder milk flow characteristics in dairy cows. – In: *Journal of Dairy Science* 87 (2004) 3280-3289
- Weiss, D., Weinfurtner, M.; Bruckmaier, R.M.: Teat anatomy and teat-canal closure: relationship with quarter milk flow. – In: *Bulletin of the International Dairy Federation* 388 (2004) 41-42
- Welter, H.; Wollenhaupt, K.; Einspanier, R.: Developmental and hormonal regulated gene expression of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) and its receptors in porcine endometrium. – In: *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 88 (2004) S. 295-304
- Wollenhaupt, K.; Welter, H.; Einspanier, R.; Manabe, N.; Brüßow, K.-P.: Expression of epidermal growth factor receptor (EGF-R), vascular endothelial growth factor receptor (VEGF-R) and fibroblast growth factor receptor (FGF-R) systems in porcine oviduct and endometrium during the time of implantation. – In: *Journal of Reproduction and Development* 50 (2004) S. 269-278

#### 4 Mitteilungen für die Praxis

- Dzidic, A.; Macuhova, J.; Bruckmaier R.M.: Effects of cleaning duration and water temperature on milk ejection and milking characteristics in an automatic milking system. – In: *Bulletin of the International Dairy Federation* 388 (2004) S. 20-21
- Meyer, H.H.D.: Abbau von GV-Mais in Nutztieren. – In: *Ernährungs-Umschau* 51 (2004) S. 297-298
- Pfaffl, M.W.: Real-time RT-PCR: Neue Ansätze zur exakten mRNA Quantifizierung. – In: *BIOSpektrum, Sonderausgabe Special*, 10 (2004) S. 92-95
- Svennersten-Sjaunja, K., Bruckmaier, R.; Hamann, J.; Woolford, M.: Stimulation of milk ejection – a basic need or just a time-consuming routine? – In: *Bulletin of the International Dairy Federation* 388 (2004) S. 11-19

### 3 Reviews, Buchkapitel

Pfaffl, M.W.: Nucleic acids: mRNA identification and quantification. – In: Encyclopedia of Analytical Science, 2<sup>nd</sup> Edition, (P.J. Worsfold, A. Townsend, C.F. Poole, eds.) Elsevier Ltd., Philadelphia, USA, ISBN 0-12-764100-9, (2004) S. 417-426

Pfaffl, M.W.: Quantification strategies in real-time PCR. – In: The real-time PCR Encyclopaedia A-Z of quantitative PCR (Bustin S.A. Hrsg.), International University Line (IUL), La Jolla, CA., USA (2004) S. 87-120

Schams, D.; Berisha, B.: Regulation of corpus luteum function in cattle – an overview. – In: Reproduction of Domestic Animals 39 (2004) S. 241-251

### 3 Kongressbeiträge, Proceedings

Bruckmaier, R.M.; Meyer, H.H.D.: Induction of milk ejection during teat cleaning in robotic milking systems. – In: Automatic Milking – A better understanding (Meijering, A., Hogeveen, H., de Koning C.J.A.M., eds.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Niederlande, ISBN 9076998388, (2004) S. 106-110

Macuhova, J.; Bruckmaier, R.M.: Diurnal changes of oxytocin release during automatic milking. – In: Automatic Milking – A better understanding (Meijering, A., Hogeveen, H., de Koning C.J.A.M., Hrsg.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Niederlande, ISBN 9076998388, (2004) S. 502

Pfaffl, M.W.: Proceedings: 1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop *Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification*. Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004, ISBN 3-00-013404-2, (2004) S. 1-99

### 27 Abstracts und Sonstiges

Bauersachs, S.; Gross, K.; Ulbrich, S.E.; Schmidt, S.; Wenigerkind, H.; Einspanier, R.; Blum, H.; Wolf, E.: Zeitliche und räumliche Veränderungen der mRNA-Profile im bovinen Endometrium. – In: Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Züchtungskunde e.V. und der Gesellschaft für Tierzuchtwissenschaft, Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztiere und Universität Rostock, 29.09.2004, Abstr. Nr. C01

Berisha, B.; Meyer, H.H.D.; Schams, D.: The expression of fibroblast growth factor (FGF) family members in bovine follicles during peri-ovulatory phase. – In: Veterinary Medicine Austria/ Wiener Tierärztliche Monatsschrift 91, Suppl. 2 (2004) S. 10-11

Berisha, B.; Schams, D.; Amselgruber, W.: Involvement of endothelin and angiotensin family members in bovine corpus luteum function. – In: Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes, Suppl. 1, 112 (2004) P89

Bühlmeyer, K.; Daniel, H.; Döring, F.; Kindermann, B.; Meyer, H.H.D.; Mougios, V.; Nishino, T.; Schleifer, K.; Schönfelder, M.; Schulz, T.; Michna, H.: Physical activity may influence gene expression of potential inflammatory factors in the colon mucosa. – In: Book of Abstracts "9<sup>th</sup> Annual Congress European College of Sport Science", 03.-06.07.2004, Clermont-Ferrand, Frankreich, (2004) Abstr. No. 043Pink05

Dzidic, A.; Meyer, H.H.D., Pfaffl, M.W.: The *in vivo* effects of a mycophenolic acid (MPA) treatment on the cytokine expression in sheep leucocytes, using an efficiency corrected relative quantification model in real-time RT-PCR. – In: Proceedings 1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop, "Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification". (Pfaffl M.W. eds.) Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004, ISBN 3-00-013404-2, (2004) S. 60, Abstr. No. P61

- Herzig, J.; Dummer, C.; Pfaffl, M.W.: "An apple a day keeps the doctor away!" Influence of different flavanol rich feeding regimens on the villi and crypt morphology in jejunum, ileum, and colon of young piglets. – In: Abstractband der XXII International Conference on Polyphenols, University of Helsinki, Finland, 25.-28.08.2004, 11-12, Abstr. No. P375
- Herzig, J.; Pfaffl, M.W.: Effects of immune stimulation on expression of pro-inflammatory factors in primary white blood cells cultured with various concentrations of EGCG or (+)-catechin. – In: Abstractband der XXII International Conference on Polyphenols, University of Helsinki, Finland 25.-28.08.2004, 469-470
- Kerr, D.E.; Wellnitz, O.: Cryopreserved bovine mammary cells to model epithelial response to infection. – In: Abstractband 7<sup>th</sup> International Veterinary Immunology Symposium, Quebec City, Canada, 25.-30.07.2004
- Meyer, H.H.D.: qPCR and transcriptomics: Creation of a new tool to understand life. – In: Proceedings 1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop, "Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification". (Pfaffl M.W. eds.) Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004, ISBN 3-00-013404-2, (2004) S. 8
- Neuvians, T.P.; Berisha, B.; Pfaffl, M.W.; Schams, D.: Possible anti-inflammatory role of bFGF during bovine PGF2 $\alpha$  induced luteolysis in relation to iNOS mRNA expression. – In: Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes, Suppl. 1, 112 (2004) P91
- Neuvians, T.P.; Pfaffl, M.W.; Berisha, B.; Schams, D.: IGF-II, its receptors IR-A, IGF-RT1 and IGF-R2, and their role in the bovine corpus luteum. – In: Veterinary Medicine Austria/Monatsschrift, 91, Suppl. 2 (2004) S. 47
- Neuvians, T.P.; Pfaffl, M.W.; Schams, D.; Berisha, B.: Quantitative mRNA expression of the IGF-system members during induced luteolysis in the bovine. – In: Proceedings 1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop, "Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification". (Pfaffl M.W. eds.) Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004, ISBN 3-00-013404-2, (2004) S. 28, P72
- Pfaffl, M.W.; Prgomet, C.; Schmitz, S.; Meyer, H.H.D.; Bruckmaier, R.M.: LPS effects on the mRNA expression of inflammatory factors in the mammary gland: quantitative transcriptomics in various cell types using real-time RT-PCR. – In: Abstracts of the First International Conference on Basic and Clinical Immunogenomics Conference (BCI) 2004. Budapest, Hungary, 03.-07.10.2004, Tissue Antigens 64 (2004) S. 327
- Rehfeld, S.; Ulbrich, S.; Mallok, S.; Prele, K.; Wenigerkind, H.; Einspanier, R.; Blum, H.; Wolf, E.; Bauersachs, S.: Transcriptomics analysis of bovine oviduct epithelial cells during the estrous cycle. – In: Veterinary Medicine Austria/Wiener Tierärztliche Monatsschrift 91, Suppl. 2 (2004) S. 55
- Reischl, U.; Pfaffl, M.W.; Kubista, M.; Wittwer, C.T.: 1. Internationales qPCR Symposium & Application Workshop. – In: F & D (2004) S. 38
- Schams, D.; Berisha, B.: Ovarian function in ruminants. – In: Biotechnologie, Agronomie, Société et Environment, Special Issue 8 (2004) S. 27, K-28
- Schams, D.; Berisha, B.; Miyamoto, A.: The expression of angiopoietin-tie system members in bovine ovarian follicle during final follicular growth. – In: Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes, Suppl. 1, 112 (2004) P90
- Schams, D.; Berisha, B.; Kraetzl, W.D.; Amselgruber, W.: The expression of basic fibroblast growth factor (FGF2) and its receptors in bovine follicle before and after the LH surge. – In: Biology of Reproduction, Special Issue (2004) S. 136
- Schulz, T.; Bühlmeier, K.; Daniel, H.; Döring, F.; Kindermann, B.; Meyer, H.H.D.; Mougios, V.; Nishino, T.; Schleifer, K.; Schönfelder, M.; Michna, H.: Changes of plasma hormone levels and gene expression colonic mucosa after 13 weeks of voluntary exercise in rats. – In:

Book of Abstracts "9<sup>th</sup> Annual Congress European College of Sport Science", 03.-06.07.2004, Clermont-Ferrand, Frankreich, (2004) Abstr. No. P44L12

Tancin, V.; Ipema, A.H.; Peskovicova, D.; Hogewerf, P.H.; Mihina, S.; Macuhova, J.: Quarter milk flow patterns in dairy cows: factors involved and repeatability. – In: Automatic Milking – A better understanding (Meijering, A., Hogeveen, H., de Koning C.J.A.M., eds.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Niederlande, ISBN 9076998388, (2004) S. 183

Tichopad, A.; Pfaffl, M.W.: Search by cluster analysis for steadily expressed genes with application as normalisation index in real-time RT-PCR. – In: Proceedings 1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop, "Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification". (Pfaffl M.W. eds.) Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004, ISBN 3-00-013404-2, (2004) S. 55, Abstr. No. P

Tichopad, A.; Polster, J.; Pfaffl, M.W.: Inhibition of *Taq* polymerase and *MLLV* reverse transcriptase performance in presence of polyphenolic compounds: (+)-Catechine & Epigallocatechin Gallate (EGCG). – In: Proceedings 1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop, "Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification". (Pfaffl M.W. eds.) Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004, ISBN 3-00-013404-2, (2004) S. 78, Abstr. No. P112

Ulbrich, S.E.; Bauersachs, S.; Blum, H.; Wolf, E.; Einspanier, R.: Quantitative analysis of differentially expressed genes in ipsilateral versus contralateral bovine epithelial cells using real-time RT-PCR. – In: Veterinary Medicine Austria/Wiener Tierärztliche Monatsschrift 91, Suppl. 2 (2004) S. 69

Ulbrich, S.E.; Bauersachs, S.; Rehfeld, S.; Mallok, S.; Prella, K.; Wenigerkind, H.; Blum, H.; Wolf, E.; Einspanier, R.: Using real-time quantitative RT-PCR to validate a transcriptomics analysis advancing embryo-maternal communication. – In: Proceedings 1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop, "Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification". (Pfaffl M.W. eds.) Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004, ISBN 3-00-013404-2, (2004) S. 19, P7

Ulbrich, S.E.; Berisha, B.; Schoenfelder, M.; Welter, H.; Schams, D.: Inducible and endothelial nitric oxide synthases (NOS) mRNA in the bovine ovary. – In: Proceedings 1<sup>st</sup> International qPCR Symposium & Application Workshop, "Transcriptomics, Clinical Diagnostics & Gene Quantification". (Pfaffl M.W. eds.) Technische Universität München, Freising-Weihenstephan, 03.-06.03.2004, ISBN 3-00-013404-2, (2004) S. 30, P77

Ulbrich, S.E.; Einspanier, R.: Exploring the extracellular matrix of the bovine oviduct – modulations of hyaluronan associated receptors and synthases *in vivo* and *in vitro*. – In: Reproduction, Abstr. Series No. 31 (2004) No. O38

Weiss, D.; Möstl, E.; Bruckmaier, R.M.: The changeover from conventional to automatic milking in dairy cows with and without previous experience. – In: Automatic Milking – A better understanding (Meijering, A., Hogeveen, H., de Koning C.J.A.M., eds.), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Niederlande, ISBN 9076998388, (2004) S. 518



---

# Versuchsstation Veitshof

---

## Adresse

Veitsmüllerweg 4  
D- 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3533

Telefax: 08161-71-5083

## Personal

Leitung:	o. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Heinrich H. D. Meyer	71-3508
Verwaltung:	Dipl.-Ing. agr. (FH) Martin Schmölz	-3533
Sekretariat:	Rita Schwaiger	-3533
Arbeiter:	3	

## Allgemeines

### a) Bodennutzung

Landw. Nutzfläche:	95,3 ha	davon Ackerland:	51,5 ha
davon Pachtfläche:	51,5 ha	Grünland:	43,8 ha

### b) Viehbestand

Bestand am 31.12.2004	62 Kühe
	2 Kalbinnen
	53 Jungrinder
	21 Kälber
	4 Ziegen

---

142 Klautiere

---

40 Kaninchen

Die durchschnittliche Jahresmilchleistung betrug im Kontrolljahr lt. LKV:  
9.159 kg Milch; 333,9 kg Eiweiß, 3,65 % Eiweiß; 403,4 kg Fett, 4,40 % Fett.

## Lehr- u. Forschungstätigkeit an der Versuchsstation Veitshof

### Lehre

Im Rahmen der Vorlesungen und Praktika zur Reproduktionsbiologie und Regulationsphysiologie wurden praxisnahe Veranstaltungen durchgeführt. Die Teilnehmer wurden mit den ana-

tomischen Verhältnissen des männlichen und weiblichen Genitaltraktes vertraut gemacht. Die Studierenden hatten die Möglichkeit, die Fertigkeit der rektalen Untersuchung zur Zyklusansprache zu erlernen. Weiterhin wurden verschiedenen Zyklus- und Trächtigkeitsstadien mittels Ultraschall am lebenden Tier demonstriert. Die Übung umfasste auch die Verhaltensbeobachtung.

Bei praktischen Übungen zur Stressphysiologie des Rindes wurden Effekte auf physiologische Parameter gezeigt und die gewonnenen Proben wurden in Laborversuchen analysiert und bewertet. Weitere Praktika veranschaulichten den Studenten den Einfluss der Melktechnik auf das Melkverhalten sowie den Vergleich der gestörten zur normalen Milchejektion.

Weiterhin wurde ein zweitägiges Fortbildungsseminar zum Thema Physiologie und Biotechnologie der Milchabgabe für Personen der Milchindustrie und Melkberatung mit praktischen Demonstrationen durchgeführt.

## **Forschung**

Milchprogesterontest als Kontrollinstrument bei Forschungsprojekten und Behandlungen im Rahmen des Herdenmanagements

Gewinnung von Antikörpern gegen Bt-Toxin, Clenbuterol, Salbutamol und Ractopamin in Kaninchen zur Entwicklung von Enzymtests zur quantitativen Analyse

Auswirkung von elastischen Bodenbelägen im Laufstall auf Verhalten und Tiergesundheit von Milchkühen

Untersuchungen zum Einfluss des Lichtes und des Serotonin-Melatonin-Systems auf die Milchabgabe beim Rind und Einfluss der Zufütterung von Tryptophan mit Erstellung von diurnalen Profilen der Blutkonzentrationen dieser Hormone

Entwicklung eines Melkzeug-Prototyps zur Veränderung der Einfaltrichtung des Zitzengummis

Zellpopulationszusammensetzung in verschiedenen Viertelgemelksfraktionen bei verschiedenen Gesamtzellzahlen

Untersuchung des Einflusses des Melkvakuums auf die Milchabgabe mit und ohne Vorstimulation unter besonderer Berücksichtigung der Milchejektion während des gesamten Melkverlaufs

Einfluss einer Vakuumabsenkung und Saugphasenverkürzung bei niedrigem Milchfluss auf Ocytocinfreisetzung und Milchabgabe

Anatomisch-physiologische Untersuchungen zur Incontinentia lactis bei Kühen

Chronische Ocytocinbehandlung bzw. einmalige LPS Behandlung und ihr Einfluss auf die Immunantwort der Milchdrüse

Chronische Ocytocinbehandlung und ihr Einfluss auf die Ocytocin-, Prolaktin- und Steriodrezeptoren im Milchdrüsengewebe

Erstellung von gewachsenen Standards zur Messung von Clenbuterol im Rinderhaar

---

# Professur für Betriebswirtschaftslehre der Milch- und Ernährungsindustrie

---

## Adresse

Weihenstephaner Berg 1  
D- 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3540  
Telefax: 08161-71-5030  
Internet: <http://www.wzw.tum.de/blm/bwl>

## Personal

Institutsleitung:	Univ.-Prof. Dr.oec. Hannes Weindlmaier	71-3540
Sekretariat:	Brigitte Stable	-3540
	Elke Stips (bis 30.11.2004)	-3948
Mitarbeiter:	Josef Betz, TA	-3861
	Dipl.-Ing. agr. Hendrik Buschendorf (seit 1.8.2004)	-3904
	Dr. Alois Huber	-3864
	Dipl.-Kffr. Corina Jantke	-3542
	Dipl.-Ing. Matthias Kunert	-3862
	Dipl.-Ing. agr. Thomas Obersojer (seit 1.9.2004)	-3515
	Dipl.-Kffr. Corinna Ruderer (seit 1.10.2004)	-3863
	Dipl.-Ing. agr. Caroline Schmalen	-3543
Dipl.-Ing. agr. Wilhelm Uffelmann	-3544	
Dipl.-Kffr. Marlen Wienert	-3947	

## Forschung

### I. Forschungsprojekte zur Milch- und Molkereiwirtschaft

#### **Produkt-Markt-Strategien als Ausgangspunkt für eine erfolgreiche Einführung von Innovationen in der Ernährungsindustrie**

*Product-Market-Strategies as basis for a successful introduction of innovations in the food industry*  
Schmalen, C.

In einer Studie der Professur für Betriebswirtschaftslehre der Milch- und Ernährungsindustrie (Laufzeit des Gesamtprojektes: 2001-2004) wurde empirisch untersucht, welche Triebkräfte den Erfolg eines neuen Produktes bedingen. Versucht man, für die zahlreichen Erfolgs- und Misserfolgskriterien einen gemeinsamen Nenner zu formulieren, stößt man unmittelbar auf zwei Handlungsfelder: Der Gestaltungsspielraum eines innovierenden Unternehmens liegt demnach in der Wahl einer optimalen Produkt- und Marktstrategie. Dies entspricht dem in der

Literatur der Erfolgsfaktorenforschung häufig zitierten Ergebnis, dass sich Erfolge nur dann erzielen lassen, wenn eine geeignete Kombination des „Market-based-view“ mit dem „Resource-based-view“ stattfindet. Die Festlegung des Marktes ist dabei vermutlich vorgelagert: Sie gilt als Voraussetzung für die Bestimmung relevanter Wettbewerber sowie Kunden (Handel, Endverbraucher) und damit für die Ausrichtung des eigenen Verhaltens.<sup>1</sup>

Die im Folgenden abgeleiteten Handlungsempfehlungen basieren direkt auf den Ergebnissen der Studie. Die Konzeption des Untersuchungsmodells sowie die Einzelresultate wurden bereits im Jahresbericht 2003 zur „Milchwissenschaftlichen Forschung Weihenstephan“ veröffentlicht.

### **Marktstimulierungsstrategien als produktpolitischer Gestaltungsspielraum**

Unter den Marktstimulierungsmöglichkeiten wird die **Differenzierung** im Innovationsmanagement als Leitstrategie verstanden.<sup>2</sup> Das Unternehmen gilt dann als differenziert, wenn dem Kunden die Leistungen als etwas Einzigartiges erscheinen. Ein Wettbewerbsvorteil kann dabei unterschiedlich generiert werden:

#### ***Teilstrategie I: Von der Grundnutzenorientierung zur Zusatznutzenorientierung<sup>3</sup>***

Diese Strategie versucht mit funktionalen Argumenten einen Leistungsvorteil zu offerieren. Der **Grundnutzen** setzt zunächst an der grundlegenden Ausstattung eines Produktes an: Lebensmittel zeichnen sich dabei in erster Linie über ihre Qualitätseigenschaften aus. Die Ergebnisse der empirischen Studie bestätigen, dass es sich bei Lebensmitteln lohnt, in den **Produktkern** zu investieren, um diesen weiterhin zu optimieren. Ansatzpunkte bieten die Forschungs- und Entwicklungsabteilung des eigenen Unternehmens, Kundenreaktionen (u.a. Reklamationen, Marktforschung) sowie der Einkauf besserer Qualitäten von Zulieferprodukten. Möglicherweise können sehr innovative Produktkerne (z.B. exotische Geschmacksrichtungen) oder besonders hochwertige Komponenten (z.B. „extra große Fruchtstücke“) dazu beitragen, das eigene Angebot gegenüber Wettbewerbern abzugrenzen. Dabei sollten die innovativen Leistungsmerkmale den aktuellen Verbraucherbedürfnissen entsprechen. Exemplarisch sei an dieser Stelle die innovativ ausgelobte Positionierung „ohne Kristallzucker“ der „Fruchtzwerge“ von DANONE genannt, welche auf die Problematik der Übergewichtigkeit von Kindern antwortet.

Neben der Beschaffung des Produktkerns zählt die **Verpackung** zum Grundnutzen. Die Anforderungen sind dabei zahlreich, da die innovierenden Unternehmen zwei Anspruchsgruppen gegenüberstehen. Endverbraucher legen besonderen Wert auf zielgruppengerechte Verpackungsgrößen/-einheiten (z.B. Familien, Singlehaushalte). Daneben ist auf einen einfachen Gebrauch der Verpackung zu achten. Die Wiederverschließbarkeit, ein leichtes Öffnen/Verschließen und die Möglichkeit zum individuellen Portionieren sind einige weitere Aspekte, welche das Anforderungsprofil dahingehend gestalten. Zudem sind in Verpackungsfragen auch die modernen Verzehrgewohnheiten (z.B. „Essen unterwegs“) zu berücksichtigen. Ein wichtiger Anspruch wird schließlich auf die Aufmachung und Verpackungsgestaltung

<sup>1</sup> Vgl. BEA, F.X.; HAAS, J. (2001): Strategisches Management. 3., neu bearbeitete Auflage, Stuttgart, S. 24ff. und S. 89.

<sup>2</sup> Vgl. KOTLER, PH. et al. (1999): Grundlagen des Marketings. München et al., S. 404.

<sup>3</sup> Vgl. BECKER, J. (1996): Konzeptionelle Grundfragen der Positionierung. In: T. TOMCZAK; T. RUDOLPH; A. ROOSDORP (Hrsg.): Positionierung - Kernentscheidung des Marketing, Thexis, 13. Jg., S. 15.

(hohe Anmutungsqualität) gelegt; denn die Verpackung zählt zum wichtigsten Botschafter des Unternehmens, da sie allein das Markenbild am Point of Sale kommuniziert. Der Handel - als zweite Anspruchsgruppe - fordert hingegen u.a. die Möglichkeit zur optimalen Nutzung des Regalplatzes oder die Eignung zur Verkaufsförderung.

Stößt das Produkt in seinen grundlegenden Eigenschaften an die Grenzen der Veränder- und Verbesserbarkeit, müssen Zusatznutzenwerte („added values“) geschaffen werden. Der **Zusatznutzen** beschreibt in dieser Studie die Fähigkeit eines Produktes, als echter Problemlöser aufzutreten. Das Problemlösungsverhalten eines Produktes kann dabei sehr unterschiedlich umgesetzt werden. Die Produkte können auf bereits etabliertes Verbraucherverhalten „logisch“ antworten (z.B. bereits zubereiteter Grießbrei) oder ein völlig neues Problemlösungsverhalten bewusst machen (z.B. Zahnpflegekaugummi). Aufgrund der generierten Bequemlichkeit erfüllen aktuell sog. Convenienceprodukte diesen Leistungsanspruch im Besonderen. Als Beispiel sei an dieser Stelle das flüssige Frühstück „Nutristart“ von CAMPINA genannt, welches eine komplette Mahlzeit anbietet.

### ***Teilstrategie II: Von der rationalen zur emotionalen Positionierung***

Auf der physischen Ebene ist es für den Hersteller immer schwieriger, eine vom Kunden wahrnehmbare und relevante Differenzierung zu gestalten. Unter dem emotionalen Konzept werden verschiedene Aspekte subsumiert, wobei zunächst die inhaltliche Ausgestaltung im Fokus steht. Das Produkt sollte in seinem Umfeld ein emotionales Image aufbauen, mit dem der Kunde sich identifizieren kann. Dies gelingt in der Regel über die Orientierung an einer bestimmten Thematik, indem Gefühle und spezifische Erlebnisse (z.B. Alpen, Sport) aufgegriffen werden. Der Aufbau von Marken spielt in diesem Zusammenhang eine große Rolle. In der konzeptionellen Auslegung ist unbedingt auf eine **harmonische Übereinstimmung** in Produkteigenschaften zu achten. Dies gilt sowohl hinsichtlich der physischen, aber auch der psychischen Eigenschaften: Ein tropisch positionierter Fruchtsaft sollte auch exotisch schmecken (z.B. Maracuja) und eine tropische Lebenswelt kommunizieren. Ein weiteres Erfolgskriterium liegt in der **Kontinuität**. In der Einführungsphase sollte die Produktstrategie möglichst nicht verändert werden, da die Zielgruppe verunsichert werden könnte (Problem der Glaubwürdigkeit). Eine Ausnahme bildet eine unmittelbare Behebung von Produktmängeln, die sich erst in der Markterprobung als solche zeigten.

Neben der Schaffung einer profilhaften Positionierung, sowohl funktionaler als auch emotionaler Natur, gilt es als besonders wichtig, die Vorteilhaftigkeit zu kommunizieren. Unter dem Erfolgsfaktor der **Kommunizierbarkeit** wird die Vermittelbarkeit des Leistungsangebots verstanden, wobei sowohl die Endverbraucher als auch die Absatzmittler Empfänger der Botschaften darstellen. Da beide Kundenkreise unterschiedliche Informationskanäle nutzen, ist auf die Verwendung des zielgruppenrelevanten Mediums zu achten (z.B. Fachzeitschriften, Illustrierte).

### **Marktparzellierungsstrategien für neue Produkte**

In Abhängigkeit von der Marktbearbeitung werden dem Unternehmen zwei Strategieoptionen offeriert: Die Massenmarktstrategie und die Marktsegmentierungsstrategie. Hinsichtlich der Bedienung eines **breiten Marktes** sollte die größtmögliche Anzahl an Abnehmern erreicht werden. Die Anforderung an einen hohen Distributionsgrad steht in engem Zusammenhang

mit dem Absatz über Handelsorganisationen: Die zunehmenden Konzentrationsprozesse führen dazu, dass nationale Listungen bevorzugt aufgenommen werden. Eine Möglichkeit, unabhängiger von einzelnen Entscheidern zu agieren, eröffnet die Bedienung alternativer Absatzkanäle (z.B. Großverbraucher, Tankstellen). Obgleich diese Strategie nur in einzelnen Branchen bereits seit langer Zeit erfolgreich etabliert ist (z.B. der Gastronomieabsatz von Brauereien), sind alternative Wege eventuell auch für andere Produktgruppen interessant. Bis dato bleibt der Lebensmitteleinzelhandel allerdings unumstritten der wichtigste Absatzkanal.

Die Bearbeitung **ausgewählter Marktsegmente** (Zielgruppen) versucht hingegen, hinter flächig ausgerichteten Massenmärkten feinere Strukturen an Bedürfnissen und Problemlösungsansprüchen zu erkennen.<sup>4</sup> Zielgruppengerechte Bedarfsartikel sind unter der Prämisse anzubieten, dass ein Unternehmen ausreichend Ressourcen (u.a. im Marketing) besitzt, diese Bedürfnisse zu identifizieren sowie in Produktkonzepten umzusetzen. Versucht man, die eigene Produktpalette in Distanz zu den relevanten Wettbewerbern zu positionieren, schafft man unmittelbar spezielle Produkteigenschaften, auf welche die relevanten Kunden häufig aufgrund ihres Neuheitsgrades aufmerksam werden. Dadurch wird ein Spezialisierungsgrad geschaffen (z.B. Produkte zur Cholesterinsenkung), welcher das Nachfragesegment zunehmend schmälert. Man verlässt dadurch breite Zielmärkte und nähert sich kleineren Nischen an. Diese Entwicklung muss das Absatzvolumen allerdings nicht limitieren: Einen möglichen Lösungsansatz verspricht das **Integrationsmarketing**<sup>5</sup>, welches versucht, gleichzeitig verschiedene Bedarfskategorien anzusprechen (z.B. Wellnessprodukte für u.a. Senioren, junge Frauen, Sportler). Um diese wirkungsvoll zu erreichen, liegt die Bedingung für Erfolg weiterhin darin, professionelle Zielgruppenmarktforschung zu betreiben. Damit wird man den Anforderungen an ein Denken in Problemlösungen und Bedürfnisstrukturen gerecht.

Unabhängig von dem Vorgehen der Marktbearbeitung legen die empirischen Ergebnisse nahe, vorrangig wachsende Märkte zu bedienen. Die Ursache liegt darin, dass in **Wachstumsmärkten** eine große Differenz zwischen Marktpotential und gegenwärtigem Marktvolumen besteht.<sup>6</sup> Gestaltbar ist zudem der Zeitpunkt der Marktansprache, der von verschiedenen Dimensionen abhängig ist. Die „Natur“ der Produkte (z.B. Saisonartikel), aber auch Wettbewerbskonstellationen (z.B. Anspruch an Pionierstellung) oder spezielle Termine (z.B. Einführung auf Produktmessen) tragen zur richtigen Entscheidung hinsichtlich des **Einführungszeitpunktes** bei.

#### **Positionierung:**

#### **In der optimalen Produkt-Markt-Kombination steckt die Erfolgskraft**

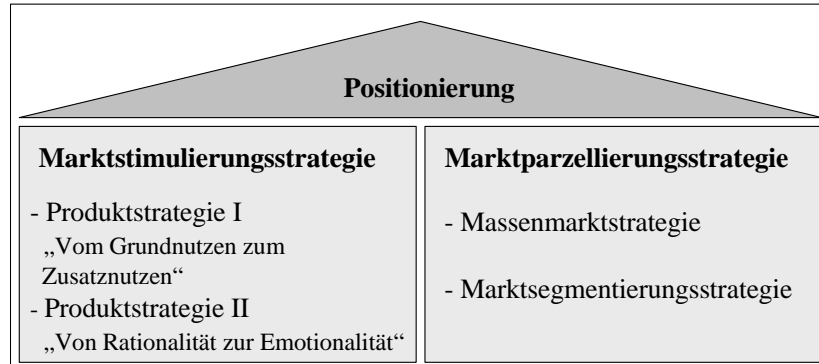
Nachstehende Abbildung 1 vereinigt die beiden Aufgabenbereiche der Marktstimulierungsstrategie und der Marktparzellierungsstrategie sowie ihre Ausgestaltungsmöglichkeiten unter dem gemeinsamen Dach der Positionierung. Die Optionen zur Bearbeitung der Märkte und

<sup>4</sup> Vgl. BECKER, J. (2000): Marketing-Strategien: Systematische Kursbestimmung in schwierigen Märkten. München, S. 106ff.

<sup>5</sup> Vgl. exemplarisch LEICHER, R. (1996): Die "Neuen Alten": Kennzeichen und Ansprache der Zielgruppe der Zukunft. In: Direkt Marketing, 32. Jg., Heft 4, S. 18.

<sup>6</sup> Vgl. HOLZMÜLLER, H.H. (2002): Potentialanalyse. In: S. ALBERS und A. HERRMANN (Hrsg.): Handbuch Produktmanagement: Strategieentwicklung - Produktplanung - Organisation - Kontrolle. 2., überarbeitete und erweiterte Auflage, Wiesbaden, S. 294.

zur Differenzierung der eigenen Produktpalette gegenüber Wettbewerbern sind zahlreich. Die bereits gelieferten Ausführungen stellen nur einen kleinen Ideenpool dar. Der Produktkern, insbesondere aber die Möglichkeiten zur Gestaltung von Zusatzleistungen bieten viele Chancen, auf den großteils stagnierenden Lebensmittelmärkten, Wachstumsimpulse auszulösen. Wichtig ist dabei, dass die Zielgruppe auf die Vorteilhaftigkeit aufmerksam wird (Kommunizierbarkeit als Erfolgsursache), darüber hinaus diese aber auch für relevant hält. Eine weitere Aufgabe des Unternehmens liegt somit darin, ausreichend Interesse des Kunden an der Produktgruppe zu schaffen.



Quelle: Eigene Darstellung

Abb. 1: Positionierung als Ergebnis von Produkt-Markt-Strategien

Gleichzeitig sollte beobachtet werden, inwiefern das eigene Angebot im relevanten Markt der Wettbewerber verankert ist. Schließlich setzt eine Alleinstellung voraus, dass die Positionierung (bestimmte Lage im Produkt-Markt-Raum) möglichst noch unbesetzt ist.

Bei der Beurteilung der Positionierungen der eigenen Produkte und denen der Wettbewerber interessiert ausschließlich die subjektive Einschätzung der Zielgruppe, da nur ihre Warenwelt letztlich relevant ist. Somit werden zwei Sichtweisen in Positionierungsmodellen integriert: Die kundenorientierte zielt auf die Einschätzung des Verbrauchers ab, die konkurrenzorientierte bildet hingegen das Gesamtangebot am Markt ab.

### **Die internationale Wettbewerbsfähigkeit der deutschen Molkereiwirtschaft**

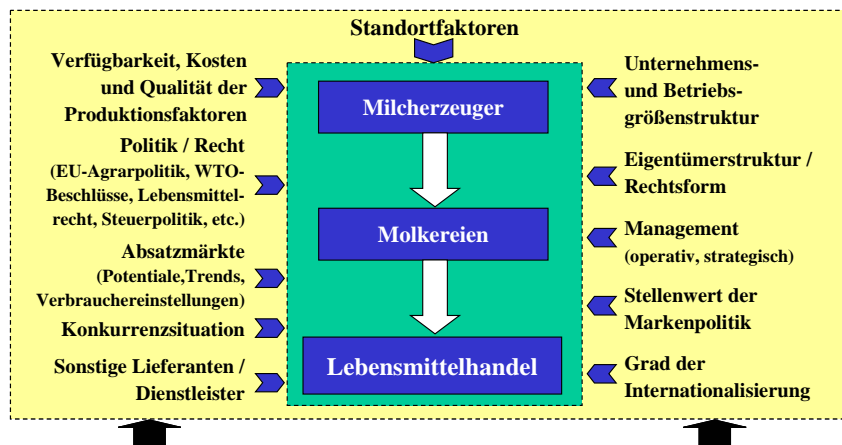
*The international competitiveness of the German dairy sector*

Weindlmaier, H.

In letzter Zeit wurde erneut die Diskussion um die internationale Wettbewerbsfähigkeit der deutschen Molkereiwirtschaft intensiviert. Hintergrund für diese Diskussion sind u. a. die die Milch- und Molkereiwirtschaft stark betreffenden Entscheidungen im Rahmen der MidTerm-Review der Gemeinsamen Agrarpolitik, die Verhandlungen im Rahmen von WTO II und die weiter fortschreitende Globalisierung und Internationalisierung des Wettbewerbs. Beeinflusst wird diese Diskussion aber auch durch aktuelle Konzentrationsplanungen und -vorgänge: Zu nennen ist zum einen die im Oktober 2004 zunächst angekündigte, dann aber gescheiterte Fusion der beiden größten deutschen Molkereiunternehmen *Nordmilch eG* und *Humana Milchunion eG*. Zum anderen hat die Ankündigung der beabsichtigten Verschmelzung der

bereits zu den größten europäischen Unternehmen gehörenden dänisch-schwedischen *Arla Foods* und der holländischen *Campina* erneut die Frage aufgeworfen, ob die Strukturen in der deutschen Molkereiwirtschaft noch geeignet sind, den Anforderungen im internationalen Wettbewerb gerecht zu werden. Der vorliegende Beitrag versucht, eine Antwort auf die Frage zu geben, wie die internationale Wettbewerbsfähigkeit der deutschen Molkereiwirtschaft vor dem Hintergrund dieser sich schnell verändernden Rahmenbedingungen eingeordnet werden kann.

Beachtet werden muss bei einer solchen Evaluierung der internationalen Wettbewerbsfähigkeit auch die Tatsache, dass sich der Wettbewerb zunehmend von einem Wettbewerb zwischen einzelnen Unternehmen auf einen solchen zwischen Wertschöpfungsketten verlagert. Nur wenn alle Akteure der Wertschöpfungskette von den Milcherzeugern über die Molkereiwirtschaft bis zum Lebensmittelhandel wettbewerbsfähig sind, ist die internationale Wettbewerbsfähigkeit gesichert. Abb. 2 zeigt die wichtigsten Einflussgrößen, die gegenwärtig die Wettbewerbsfähigkeit der Wertschöpfungskette Milch bestimmen.



Quelle: Eigene Darstellung

Abb. 2: Einflussfaktoren auf die Wettbewerbsfähigkeit der Wertschöpfungskette Milch

Dem Beitrag liegt der methodische Ansatz von PORTER zugrunde („Porters Diamant“), in dem sechs Quellen der internationalen Wettbewerbsfähigkeit unterschieden werden. Es handelt sich um die Situation auf den Märkten für Produktionsfaktoren, die Unternehmensstrategie und -struktur, die Nachfragebedingungen, die Wettbewerbsfähigkeit unterstützender Branchen und nicht zuletzt um den Einfluss des Staates bzw. der Politik und nicht beeinflussbarer Rahmenbedingungen (z.B. Öffnung der Länder Osteuropas).

#### **Faktorbedingungen: Hohe Qualität, aber hohe Kosten – zunehmendes Problem der Kapitalverfügbarkeit**

Im Hinblick auf den Produktionsfaktor Arbeit profitiert die deutsche Molkereiwirtschaft nach wie vor vom sehr guten Ausbildungssystem für Molkereifachleute. Eine Analyse zeigt, dass der Anteil höher qualifizierter Arbeitskräfte auf Kosten un- und angelernter Arbeitskräfte stark zugenommen hat. Die vor allem im Vergleich mit den neuen Wettbewerbern in Osteuropa sehr hohen Arbeitskosten (durchschnittliche Arbeitskosten in der Verarbeitungsindustrie



in Westdeutschland im Jahr 2003 27,09 €h, in Polen 3,26 €h) sind zwar zu beachten, sie spielen jedoch aufgrund des hohen Automatisierungsgrades der Verarbeitung keine herausragende Rolle. Positiv für die langfristige Wettbewerbsfähigkeit ist auch die hervorragende Infrastruktur und der hohe Stellenwert der Umweltschutzmaßnahmen in Deutschland zu beurteilen. Als Faktoren mit negativem Einfluss sind die im internationalen Vergleich relativ hohen Energiekosten sowie die zunehmenden Schwierigkeiten zu nennen, aufgrund der verschärften Bonitätsbeurteilung im Rahmen von Basel II größere Investitionen mit Fremdkapital zu finanzieren.

### **Strategien und Strukturen der Unternehmen: Licht und Schatten**

Deutschland hat sowohl bei den genossenschaftlichen als auch insbesondere bei den Privatmolkereien eine Reihe von Unternehmen, denen auch international eine hervorragende Wettbewerbsposition bescheinigt werden kann. Ein Problem, das insbesondere für den großen Block der deutschen genossenschaftlichen Unternehmen gesehen wird, ist die Tatsache, dass die **Entscheidungen teilweise sehr kurzfristig orientiert** sind und es am **Aufbau langfristiger Erfolgspotentiale** mangelt. Zu nennen sind in diesem Zusammenhang der geringe Umfang der Innovationstätigkeit in diesem Bereich, die Vernachlässigung des Aufbaus starker Marken und die weitgehende Absenz hinsichtlich Internationalisierungsstrategien, die über den Export hinausgehen. Als Ursache dafür sind auch rechtsformimmanente Gründe zu nennen, wie etwa der starke Einfluss der Milcherzeuger auf die laufenden Unternehmensentscheidungen und die damit zusammenhängende Überbetonung des kurzfristigen Ziels einer hohen Milchgeldauszahlung unter Vernachlässigung der Rücklagenbildung. Es erscheint dringend notwendig zu sein, das wechselseitige Verständnis zwischen Milcherzeugern und Verarbeitern hinsichtlich der strategischen Notwendigkeiten einer nachhaltigen Unternehmenspolitik zu verbessern und den Einfluss der Rohstofflieferanten auf die operative Unternehmenspolitik zu reduzieren.

Defizite für die internationale Wettbewerbsfähigkeit ergeben sich auch hinsichtlich der **bestehenden Molkereistruktur**. Neben einigen großen genossenschaftlichen Molkereiunternehmen und einer größeren Anzahl in den letzten Jahrzehnten stark gewachsenen Privatmolkereien hat Deutschland nach wie vor viele Unternehmen, die einerseits für eine Nischenproduktion zu groß sind, deren Größe aber andererseits nicht ausreicht, längerfristig international wettbewerbsfähig zu sein (insbesondere Größen zwischen etwa 20 Mio. – 300 Mio. kg Milchverarbeitung). Die potentiellen Vorteile großer Verarbeitungsunternehmen, wie etwa die Möglichkeiten der Realisierung von Stückkostendegression in den Bereichen Beschaffung, Verarbeitung und Vertrieb, die Vorteile im Innovationsbereich, im Marketing und in der Verhandlungsposition gegenüber dem Lebensmittelhandel und die Möglichkeit, den jeweiligen Schwerpunkt der Verwertung der Milch je nach Marktsituation zu variieren, sind nicht wegzudiskutieren. Insofern steckt hinter den weltweit zu beobachtenden Megafusionen in der Molkereiwirtschaft (z.B. Übernahme von *Express Dairies* durch *Arla Foods* und beabsichtigte Fusion *Arla Foods* - *Campina*, die Fusion mehrerer großer Genossenschaften zu *Dairy Farmers of America* und die Übernahme von *Suiza Foods* durch *Dean Foods* in den USA sowie die Bildung des marktbeherrschenden genossenschaftlichen Unternehmens *Fonterra* in Neuseeland etc.) durchaus eine betriebswirtschaftliche Logik. Weitere starke Konzentrationsvorgänge während der nächsten Jahre sind daher auch für die deutsche Molkereiwirtschaft zu erwarten und im Sinne der internationalen Wettbewerbsfähigkeit betriebswirtschaftlich auch notwendig. Die nachrangige Position der größten deutschen unter den Top-20 Unternehmen

weltweit macht dies deutlich (vgl. Tab. 1). Dennoch darf nicht erwartet werden, dass Fusionsvorgänge kurzfristig zu einer wesentlichen Verbesserung der Wettbewerbsfähigkeit und zu einer Erhöhung des Milchauszahlungspreises führen werden. Um Synergievorteile realisieren zu können, ist es zunächst erforderlich, die verschiedenen fusionierten Unternehmen zu einer schlagkräftigen, integrierten Einheit (Corporate Identity) zusammen zu führen. Es ist ferner zu beachten, dass neben der Unternehmensgröße der Größe und Effizienz der Betriebsstätten - vor allem für mögliche Kosteneinsparungen - eine große Bedeutung zukommt.

Tab.1: Umsatz der Top-20 Molkereiunternehmen weltweit im Jahr 2003

Rang	Unternehmen	Land	Genossenschaft (G) oder Privatunternehmen (P)	Umsatz Milch- und Milchprodukte in Mrd. € <sup>1)</sup>
1	Nestlé	Schweiz	P	15,3
2	Dean Foods	USA	P	6,3
3	Danone	Frankreich	P	6,2
4	Dairy Farmers of America	USA	G	6,1
5	Fonterra	Neuseeland	G	6,1
6	Arla Foods	Dänemark / Schweden	G	5,5
7	Lactalis	Frankreich	P	5,4
8	Unilever <sup>2)</sup>	Niederlande / UK	P	5,2
9	Kraft Foods	USA	P	5,0
10	Parmalat	Italien	P	4,5
11	Friesland Coberco Dairy Foods	Niederlande	G	4,4
12	Bongrain	Frankreich	P	4,0
13	Meiji Dairies	Japan	P	3,8
14	Campina	Niederlande	G	3,7
15	Morinaga MilkIndustry	Japan	P	3,5
16	Humana Milchunion	Deutschland	G	2,7
17	Land O'Lakes	USA	G	2,7
17	Nordmilch	Deutschland	G	2,2
18	Sodiaal	Frankreich	G	2,5
19	Saputo	Kanada	P	2,2
20	Schreiber Foods <sup>2)</sup>	USA	P	2,1

1) Umsatz 2003 inklusive Fusionen und Akquisitionen in 2004 2) vorläufige Zahlen

Quelle: Rabobank International 2004 und eigene Ergänzungen

### Hohes Nachfragepotential im Inland - starke Stellung bei deutschen Konsumenten. Wettbewerbsfähigkeit bei Drittlandexporten durch Abbau von Exporterstattungen gefährdet

Ein entscheidender Wettbewerbsvorteil der deutschen Molkereiwirtschaft ist das große und kaufkräftige Absatzpotential für Milchprodukte im eigenen Land in Verbindung mit dem guten Image, das deutsche Milchprodukte überwiegend besitzen. Im Sinne von PORTER ist auch von Vorteil, dass die deutsche Molkereiwirtschaft mit sehr anspruchsvollen Konsumenten konfrontiert ist. In Verbindung mit dem starken, international geprägten Wettbewerb sind daher die Molkereien seit langem gezwungen, ihre Produkte eng an den Verbraucherwünschen zu orientieren. Etwa 130 Produktinnovationen bei Milchprodukten pro Jahr stellen dies unter Beweis. Insbesondere im Bereich der Milchfrischprodukte hat die deutsche Molkereiwirtschaft einen eindeutigen Wettbewerbsvorteil. Etwas differenzierter stellt sich die Situation bei Käse dar: Neuere Marktforschungsuntersuchungen im Auftrag der CMA zeigen, dass beim Käsekauf für besondere Anlässe immerhin 64 % der Befragten Käse aus nichtdeutscher Provenienz bevorzugen.

Im Hinblick auf den Export von Milchprodukten ist zunächst die positive mengenmäßige Entwicklung sowohl der Exporte in EU-Staaten als auch in Drittländer während der letzten Jahre zu erwähnen. Diese Exporterfolge wurden jedoch überwiegend mit rückläufigen Exportpreisen erkaufte. Auch das für eine Beurteilung der internationalen Wettbewerbsfähigkeit wichtige Kriterium der Relation von Export- zu Importpreisen spricht nicht für eine hohe internationale Wettbewerbsfähigkeit der deutschen Käseexporte: Im Jahr 2003 stand einem durchschnittlichen Exportwert deutschen Käses von 2.858 €t ein durchschnittlicher Importwert von 3.970 €t gegenüber (Export: Importrelation 0,72). Im Handel mit dem wichtigsten Exportland für deutschen Käse, Italien, betrug diese Relation sogar nur 0,58.

Dieses Ergebnis verdeutlicht, dass es sich bei den Exporten deutscher Milchprodukte in erheblichem Anteil um Basisware handelt, die oftmals in Drittländer exportiert wird (Anteil der Drittlandexporte bei Käse 18,7 %). Da im Zusammenhang mit den erwarteten Entscheidungen durch WTO II jedoch von einem weiteren Rückgang, wenn nicht von einem Wegfall der Exporterstattungen ausgegangen werden muss, werden Exporte von wenig veredelten Basisprodukten in Drittländer zunehmend erschwert werden.

#### **Nachteile durch hohe Produktionskosten für Rohmilch und starke Dominanz der discounterorientierten Preispolitik des Lebensmittelhandels**

Ein wesentlicher Wettbewerbsnachteil der deutschen Molkereiwirtschaft sind die im Vergleich zu wichtigen Wettbewerbern am Weltmarkt **hohen Produktionskosten für Rohmilch** in Deutschland. Nach dem International Farm Comparison Network IFCN standen im Jahr 2003 Milcherzeugungskosten von etwa 35 Cent/kg in Deutschland solche von etwa 22 Cent/kg in Polen und von ca. 13 Cent/kg in Neuseeland gegenüber. Aufgrund dieser hohen Erzeugungskosten ist der Spielraum für weitere Preissenkungen am Rohmilchmarkt, die an sich aufgrund der Entscheidungen im Rahmen der MidTerm-Review vorprogrammiert sind, sehr gering. Als Konsequenz resultiert ein dringender Handlungsbedarf für Bestandsvergrößerungen in der Milchviehhaltung und die Ausschöpfung aller Rationalisierungspotentiale, um die Kosten der Milchproduktion zu senken. Es besteht die Gefahr, dass die erwarteten Preissenkungen, zumindest in Regionen mit schlechter Wettbewerbsfähigkeit der Milchproduktion, zu einer erheblichen Einschränkung der Milchproduktion führen werden. Die Notwendigkeit von Standortverlagerungen von Molkereien aufgrund eines Wegfalls der Rohmilchbasis und ein weiterer Druck auf eine Beschleunigung des Strukturwandels im Molkereisektor sind wahrscheinliche Konsequenzen.

Nachteilig für die Molkereiwirtschaft ist auch die **vorherrschende Absatzstrategie des deutschen Lebensmittelhandels**, die stark durch die Niedrigpreispolitik als primärem Instrument zur Profilierung im Wettbewerb geprägt ist. Die Realisierung gemeinsamer Konzepte zur Erhöhung der Wertschöpfung, etwa durch die Realisierung von Ansätzen des Efficient Consumer Response, haben unter diesen Umständen gegenwärtig eingeschränkte Realisierungschancen. Aufgrund der Milchüberschüsse von 15 – 20 % in der EU ist mittelfristig auch die Chance gering, am Markt wesentliche Preiserhöhungen durchzusetzen.

#### **Entscheidungen im Rahmen der MidTerm-Review und von WTO II bedeuten kurzfristig große Härten, langfristig bestehen jedoch positive Perspektiven**

Der Einfluss der Entscheidungen im Rahmen der Neuformulierung der EU-Agrarpolitik und der voraussichtlichen Ergebnisse von WTO II trifft sicherlich die wichtigen EU-Mitbewerber in ähnlichem Maße wie die deutsche Milch- und Molkereiwirtschaft. Aufgrund der ungünstigen strukturellen Voraussetzungen sowohl im Bereich der Milchproduktion als auch der Milchverarbeitung werden die kurzfristigen Auswirkungen auf die Wettbewerbsfähigkeit der Wertschöpfungskette Milch in Deutschland eher negativ beurteilt. Ein massiver struktureller Anpassungsprozess sowohl bei den Milcherzeugern als auch bei den Molkereien ist wahrscheinlich und notwendig. Nach Erreichung eines neuen internationalen Gleichgewichts besteht allerdings die Chance, dass sich ein Weltmarktpreisniveau für Milchprodukte über dem gegenwärtigen Niveau einspielt. Unternehmen, die diesen Anpassungsprozess erfolgreich bewältigen, haben dann aufgrund der weitestgehend weggefallenen Abhängigkeit von marktpolitischen Entscheidungen einerseits den Vorteil einer höheren Stabilität der wirtschaftlichen Rahmenbedingungen und einer besseren Integration in den Weltmarkt. Andererseits wird allerdings erwartet, dass sich zyklische Preisschwankungen auf den Märkten in Zukunft verstärken werden.

**Fazit:**

**Die deutsche Molkereiwirtschaft verfügt über eine gutes Potential, langfristig im Wettbewerb zu bestehen. Dennoch bestehen erhebliche Anpassungsnotwendigkeiten.**

**Die nachfolgend aufgeführten Maßnahmen zur Stärkung der internationalen Wettbewerbsfähigkeit werden für dringlich gehalten:**

- 1) Erhöhung des Stellenwerts der langfristigen, ökonomischen Nachhaltigkeit bei den Entscheidungen in den beteiligten Unternehmen der Wertschöpfungskette.
- 2) Verstärkung der Kooperation zwischen den Unternehmen der Wertschöpfungskette Milch: Nicht Profilierung auf Kosten der Partner in der Supply Chain, sondern gemeinsame Anstrengungen, um die Wettbewerbsfähigkeit der gesamten Kette zu verbessern.
- 3) Bestandsvergrößerung und Ausnutzung aller Kosteneinsparungsmöglichkeiten in der Milchproduktion – politische Unterstützung des Strukturwandels durch Freigabe des nationalen Quotenhandels.
- 4) Weiterer, beschleunigter Strukturwandel in der deutschen Molkereiwirtschaft: Fusionen möglichst solange die wirtschaftliche Substanz der Unternehmen noch gesund ist und nicht erst, wenn die Insolvenz eines der Partner droht.
- 5) Intensivierung der Bemühungen, durch Produktinnovationen und Markenbildung den Anteil der Produkte mit hoher Wertschöpfung zu verbessern und die Austauschbarkeit der Produkte zu reduzieren.
- 6) Verstärkung der Internationalisierung, wobei neben dem Export auch Direktinvestitionen in Ländern mit hohen Wachstumsraten in den Fokus gerückt werden sollten.

**Zur aktuellen Situation der Milcherfassung in Deutschland und Österreich im Jahr 2003***Milk collection in Germany and Austria in 2003 – results of an actual survey*

Weindlmaier, H.; Betz J.

Bedingt durch den sich ständig verstärkenden Wettbewerb sind die Molkereiunternehmen gezwungen, alle sich bietenden Möglichkeiten der Kosteneinsparung konsequent zu nutzen. Eine große Bedeutung kommt dabei den Kosten der Milcherfassung zu, die in Abhängigkeit von den gegebenen betrieblichen Rahmenbedingungen und der Organisationsform sowie der eingesetzten Technik und nicht zuletzt der Nutzung moderner Planungstechniken einer erheblichen Streubreite unterliegen. Um die aktuelle Situation im Jahr 2003 zu ermitteln, hat die Professur für Betriebswirtschaftslehre der Milch- und Ernährungsindustrie in Weihenstephan eine schriftliche Befragung der deutschen und österreichischen Molkereiwirtschaft durchgeführt. In der Untersuchung konnten die Angaben von 90 deutschen Molkereiunternehmen, die einen Anteil von 71,1 % der gesamten deutschen Milchanlieferung repräsentieren, einbezogen werden. In Österreich beteiligten sich 15 Molkereiunternehmen mit einem Mengenanteil von 79 % der gesamten österreichischen Milchanlieferung. Das gewonnene Datenmaterial kann damit als aussagefähige Stichprobe sowohl für Deutschland als auch für Österreich angesehen werden.

Gemäß dieser Untersuchung waren in Deutschland im Jahr 2003 rund 1.760 Tanksammelwagen (TSW) für die Milcherfassung im Einsatz. Gegenüber 1998 entspricht das einer Reduzierung um 17,4 %. Die Anzahl der bei der Milcherfassung eingesetzten Anhänger ist dagegen im gleichen Zeitraum weitgehend unverändert geblieben. Dadurch hat sich der relative Anteil der Anhänger von 0,63 Anhängern pro TSW im Jahr 1998 auf 0,75 Anhänger pro TSW im Jahr 2003 erhöht. Außerdem hat eine Verschiebung der Anhängertypen zugunsten der Dreiachsanhänger, die in Deutschland mittlerweile einen Anteil von 36 % erreicht haben, stattgefunden. In Österreich ist der Untersuchung zufolge 2003 von 303 TSW und 195 Anhängern, somit 0,64 Anhängern pro TSW, auszugehen. Damit ist die Anzahl der TSW in Österreich seit 1998 nur um 6,5 % und damit weniger stark zurückgegangen als in Deutschland, die Anzahl der Anhänger aber um 27 % angestiegen. Der Anteil der Dreiachsanhänger ist im gleichen Zeitraum von 21,5 % auf 39 % stärker angestiegen als in Deutschland.

Der bereits seit 1983 erkennbare Trend zum vermehrten Einsatz von Spediteuren mit betriebsfremden Fahrzeugen für die Milcherfassung hat sich fortgesetzt, wobei regionale Unterschiede bestehen. Mittlerweile werden in Deutschland bereits 77 % der TSW von Spediteuren und nur noch 23 % von den Molkereiunternehmen selbst betrieben. In der Region Niedersachsen/Bremen sind aber die molkereieigenen Fahrzeuge trotz eines Rückganges um 8 % im Zeitraum der letzten fünf Jahre mit einem Anteil von 57 % noch immer dominant. In Nordrhein-Westfalen ist im Gegensatz zu allen übrigen Regionen Deutschlands im gleichen Zeitraum ein relativer Zuwachs bei den molkereieigenen Fahrzeugen von 9 % auf 16,5 % zu beobachten. In Österreich ist ebenfalls der Anteil der Eigenfahrzeuge von 10,2 % im Jahr 1998 auf 14,6 % im Jahr 2003 angestiegen. Trotzdem bleibt die Dominanz der Fremderfassung auch in diesen Regionen eindeutig gewahrt.

Die durchschnittliche Kapazität der TSW ist in Tabelle 2 nach Ländergruppen regionalisiert dargestellt. Infolge der Zunahme des relativen Anteils der Dreiachs-TSW um rund 9 % im letzten Fünfjahreszeitraum ist die Durchschnittskapazität auf 12.559 l pro TSW im Jahr 2003

und damit um 3,6 % angestiegen. Die gleiche Tendenz gilt für die Anhänger, für die eine Durchschnittskapazität von 16.379 l ermittelt wurde, was einer Steigerung um durchschnittlich 2,5 % entspricht. Die regionalen Unterschiede sind vor allem im unterschiedlichen Anteil der Zwei- und Dreiachsfahrzeuge begründet.

Tab.2: Kapazitäten, Einsatzzeiten und Erfassungsleistungen der TSW

Ländergruppen	Durchschnittskapazität		Durchschnittliche Einsatzzeit pro TSW h/d	Durchschnittliche Erfassungsleistung pro TSW Mio. kg/a
	l/TSW	l/Anhänger		
B/NBL	12.614	15.865	18,9	21,9
SH/H	11.192	18.816	15,4	23,6
NS/B	14.242	17.212	20,2	27,6
NRW	11.790	17.039	17,5	22,3
RPF/S/HE	13.070	18.034	15,7	17,7
BW	12.256	16.821	15,9	15,0
BY	11.867	15.125	10,7	12,4
D	12.559	16.379	15,2	18,3
AT	12.410	15.764	13,4	10,4

Quelle: Eigene Erhebungen 2004

Die durchschnittliche Erfassungs- und Transportleistung je TSW betrug in Deutschland im Jahr 2003 18,3 Mio. kg. In den letzten 5 Jahren ist die Erfassungsleistung pro TSW um durchschnittlich 4,2 Mio. kg/a oder 30 % angestiegen. Regional bestehen aber, wie Tabelle 2 zeigt, nach wie vor beachtliche Unterschiede, die sich sogar vergrößert haben. So reicht die Spannweite in Deutschland derzeit von 12,4 Mio. kg/a in Bayern bis 27,6 Mio. kg in der Region Niedersachsen/Bremen. In Österreich werden pro TSW nur 10,4 Mio. kg/a erfasst.

Die deutliche Steigerung der Erfassungsleistung je Fahrzeug ist durch die strukturellen Veränderungen im Milchübernahmebereich, dem größeren Anteil der zweitäglichen Erfassung und dem vermehrten Anhängereinsatz sowie vor allem durch eine verlängerte tägliche Einsatzzeit der Fahrzeuge ermöglicht worden. Diese hat sich in den letzten fünf Jahren in Deutschland im Durchschnitt von 12,7 h auf 15,2 h erhöht. In der Region Niedersachsen/Bremen sind die Einsatzzeiten mit durchschnittlich 20,2 h/d und demzufolge auch die Erfassungsleistungen mit 27,6 Mio. kg/a am größten. In den neuen Bundesländern ist die durchschnittliche Einsatzzeit im letzten Fünfjahreszeitraum von 18,0 h auf 18,9 h und damit auch die Erfassungsleistung auf 21,9 Mio. kg/a angestiegen. So praktizieren in den neuen Bundesländern bereits 58 % der Unternehmen eine Milcherfassung rund um die Uhr. Auch in den übrigen Regionen und neuerdings auch in Bayern gibt es Unternehmen mit Rund-um-die-Uhr-Erfassung. Eine Reihe von Unternehmen sparen nur die Melkzeiten von der Erfassung aus. Wertet man diese Form ebenfalls als Rund-um-die-Uhr-Erfassung, kommt die Region Rheinland-Pfalz/Saarland/Hessen auf 100 %, Niedersachsen/Bremen auf 50 % und Nordrhein-Westfalen auf 44 % Rund-um-die-Uhr-Erfassung. In Bayern sind es dagegen nur 10 % der Molkereien, die den möglichen Erfassungszeitraum vollständig ausnützen. In Schleswig-Holstein ist die Milcherfassung am effektivsten. Hier werden bei einer Einsatzzeit von durchschnittlich 15,4 h/d über 23 Mio. kg Milch pro TSW und Jahr erfasst.

Maßgeblichen Einfluss auf die Erfassungsleistung haben neben den täglichen Einsatzzeiten auch die Haltestellenstruktur und das praktizierte Erfassungsintervall. Je größer die Einzelmilchmenge je Lieferant bzw. die Milchmenge pro Haltestelle ist, desto geringer wird der relative Zeitverbrauch pro Mengeneinheit. Tabelle 3 zeigt einen Überblick über die gegenwärtige durchschnittliche Milchmenge je Haltestelle unter Berücksichtigung des praktizierten Erfassungsintervalls sowie die durchschnittliche Lieferantenzahl je Haltestelle und das Verhältnis der Hof- und Straßenhaltestellen.

Tab.3: Aktuelle Haltestellenstruktur

Ländergruppen	Øliche Milchmenge pro Haltestelle kg/Abholung	Øliche Lieferantenzahl pro Haltestelle	Verhältnis der Hofhaltestellen zu Straßenhaltestellen	Øliche Lieferantenzahl pro Straßenhaltestelle <sup>1</sup>
BY	555	1,15	63,5 : 36,5	1,41
BW	873	1,07	79,2 : 20,8	1,32
NRW	1.331	1,00	92,7 : 7,3	1,00
RPF/S/HE	1.378	1,00	85,7 : 14,3	1,00
NS/B	1.686	1,00	99,2 : 0,8	1,00
SH/H	1.974	1,00	100 : 0	
B/NBL	3.247	0,99	95,7 : 4,3	
Deutschland	1.187	1,13	80,2 : 19,8	1,35
Österreich	377	1,55	48,2 : 51,8	2,05

1) unter der Annahme, dass je Hofhaltestelle jeweils nur ein Lieferant abgeholt wird.

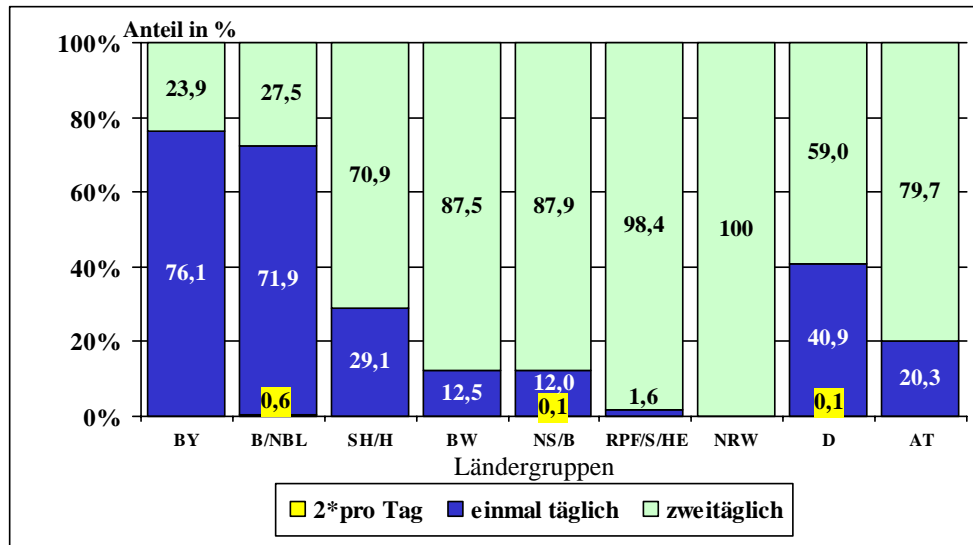
Quelle: Eigene Erhebungen 2004

Bayern hat innerhalb Deutschlands mit 555 kg Milch pro Haltestelle und Abholung mit Abstand die ungünstigste Haltestellenstruktur. Im Zeitraum der letzten fünf Jahre ist diese Menge auch nur um 34 % und damit unterdurchschnittlich angestiegen. Verursacht wird diese Situation vor allem durch die in Bayern noch fast ausschließlich praktizierte tägliche Milcherfassung. Allerdings liegen mittlerweile annähernd 2/3 der Milchübernahmestellen direkt auf den Höfen. An zweiter Stelle steht Baden-Württemberg mit durchschnittlich 873 kg Milch je Haltestelle und Abholung. Hier beträgt aufgrund der überwiegend zweitäglichen Erfassung der Anteil der Straßenhaltestellen nur noch 20,8 %. In allen anderen Regionen Deutschlands wird generell Einzelhofabholung betrieben. In der Region Berlin/neue Bundesländer beträgt trotz der überwiegend praktizierten täglichen Erfassung die durchschnittliche Haltestellenmilchmenge 3.247 kg pro Abholung. Die durchschnittliche Lieferantenzahl pro Haltestelle liegt hier bei 0,99, d.h. hier haben eine Reihe von Großbetrieben mehrere Stallungen und damit mehrere Haltestellen für die Milchabholung.

In Österreich ist die Situation aufgrund der noch erheblich ungünstigeren Erzeugerstruktur mit rund 135 kg Milch pro Erzeuger und Tag trotz überwiegend zweitäglicher Erfassung erheblich ungünstiger. Pro Haltestelle werden durchschnittlich 377 kg Milch abgeholt. Der Anteil der Straßenhaltestellen liegt bei rund 52 %, d.h. dass trotz der relativ kleinen Einzelmilchmengen 48 % der Haltestellen Hofanfahrten sind.

In Deutschland dominiert mittlerweile die zweitägliche Erfassung. Gegenüber 1998 ist ihr Mengenanteil von 47,4 % auf 59 % im Jahr 2003 angestiegen. In Abbildung 3 werden die

beachtlichen regionalen Unterschiede in der Bedeutung der verschiedenen Erfassungsintervalle herausgestellt. So dominiert in Bayern und in den neuen Bundesländern mit 76 % bzw. 72 % die tägliche Erfassung, während in allen übrigen Regionen mit bis zu 100 % die zweitägliche Erfassung überwiegt. In Österreich werden mittlerweile ebenfalls bereits knapp 80 % der Milch zweitäglich erfasst. In Deutschland praktizieren 27 % der Molkereien nur tägliche und 23 % der Molkereien nur zweitägliche Erfassung. Eine Kombination von täglicher und zweitäglicher Erfassung liegt in 46 % der deutschen Molkereien vor. In Bayern gibt es keine Molkerei, die generell zweitäglich erfasst. Die zweitägliche Erfassung erstreckt sich hier jeweils nur auf einzelne Betriebe. In Nordrhein-Westfalen und Rheinland-Pfalz/Saarland/Hessen konnte keine Molkerei ermittelt werden, die nur tägliche Erfassung praktiziert. In den neuen Bundesländern und in Niedersachsen/Bremen gibt es Molkereien, die zweimal täglich, täglich und zweitäglich Milch erfassen.



Quelle: Eigene Erhebungen 2004

Abb. 3: Anteil der verschiedenen Erfassungsintervalle im Jahr 2003

Betrachtet man die Entwicklung des relativen Fahrstreckenaufwandes für die Milcherfassung im Zeitablauf, so ist seit 1978 in Deutschland ein geringfügiger aber konstanter Anstieg um insgesamt rund 35 % auf durchschnittlich 7,71 km/t Milch im Jahr 2003 zu verzeichnen. Im letzten Fünfjahreszeitraum von 1998 bis 2003 betrug die Steigerung 8,7 %. Zwischen den einzelnen Regionen bestehen aber erhebliche Unterschiede. So beträgt der aktuelle durchschnittliche Fahrstreckenaufwand in Niedersachsen/Bremen 6,05 km pro t Milch, in Bayern 6,73 km/t, in den neuen Bundesländern dagegen 11,16 km pro t Milch. In Österreich fallen 11,05 km Fahrstrecke pro t Milch für die Milcherfassung an. Hier ist im letzten Fünfjahreszeitraum eine Steigerung um 44 % eingetreten.

Der relative Zeitverbrauch für die Milcherfassung ist im Gegensatz zum Fahrstreckenaufwand ständig rückläufig. Während von 1993 bis 1998 der durchschnittliche Zeitverbrauch pro t Milch in Deutschland um durchschnittlich 8,8 % zurückgegangen ist, kann im letzten Fünfjahreszeitraum bis 2003 ein erneuter Rückgang um 7,9 % auf 18,2 min/t Milch verzeichnet



werden. Dies ist auf die verbesserten Milchübernahmebedingungen infolge größerer Einzelmengen und die verbesserte Einsatzorganisation und Auslastung der Erfassungsfahrzeuge zurückzuführen. In Österreich ist der Zeitverbrauch seit 1998 um 8,3 % zurückgegangen und liegt im Jahr 2003 bei 28,0 min/t Milch.

Trotz intensiver Rationalisierungsbemühungen und besserer Auslastung der Fuhrparkkapazitäten ist es der deutschen Molkereiwirtschaft im letzten Fünfjahreszeitraum nicht gelungen, einen Kostenanstieg im Bereich der Milcherfassung zu verhindern. So sind die Erfassungskosten in Deutschland im Zeitraum von 1998 bis 2003 um 5,6 % auf 1,13 ct/kg Anlieferungsmilch angestiegen. Tabelle 4 zeigt die Entwicklung der Erfassungskosten in den einzelnen Regionen. Daraus wird deutlich, dass nicht nur die Erfassungskosten regional unterschiedlich hoch sind, sondern dass auch die Entwicklung gerade in den letzten fünf Jahren unterschiedlich verlaufen ist. Nur in Nordrhein-Westfalen konnte eine geringe Kostensenkung erzielt werden. In allen anderen Regionen sind trotz Steigerung der Erfassungsleistungen zum Teil beachtliche Kostensteigerungen, so in den neuen Bundesländern um 27 %, in Baden-Württemberg um 16 % und in Schleswig-Holstein/Hamburg um 12 %, zu verzeichnen. In Bayern ist die Kostensteigerung mit 4,1 % relativ gering. Das absolute Kostenniveau ist aber mit 1,28 ct/kg in Bayern nach Baden-Württemberg am zweithöchsten, worin die geringe Fahrzeugauslastung im Vergleich zu den übrigen Regionen zum Ausdruck kommt. Am günstigsten ist die Milcherfassung in Schleswig-Holstein/Hamburg mit 0,85 ct/kg, gefolgt von Niedersachsen/Bremen mit 0,96 ct/kg. Baden-Württemberg hat mit durchschnittlich 1,50 ct/kg die höchsten Erfassungskosten innerhalb Deutschlands. In Österreich betragen die Erfassungskosten aufgrund der ungünstigeren Erzeuger- und Haltestellenstruktur 1,85 ct/kg Milch und liegen damit um 64 % über dem Durchschnitt von Deutschland. Gegenüber 1998 konnte in Österreich eine Kostensenkung um 7 % erzielt werden, so dass sich der Abstand zwischen Deutschland und Österreich erheblich reduziert hat.

Tab. 4: Länderspezifische Erfassungskosten im Zeitraum 1973 bis 2003

Ländergruppen	Erfassungskosten ct/kg							Veränderung 2003:1998 %
	1973	1978	1983	1988	1993	1998	2003	
B/NBL					0,93	0,84	1,07	+27,4
SH/H	0,83	0,86	0,95	0,93	0,85	0,76	0,85	+11,8
NS/B	0,82	0,82	0,86	0,89	0,99	0,91	0,96	+5,5
NRW	0,93	1,08	1,10	1,05	1,25	1,17	1,09	-6,8
RPF/S*	0,93	1,02	1,29	1,28	1,58	1,19	1,23	+3,4
HE	0,95	1,25	1,28	1,44	1,35	1,20	-	
BW	1,32	1,13	1,17	1,26	1,50	1,29	1,50	+16,3
BY	1,07	1,05	1,08	1,12	1,21	1,23	1,28	+4,1
D	1,00	1,01	1,06	1,08	1,18	1,07	1,13	+5,6
AT						1,99	1,85	-7,0

\*) 2003 einschließlich Hessen

Quelle: Eigene Erhebungen 1974 – 2004

**Kommunikation zwischen Molkereien und Milcherzeugern: Zwischenergebnisse eines Forschungsprojektes zur integrierten Kommunikation in Molkereiunternehmen**

*Communication between dairies and milk suppliers: Intermediate results of a research project of integrated communication in dairy companies*

Wienert, M.

Ein bedeutender Faktor, um am Markt erfolgreich zu agieren, stellt eine offene und gegenseitige Kommunikation aller Partner in der Wertschöpfungskette Milch dar. Es ist heute unumstritten, dass innerhalb eines Unternehmens Kundenorientierung im Mittelpunkt stehen muss. Allerdings spielen für ein Milch verarbeitendes Unternehmen insbesondere die Milcherzeuger als wichtigster Rohstofflieferant und der damit verbundenen gegenseitigen Abhängigkeit eine große Rolle. Obwohl für die Zusammenarbeit zwischen Molkerei und Milcherzeugern der gezahlte Milchpreis die entscheidende Größe darstellt, sollte insgesamt ein Verhältnis von gegenseitigem Vertrauen und Verständnis bestehen. Einerseits muss von Seiten der Molkerei den Erzeugern ausreichend molkereispezifische Information wie Veränderungen im Milchpreis oder veränderter Milchabholung zur Verfügung gestellt werden. Andererseits müssen Instrumente gefunden werden, welche Milcherzeuger an das Milch verarbeitende Unternehmen binden, damit bei kurzfristiger Milchpreissenkung kein Abwandern der Milchlieferanten stattfindet.

In einem integrierten Ansatz wird im Rahmen eines Forschungsprojektes, welches an der Professur der Milch- und Ernährungsindustrie durchgeführt wird, die Kommunikation in der Wertschöpfungskette Milch untersucht. Es wird eruiert, welche Kommunikationskanäle, -instrumente und -mittel ein Milch verarbeitendes Unternehmen nutzt, um mit den verschiedenen Anspruchsgruppen zu kommunizieren. Neben den Milcherzeugern werden vor allem die Zielgruppen Mitarbeiter, Handel, Groß- und Endverbraucher betrachtet. Der gewählte integrative Ansatz beruht auf einem Modell von BRUHN, der integrierte Kommunikation als einen Prozess der Analyse, Planung, Organisation, Durchführung und Kontrolle definiert, „[...] der darauf ausgerichtet ist, aus den differenzierten Quellen der internen und externen Kommunikation von Unternehmen eine Einheit herzustellen, um ein für die Zielgruppen der Kommunikation konsistentes Erscheinungsbild über das Unternehmen bzw. ein Bezugsobjekt des Unternehmens zu vermitteln“<sup>7</sup>. Dabei spielen sowohl organisatorische, personelle als auch inhaltliche Aspekte der Kommunikation eine gewichtige Rolle. Die theoretischen Grundlagen sowie die generelle Vorgehensweise des Projektes wurden im Jahresbericht 2003 vorgestellt.

**Das Untersuchungsdesign**

Innerhalb der qualitativen Studie wird vor dem Hintergrund der Aktionsforschung mit mehreren Pilotmolkereien zusammengearbeitet. In diesen Unternehmen ist durch Experteninterviews mit der Geschäftsleitung, mit Marketingverantwortlichen, Kommunikationsverantwortlichen sowie Entscheidungsträgern für Beschaffung, Vertrieb und Personalangelegenheiten die spezielle Kommunikationssituation in den jeweiligen Molkereien erhoben worden. Auf Grundlage dieser qualitativen Analyse werden Zielgruppenbefragungen durchgeführt, die die Sichtweise der jeweiligen Anspruchsgruppe auf das Kommunikationsverhalten der Molkerei

<sup>7</sup> BRUHN, M. (2003): Integrierte Unternehmens- und Markenkommunikation. 3., überarbeitete und erweiterte Auflage, Stuttgart: Schäffer-Poeschel Verlag, S. 11.

wiedergeben. Die dadurch entstehende Kommunikationslücke zwischen dem Sender und den Empfängern der Kommunikation lassen sich praxisnahe Handlungsempfehlungen für die Pilotunternehmen ableiten. In einem weiteren Schritt werden diese durch den induktiven Ansatz für die Gesamtheit aller Milch verarbeitenden Unternehmen verallgemeinert.

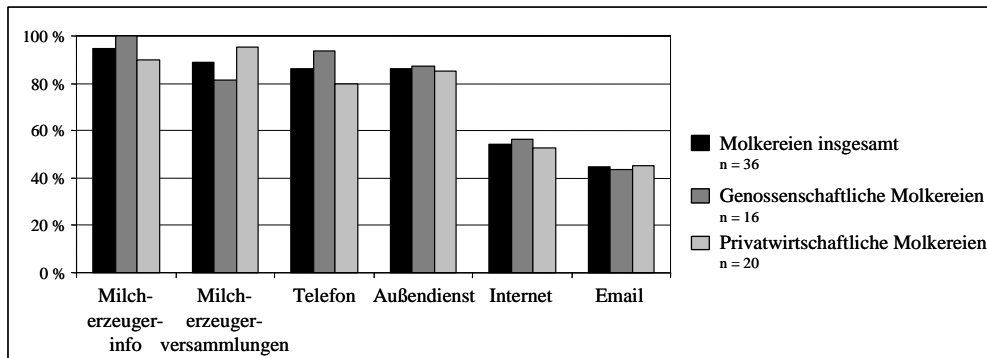
Um der besonderen Anspruchsgruppe einer Molkerei – den Milcherzeugern – Rechnung zu tragen, wurde zusätzlich zu genannter Vorgehensweise eine Vollerhebung zur Kommunikationssituation zwischen den deutschen Molkereien mit einem Umsatzvolumen über 100 Mio. € Umsatz, ausgenommen den am Projekt beteiligten Pilotunternehmen, und ihren Milcherzeugern durchgeführt. Diese schriftliche Befragung fand im Zeitraum von Mai bis August 2003 statt. Der auswertbare Rücklauf betrug 55,4 %, wobei 65 Milch verarbeitende Unternehmen das Raster der Untersuchungsgröße passierten. Die Teilnehmer der Befragung sind zu 44,4 % genossenschaftlich organisiert, 55,6 % sind private Unternehmen mit den Rechtsformen GmbH, GmbH & Co. KG und AG.

### **Untersuchungsergebnisse der Milcherzeugerkommunikation**

Das Hauptaugenmerk der Befragung lag in der Untersuchung der Beziehung zwischen Molkereien und ihren Milcherzeugern. Aber auch für die Kommunikation wichtige Voraussetzungen wie die Organisationsstruktur einer Molkerei oder personelle Aspekte der Milcherzeugerbetreuung fanden Beachtung. Aufgrund der durchgeführten Befragung und der Interviews in den Pilotunternehmen stellt sich heraus, dass die Mehrheit der Molkereien hierarchisch gegliedert ist. Hauptsächlich ist in den Pilotunternehmen eine funktionale Organisation mit den klassischen Bereichen Einkauf, Produktion und Vertrieb implementiert. Milcherzeugerkommunikation wird sowohl in der Mehrzahl der Pilotunternehmen als auch in der erhobenen Stichprobe oftmals als eine Aufgabe des Bereiches Rohstoffeinkauf / Rohmilchverwaltung gesehen. Unterstützung finden diese Aktivitäten in vielen Fällen durch die Geschäftsleitung, wobei nur geringfügige Unterschiede zwischen genossenschaftlich und privatwirtschaftlich organisierten Molkereien sichtbar werden.

Die Ergebnisse zu den Kommunikationskanälen sind in Abb. 4 dargestellt. Die Milcherzeugerversammlung stellt den am meisten genutzten Kommunikationskanal für den Austausch zwischen den Molkereien und den Milcherzeugern dar. Sie wird von 90 % der Molkereien durchgeführt und dient der Weitergabe von unternehmensinternen strategischen Informationen wie getätigte oder geplante Investitionen in der Molkerei und der Diskussion bestehender Probleme, bspw. der Milchpreishöhe oder der Beziehung zwischen Molkerei und Handel. Das Telefon, gefolgt vom Außendienst, sind die am häufigsten verwendeten Kommunikationskanäle zum gegenseitigen Informationsaustausch. Diese Kanäle werden vor allem zum Aufbau und Erhalt der persönlichen Beziehung zu den Erzeugern von 30 % (Telefon) bzw. 44 % (Außendienst) der Molkereien als zwei der fünf wichtigsten Maßnahmen erachtet.

Neben den genannten Kanälen stellen Milcherzeugerinfos bzw. Rundschreiben das am meisten genutzte Medium (95 % der Molkereien) zur Informationsweitergabe an die Milcherzeuger dar. Darin werden grundsätzlich aktuelle Infos zur Entwicklung des Milchpreises, den Qualitätsdaten der Milch und der Quotenauslastung dargestellt. Bestätigt wird die Bedeutung dieses Informationsmediums durch die Molkereien, die mit über 60 % Milcherzeugerinfos bzw. Rundschreiben für die wichtigste Kommunikationsmaßnahme halten.



Quelle: Eigene Darstellung

Abb. 4: Genutzte Kommunikationskanäle der Molkereien – Ergebnisse der Molkereibefragung

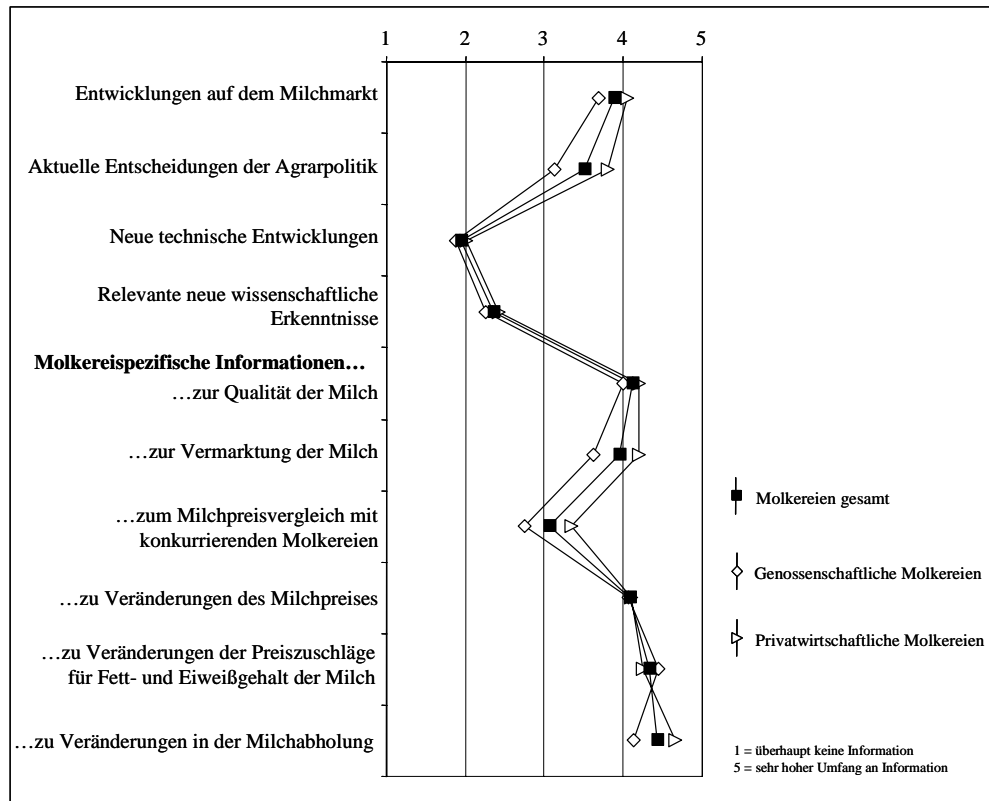
Neben den genannten Kommunikationsmaßnahmen bestehen eine Mehrzahl weiterer Aktivitäten und Maßnahmen, die den Milcherzeugern von den Milch verarbeitenden Unternehmen geboten werden. Aufgrund der Erhebungen bei der Zielgruppe der Milcherzeuger in den Pilotunternehmen werden Aktivitäten wie Milcherzeugerversammlungen und Vertreterversammlungen, die Mitgestaltung von Hoftagen durch die Molkerei, die Prämierung der besten Milcherzeuger und Betriebsführungen in der Molkerei als besonders wichtig eingeschätzt. Die Molkereien haben diese Maßnahmen zum großen Teil bereits realisiert. So sehen bspw. 52 % der Molkereien die Milcherzeugerversammlungen (Umsetzungsgrad: 89 %) als eine der wichtigsten Aktivitäten an, um mit den Rohstofflieferanten zu kommunizieren. 15 % halten die Betriebsführungen (Umsetzungsgrad 67 %) für eines der wichtigsten fünf Instrumente. Die genannten Angebote werden zudem auch in hohem Maße von den Molkereien umgesetzt. So werden von knapp 60 % der Milch verarbeitenden Unternehmen Hoftage mitgestaltet, von der Hälfte der Molkereien Milcherzeuger prämiert und Vertreterversammlungen<sup>8</sup> durchgeführt. Dabei können Vertreter als Multiplikatoren der Molkerei ihr Wissen an die Gesamtheit der Milcherzeuger weitergeben.

Ein weiterer Teil der Analyse beschäftigte sich mit Inhalten und dem Umfang der von der Molkerei an die Milcherzeuger gegebenen Informationen (vgl. Abb. 5). Positiv hervorzuheben ist der hohe Informationsgehalt, wenn es sich um aktuelle Entwicklungen in der Branche, Entscheidungen der Agrarpolitik oder molkereinterne Informationen handelt.

Über neue technische Entwicklungen, bspw. hinsichtlich melktechnischer Anlagen oder wissenschaftlicher Erkenntnisse auf dem Gebiet der Milchwirtschaft, werden die Milcherzeuger weniger informiert. Auch Informationen über konkurrierende Molkereien, gerade die entscheidende Größe Milchpreis betreffend, werden nur im geringeren Umfang weitergegeben. Vergleicht man die Ergebnisse mit den Befragungen, die bisher bei Erzeugern in den Pilotunternehmen stattgefunden haben, ergibt sich ein ähnliches Ergebnis zum Informationsumfang der genannten Themen. Auffällig wird des Weiteren, dass Genossenschaften und privat geführte Molkereien ein nahezu identisches Informationsmuster zeigen. Diese Tatsache besteht auch

<sup>8</sup> Bei genossenschaftlichen Molkereien ist die Vertreterversammlung häufig noch im Statut verankert. Aber immerhin 35 % der privatwirtschaftlichen Molkereien halten Treffen mit Milcherzeugervertretern ab.

im Hinblick auf den Umfang der verwendeten Kommunikationsmaßnahmen sowie der Serviceangebote der Molkereien. Theoretisch sollte auf Grund der engeren Verwebung zwischen Molkerei und ihren Genossen – den Milcherzeugern – in einer Genossenschaft ein ausgeprägteres Kommunikations- und Informationsverhalten verzeichnet werden. Diese These konnte nicht bestätigt werden.



Quelle: Eigene Darstellung

Abb. 5: Themen, über die Molkereien ihre Milcherzeuger informieren – Ergebnisse der Molkereibefragung

### Empfehlungen für die Verbesserung der Kommunikation zwischen Molkereien und den Milcherzeugern

Für die Milcherzeuger stellt die persönliche Kommunikation mit der Molkerei eine wichtige Determinante dar. Es müssen Plattformen von der Molkerei angeboten werden, die einen offenen Informationsaustausch ermöglichen und die Kommunikation begünstigen. Gegenseitiger Kontakt über Telefon, den Außendienst und in Milcherzeugerversammlungen sind Maßnahmen, die diesem Anspruch genügen. Es ist aber ebenso wichtig, die Erzeuger an das Milch verarbeitende Unternehmen zu binden. Möglichkeiten bietet hier u.a. die finanzielle Unterstützung der Milcherzeuger bei notwendigen Investitionen. Als Beispiel sei die Vergabe von zinsgünstigen Darlehen genannt, wenn eine Milchtankvergrößerung nötig wird. Die Bindung unterstützen auch Angebote wie Betriebsführungen in der Molkerei oder Hofschilder bei den

Erzeugern. Während ersteres die Verarbeitung des gelieferten Rohstoffes den Milchlieferanten sichtbar macht und dadurch das Verständnis der Milcherzeuger für die Prozesse im Unternehmen schärft, dient letzteres dazu, dass die Erzeuger ihre Zugehörigkeit zur jeweiligen Molkerei der Öffentlichkeit kundtun können.

Nicht zuletzt sind die Milcherzeuger gewillt, aktiv am Unternehmen zu partizipieren. Hier kann die Molkerei die Zusammenarbeit mit Vertretern, Beiräten oder Milcherzeugerausschüssen nutzen, um diese als Multiplikatoren und Meinungsführer für Belange der Molkerei zu gewinnen.

## II. Forschungsprojekte zur Fleischwirtschaft

### **Politikfolgeschätzung der Umgestaltung der Wertschöpfungskette Fleisch unter den Prämissen Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit**

*Policy Assessment of long-term measures that shall show options for the meat value-added chain focusing on product safety, quality assurance and environmental friendliness*

Huber, A.

Das 2003 begonnene und von der Professur für Betriebswirtschaftslehre der Milch- und Ernährungsindustrie (Prof. Dr. Hannes Weindlmaier) koordinierte Verbundforschungsprojekt zur Wertschöpfungskette Fleisch, das Auskunft darüber geben soll, ob und in welcher Weise den Kriterien Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit in der Fleischerzeugung und –verarbeitung künftig ein höherer Stellenwert eingeräumt werden sollte, wurde 2004 erfolgreich fortgesetzt. Das Verbundforschungsprojekt, das voraussichtlich im September 2005 abgeschlossen werden wird, wird von drei Forschergruppen gemeinsam bearbeitet und ist in vier Teilprojekte gegliedert:

- Systemanalyse der Wertschöpfungskette Fleisch,
- Verbrauchsanalyse und –prognose von Fleisch und Fleischwaren,
- Schlachtung und Fleischverarbeitung
- Fleischerzeugung.

Das Teilprojekt **Systemanalyse der Wertschöpfungskette Fleisch** wird von der Professur Weindlmaier bearbeitet. Ziel dieses Teilprojektes ist die Darstellung und Analyse der Produktions- und Absatzkette von Fleisch sowie die Folgenabschätzung von potentiellen Veränderungen. Die sowohl prozess- als auch marktorientierte Beschreibung der gesamten Wertschöpfungskette wurde schon im Jahresbericht 2003 kurz dargestellt. Die politische Bewertung der Ergebnisse der Teilprojekte und die Ableitung von Handlungsempfehlungen für die Politik wird erst 2005 durchgeführt werden.

Das Teilprojekt **Verbrauchsanalyse und –prognose von Fleisch und Fleischwaren** wird vom Lehrstuhl für Wirtschaftslehre des Haushalts - Konsumforschung und Verbraucherpolitik (Prof. Dr. Georg Karg) durchgeführt. Hauptziel ist die Ermittlung des Einflusses von Produktsicherheit sowie tiergerechter und umweltfreundlicher Erzeugung von Schlachtvieh und Fleisch auf den Kaufentscheidungsprozess und die Zahlungsbereitschaft von Groß- und Endverbrauchern beim Kauf von Fleisch und Fleischwaren. Durch eine primärstatistische Erhebung wurden bei den Endverbrauchern bereits wichtige Erkenntnisse gewonnen. Als Erhe-

bungsmethode wurde die Computer gestützte Telefonbefragung gewählt. Von den vom Zentrum für Umfragen, Methoden und Analysen in Bonn zur Verfügung gestellten, 4000 zufallsgenerierten, bayerischen Telefonnummern verblieben etwas über 2000 in der bereinigten Stichprobe. Mit 527 Personen konnten vollständige Interviews durchgeführt werden. Unterschiede bezüglich des Kaufentscheidungsprozesses, des Einkaufsverhaltens, der Qualitätserwartungen und der Zahlungsbereitschaft wurden für unterschiedliche Subgruppen von Endverbrauchern aufgedeckt und analysiert. Um geeignete Kommunikationsstrategien für Aufklärungs- und Beratungsprogramme zu finden, wurden die befragten Verbraucher nach der wahrgenommener Eigenverantwortung, der Effektivität des eigenen Handelns, dem Vertrauen in Siegel und Label, dem wahrgenommenen Grad des Eigennutzens und der wahrgenommenen Verfügbarkeit von Fleisch aus tier- und umweltgerechter Haltung sowie von Informationen darüber, klassifiziert. Die Diskrepanz zwischen den Einstellungen und dem tatsächlichen Verhalten der Verbraucher soll durch diese Aspekte, die als intervenierende Variablen in die Einstellungs-Verhaltens-Hypothese eingreifen, überbrückt werden.

In einer zweiten primärstatistischen Erhebung wird das für die Endverbraucher entwickelte Modell des Qualitäts-Wahrnehmungs-Prozesses auf Großverbraucher übertragen. Es wird erwartet, dass sich die Qualitätsanforderungen der Großverbraucher stark von denen der Endverbraucher unterscheiden, da kognitive Prozesse stärker ins Gewicht fallen und wesentlich detaillierteres Wissen über die Produktion von Fleisch und Fleischwaren vorausgesetzt werden kann. Es ist geplant 2005 mindestens 50 für den Einkauf zuständige Personen aus wirtschaftlichen Großbetrieben zu befragen.

Das Teilprojekt **Schlachtung und Fleischverarbeitung** wird ebenfalls von der Professur für Betriebswirtschaftslehre der Milch- und Ernährungsindustrie bearbeitet. Ziel des Teilprojektes ist es, Vorschläge für eine optimale Gestaltung der Prozesse Tiererfassung, Schlachtung, Zerlegung und Fleischverarbeitung zu unterbreiten und Ansatzpunkte zur Verbesserung des Risiko- und Umweltmanagements zu finden. Mit Hilfe von leitfadengestützten Experteninterviews in 14 Unternehmen der bayerischen Fleischindustrie, die ca. 2/3 der Rinder- und mehr als die Hälfte der Schweineschlachtungen tätigen, wurde das Vorgehen bei der Risikodefinition, -identifikation und Risikobewertung, bei der Steuerung der Risiken und der Maßnahmenkontrolle sowie bei der Zusammenarbeit mit Presse, Kunden und Verbrauchern im Rahmen der Risikokultur ermittelt. Um Anhaltspunkte für die Mindestanforderungen an ein Risikomanagementsystem zu erhalten, wurden die im Produktionsbereich vorhandenen Gefahren von Experten aus den Bereichen Tiermedizin, Lebensmittelhygiene und Qualitätssicherung nach den Gesichtspunkten Beeinträchtigung der Qualität, Produktsicherheit und Umweltfreundlichkeit sowie der Eintritts- bzw. Entdeckungswahrscheinlichkeit klassifiziert. Die durch Aggregation der einzelnen Bewertungen ermittelten, tendenziell stärksten Gefahrenpotentiale werden vor der abschließenden Bewertung noch den entsprechenden Einschätzungen der Experten in den Unternehmen gegenübergestellt werden. Zum Umweltmanagement wurden zwei Themenblöcke abgefragt: Die Ökobilanz, die sich aus den Input- und Outputströmen umweltrelevanter Stoffe zusammensetzt und die umweltrelevanten Zielsetzungen der Unternehmen.

Weitere Teilaufgaben waren die Ermittlung und Analyse der Verfahrenskosten der Schlacht-tiererfassung, Schlachtung und Fleischverarbeitung sowie die Feststellung von Zusammenhängen zwischen den Verfahrenskosten, dem Grad der Automatisierung der einzelnen Verfahrensschritte und dem Ausmaß, in dem die Kriterien Produktsicherheit, Qualität und Umwelt-

freundlichkeit erfüllt werden. Eine sehr hohe Kooperationsbereitschaft zeigten in diesem Zusammenhang niederländische und dänische Unternehmen, aus deren Kostendaten Benchmarks für Empfehlungen an die bayerische Fleischindustrie abgeleitet werden konnten.

Für das Teilprojekt **Fleischerzeugung** trägt der Lehrstuhl für Wirtschaftslehre des Landbaues (Prof. Dr. Alois Heißenhuber) die Verantwortung. Ziel des Teilprojektes ist es, die Auswirkungen veränderter Rahmenbedingungen auf ausgewählte Produktionsverfahren der Fleischerzeugung zu erfassen und zu analysieren sowie notwendige Veränderungen in der Haltung und Fütterung im Hinblick auf Aspekte der Fleischqualität und -sicherheit sowie des Tier- und Ressourcenschutzes aufzuzeigen. Die Untersuchungen zum Status Quo in der Schweine- und Rinderhaltung wurden weitgehend abgeschlossen. Die vergleichende Gegenüberstellung der Haltungssysteme auf Spaltboden erwies sich dabei als etwas vorteilhafter als die übrigen Systeme auf Stroh, mit Außenklimaställen oder Freilandssysteme. Ein Focus wurde bei diesen Untersuchungen auf das Konfliktpotential der Haltungssysteme gelegt, das zwischen den Bereichen Qualität, Tiergerechtigkeit und Umweltfreundlichkeit einerseits und arbeitswirtschaftlichen und ökonomischen Aspekten andererseits, besteht. Ein Kalkulationsmodell zur Simulation der Produktionskosten verschiedener Alternativen der Schweinehaltung wurde bereits fertig gestellt und wird 2005 um die Rindermast erweitert.

Wie schon 2004 werden auch 2005 die wesentlichen Zwischenergebnisse aller Teilprojekte in halbjährigem Turnus in öffentlichen Workshops dargestellt und mit Fachleuten aus den Ministerien, Landesanstalten, Verbänden, Universitäten und der Praxis diskutiert.

### **Bewertung von operationalen Risiken und Risikomanagementsystemen in der Fleischwirtschaft**

*Evaluation of operational risks and risk management systems in the meat industry*

Jantke, C.

Jede Tätigkeit und so auch die Führung eines Unternehmens birgt Gefahren und Chancen, die im Umfeld des Unternehmens entstehen oder direkt mit der unternehmerischen Tätigkeit einhergehen. Im Rahmen des Verbundforschungsprojektes zur Wertschöpfungskette Fleisch werden speziell für die beiden Stufen Fleischgewinnung und Fleischverarbeitung eventuell auftretende Fehler und Gefahren einer Analyse unterzogen und nach Risikowert klassifiziert.

Die Risikoanalyse umfasst die beiden Phasen Identifikation und Bewertung und ist Teilaufgabe eines ganzheitlichen Risikomanagementprozesses. Der Risikoanalyse vorgeschaltet und unerlässlich für aussagekräftige Ergebnisse ist die Phase der Risikodefinition bzw. die Festlegung der Risikopolitik und Zielsetzung bezüglich des Umgangs mit Gefahren. Erst anhand der getroffenen Definitionen und fixierten Vorgaben ist es möglich, den Untersuchungsbe- reich nach Art der zu analysierenden Gefahren, nach betrachtetem Raum und Zeitabschnitt des möglichen Auftretens dieser Gefahren einzugrenzen.

Da das Projekt speziell Risiken der primären, operativen Aktivitäten (z. B. Beschaffung, Produktion, Logistik, Distribution) von Unternehmen untersucht, ist eine Eingrenzung des Risikobegriffes sinnvoll. Diese wurde durch den „Basler Ausschuss für Bankensicherheit“ vorgenommen, der **operationelles Risiko** als „[...] die Gefahr von unmittelbaren oder mittelbaren



Verlusten, die infolge der Unangemessenheit oder des Versagens von internen Verfahren, Menschen und Systemen oder von externen Ereignissen eintreten“<sup>9</sup>, definiert.

In diesem Projekt bedeutet dies für die Risikoanalyse, dass Gefahren und Fehler, die die Qualität von zur Fleischgewinnung und -verarbeitung relevanten Prozessen und den daraus resultierenden Fleischprodukten sowie deren Produktsicherheit beeinträchtigen, betrachtet werden. Solche Gefahren und Fehler können sein: die Nichteinhaltung von Probenplänen, mangelnde Reinigung von Produktionsräumen, mangelhafte Rückverfolgbarkeit von Zutaten durch fehlerhafte Dokumentation etc.

Zur Identifikation der Fehler und Gefahren ist in der Fachliteratur nach Problemen bei Schlacht-, Zerlege- und Verarbeitungsprozessen sowie Produktmängeln bezüglich Qualität und Produktsicherheit recherchiert worden. Die daraus entstandene Liste wurde mit Veterinären besprochen und überarbeitet, so dass letztendlich eine Zusammenstellung von über 200 potenziellen Gefahren vorlag. Diese wurden in einen Bewertungsbogen übertragen, welcher im Aufbau einem FMEA<sup>10</sup>-Formblatt angelehnt ist. Ergänzend zur Gefahrenbewertung wurde nach der Beeinträchtigung nachfolgender Wertschöpfungsstufen im Falle des Auftretens des Fehlers gefragt.

### Zusammensetzung des Risikowertes

Die Bewertung einer Gefahr erfolgt durch die Bestimmung des Risikos, das ihr inne liegt. Die Verordnung (EG) 178/2002 zur Rückverfolgbarkeit von Lebensmitteln definiert **Risiko** als „[...] eine Funktion der Wahrscheinlichkeit einer die Gesundheit beeinträchtigenden Wirkung und der Schwere dieser Wirkung als Folge der Realisierung einer Gefahr“<sup>11</sup>. Damit setzt sich der Risikowert (**RW**) aus den Faktoren *Beeinträchtigung des Merkmals* (**B<sub>m</sub>**) und *Eintrittswahrscheinlichkeit der Gefahr/des Fehlers* (**P<sub>ein</sub>**) zusammen. Eine umfassendere Risikoanalyse wird durch ein Vorgehen nach der FMEA-Methode ermöglicht, in der ein weiterer Faktor – die *Entdeckungswahrscheinlichkeit der Gefahr/des Fehlers* (**P<sub>ent</sub>**) – in die Berechnung des Risikowertes einfließt. Dieser Faktor ist für diese Arbeit von Bedeutung, da er sich aus der Qualität des Risikomanagements der betrachteten Unternehmung bzw. den getroffenen präventiven Maßnahmen zur Fehlervermeidung ergibt. Je besser das aufgebaute Risikomanagementsystem funktioniert, desto größer ist die Entdeckungswahrscheinlichkeit des Fehlers und desto geringer ist der Risikowert. Die Formel für den Risikowert lautet somit:

$$\begin{array}{l}
 RW = B_m * P_{ein} * P_{ent} \\
 0 \leq B_m, P_{ein}, P_{ent} \leq 4 \\
 0 \leq RW \leq 64
 \end{array}$$

Die Bewertungsskala für jeden der drei Faktoren besteht aus den fünf Werten 0–1–2–3–4. Die Bedeutung dieser Skala für die einzelnen Faktoren ist Tabelle 5 zu entnehmen.

<sup>9</sup> BASELER AUSSCHUSS FÜR BANKENAUFICHT (2003): Konsultationspapier, Die Neue Baseler Eigenkapitalvereinbarung. S. 140.

<sup>10</sup> FMEA: Fehler-Möglichkeiten-Einfluss-Analyse

<sup>11</sup> Verordnung (EG) Nr. 178/2002, Artikel 3 (Sonstige Definitionen), 9.

Tab. 5: Bewertungsskala der drei Faktoren

Wert	Beeinträchtigung des Merkmals	Eintrittswahrscheinlichkeit der Gefahr / des Fehlers	Entdeckungswahrscheinlichkeit der Gefahr / des Fehlers
0	keine	tritt in keinem Fall auf	wird in jedem Fall entdeckt
1	sehr geringe	tritt selten auf	wird sehr häufig entdeckt
2	geringe	tritt häufig auf	wird häufig entdeckt
3	starke / hohe	tritt sehr häufig auf	wird selten entdeckt
4	sehr starke / sehr hohe	tritt in jedem Fall auf	wird in keinem Fall entdeckt

Quelle: Eigene Darstellung

Jeder Faktor kann mit maximal 4 bewertet werden, deshalb ist der höchste zu erreichende Risikowert 64. Da die Faktoren den Wert 0 annehmen können, kann auch der Risikowert 0 betragen, was bedeutet, dass der beschriebenen Gefahr kein Risiko inne liegt.

### Vorgehensweise bei der Gefahrenbewertung

Zur Ermittlung der Risikowerte liegt Experten aus der Fleischbranche, Lebensmittelhygiene und dem Veterinärwesen seit Herbst 2004 der Bewertungsbogen mit dem Hinweis vor, die beschriebenen Gefahren hinsichtlich der aktuellen Situation in Deutschland bezogen auf die Verfahren und Produkte von Industriebetrieben der Wertschöpfungsstufen Schlachtung, Zerlegung und Verarbeitung von Rind und Schwein zu bewerten.

Nach Auswertung des Bewertungsbogen soll anhand der sich ergebenden Tendenzen aufgezeigt werden, an welchen Stellen im System oder im Prozess der Fleischgewinnung und Fleischverarbeitung den Produkten hinsichtlich der Merkmale Qualität und Produktsicherheit Gefahren drohen und Maßnahmen zur Verminderung bzw. Vermeidung ergriffen oder aber intensiviert werden müssen.

### Vorgehensweise zur Erfassung der Risikomanagementsysteme von Unternehmen

Eine Untersuchung zur Fragestellung: „Welches Risikomanagement wird bisher in bayerischen Unternehmen betrieben?“ ist weiterer Bestandteil des Projektes zur Wertschöpfungskette Fleisch. Als Methode zur qualitativen Erfassung des praktizierten Risikomanagements wurde das Experteninterview ausgewählt, um so das Vorhandensein und die Ausgestaltung von Elementen und Instrumenten des Risikomanagements in den Unternehmen zu erfragen. Für die Durchführung der Interviews wurde ein halbstrukturierter Leitfaden erstellt. Dieser gliedert sich in fünf Themenblöcke und orientiert sich im Aufbau an den Prozessstufen des Risikomanagementprozesses und diesen Stufen zugeordneten Elementen eines Managementsystems. *Block eins* erfasst demographische Unternehmensangaben wie Verarbeitungsmenge, Zertifizierungen und Mitarbeiteranzahl. *Block zwei* widmet sich dem Vorgehen bei der Risikoanalyse im Unternehmen unterteilt nach den Aufgaben Risikodefinition, -identifikation und -bewertung. Der *dritte Block* befasst sich mit der Steuerung der Risiken im Unternehmen. Gefragt wurde u. a. nach der Durchführung und Nutzung der Dokumentation, den Maßnahmen zur Risikominimierung bei der Beschaffung und Distribution der Ware, wie die Mitarbeiter in das Risikomanagement mit einbezogen werden und wie die Systemkontrolle organisiert ist. *Block vier* behandelt die Risikokultur im Unternehmen und die Interaktion bezüglich Risiken mit Externen wie dem Gesetzgeber, Verbrauchern, Kunden oder den Medien. Die

Fragen zum *Block fünf* wie z. B. „Wo sehen sie Verbesserungsmöglichkeiten bezüglich des Risikomanagements in der Branche?“ gaben den Interviewten Gelegenheit, explizit Meinungen und Anregungen zu äußern.

### **Ergebnisse der Interviews**

In 14 bayerischen Unternehmen der Fleischbranche standen sowohl Betriebsleiter als auch Qualitäts- bzw. Risikomanager für das 2½ h - 3½ h dauernde Interview zur Verfügung. Alle Unternehmen haben ein Eigenkontrollsystem nach dem HACCP-Konzept aufgebaut, d. h. es werden *critical control points* und *control points* identifiziert, dokumentiert und überwacht, darüber hinaus haben 13 Unternehmen ein Qualitätsmanagementsystem eingerichtet.

Trotz dieser gleichen Ausgangssituationen unterscheidet sich die Gestaltung und Durchführung des Risikomanagements in den Unternehmen erheblich. Große Unternehmen (gemessen an der Mitarbeiterzahl bzw. Verarbeitungsmenge), meist mit mehreren Betriebsstätten, profitieren im Bereich der Risikoanalyse von den Erkenntnissen, welche in den einzelnen Betriebsstätten gewonnen werden. Aufgrund der höheren Mitarbeiteranzahl in den Bereichen Qualitäts- und Risikomanagement erfahren auch die anderen Prozessschritte – wie z. B. Risikodefinition, Risikosteuerung, Risikocontrolling ausführlichere Beachtung. In kleineren Betrieben werden einzelne Maßnahmen zur Risikosteuerung fokussiert, jedoch finden z. B. die Risikodefinition oder die Systemkontrolle eher selten statt. Generell ist ein systematisches Vorgehen entlang der Stufen des Risikomanagementprozesses in der Mehrzahl der Betriebe nur begrenzt vorhanden. Dieser objektiv eher unbefriedigenden Situation steht die eigene Einschätzung des betrieblichen Risikomanagements durch die Befragten gegenüber: 13 gaben dem Risikomanagementsystem die Note gut oder sehr gut.

Ausgehend von den Ergebnissen der Risikoanalyse und den gewonnenen Erkenntnissen zum bisher praktizierten Risikomanagement wird im weiteren Verlauf des Projektes ein Konzept für die Gestaltung eines Risikomanagementsystems in Unternehmen der Fleischbranche entwickelt.

### **Kostenvergleiche ausgewählter Verfahren in der Fleischwirtschaft – Eine Analyse der Wertschöpfungsstufen Schlachtiererfassung, Schlachtung und Fleischverarbeitung.**

*Comparison of costs of selected processes in the meat industry – An analysis of the slaughter-animal-transport, slaughtering and meat processing.*

Uffelmann, W.

### **Ausgangssituation**

Seit den Krisen auf dem Fleischmarkt und in der Fleischvermarktung sind die in den Wertschöpfungsstufen Schlachtiererfassung, Schlachtung und Fleischverarbeitung eingesetzten Verfahren zunehmend in den Fokus der Kritik geraten und wurden als eine der Hauptursachen der krisenhaften Entwicklung bezeichnet. Dabei wird argumentiert, dass nicht nur elementare Anforderungen des Tierschutzes, der Qualitätserhaltung und des Umweltschutzes verletzt werden, sondern dass durch die eingesetzten Verfahren teilweise auch die Sicherheit der Verbraucher gefährdet wird. Die verschiedenen Verfahren der Fleischgewinnung und Fleischverarbeitung unterscheiden sich einerseits graduell im Hinblick auf die Erfüllung der Anforderungen bezüglich Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit,

andererseits bestehen erhebliche Unterschiede im Hinblick auf die Kosten der Verfahren. Im Rahmen dieses Beitrages sollen ausgewählte Verfahren der Fleischgewinnung hinsichtlich ihrer Voll- bzw. Teilkosten evaluiert werden.

### **Verfahrenstechnik**

Die Auswahl der eingesetzten Verfahrenstechnik ist von unterschiedlichsten Einflussfaktoren abhängig, wie beispielsweise dem möglichen Kapitaleinsatz, dem Personaleinsatz, der vom Markt geforderten Fleischqualität, der Schlachtleistung und der damit verbundenen Betriebsgröße etc. Dadurch gestaltet sie sich bei den einzelnen Schlachtbetrieben sehr unterschiedlich. Grundsätzlich wird bei der Schlachtung zwischen der Hand- und der Bandschlachtung unterschieden. In den Schlachtbetrieben, die im Verbundforschungsprojekt Fleisch verglichen werden, wird ausschließlich die Bandschlachtung durchgeführt, die Handschlachtung hat nur noch bei selbst schlachtenden Metzgern in kleineren Schlachtstätten sowie bei Not- und Krankschlachtungen Bedeutung. Tabelle 6 zeigt die derzeit eingesetzten Verfahren zur Schlachtung von Rind und Schwein auf. Es besteht die Option, unterschiedliche Verfahren (manuell, halbautomatisch, vollautomatisch) in den einzelnen Prozessschritten einzusetzen, die hinsichtlich der Kriterienerfüllung sehr große Unterschiede aufweisen.

### **Datenbasis**

Untersucht wurden Unternehmen der Schlachtiererfassung, Schlachtung und Fleischverarbeitung in Bayern, Dänemark und in den Niederlanden. Bei der Auswahl der Stichprobe wurde darauf geachtet, dass Betriebe mit unterschiedlichen Betriebsgrößen – gemessen an den erfassten Schlachttieren, Anzahl der Schlachtungen und an der Menge des verarbeiteten Fleisches – vertreten sind. Die Analyse der Kosten basiert auf der unternehmensinternen Kostenrechnung. Die Unternehmen wurden schriftlich und mündlich befragt. Die Kostenarten wurden mit Hilfe eines standardisierten Bogens erhoben. Neben der Erfassung der Kostendaten wurden betriebliche Besonderheiten und die im Betrieb eingesetzten Verfahren bei der Fleischgewinnung erfasst. Insgesamt liegen der Untersuchung Kosten von 13 Unternehmen zugrunde. Um die Kosten aus den Betrieben, die sich hinsichtlich ihres Produktionsverfahrens ähneln, vergleichbar zu machen und den Schutz bezüglich der in den einzelnen Betrieben erfassten Daten zu gewährleisten sowie die Darstellung zu vereinfachen, wurden die empirischen Angaben in verschiedenen Betriebsgrößengruppen zusammengefasst.

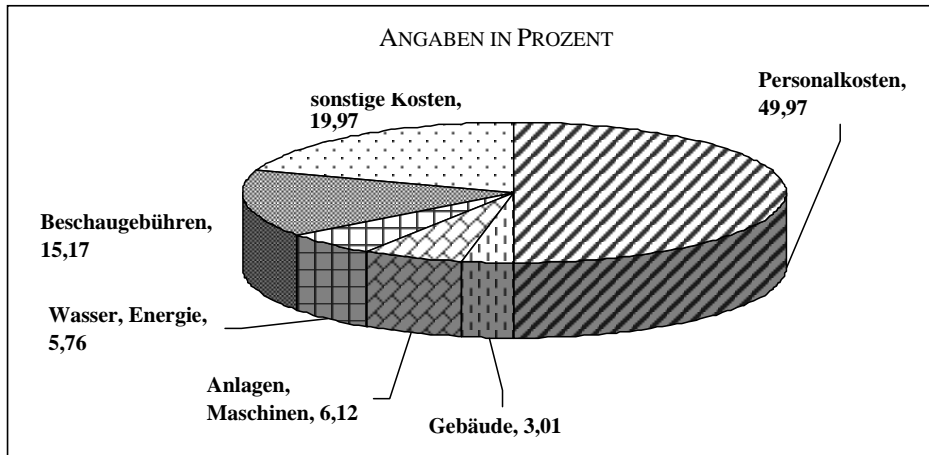
Tab. 6: Eingesetzte Verfahrenstechnik bei der Schlachtung von Rind und Schwein

Prozess	Verfahren der Schlachtung	
	Rinder	Schweine
Betäubung	<b>Bolzenschussbetäubung</b> mechanisch mit Kartusche pneumatisch mit Bolzen <b>Schuss-Schlag-Betäubung</b> <b>Elektrobetäubung</b>	<b>Elektrische Betäubung</b> Betäubebucht/-falle mit manueller Betäubung Betäubungsbox mit halbautomat. Betäubung Restrainer mit automatischer Betäubung <b>CO2-Betäubung</b> Dip-Lift-Anlage Kompakt-Anlage Kombi-Anlage
Entblutung	<b>hängende Entblutung</b> Aufziehen mit Elevator Entblutung mit (Hohl-)Messer <b>liegende Entblutung</b> Stechen mit (Hohl-)Messer Entblutung auf Plattenförderern	<b>hängende Entblutung</b> Aufziehen mit Elevator Entblutung mit (Hohl-)Messer <b>liegende Entblutung</b> Stechen mit (Hohl-)Messer Entblutung auf Plattenförderern
Enthäutung	<b>manuelle Enthäutung</b> <b>maschineller Hautabzug</b> schwanzwärts (bottom-up) kopfwärts (top down)	
Brühen		<b>Tauchbrühverfahren</b> Durchziehbrühbottich mit nachfolgender Frischwasser-Entborstung <b>Hängbrühverfahren</b> Brühltunnel (Besprühen mit Heißwasser) Kondensationstunnel (Brühen mit Dampf)
Enthaarung Nachbearbeitung		Enthaarungsmaschine Reinigungszyklus (Spülen, Trockenschaben) Trockenpeitsche Flammofen Reinigung mit Frischwasser
Ausweidung	<b>manuelle Ausweidung</b> Öffnen der Bauchhöhle Entnahme der Eingeweide	<b>manuelle Ausweidung</b> Öffnen der Bauchhöhle Entnahme der Eingeweide <b>automatische Ausweidung</b> Öffnen der Bauchhöhle und Entnahme der Eingeweide mit Roboter
Spaltung	<b>manuelle Verfahren</b> handgeführte Spaltsäge <i>Keilmethode</i> (Entnahme der Wirbelsäule als Ganzes) <i>Lateralmethode</i> (Wirbelsäule bleibt ungeöffnet; spalten einseitig paramedian) <i>Sattelmethode</i> (keine Spaltung) <b>automatische Verfahren</b> Spaltsäge	<b>manuelle Spaltung</b> handgeführte Spaltsäge <b>automatische Spaltung</b> Spaltsäge Hackmaschine (Hacker)
Kühlung	<b>Einphasige Verfahren</b> Schnellabkühlung <b>Mehrphasige Verfahren</b> Intensivkühlung Schockkühlung Ausgleichskühlung Sprühkühlung	<b>Mehrphasige Verfahren</b> Intensivkühlung Schockkühlung Ausgleichskühlung Sprühkühlung Nebelkühlung

Quelle: Eigene Darstellung

## Ergebnisse

Die folgenden Darstellungen sollen die Ergebnisse des Vergleichs kurz charakterisieren. Abb. 6 zeigt die durchschnittliche Kostenstruktur bei der Schlachtung von Schweinen in den Vergleichsbetrieben. Mit einem Kostenanteil von 49,97 % haben die Personalkosten die größte Bedeutung, gefolgt von den Kosten der Beschaugebühren (Schlachtvieh- und Fleischbeschau) mit 15,17 %, den kalkulatorischen Kosten mit 9,13 % (Gebäude, Anlagen und Maschinen) und den Wasser- und Energiekosten mit 5,76 %. Die Gruppe der sonstigen Kosten beinhaltet alle nicht explizit ausgewiesenen Kosten. Die Kostenanteile schwanken in erheblichem Maße in Abhängigkeit von der Betriebsgröße und der eingesetzten Verfahrenstechnik.



Quelle: Eigene Darstellung

Abb. 6: Durchschnittliche Kostenstruktur in der Schweineschlachtung

## Vergleich ausgewählter Kostenarten und Kostenstellen

Die Höhe der gesamten Stückkosten je t Schlachtgewicht (SG) in einem Schlachtbetrieb wird bestimmt von den Kosten der Schlachttierfassung, der Schlachtung, des Managements, der Finanzierung und des Absatzes. Bei exakter Kostenstellenrechnung können die Kosten, die in einem Schlachtbetrieb anfallen, den Bereichen Erfassung und Schlachtung zugeordnet werden. In Abb. 7 werden für ausgewählte Kostenstellen die Höhe wichtiger Kostenartengruppen der Vergleichsbetriebe ausgewiesen. Die unterschiedliche Kostenstruktur in den Kostenstellen ist ein Ausdruck für die unterschiedliche Anlagenintensität und die hohe Fixkostenbelastung der kleineren Betriebe. Bei großen Betrieben verteilen sich die relativ geringeren Fixkosten auf eine größere Stückzahl, womit diese Betriebe gegenüber Auslastungsschwankungen unempfindlicher reagieren als die kleineren Betriebe.

Ferner kann in Abb. 7 die Degression der Kosten bei wachsender Betriebsgröße festgestellt werden. Der Kostenverlauf ist auf die Änderung der Verfahrenstechnik zurückzuführen. Die Vergleichsbetriebe in Bayern (BY), Dänemark (DK) und in den Niederlanden (NL) setzen ähnliche bzw. identische Verfahren zur Schlachtung von Schweinen ein und sind somit hinsichtlich der Verfahren vergleichbar. Die Veränderung der Verfahrenstechnik (mutative Be-

triebsgrößenvariation) führt durch die Einführung technischer Fortschritte zu technischen Verbesserungen, zum Beispiel hinsichtlich der Umwelteinflüsse.

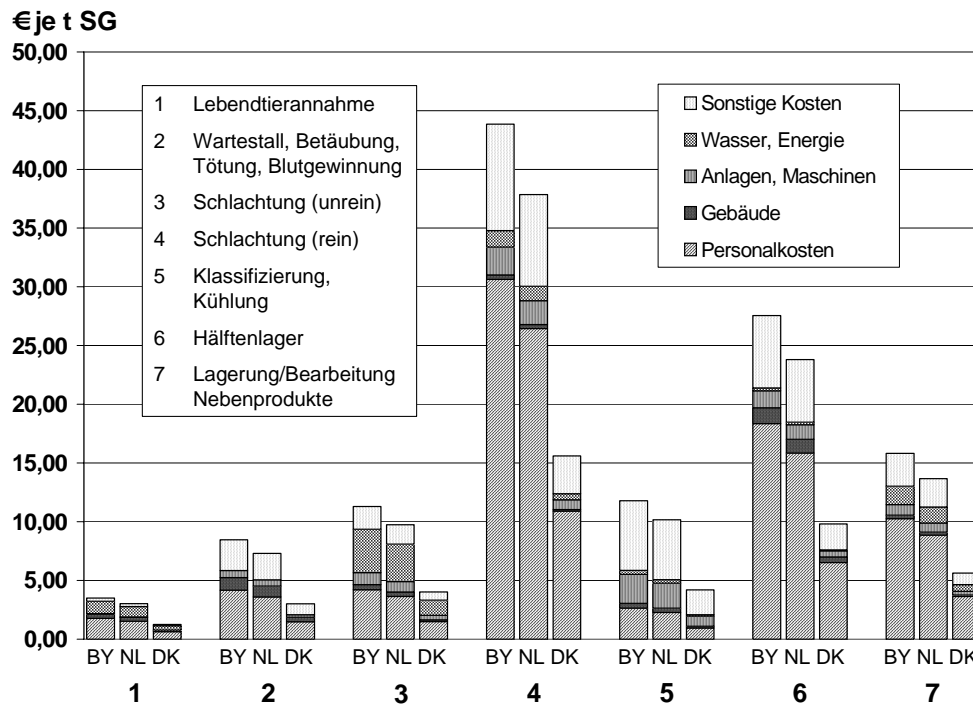


Abb. 7: Kostenstruktur der Schweineschlachtung in Vergleichsbetrieben in Bayern, Dänemark und in den Niederlanden

Die wichtigsten Umweltparameter zur Beurteilung von Verfahren bei der Schlachtung sind der Verbrauch von Frischwasser und Energie sowie der Abwasseranfall je t SG. Der Vergleich der Betriebe zeigt, dass mit wachsender Betriebsgröße der Aufwand für Wasser und Energie je t SG erheblich reduziert werden konnte, was aber nicht auf die regional unterschiedlichen Preise für Energie- sowie die Wasser- und Abwasserpreise zurückzuführen ist.

**Ausblick**

Die eingesetzten Verfahren zur Schlachtiererfassung, Schlachtung und Fleischverarbeitung unterscheiden sich einerseits hinsichtlich der Kriterien Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit, andererseits erheblich hinsichtlich der Kosten. Dabei ist für die Höhe der Gesamtkosten die Auslastung bestehender Kapazitäten erheblich wichtiger als die Betriebsgröße. In den weiteren Auswertungsphasen des Forschungsprojektes werden die Verfahren und die Höhe der Verfahrenskosten genauer analysiert. Dabei sollen Zusammenhänge zwischen dem Grad der Kriterienerfüllung und der Höhe der Kosten ermittelt werden, um praxisnahe Konzepte zur Verbesserung der Wertschöpfungskette Fleisch gestalten zu können.

## Dissertationen und Diplomarbeiten

### Dissertationen

**Dustmann, Heiko, Dr. oec.;** Technische Universität München, 24.03.2004: "Analyse und Evaluierung der Auswirkungen des Angebots und der Nachfrage nach neuartigen Lebensmitteln auf die Ernährungsindustrie sowie vor- und nachgelagerte Stufen der Wertschöpfungskette."

**Schmalen, Caroline, Dr. oec.;** Technische Universität München, 04.12.2004: „Erfolgsfaktoren der Markteinführung von Produktinnovationen klein- und mittelständischer Unternehmen der Ernährungsindustrie.“

**Winkelmann, Timo, Dr. rer.pol.;** Technische Universität München, 28.05.2004: "Erfolgsfaktoren in der Molkereiwirtschaft."

### Diplomarbeiten / Bachelor Thesis / Master Thesis

**Baumann, K.:** „Entscheidungskriterien der Endverbraucher beim Kauf von Milchprodukten.“

**Benda, M.:** „Ansatzpunkte für die Erforschung der Kundenwünsche als Basis für die Entwicklung neuer Produkte.“

**Betsche, R.:** „Merkmale und Kommunikation von Produktinnovationen bei Bier- und Biermischgetränken.“

**Blum, M.:** „Benchmarking des Schlacht- und Zerlegeprozesses in ausgewählten Schlachthöfen Deutschlands, Österreichs und der Schweiz.“

**Buschendorf, H.:** „Evaluation of the product range of a manufacturer of carton packages.“

**Fischer, J.:** „Einflussfaktoren auf den Bayerischen Milcherzeugerpreis.“

**Grabinger, A.:** „Methodische Vorgehensweisen bei der Positionierung von Lebensmitteln in der Ernährungsindustrie.“

**Hartmann, S.:** "Änderung des Absatzmarktes vom Theken- zum SB-Verkauf von Backwaren am Beispiel der Stadtbäckerei K & U."

**Homberts, H.:** „Aufbau einer nationalen Marke am Beispiel der Staatlichen Molkerei Weihenstephan GmbH & Co. KG.“

**Kielmann, R.:** „Ansatzpunkte für eine Optimierung der Supply Chain in einem Unternehmen der Getränkeindustrie. Dargestellt am Beispiel der Bayerischen Mineralbrunnen AG.“

**Kurek, C.:** „Betriebswirtschaftliche Überlegungen bei der Neugründung einer Gasthausbrauerei.“

**Tegtmeier, J.:** „Evaluation and Analysis of Supply Chains in Agribusiness.“

Herrn J. Tegtmeier wurde für die an der Professur erstellte Master Thesis zum Thema „Evaluation and Analysis of Supply Chains in Agribusiness“ mit dem Preis des Oberbürgermeisters der Stadt Freising für die beste Diplomarbeit/Master Thesis der Studienfakultät Agrar- und Gartenbauwissenschaften im Studienjahr 2003/04 ausgezeichnet. Der Preis wurde von Herrn Oberbürgermeister Thalhammer im Rahmen der Hochschultagung des Wissenschaftszentrums Weihenstephan am 25. Juni 2004 an Herrn Tegtmeier überreicht.



## Lehre, Vorträge

### Lehre

Im Jahr 2004 wurden von Prof. Dr. H. Weindlmaier und Mitarbeitern folgende Lehrveranstaltungen am Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München abgehalten:

Bezeichnung				
	Wintersemester		Sommersemester	
	V	Ü	V	Ü
<b>a) Studiengang Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel</b>				
Produktions- und Absatzwirtschaft der Ernährungsindustrie	1,3			
Grundlagen der Betriebswirtschaftslehre Milch verarbeitender Unternehmen	2			
Marketingmanagement Milch verarbeitender Unternehmen			2	1
<b>b) Studiengänge Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel, Brauwesen und Getränketechnologie</b>				
Innovationsmanagement in der Ernährungsindustrie			2	
Qualitätsmanagement in der Ernährungswirtschaft I + II	0,5		1	
Materialwirtschaft und Logistik			2	
<b>c) Master of Dairy Science</b>				
Structure and Internationalisation of the Dairy Industry	2			
<b>d) Studiengang Agrarwissenschaft</b>				
Ökonomik der Ernährungswirtschaft	3	1		

### Vorträge

#### Dustmann, H.:

„Zukünftige Marktchancen funktioneller Lebensmittel in Deutschland“.

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, 8./9. Oktober 2004, Freising-Weihenstephan.

#### Jantke, C.:

„Analyse, Evaluierung und Gestaltung des Risiko- und Umweltmanagements von Verfahren der Schlachttiererfassung, Schlachtung und Fleischverarbeitung unter den Prämissen Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit“.

Externer Workshop des Verbundforschungsprojektes „Fleisch“, 21. Juli 2004, Freising-Weihenstephan.

#### Uffelmann W.

„Analyse von Verfahren der Schlachttiererfassung, Schlachtung und Fleischverarbeitung unter den Prämissen Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit“.

Externer Workshop des Verbundforschungsprojektes „Fleisch“, 21. Juli 2004, Freising-Weihenstephan.

**Weindlmaier, H:**

„Aktuelle Anforderungen an die Strategien der Milchwirtschaft auf Grund der veränderten Rahmenbedingungen“.

Seminar der KPMG Deutsche Treuhand Gesellschaft, 23. Januar 2004, München.

„Wie geht es weiter am Milchmarkt? – Auswirkungen auf die Verarbeitung und Konsequenzen für die Erzeugung“.

Wissenschaftliche Akademietagung der Andreas Hermes Akademie, 11. Februar 2004, Bonn.

„Entwicklungsstrategien für mittelständische Molkereien und deren Milcherzeuger“.

Vortragsveranstaltung des Verbands Biberacher Landwirtschaftsmeister, 17. Februar 2004, Ochsenhausen.

„The consequences of changing conditions of the European dairy sector for the strategies of dairy companies“.

Workshop für Molkereifachleute aus Slowenien und Kroatien, veranstaltet von Tetra Pak Slovenia and Croatia, 2. März 2004, Freising-Weihenstephan.

„Künftige ökonomische Rahmenbedingungen der Milchwirtschaft - Konsequenzen für Erzeugung und Verarbeitung in Deutschland“.

10. ZMP-Milchforum, 8. März 2004, Berlin.

„Veränderungen der ökonomischen Rahmenbedingungen durch die GAP-Reform und deren Auswirkungen auf Milcherzeuger und -verarbeiter“.

Fachtagung Milch des Bayerischen Staatsministeriums für Landwirtschaft und Forsten, 24. März 2004, Kempten.

„Marktchancen für funktionelle Lebensmittel“.

Symposium der Gesellschaft Deutscher Lebensmitteltechnologien e.V., 1./2. April 2004, Kiel.

„Herausforderungen an die Strategien der Milch- und Molkereiwirtschaft aufgrund der veränderten Rahmenbedingungen“.

Agrarökonomisches Seminar der Universität Göttingen, 11. Mai 2004, Göttingen.

„Die Macht der Marke – Herausforderungen an die Markenführung bei Milchprodukten“.

Workshop der Sachsenmilch AG, 21. Juni 2004, Burg/Spreewald.

„Entwicklungen der bayerischen Milchwirtschaft und deren Auswirkungen auf die Arbeitszeit“.

Seminar der Gewerkschaft NGG am 15. Juli 2004, Fürstenfeldbruck.

„Qualitätsmanagementsysteme in der Ernährungswirtschaft: Beweggründe, Entwicklungen und Perspektiven“.

Kongress der Österreichischen Gesellschaft für Agrarökonomie, 23./24. September 2004, Wien.

„Zukünftige Rahmenbedingungen der Milchwirtschaft: Strategische Optionen für Milcherzeuger und Molkereien“.

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung am 8./9. Oktober 2004 in Freising-Weihenstephan.

„Produktionsprogrammplanung in Molkereiunternehmen“.

Seminar für Mitarbeiter russischer Molkereien, veranstaltet von Tetra Pak Russland, 14./15. Oktober 2004, Moskau.

„Entwicklung und Perspektiven der bayerischen Milch- und Molkereiwirtschaft – Welche Funktion hat der bayerische Erzeugerorientierungspreis (EOP)?“  
Offene Generalversammlung der Milcherzeugergemeinschaft Rosenheim – Bad Aibling eG.,  
29. November 2004, Rosenheim.

## **Beratung, Seminare, Workshops, Medienarbeit**

### **Beratung / Wissenschaftliche Gutachten**

- Als Mitglied des Wissenschaftlichen Beirats Agrarpolitik, nachhaltige Landwirtschaft und Entwicklung ländlicher Räume des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft wirkte Prof. Weindlmaier an der Erstellung eines Gutachtens zum Thema „Zukunft der Nutztierhaltung“ mit.
- Im Rahmen des Forschungsprojektes „Erfolgsfaktoren der Einführung von Produktinnovationen klein- und mittelständischer Unternehmen der Ernährungsindustrie“ erfolgte eine enge Zusammenarbeit mit Pilotunternehmen verschiedener Branchen der Ernährungswirtschaft. Die im Rahmen des Forschungsprojektes erarbeiteten Ergebnisse wurden mit Experten der einzelnen Pilotunternehmen diskutiert und es wurde deren Anwendbarkeit auf die Unternehmen geprüft.
- Der Weihenstephaner Unternehmensvergleich für milchwirtschaftliche Unternehmen wurde auch im Jahr 2004 (Bezugsjahr 2003) durchgeführt. Zusätzlich zu fünf deutschen Unternehmen nahm ein österreichisches Molkereiunternehmen am Unternehmensvergleich teil. Insgesamt betreiben die Teilnehmer des Unternehmensvergleichs 18 Betriebsstätten und repräsentieren im Jahr 2003 eine Milchverarbeitung von etwa 2 Mrd. kg sowie einen Umsatz von gut 1 Mrd. Euro.

Die Ergebnisse des Unternehmensvergleichs wurden den beteiligten Unternehmen zunächst in Form einer umfangreichen schriftlichen Auswertung zur Verfügung gestellt. Am 09.09. und 10.09.2003 wurden die Ergebnisse des Unternehmensvergleichs den Vertretern der beteiligten Unternehmen im Rahmen eines Workshops in Ulm präsentiert. Im Anschluss an eine umfangreiche Diskussion der Ergebnisse erfolgte auf Einladung der Milchwerke Schwaben eG, Neu-Ulm, eine gemeinsame Besichtigung des Betriebes Neu-Ulm. Zusätzlich wurden alle beteiligten Unternehmen von Herrn Prof. Weindlmaier und Herrn Betz besucht und es erfolgte eine ausführliche Diskussion der Ergebnisse mit den Unternehmensleitungen und den betroffenen Verantwortlichen.

Der Umsatz der beteiligten Unternehmen je kg Rohstoffeinsatz schwankt zwischen 37,10 Cent/kg und 60,18 Cent/kg. Erhebliche Unterschiede von 7,20 Cent/kg Rohstoffeinsatz bis 35,56 Cent/kg Rohstoffeinsatz weisen auch die Verarbeitungs- und Vermarktungskosten für selbst erstellte Milchprodukte auf. Die Ergebnisse zeigen, dass im Jahr 2003 aufgrund der ungünstigen Erlössituation die Nettoverwertungen aller Unternehmen teilweise erheblich zurückgegangen sind. Obwohl auch die Auszahlungspreise von durchschnittlich 30,62 Cent/kg (bei 3,7 % Fett und 3,4 % Eiweiß) auf 29,08 Cent/kg reduziert wurden, wurde dennoch in den meisten Unternehmen ein höherer Milchpreis ausgezahlt, als aufgrund der erzielten kalkulatorischen Nettoverwertung für die Eigenmilch gerechtfertigt

gewesen wäre. Die Möglichkeit, Erträge für die Verbesserung der Wettbewerbsposition zu verwenden, war dadurch nur sehr begrenzt gegeben.

Zusätzlich zu den Daten aus dem Unternehmensvergleich wurden für ausgewählte Produkte Kostenstellen- und Kostenträgerkosten verschiedener bayerischer Molkereien gesammelt und ausgewertet. Die Ergebnisse aus beiden Datenquellen dienten dazu, die Kosten zu errechnen, die als **Basis für die Ermittlung des Bayerischen Erzeugerorientierungspreises (EOP)** herangezogen werden. Die auf Ende des Jahres 2004 hochgerechneten Kosten wurden der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Ernährungswirtschaft und Markt, im Dezember 2004 zur Verfügung gestellt. Es zeigte sich, dass gegenüber dem Jahr 2003 verschiedene Faktorpreise mehr oder weniger stark anstiegen, dass diese Faktorpreissteigerungen jedoch teilweise durch Effizienzverbesserungen in den Betrieben kompensiert wurden. Dennoch resultierten Kostenerhöhungen von durchschnittlich 1,27 %, was zu einem weiteren Druck auf die Höhe des EOP führen wird.

Zusätzlich zur Kostenermittlung für den EOP wurden im Auftrag des Bayerischen Staatsministeriums für Landwirtschaft und Forsten Modellrechnungen durchgeführt, in denen die Auswirkungen einer Umstellung des EOP hinsichtlich der Bewertung von Fett und Eiweiß sowie bei einem Wegfall des Grundpreises untersucht wurden.

- In Ergänzung zur generellen Erhebung und Auswertung von Unternehmensdaten mit Schwerpunkt auf einem Vergleich der Kostenstellen- und Kostenträgerkosten wurde im Jahr 2004 ein **Benchmarking für den Bereich „Einsatz von Instrumenten der Unternehmensführung in Molkereiunternehmen“** durchgeführt. Dabei wurden folgende Ergebnisse erzielt.

In fünf von sechs Unternehmen wird jährlich eine **strategische Produktionsprogrammplanung** durchgeführt, wobei die Zuständigkeit überwiegend neben der Geschäftsführung im Bereich Marketing/Vertrieb angesiedelt ist. Aber auch die Betriebsleitung und die betriebswirtschaftliche Abteilung werden als zuständige Stellen angegeben. Als Datenbasis werden vor allem die Markteinschätzung durch Geschäftsführung und Marketingabteilung und die Schätzung der Produktdeckungsbeiträge genannt. Eigene bzw. fremde Marktforschungsergebnisse werden nur von einem bzw. zwei Unternehmen herangezogen. Der Zeitaufwand für die strategische Produktionsprogrammplanung in den Unternehmen geht extrem weit auseinander. Eine spezielle Software bzw. die lineare Optimierung wird dafür nicht eingesetzt.

Eine **operative Produktionsprogrammplanung** wird in fünf von sechs Unternehmen täglich, in einem Unternehmen nur wöchentlich durchgeführt. 2/3 der Unternehmen planen außer täglich zusätzlich auch wöchentlich und 1/3 der Unternehmen plant zusätzlich auch noch monatlich. Die Zuständigkeit liegt überwiegend im Bereich der Betriebsleitung, alternativ kombiniert mit den Produktionsabteilungen (2/3 der Unternehmen), der Geschäftsführung und dem Vertrieb. Als Datenbasis werden primär die „eingegangenen Bestellungen“, „Erfahrungswerte aus der Vergangenheit“ und „andere Datenquellen“ angegeben.

Eine **strategische Absatz- und Erlösplanung** wird nur von vier der sechs Unternehmen jährlich und von einem Unternehmen halbjährlich durchgeführt. Zuständig ist dafür in allen Fällen die Abteilung Marketing/Vertrieb in Verbindung mit der Geschäftsführung

und/oder der betriebswirtschaftlichen Abteilung. Als Datenbasis wird bevorzugt die Extrapolation der bisherigen Absatzentwicklung unter Berücksichtigung aktueller Markttrends verwendet. Spezielle Absatzplanungssoftware wird nicht eingesetzt.

Für die **betriebswirtschaftliche Beurteilung von größeren Investitionsvorhaben** sind in zwei Drittel der Unternehmen neben der Geschäftsführung auch die Abteilung Produktion/Technik und die betriebswirtschaftliche Abteilung zuständig. Als Hilfsmittel zur betriebswirtschaftlichen Beurteilung größerer Investitionsvorhaben wird von ebenfalls zwei Drittel der Unternehmen eine „qualitative Beurteilung aufgrund der Dringlichkeit für den Betrieb“ angegeben, allerdings immer in Verbindung mit einem weiteren Beurteilungskriterium. Bei fünf der sechs Unternehmen wird die Kostenvergleichsrechnung bzw. die Amortisationsrechnung eingesetzt. Nur 1/3 der Unternehmen wendet neben den statischen Methoden auch dynamische Investitionsrechnungsmethoden an.

Bezüglich der Häufigkeit der Durchführung der verschiedenen Abrechnungen innerhalb der **Betriebsabrechnung** geben bei der **Ist-Rechnung** alle Unternehmen die tägliche Durchführung der Betriebsübersicht und die monatliche Durchführung der Abrechnung an. Bei der **Soll-Rechnung** melden alle Unternehmen die tägliche Durchführung der Betriebsübersicht und bei fünf Unternehmen eine monatliche, bei einem Unternehmen eine halbjährliche Abrechnung. 2/3 der Unternehmen führen jährlich eine **Plan-Rechnung** durch, die Hälfte davon meldet zusätzliche gelegentliche Planrechnungen, 1/3 der Unternehmen verzichtet dagegen ganz auf die Plan-Rechnung. Die Abrechnungen werden bei allen Unternehmen nach Kostenarten, Kostenstellen und Kostenträgern, bei fünf Unternehmen als Deckungsbeitragsrechnung bzw. Prozesskostenrechnung und bei der Hälfte der Unternehmen als Grenzplankostenrechnung durchgeführt.

## Workshop für Molkereifachleute

Am 2. März 2004 fand in Weihenstephan in Zusammenarbeit mit Tetra Pak ein **Workshop für Molkereifachleute aus Slowenien und Kroatien** statt. Auf der Basis eines Vortrages von Prof. Weindlmaier zum Thema „The consequences of changing conditions of the European dairy sector for the strategies of dairy companies“ wurden die aktuellen Probleme und Anpassungsnotwendigkeiten von Molkereiunternehmen ausführlich diskutiert. Nach dem gemeinsamen Mittagessen referierte Prof. Kulozik zum Thema „Thermic processing and aseptic technology.“ Eine Besichtigung der Forschungseinrichtungen des Lehrstuhls für Molkertechnologie beendete den nach Aussagen der Teilnehmer sehr informativen und erfolgreichen Workshop.



Die Teilnehmer am Workshop aus Slowenien und Kroatien unter Führung von Jean-Louis Vuille (rechts) mit Prof. Weindlmaier (links) und Prof. Kulozik (Mitte).

Auf Einladung von TetraPak Russland führte Prof. Weindlmaier am 14./15. Oktober 2004 in Moskau einen Workshop zum Thema „Produktionsprogrammplanung in Molkereiunternehmen“ durch. Im Vordergrund stand dabei die Frage, mit welchen methodischen Hilfsmitteln jeweils die optimale Verwertung des Fett- und Proteinanteils in der Milch ermittelt werden kann. Im Rahmen des Workshops wurde gezeigt, wie mit Hilfe der Linearen Optimierung (Programmpaket „What’sBest“) sowie mit dem Instrumentarium Betriebsübersicht entsprechende Fragestellungen gelöst werden können.

### **Workshop zur Wertschöpfungskette Fleisch**

Im Jahr 2004 wurde das vom Bayerischen Staatsministerium für Gesundheit, Ernährung und Verbraucherschutz finanzierte Verbundforschungsprojekt zur Wertschöpfungskette Fleisch unter den Prämissen Produktsicherheit, Qualitätserhaltung und Umweltfreundlichkeit (Homepage: [www.fleisch-mit-sicherheit.de](http://www.fleisch-mit-sicherheit.de)) fortgeführt. Dieses Projekt, an dem drei Lehrstühle/Professuren der Fakultät für Wirtschaftswissenschaften am Standort Weihenstephan beteiligt sind, wird von der Professur für Betriebswirtschaftslehre der Milch- und Ernährungsindustrie koordiniert. Darüber hinaus werden das Teilprojekt 1 „Systemanalyse der Wertschöpfungskette Fleisch“ und Teilprojekt 4 „Schlachtung und Fleischverarbeitung“ von Mitarbeiter(innen) der Professur bearbeitet.

Im Rahmen dieses Projektes fand am 21.07.2004 im Festsaal des Wissenschaftszentrums Weihenstephan ein Workshop für externe Kooperationspartner, Interessenten und Projektbeteiligte statt. Am Workshop nahmen insgesamt 16 externe Teilnehmer von Ministerien, Verbänden sowie aus der Wirtschaft teil. Auf der Basis der Vorträge kam es zu einer intensiven Diskussion, in der u. a. die Aspekte „Möglichkeiten der Umgestaltung der Haltung und Fütterung sowie der Tierhygiene in der Fleischerzeugung“, die „Nutzung der Qualitätsdaten in den Unternehmen der Schlachtung und Fleischverarbeitung“, „Kriterien und Methoden für eine sichere, qualitätserhaltende und umweltfreundliche Schlachtiererfassung, Schlachtung und

Fleischverarbeitung“ sowie der „Zusammenhang zwischen den in Befragungen geäußerten Meinungen und dem tatsächlichen Verbraucherverhalten“ im Vordergrund standen.

## **Medienarbeit**

Am 10.02.2004 fand ein Interview von Prof. Dr. Weindlmaier durch den Bayerischen Rundfunk (Bayern 2) zum Thema „Ursachen es derzeitigen Milchpreisverfalls“ statt.

## **Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen**

### **Weindlmaier, H.**

Mitglied im Fachbereichsrat und in der Fakultätsentwicklungskommission der Fakultät für Wirtschaftswissenschaften der Technischen Universität München.

Vorsitzender im Arbeitskreis Ökonomie der Deutschen Gesellschaft für Milchwissenschaft.

Mitglied im Wissenschaftlichen Beirat Agrarpolitik, nachhaltige Landbewirtschaftung und Entwicklung ländlicher Räume des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, Berlin.

Mitglied im Wissenschaftlichen Beirat des Milchindustrieverbandes in Bonn.

Mitglied im Hauptausschuss Fachbereich Markt & Ernährung der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft (DLG).

Herausgeber der „Agrarwirtschaft, Zeitschrift für Betriebswirtschaft, Marktforschung und Agrarpolitik“.

Mitglied im Advisory Editorial Board of the Hungarian Dairy Journal.

Gewählter Delegierter der Deutschen Gesellschaft für Qualität (DGQ), Frankfurt am Main.

## **Besucher der Professur**

15.03.2004	Frau Dr. Rother und Frau Kratzmair, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft München
26.03.2004	Herr Karsten Grolla, Firma Wild, Heidelberg
22.07.2004	Frau Susanne Nüssel und Herr Dreier, Verband der Bayerischen Privaten Milchwirtschaft e.V.
16.08.2004	Herr Brunner, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, München
30.09.2004	Besprechung mit Herrn Klaus Maack, Herrn Dr. Peter Wilke und Herrn Jesco Kreft von der Unternehmensberatung WMP Consult über die Zukunft der europäischen Milchwirtschaft
13.12.2004	Herr Ministerialrat Heinz Hahn und Herr Dr. Ellner, Bayerisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten

- 18.06.2004 Im Rahmen der „Offenen Tür der Milchwissenschaftliche Forschung Weihenstephan“ wurden den etwa 60 Teilnehmern die aktuellen Forschungsprojekte der Professur vorgestellt. Nach einem allgemeinen Überblick über die Forschungsschwerpunkte der Professur durch Prof. Dr. Weindlmaier wurden durch Dr. Huber, Frau Dipl.Ing.agr. Schmalen und Frau Dipl.-Kffr. Wienert aktuelle Teilprojekte der Professur präsentiert.

## Veröffentlichungen

**Dustmann, H.** (2004): Analyse und Evaluierung der Auswirkungen des Angebots und der Nachfrage nach neuartigen Lebensmitteln auf die Ernährungsindustrie sowie vor- und nachgelagerte Stufen der Wertschöpfungskette. Online im Internet: <http://tumblr.biblio.tu-muenchen.de/publ/diss/ww/2004/dustmann.html>.

**Dustmann, H.** (2004): Zukünftige Marktchancen funktioneller Lebensmittel in Deutschland. In: Deutsche Milchwirtschaft, 55. Jg., Nr. 21, S. 858-860.

**Dustmann, H.; Weindlmaier, H.** (2004): Ansatzpunkte zur Risikominimierung: Risiken der Fleisch und Fleischwarenvermarktung im LEH und bei Metzgereien. In: Fleischwirtschaft, 84. Jg., Nr. 5, S. 169-172.

**Dustmann, H.; Weindlmaier, H.** (2004): Functional Food erobert Anteile. Alle Akteure der Wertschöpfungskette können partizipieren. In: Lebensmittelzeitung, 56. Jg., Nr. 16, S. 3 und S. 64.

**Gabler, S.** (2004): Möglichkeiten zur Verbesserung der Eigenkapitalausstattung in Molkereigenossenschaften. In: Deutsche Milchwirtschaft, 55. Jg., Teil 1, Nr. 12, S. 486-489, Teil 2, Nr. 14, S. 570-574.

**Schmalen, C.; Weindlmaier, H.** (2004): Ein Konzept zur Umsetzung einer erfolgreichen Markteinführung von Produktinnovationen zur Erhaltung der Wettbewerbsfähigkeit in der Ernährungsindustrie – Eine empirische Analyse. In: Schriften der Gesellschaft für Wirtschafts- und Sozialwissenschaften des Landbaues e.V., Band 39, „Perspektiven in der Landnutzung – Regionen, Landschaften, Betriebe – Entscheidungsträger und Instrumente“, S. 403-412.

**Weindlmaier, H.** (2004): Herstellermarken versus Handelsmarken. In: Deutsche Molkereizeitung, 125. Jg., Nr. 22, S. 28-35.

**Weindlmaier, H.** (2004): Künftige ökonomische Rahmenbedingungen der Milchwirtschaft und deren Konsequenzen für Milcherzeuger und Molkereien. In: Lohmann Information, Nr. 3/04, S. 3-10.

**Weindlmaier, H.** (2004): Besprechung des Buches von BALTAS, NICHOLAS, C. (2003): Investment in Processing of Agricultural Products and Food in Greece. In: Agrarwirtschaft. Zeitschrift für Betriebswirtschaft, Marktforschung und Agrarpolitik, 53. Jg., S. 255-256.

**Weindlmaier, H.** (2004): Gemeinsam die Zukunft meistern - Entwicklungen auf dem Milchmarkt und ihre Auswirkungen auf die Molkereigenossenschaften. In: Zeitschrift des Württembergischen Genossenschaftsverbandes, Nr. 7, S. 32-39.

**Weindlmaier, H.** (2004): Auswirkungen der politischen und ökonomischen Rahmenbedingungen der Milchwirtschaft auf die Milcherzeugung und Milchverarbeitung. In: Campina Journal, Ausgabe 2, Juni 2004.

**Weindlmaier, H.** (2004): EU-Osterweiterung: Chancen und Risiken für die deutsche Milch- und Molkereiwirtschaft. In: dmz Deutsche Molkereizeitung, 125. Jg., Nr. 9, S. 3-4.

**Weindlmaier, H.** (2004): Künftige ökonomische Rahmenbedingungen der Milchwirtschaft: Konsequenzen für Erzeugung und Verarbeitung. In: Deutsche Milchwirtschaft, 55. Jg., Teil I: Nr. 10, S. 378-382; Teil II: Nr. 11, S. 430-432.



**Weindlmaier, H.** (2004): Milchwirtschaft vor tiefgreifendem Strukturwandel. In: ZMP AgrarWoche, Nr. 13, 27. März 2004, S. 2-4.

**Weindlmaier, H.** (2004): The consequences of changing conditions of the European dairy sector for the strategies of dairy companies. In: Acta agriculturae Slovenica. Vol. 84, No. 1, December 2004, pp. 63-80.

**Weindlmaier, H.; Dustmann, H.** (2004): Comprehensive quality management systems as a part of an efficient supply chain management in the food sector. In: Schiefer, G.; Rickert, U. (Ed.): Quality Assurance, Risk Management and Environmental Control in Agriculture and Food Supply Networks. Volume A. Bonn: Universität Bonn-ILB Press, pp. 119-127.

**Weindlmaier, H.; Thoroe, C.; Kirschke, D.; Heissenhuber, A. u.a. (Mitglieder des Wissenschaftlichen Beirats)** (2004): Stellungnahme zu den Beschlüssen des Rates der Europäischen Union zur Reform der Gemeinsamen Agrarpolitik vom 26. Juni 2003. In: Berichte über Landwirtschaft – Zeitschrift für Agrarpolitik und Landwirtschaft, Hrsg. Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, Landwirtschaftsverlag GmbH Münster-Hiltrup, Band 82, Heft 2/04, S. 165-172.

**Winkelmann, T.** (2004): Erfolgsfaktoren in der Molkereiwirtschaft. Online im Internet: <http://tumb1.biblio.tu-muenchen.de/publ/diss/wa/2004/winkelmann.html>.

**Winkelmann, T.** (2004): Erfolgsfaktoren in der Molkereiwirtschaft. Betriebs- und marktwirtschaftliche Studie zur Ernährungswirtschaft, Band 12. Kiel: Bundesanstalt für Ernährung und Lebensmittel.

---

## ZIEL – Abteilung Mikrobiologie

---

**Adresse:** Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung  
Abteilung Mikrobiologie  
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](mailto:ziel-mikrobiologie@wzw.tum.de)

**Leitung:** Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Siegfried Scherer

**Sekretariat:** Maria Thole  
Gerlinde Völkel

### Einführung

An der Abteilung Mikrobiologie des ZIEL (Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung) arbeiten wir in der Forschung am Schnittpunkt zwischen Lebensmittel und Ernährung. Einerseits werden Lebensmittel hinsichtlich ihrer mikrobiellen Flora untersucht, wobei Biodiversität und Identifikation von lebensmittelrelevanten Mikroorganismen im Mittelpunkt stehen. Andererseits liegt ein wesentlicher Schwerpunkt der Abteilung auf dem Studium von Krankheitserregern, welche durch Lebensmittel übertragen werden. Verschiedene Arbeitsgruppen befassen sich schwerpunktmässig mit *Listeria*, *Salmonella*, *Bacillus cereus* und pathogenen *Escherichia coli* - Stämmen.

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

Ein wesentlicher Aufgabenbereich der Abteilung erstreckt sich auf Dienstleistungen, insbesondere mikrobielle Diagnostik aller Art für die Lebensmittelindustrie, verbunden mit einer intensiven Beratung bei mikrobiologisch verursachten Produktionsstörungen. Aus diesen Aktivitäten resultierte über die Jahre eine der grössten Mikroorganismensammlungen für lebensmittelrelevante Hefen, Bazillen, coryneforme Bakterien und Listerien (insgesamt etwa 9000 Isolate), welche die Grundlage für die Entwicklung der FT-IR gestützten Identifizierung von Bakterien und Hefen bildet.

## Forschung

### Arbeitsgruppe: Identifizierung lebensmittelrelevanter Mikroorganismen

#### Gruppenleiter: Herbert Seiler

In den vergangenen Jahren wurde vielfach gezeigt, dass sich Mikroorganismen sehr gut mit FTIR-Spektroskopie identifizieren lassen. Die Auflösung reicht auf jeden Fall bis zum Gattungs- und Artniveau, partiell auch zum Subspeciesniveau. Häufig kann man sogar einzelne Stämme mit dieser Methode wieder finden. Diese Identifizierungsmethode hat vielfältige Anwendung gefunden. Zum einen waren Populationsanalysen, beispielsweise von der Käsoberflächenflora relativ einfach durchführbar, zum anderen wurden Populationsdynamiken studiert. Man konnte bestimmen, ob eingesetzte Starterkulturen den Reifungsprozess permanent dominieren oder ob es zu einer Populationsverdrängung durch Wildstämme kommt. In der Abteilung Mikrobiologie bietet unsere Arbeitsgruppe seit Jahren einen Mikroorganismen-Identifizierungsservice für die Lebensmittelwirtschaft an. Diese Dienstleistung wird rege genutzt, insbesondere seit mit dieser spektroskopischen Methode die Analysen schnell, preiswert und präzise durchgeführt werden können.

Ausgehend von einer Reinkultur werden Aerobier innerhalb von einem Tag, Anaerobier innerhalb von zwei Tagen identifiziert. In Zweifelsfällen wurden Bakterien einer 16S-rDNA-Sequenzierung unterworfen. Die Spektren dieser Stämme wurden dann mit der daraus resultierenden exakten Benennung in die Datenbanken integriert. Im Lauf der Jahre haben sich umfangreiche Spektrenbibliotheken entwickelt. Aufgrund der unterschiedlichen Kultivierungsbedingungen für die diversen Keimgruppen mussten mehrere separate Bibliotheken erstellt werden. Auch aus Gründen der besseren Handhabbarkeit wurden für die diversen lebensmittelrelevanten Gattungsgruppen und auch für physiologische Subgruppen separate Spektrensammlungen konzipiert. Mehrere Bibliotheken lassen sich aber auch zu einer zusammenfassen (Kultivierungsbedingung: 1 Tag Bebrütung bei 30°C auf TS-Agar).

#### Keimidentifizierung mit FTIR-Makrospektroskopie - Verfügbarkeit der Spektrenbibliotheken

*Identification of microorganisms with FTIR macrospectroscopy - Disposability of spectral libraries*

Herbert Seiler

Die Spektrenbibliotheken wurden zuletzt gründlich sortiert: Mehrfachbestimmungen wurden entfernt, Lücken geschlossen, zweifelhafte Artnamen durch 16S-rDNA-Sequenzierung abgesichert, die Kennzeichnung vereinheitlicht, exakte Beschreibungen erstellt. Die Datensammlungen sind jetzt allgemein verfügbar und werden durch uns bzw. den Spektroskophersteller (Bruker Optics, Ettlingen) angeboten. Zudem bieten wir Hospitationen in unserem Labor zur Einweisung bzgl. eines optimalen Umgangs und zur Übung an. Interessenten können dabei eine Serie ihrer Stämme in einem einwöchigen Kurs bei uns identifizieren lernen. Separat kann eine Schulung hinsichtlich der konventionellen Identifizierung - z.B. Hefenidentifizierung mit einem Mikrotiterplattensystem - oder der aktuellen 16S-rDNA-Sequenzierung erfolgen.

Jede Spektrenbibliothek ist in Form einer CD-ROM verfügbar. Diese enthält die Originalspektren mit erster und zweiter Ableitung, evtl. aus dieser Bibliothek separierte Sub- bzw.

Teilbibliotheken, die zugehörigen FAA-Dateien für die Identifizierungs-Software OPUS, eine oder mehrere EXCEL-Dateien mit Auflistungen der Objekte, eine umfassende Allgemeinbeschreibung der FTIR-Spektroskopie-Methode und eine spezifische Beschreibung zur jeweiligen Spektrenbibliothek mit exakten Anwendungsinstruktionen. Liefer- und Lizenzbedingungen sowie Auflistungen der Stämme können abgefragt werden. Jährliche Updates der bestehenden Datenbanken werden in Aussicht gestellt: das Keimpektrum in den bereits verfügbaren Sammlungen wird jeweils erweitert werden; andere z.Z. noch rudimentäre Sammlungen werden zur Marktreife gebracht; weitere neue Keimgruppen werden bearbeitet; bestehende Bibliotheken werden auch für alternative Agarmedien validiert; in bestehende Bibliotheken werden exemplarisch gruppenfremde Keime zur Irrtumserkennung eingefügt; die Auswertelgorithmen werden überarbeitet bzw. auf eine neue Basis gestellt (neuronalen Netzwerke). Folgende Spektrenbibliotheken sind verfügbar: Hefen, Coryneforme, Bazillen, Pseudomonadaceae, Enterobakterien, Essigsäurebakterien, Milchsäurebakterien, Listerien und Bifidobakterien.

### **Populationsanalyse eines undefinierten Starters für Emmentaler Käse mit FTIR- Mikrospektroskopie**

*Population analysis of an undefined starter for Emmentaler cheese by FT-IR microspectroscopy*

Mareike Wenning, Siegfried Scherer

FTIR-Mikrospektroskopie kombiniert FTIR-Spektroskopie mit Mikroskopie und ist eine verhältnismäßig neue Technik zur Identifizierung von Mikroorganismen anhand des Vergleichs mit Referenzspektren einer Datenbank. Das Spannende an der Technik ist die Messung von relativ jungen Mikrokolonien (ca. 100 µm Durchmesser), die durch eine simple Stempeltechnik von der Agarplatte direkt auf einen IR-transparenten Probenträger überführt werden. Da für die Bildung von Mikrokolonien eine verkürzte Inkubationsdauer ausreichend ist, wird eine schnellere Identifizierung als mit herkömmlichen, kultivierungsabhängigen Methoden möglich. Zudem kann der bislang für eine Identifizierung notwendige Isolierungsschritt übersprungen werden, was die schnelle quantitative Analyse gemischter mikrobieller Konsortien gestattet.

Wir haben diese Methode auf eine lebensmittelmikrobiologische Fragestellung aus der Molkereiwirtschaft angewendet. Eine undefinierte Starterkultur für die Herstellung von Emmentaler Käse und zwei Proben aus dem Anfangsstadium der Emmentaler-Produktion wurden auf ihre Zusammensetzung untersucht. Im Besonderen sollte die Frage geklärt werden, ob sich die eingesetzte Kultur aus verschiedenen Stämmen zusammensetzt und ob diese sich während der Säuerung unterschiedlich entwickeln. Zudem galt es zu ermitteln, ob Organismen, die nicht Bestandteil der Starterkultur waren, im Käse detektiert werden können.

Die Identifizierung von 60 Isolaten der Starterkultur durch FTIR-Spektroskopie ergab jeweils zwei Stämme der Arten *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *lactis*, wobei die Kultur insgesamt aus 93% *Str. thermophilus* und 7% *Lb. delbrueckii* zusammengesetzt war. 18 Isolate wurden mit ihren Spektren in einer bereits bestehenden Datenbank für die Identifizierung von Milchsäurebakterien mit FTIR-Mikrospektroskopie hinterlegt und dienten als Referenzen für die folgenden Populationsanalysen. Die Zusammensetzung der Milchsäurebakterienpopulation während der Produktion des Emmentalers wurde direkt vor und nach dem Pressen des Quarks erfasst. Die ermittelte Keimzahl vor dem Pressen lag bei

$3,1 \times 10^6$  KbE/g auf APT-Agar (Kokken und Stäbchen) und bei  $3,9 \times 10^5$  KbE/g auf MRS-Agar (nur Stäbchen), die Zahl der Stäbchen betrug demnach also nur ca. 13% der Gesamtflo-  
ra. Nach Beendigung des Pressens, aber noch vor dem Salzbad, wurde die zweite Probe ge-  
nommen. Die Keimzahl betrug  $6,1 \times 10^8$  KbE/g auf APT-Agar und  $5,7 \times 10^8$  KbE/g auf MRS-  
Agar; die Flora war somit nahezu ausschließlich aus Stäbchen zusammengesetzt.

Für die Identifizierung der Organismen auf Stammebene wurden pro Probe 270 bzw. 197  
Mikrokolonien mit FTIR-Mikrospektroskopie gemessen und mit Hilfe der Datenbank identi-  
fiziert. Zudem erfolgte eine Darstellung der Ähnlichkeitsverhältnisse der erhaltenen Spektren  
mittels Clusteranalyse. Abbildung 1 zeigt diese für die Flora im Quark vor dem Pressen. Die  
Spektren von *Str. thermophilus* bildeten in der Clusteranalyse zwei klar voneinander separier-  
te Cluster, von denen eines – bezeichnet als Stamm B – einem bereits in der Starterkultur de-  
tektierten Stamm zuzuordnen war und einen Anteil von 36% an der Flora hatte. Die Spektren  
des anderen Clusters – bezeichnet als Stamm A – wurden hingegen durch keinen der zuvor  
aus der Starterflora isolierten, sondern durch weitere in der Datenbank vorhandene Stämme  
identifiziert. Der Anteil dieses Stammes an der Flora betrug 50%. Stamm 2 aus der Starterkul-  
tur konnte nicht mehr detektiert werden. Die Spektren von *Lb. delbrueckii* clusterten enger als  
die von *Str. thermophilus*, konnten jedoch anhand der Identifizierungen in drei verschiedene  
Stämme differenziert werden. Stamm C + D entsprachen je einem Stamm aus der Starterkul-  
tur und hatten 6% bzw. 7% Anteil an der Population. Die Spektren von Stamm E mit 1% An-  
teil an der Flora konnten keinem bereits bekannten Stamm eindeutig zugeordnet werden. Die  
nach dem Pressen des Quarks ermittelte Population bestand zu 97,7% aus *Lb. delbrueckii*  
Stamm C, 0,1% *Str. thermophilus* Stamm A und 2,2% nicht identifizierbaren Spektren.

Der Vergleich der Flora im Käse mit der Starterkultur hat gezeigt, dass nicht nur die Entwick-  
lung der verschiedenen Stämme einer Art während der Produktion unterschiedlich gut war,  
sondern außerdem Organismen nachgewiesen werden konnten, die nicht in der Ausgangskul-  
tur enthalten waren. So konnte *Str. thermophilus* Stamm A nicht mit der Kultur in Verbindung  
gebracht werden. Er könnte in dieser bei der Analyse aufgrund zu geringer Zellzahl nicht er-  
fasst worden sein oder aber während der Anzucht der Betriebskultur, die über eine Stammkul-  
tur aus dem gefrorenen Stock gezogen wird, in die Flora gelangt sein. Die Stamm- und Be-  
triebskultur wurden im vorliegenden Fall jedoch nicht untersucht. Die starke Verschiebung  
der Floraverhältnisse während der Säuerung von einer *Str. thermophilus*-Dominanz zu der  
mehr als deutlichen *Lb. delbrueckii*-Dominanz ist ausgesprochen auffällig. Die absolute  
Keimzahl von *Str. thermophilus* vor dem Pressen – errechnet aus der Gesamtkeimzahl und  
dem Anteil von *Str. thermophilus* an der Flora – betrug etwa  $3 \times 10^6$  KbE/g, nach dem Pres-  
sen jedoch nur noch etwa  $6 \times 10^5$  KbE/g. Sie ist also um den Faktor fünf gesunken, obwohl  
eigentlich Wachstum hätte stattfinden sollen. Die Ursache zu diesem Rückgang könnte in  
einer Autolyse der Organismen aufgrund im Medium zur Neige gehender Lactose liegen.

Diese hier präsentierten Ergebnisse zeigen, dass FTIR-Mikrospektroskopie eine Technik mit  
außerordentlich großem Potential für die Analyse begrenzt komplexer Populationen im Le-  
bensmittel ist. Nicht nur ermöglicht sie die stammspezifische Identifizierung von Mikroorga-  
nismen, sondern erlaubt über den hohen Automatisierungsgrad die Durchführung von Analy-  
sen, für die mit herkömmlichen Methoden mehrere Wochen benötigt werden, innerhalb weniger  
Tage. Über den Einsatz adaptierter Datenbanken ist ein Monitoring von Reifungskonsortien

oder Starterkulturen in regelmäßigem Turnus möglich und die Entwicklung von Kulturen während der Produktion kann verfolgt werden.

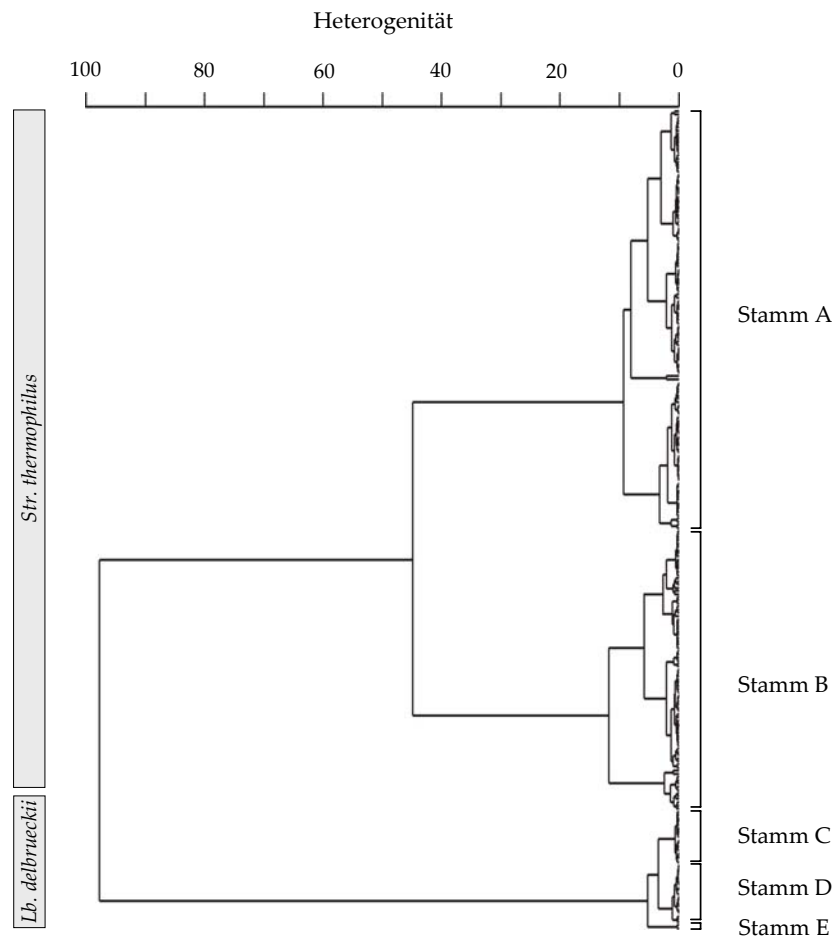


Abb. 1: Zusammensetzung der Flora im Quark vor dem Pressen. Stamm A: *Str. thermophilus*, entstammt nicht dem Starter; Stamm B: *Str. thermophilus*, entspricht Stamm 1 aus dem Starter; Stamm C: *Lb. delbrueckii*, entspricht Stamm 3 aus dem Starter; Stamm D: *Lb. delbrueckii*, entspricht Stamm 4 aus dem Starter, Stamm E: *Lb. delbrueckii*, keinem Starter zuzuordnen.

### Entwicklung eines FTIR basierten, schnellen Identifizierungssystems für *Listeria Species* Development of a fast identification system for *Listeria species* using Infrared spectroscopy

Cecilia Rebuffo, Siegfried Scherer und Herbert Seiler

Der Nachweis von *Listeria* auf Speziesebene ist eine wichtige Aufgabe in der Lebensmittelindustrie und klinischen Mikrobiologie. Bei den konventionellen Methoden liegt das Ergebnis in vielen Fällen erst nach 6 bis 8 Tagen vor. Zur Beschleunigung des Nachweises wurden

etliche Schnellmethoden entwickelt, die sich jedoch kostenintensiv sind und sich auf eine Differenzierung von *Listeria monocytogenes* beschränken.

FT-IR Spektroskopie ist eine Identifizierungsmethode mit geringem Kosten- und Arbeitsaufwand zur schnellen Identifizierung von Mikroorganismen. Die Aufgabe, spezies- oder stamm-spezifische Merkmale aus dem komplexen Infrarotspektrum zu extrahieren, ist nur durch Anwendung von Korrelations- oder multivariaten, statistischen Verfahren in Verbindung mit Clusteranalysen oder Neuronalen Netzen möglich. Hierbei werden im Prinzip Referenzspektrenbibliotheken von gut charakterisierten Stämmen angelegt und die Identifizierung erfolgt über einen Vergleich mit diesen Referenzspektren. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden systematisch FT-IR - makrospektrometrische Messungen von 171 verschiedenen *Listeria*-Stämmen durchgeführt. Ziel der Messungen war es, eine Referenzspektrenbibliothek zu etablieren, um zu untersuchen, ob sich die FT-IR Spektrometrie als schnelle Nachweismethode zur Identifizierung von *Listeria monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri* und *L. welshimeri* eignet.

Die Bibliothek wurde unter Verwendung von 171 Stämmen, die aus offiziellen Sammlungen stammen oder aus Lebensmitteln isoliert wurden, aufgebaut und anschließend unter Anwendung statistischer Techniken ausgewertet. Zur Unterscheidung einzelner Spezies wurden drei Spektralbereiche ( $3030\text{-}2830\text{ cm}^{-1}$ ,  $1650\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$  und  $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ ) aufgrund spezies-spezifischer Zellzusammensetzungen ausgewählt. Die Identifizierungsqualität der so aufgebauten Datenbank wurde mit einer externen Validierung geprüft, die als cross-Validierung mit der leave-one-out- Methode durchgeführt wurde. Tabelle 1 zeigt, dass für den Großteil der Isolate eine korrekte spezies-spezifische Zuordnung erfolgt.

Tab.1: Identifizierungserfolg von *Listeria* auf Speziesebene durch FT-IR Makrospektroskopie. Eine Referenzspektrenbibliothek von 171 Stämmen wurde bei der externen Validierung zugrunde gelegt.

Spezies	Zahl der Referenz-Stämme	1) Externe Validierung	
		% Richtig Identifiz.	% Miss-Identif.
<i>L.innocua</i>	47	99,4	0,6
<i>L.ivanovii</i>	40	95	5
<i>L.monocytogenes</i>	40	91	9
<i>L.seeligeri</i>	27	96	4
<i>L.welshimeri</i>	17	98	2
Total	171	95,6	4,4

Die Miss-Identifizierung von 9% der *L. monocytogenes* Isolate ist jedoch noch unbefriedigend. Die Messung weiterer, in der Bibliothek noch nicht vertretener spektraler Typen ist daher erforderlich. In einem geplanten FEI-Projekt ist die Anwendung von künstlichen neuronalen Netzen als überwachte Klassifizierungstechnik zur Identifizierung geplant. Die bereits vorhandene Datenbasis von *Listeria*- Spektren muss in jedem Fall erweitert werden, um eine möglichst breite spektrale Varianz der Organismen abzudecken. Zusammenfassend lässt sich aufgrund unserer ermutigenden Ergebnisse bereits jetzt sagen, dass der Einsatz der FT- IR

Makrospektroskopie als potenziell schnellere Alternative für die automatisierte Identifizierung von *Listeria*-Spezies in der Lebensmittelindustrie und klinischen Diagnostik eine kurzfristig zu realisierende Perspektive darstellt.

## **Arbeitsgruppe: Toxinbildung und Identifizierung von *Bacillus cereus***

### **Gruppenleiterin: Monika Ehling-Schulz**

Das endosporenbildende Bakterium *Bacillus cereus* ist in der Milchindustrie und weiteren Zweigen der Lebensmittelindustrie eine ernstzunehmende Kontaminationsquelle. Da einige *B. cereus* Stämme Toxine produzieren, die gastrointestinale Erkrankungen hervorrufen, stellen diese bakteriellen Kontaminanten für den Konsumenten eine potentielle Gefahr dar. Das Toxizitätspotential der Stämme ist jedoch sehr unterschiedlich, so reicht das Spektrum von Stämmen, die als Probiotika Futtermitteln zugesetzt werden, bis zu stark toxischen Stämmen, die bereits für Todesfälle verantwortlich waren.

Prinzipiell kann *B. cereus* zwei Formen von Lebensmittelvergiftungen hervorrufen: Emesis und Diarrhöe. Das hitzestabile emetische Toxin Cereulid löst Erbrechen aus, während hitzelabile Enterotoxine Diarrhöe zur Folge haben. In der Regel sind die Beschwerden nach einem Tag abgeklungen, aber es gibt auch schwere Fälle, die einer klinischen Behandlung bedürfen und in einzelnen Fällen auch den Tod zur Folge haben. Die genaue Erfassung von Daten bezüglich Lebensmittelvergiftungen, die durch *B. cereus* verursacht wurden ist sehr schwierig, da Verwechslungen mit anderen Lebensmittelpathogenen möglich sind. So weist der emetische Typ der Erkrankung die gleichen Inkubationszeiten und Symptome wie *Staphylococcus aureus* Intoxikationen auf, wohingegen der diarrhöische Typ die Symptome einer *Clostridium perfringens* Infektion widerspiegelt. Zum Nachweis der Diarrhöe verursachenden Enterotoxine gibt es kommerziell erhältliche immunologische Assays und molekulare Nachweissysteme, wohingegen entsprechende Systeme zum schnellen und einfachen Nachweis von emetische *B. cereus* Stämme für Routinelabors nicht verfügbar sind.

Molekulare Untersuchungen und Populationsstudien, die im Rahmen eines EU Projektes (QLK1-CT-2001-00854) durchgeführt wurden, bilden die Grundlage zur Entwicklung von schnellen, routinetauglichen Nachweissystemen für toxische *B. cereus* Stämme.

### **Molekularer Assay zum Nachweis emetischer *Bacillus cereus* Stämme in Lebensmitteln**

#### *Molecular assay for detection of emetic Bacillus cereus strain in food*

Martina Fricker, Siegfried Scherer, Monika Ehling-Schulz

Aufgrund seines ubiquitären Vorkommens und der Hitzeresistenz seiner Sporen ist *Bacillus cereus* in vielen rohen, teilverarbeiteten aber auch pasteurisierten Lebensmitteln nachweisbar. Toxinbildende Vertreter dieser Spezies sind häufig für lebensmittelbedingte Erkrankungen des Gastrointestinaltrakts verantwortlich. Da *B. cereus* Sporen nicht durch Pasteurisierungsverfahren oder einfache sanitäre Maßnahmen eliminiert werden können, ist es aus der Sicht des Verbraucherschutzes und der Lebensmittelsicherheit notwendig, gefährliche toxinbildende Stämme von nicht toxischen Vertretern der Spezies *B. cereus* zu unterscheiden.



Im Zuge eines Screeningverfahrens haben wir kürzlich ein für emetische *B. cereus* spezifisches DNA-Fragment entdeckt, auf dessen Grundlage ein PCR-Nachweissystem entwickelt wurde. Die Spezifität dieses Nachweissystems konnte in einem Screening von über 200 Stämmen (*B. cereus*, *B. cereus* Gruppe, *Bacillus* sp. und andere Lebensmittelpathogene) bestätigt werden. Allerdings setzt das dem Assay zugrunde liegende Versuchsprotokoll eine Isolation der Bakterien voraus, deswegen sollen in weiterführenden Arbeiten routinetaugliche Assays zum direkten Nachweis von toxinbildenden *B. cereus* Stämmen in Lebensmitteln etabliert werden. Reis diente als Modellsystem, da dieser die Hauptursache für emetische Lebensmittelvergiftungen ist. Hierzu wurden die in Abb. 1 dargestellten Versuchsanordnungen getestet. Als Inokulum wurde der emetische Referenzstamm *B. cereus* F4810/72 verwendet. Mit Versuchsanordnung **A** und **B** wurde die Lagerung von Reis bei Raumtemperatur (RT) und im Kühlschrank simuliert. Anordnung **C** diente zur Darstellung des Wachstumsverlaufs von *B. cereus* in Reis während der Anreicherung und zur Ermittlung der Nachweisgrenzen des PCR-Assays.

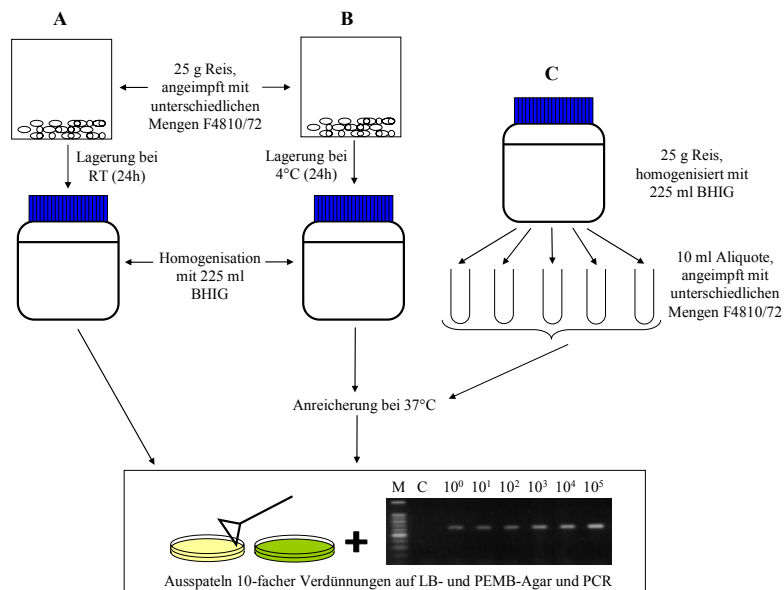


Abb. 1: Versuchsschema für die Anreicherung und den Nachweis emetischer *B. cereus* in Reis (Erläuterungen siehe Text).

In der Anreicherung bei 37°C konnten die gleichen Wachstumsraten bei Versuchsanordnung **B** und **C** (siehe Abb. 1) beobachtet werden. Für die Etablierung des PCR Systems wurde daher Versuchsanordnung **C** gewählt. Die Ergebnisse aus den Kontaminationsstudien zeigten, dass bereits geringe Kontaminationen von emetischen *B. cereus* (10kbe/g Reis) nach einem Anreicherungsschritt von 6 Stunden und einer einfachen DNA Schnellisolationmethode mit dem optimierten PCR Assay innerhalb eines Arbeitstages nachweisbar sind. Liegen höhere Kontaminationsraten vor, wie sie häufig im Zusammenhang mit Lebensmittelvergiftungen beobachtet werden, ist ein direkter Nachweis im Lebensmittel, ohne vorhergehende Anreicherung innerhalb von 3 Stunden möglich. Im nächsten Schritt soll nun das Gesamtprotokoll auf Lebensmittelarten mit höherem Fett- und Proteinanteil, wie z.B. Milch, Molkepulver und

Milchreis, optimiert werden. Des Weiteren wird das Potential von Real Time PCR genutzt, um den Arbeitsaufwand zu minimieren und die Nachweiszeit zu verkürzen.

Dieses Vorhaben wird aus Mitteln des Sondervermögens der Milch - und Fettwirtschaft in Bayern (Bayrisches Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten) gefördert.

### Molekulare Grundlagen der emetischen Toxinproduktion in *Bacillus cereus*

#### *Molecular basis of emetic toxin production in Bacillus cereus*

Monika Ehling-Schulz, Harald Grallert, Monica Dommel Grinnell, Siegfried Scherer

Cereulid, das emetische Toxin von *Bacillus cereus* ist ein kleines zyklisches Depsipeptid, ([D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val-L-Val]<sub>3</sub>), das chemisch dem Antibiotikum Valinomycin sehr ähnlich ist. Die in dem Molekül auftretenden alternierenden Ester- und Peptidbindungen deuten auf eine biochemische Synthese mittels multimodularer Enzymkomplexe, sog. nicht-ribosomaler Peptidsynthetasen (NRPS), hin. Die einzelnen Module dieser *in vivo* „Peptidfabriken“ erkennen und aktivieren jeweils spezifische Aminosäuren bzw. deren Derivate. Kürzlich gelang es uns mittels degenerativer PCR einen Teil der Cereulidsynthetasegene in einem emetischen *B. cereus* Stamm zu amplifizieren und mit Hilfe von Insertionsmutagenesestudien zu verifizieren (Abb.1). Die Gesamtsequenz der Cereulidsynthetase(*ces*)- Gene, wurde mittels inverser PCR und sog. „Module jumping“ ermittelt. „Module jumping“ bezeichnet eine Technik, bei der ein spezifischer Oligonukleotidprimer, der in der bekannten Sequenz bindet, mit einem degenerativen Primer, der in einem konservierten Motiv der unbekanntenen Sequenz binden soll, kombiniert wird. Die Reihenfolge der Module in einer NRPS entspricht i.d.R. der Reihenfolge der Monomere in dem gebildeten Peptid, und jeweils ein Modul ist für die Aktivierung und den Einbau einer spezifischen Aminosäure verantwortlich. *In Silico* Analysen der abgeleiteten Aminosäuresequenzen der *ces* Gene zeigten, dass die Cereulidsynthetase den typischen modularen Aufbau von bakteriellen NRPS aufweist. Allerdings sind in die Aktivierungsdomänen der Heterokomponenten (D-O-Leu und L-O-Val) größere Bereiche eingeschoben, die keine Homologien zu bekannten Sequenzen in Datenbanken aufweisen und deren Funktion unbekannt ist.

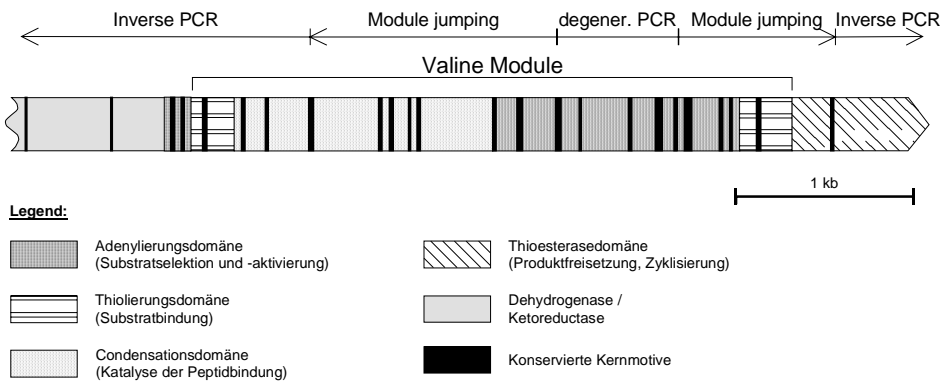


Abb. 1: C-Terminus der Cereulidsynthetase. Die Cereulidsynthetase ist der für die emetische Toxinbildung in *Bacillus cereus* verantwortliche Multienzymkomplex

In den letzten Jahren wurde zwar eine Vielzahl bakterieller NRPS beschrieben und ihre Substratspezifitäten experimentell ermittelt, allerdings blieb die Regulation dieser Enzymkomplexe weitgehend ungeklärt. Erste Untersuchungen zur Genregulation der Cereulidsynthetase in starken und schwachen Toxinproduzenten deuten darauf hin, dass die Regulation der Toxinproduktion nur zum Teil auf der Transkriptionsebene stattfindet, es darüber hinaus aber noch weitere Regulationsebenen der Toxinsynthese gibt. Umfangreiche biochemische und molekularbiologische Untersuchungen werden daher noch nötig sein, um den genauen Mechanismus der Cereulidproduktion *in vivo* aufzuklären und das sehr unterschiedliche Toxizitätspotential verschiedener emetischer Stämme zu verstehen.

### **Untersuchungen zur Populationsstruktur des Lebensmittelpathogens *Bacillus cereus***

*Analysis of the population structure of food poisoning Bacillus cereus*

Monika Ehling-Schulz et al

In zunehmendem Maße wird die Bedeutung von *Bacillus cereus* als verursachendes Agens gastrointestinaler als auch nicht-gastrointestinaler Erkrankungen erkannt. Zur genetischen Variabilität von klinischen *B. cereus* aus systemischen Infektionen, Wundinfektionen oder auch dentalen Erkrankungen wurden bereits einige Populationsstudien durchgeführt, wohingegen die Populationsstruktur von lebensmittelpathogenen *B. cereus* gänzlich unbekannt blieb. Um jedoch die Epidemiologie von *B. cereus* verursachten Lebensmittelvergiftungen zu verstehen, sind Populationsanalysen unerlässlich. Solche Studien können auch dazu beitragen die Diagnostik bei Lebensmittelvergiftungen und die Kontrollmöglichkeiten von Lebensmitteln zu verbessern.

Im Rahmen eines EU Projektes wurde eine umfassende Studie durchgeführt, um einen Einblick in die Populationsstruktur von toxischen, lebensmittelpathogenen *B. cereus* zu gewinnen. Dazu wurden 90 Isolate aus verschiedensten geographischen Regionen mittels genotypische (M13-PCR, RAPD (Random amplification of polymorphic DNA), MLST (Multilocus sequence typing)) und phenotypische Methoden (FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy), Protein- und Toxin-Profil, Biochemische Tests) untersucht. Die durchgeführten Clusteranalysen zeigten, dass die emetischen cereulidproduzierenden Isolate alle in ein einziges, distinktes Cluster fallen, unabhängig von der gewählten Typisierungsmethode (Abb.1). Isolate, die dieser „emetischen *B. cereus* Untergruppe“ angehören, sind stärke-negativ, zeigen keine Salicin-Fermentation, besitzen keine *hbl* Gene und zeigen nur eine geringe oder gar keine Hämolyse. Im Gegensatz dazu weisen die hämolytischen enterotoxinbildenden *B. cereus* Isolate einen hohen Heterogenitätsgrad auf und streuen über verschiedene Cluster, wenn verschieden Typisierungsmethoden angewandt werden.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass emetische cereulide - produzierende *B. cereus* eine klonale Populationsstruktur aufweisen. Der mangelnde Grad an molekularer Heterogenität der innerhalb dieser Gruppe beobachtet wurde, kann ein Hinweis darauf sein, dass emetische *B. cereus*, neben *B. anthracis*, einen zweiten klonalen Komplex innerhalb der *Bacillus cereus* Gruppe repräsentieren, der sich durch die Akquirierung von spezifischen Virulenzfaktoren herausgebildet hat. Um jedoch die genaue evolutive Entwicklung dieser pathogenen *B. cereus* Linie aufzuklären, sind weitere Untersuchungen zur Gesamtpopulationsstruktur der *B. cereus* Gruppe notwendig.

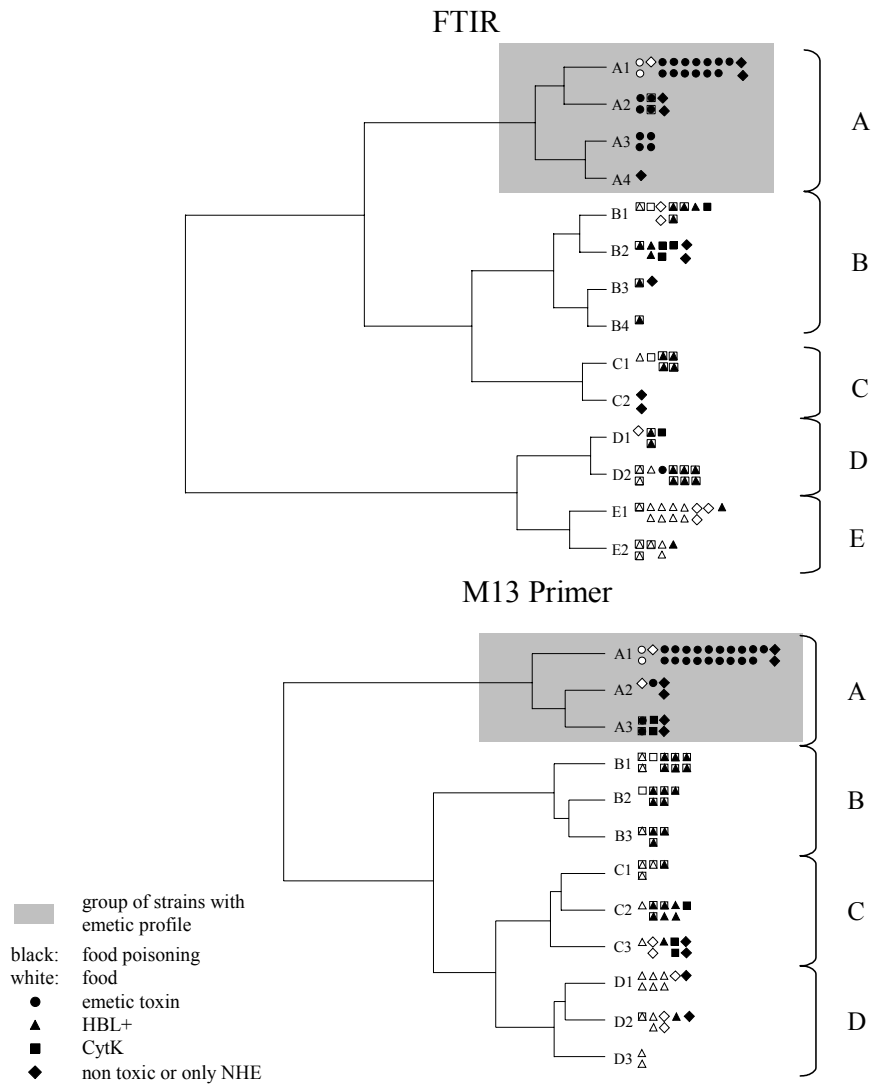


Abb. 1: Phänotypischen (FTIR) und genotypischen (M13 Primer) Charakterisierung lebensmittelpathogener *Bacillus cereus* Isolate.

## Arbeitsgruppe: Funktionale Genomstudien an Salmonellen und Listerien

**Gruppenleiter: Thilo M. Fuchs**

Ende 2004 lagen die DNA-Sequenzen von über 170 bakteriellen Genomen vor. Damit steht der Wissenschaft eine Fülle neuer Daten zur Verfügung, die in kürzester Zeit zu neuen Erkenntnissen über Mikroorganismen in Bezug auf Evolution, Umweltpassung, horizontalen Gentransfer oder spezifische Pathogenitätsfaktoren geführt haben. Diese in den vergangenen

Jahren durchgeführten Sequenzierungen haben ein überraschendes Ergebnis zu Tage befördert: je nach Organismus sind 20-40% der gefundenen Gene bislang nur unzureichend charakterisiert oder waren bislang vollständig unbekannt. Das bedeutet aber, dass eine ganze Reihe von zellulären Prozessen bei Bakterien unentdeckt ist. Im Folgenden werden mehrere Beispiele dafür vorgestellt, wie für einige dieser Gene eine vorläufige Funktionszuordnung durchgeführt werden kann, der dann in ausgewählten Einzelfällen eine detaillierte biologische Charakterisierung folgt.

### “Screening” des *Salmonella*-Genoms nach Genen, die zum intrazellulären Überleben und Wachstum beitragen

*Screening the Salmonella genome for genes contributing to intracellular survival and growth*

Jochen Klumpp, Thilo M. Fuchs

Die Enteritis-Salmonellose des Menschen gehören zu den bedeutendsten Infektionskrankheiten des Gastrointestinaltraktes. Sie werden durch eine Vielzahl verschiedener Salmonellen verursacht, die in der Regel vom Tier auf den Menschen übertragen werden. Obgleich die meisten Salmonellen ihren originären Standort vorwiegend bei verschiedenen landwirtschaftlich genutzten Tierarten besitzen, überdauern sie dort oft subklinisch bzw. symptomlos und lösen erst beim Menschen Gastroenteritis aus. Unser zunehmendes Wissen über die molekularbiologischen Mechanismen, die einer *Salmonella*-Infektion zugrunde liegen, wird in Zukunft eine verbesserte Bekämpfung der Enteritis-Salmonellose ermöglichen. Es kann sogar daran gedacht werden, durch gezielten Knockout an der Virulenz beteiligter Gene („Attenuation“) einen Salmonellen-Stamm zu erzeugen, der als Impfstoff-Träger eingesetzt wird. Dabei dient der nicht mehr krankheitsauslösende *Salmonella*-Stamm als Vehikel, um das Antigen eines anderen Bakteriums oder Virus in die Nähe von Zellen des Immunsystems zu bringen. Wir entwickelten einen neuen „Screening“-Ansatz, um solche Gene zu identifizieren, die an der intrazellulären Vermehrung von *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. typhimurium*) beteiligt sind. Dieser Ansatz basiert auf einem genetischen System, das auf dem Prinzip der homologen Rekombination beruht und zur genomweiten insertionalen Mutagenese eingesetzt wird. Dazu wurden kurze, chromosomale Fragmente in einen temperatursensitiven Vektor kloniert; durch insertionale Duplikationsmutagenese, gefolgt von einem Selektionsschritt bei nicht permissiver Temperatur, wurden 9125 individuelle Mutanten erzeugt (Abb. 1).

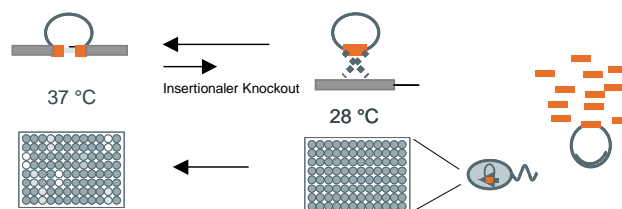


Abb. 1: Mutagenese durch insertionalen Knockout. Chromosomale Fragmente, die kürzer sind als ein durchschnittliches Gen, werden in einen Vektor kloniert, der bei 37°C nicht mehr replizieren kann. Die Integration des kompletten Vektors und damit die insertionale Mutagenese erfolgt ortsspezifisch über homologe Rekombination.

Wir wollten nun wissen, welche Gene am Überleben und der Replikation von *S. typhimurium* in Makrophagenzellen, die eine wichtige Zwischenstation bei einer Infektion des Menschen sind, beteiligt sind. Dazu suchten wir im Hochdurchsatzverfahren nach Mutanten, die nach Infektion von Makrophagen ein abgeschwächtes Wachstumsverhalten (Attenuation) zeigten. Der ausgeprägt attenuierende Effekt einiger Insertionsmutanten ist in Abbildung 2 gezeigt.

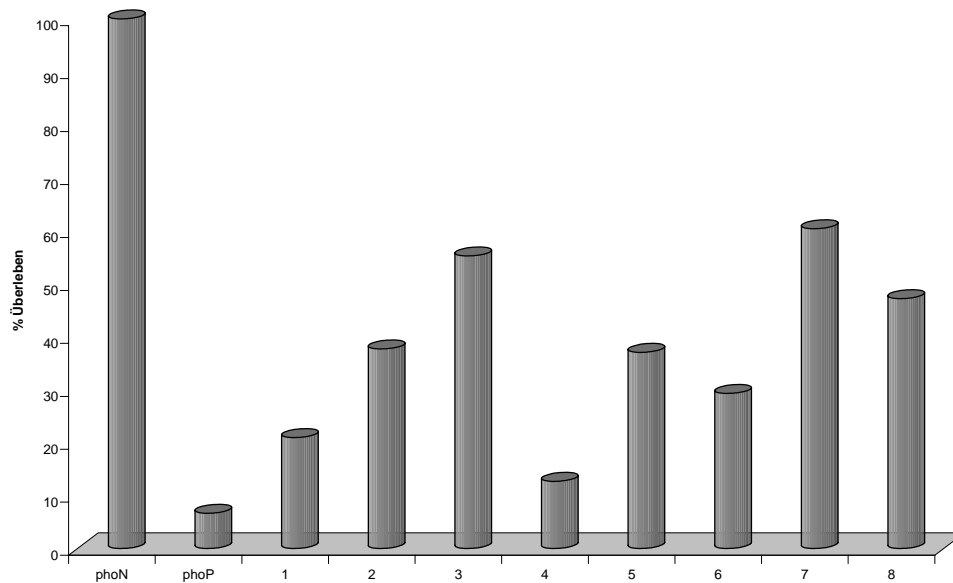


Abb. 2: Übersicht über die relativen Überlebensraten ausgesuchter Insertionsmutanten verglichen mit einer wildtypischen Mutante (*phoN*). Als Negativkontrolle diente eine bekanntermaßen stark attenuierte Mutante (*phoP*). Deutlich ist die hohe Varianz dieser Mutanten in Bezug auf ihr intrazelluläres Replikationsverhalten zu erkennen.

Dieser Makrophagen-Infektionsassay erlaubte uns die Testung aller 9125 Mutanten, von denen 438 Klone in ihrer intrazellulären Replikationsfähigkeit stark beeinträchtigt waren. Diese Mutanten wurden mittels PCR-Amplifikation des ursprünglichen Fragmentes und dessen anschließender Sequenzierung weiter charakterisiert. Anschließend wurde eine Genomkarte von *S. typhimurium* erstellt, in der bereits bekannte Virulenzfaktoren, darunter die sog. Pathogenitätsinseln, mit den von uns identifizierten Genen abgeglichen wurde. Wir definierten schließlich eine Reihe von möglichen neuen Faktoren, die am intrazellulären Überleben von *Salmonella* Stämmen maßgeblich beteiligt sind, unter ihnen solche, deren Funktion bislang unbekannt war. Die Abbildung 3 zeigt die funktionale Gliederung dieser Gene, die nach einem Knockout zur Attenuation von *S. typhimurium* führen.

In der Folge wurden aus der Vielzahl an gefundenen Genen einige für die weitere Validierung ausgewählt. Hierbei interessieren uns vor allem „hot-spots“, also Regionen im *Salmonella*-Genom, in denen attenuierende Gene in enger Nachbarschaft liegen. Durch sog. „In-frame-Deletionen“ werden diese Gene präzise aus dem Genom ausgeschnitten. Durch den Vergleich mit Daten anderer pathogener Organismen wie Listerien wollen wir ein genaueres Bild der Vorgänge bei der intrazellulären Replikation dieser Bakterien zeichnen.

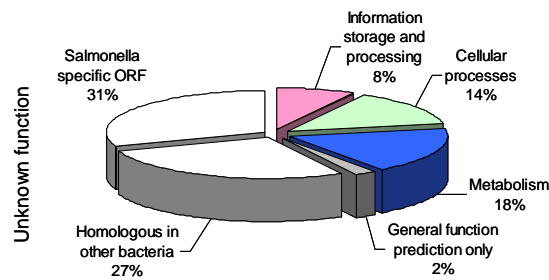


Abb. 3: Gruppierung der identifizierten *Salmonella*-Gene, die eine Rolle beim intrazellulären Überleben spielen. Die Mehrzahl der Gene fällt in die Kategorien Transport, Metabolismus und Regulation. Für etwa 30% der identifizierten Sequenzen konnten wir keine Homologie zu Proteinen anderer Bakterien feststellen.

### Genomweite Mutagenese eines Gram-negativen Bakteriums: Definition des essentiellen Gensets von *Salmonella typhimurium*

*Genome-wide mutagenesis of a Gram-negative bacterium: definition of the essential gene set of Salmonella typhimurium*

Thilo M. Fuchs, Patrick Schiwiek, Samir Velagic

Das oben beschriebene Verfahren zur Herstellung einer genomweiten Mutantenbank wurde von uns in eine Strategie zur Identifikation essentieller Gene integriert. Unter essentiellen Genen verstehen wir Gene, die auch unter Laborbedingungen für das Bakterium nicht verzichtbar sind. Solche Gene sind generell Zielpunkte für Antibiotika. Diese Strategie beinhaltet i) die genannte Knockout-Mutagenese, ii) das „Screening“ einer kompletten Mutantenbank nach letalen Insertionsereignissen, und iii) die Identifikation geeigneter und neuer antibakterieller Targets.

Die in einem konditional replizierenden Vektor vorliegende Fragmentbank wurde in *S. typhimurium* transformiert; die unter permissiven Bedingungen kultivierten Transformanten wurden vereinzelt und als Referenzbank gesichert. Eine im 96-Well-Format vorliegende Kopie dieser Bank wurde anschließend unter nicht-permissiven Bedingungen selektiert. In diesem Schritt überlebten nur solche Klone, bei denen a) ein Rekombinationsereignis eingetreten war und b) dieses Rekombinationsereignis keine letalen Folgen für den betroffenen Klon hatte. In den Fällen, in denen aufgrund der insertionalen Rekombination keine überlebensfähigen Bakterien auffindbar blieben, waren offenbar essentielle Gene betroffen (Abb. 1).

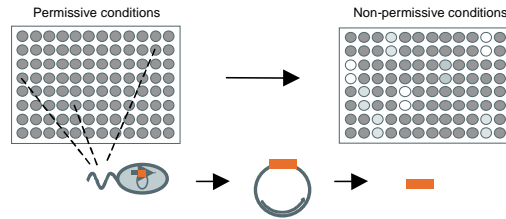


Abb. 1: Eine Referenzbank, bestehend aus Klonen von *S. typhimurium* mit frei replizierendem Vektor als Träger einer Fragmentbank, wurde im 96-Well-Format erstellt. Wachstum der Einzelklone unter nicht-permissiven Bedingungen, unter den der Vektor nicht mehr replizieren kann, führt zur Selektion von Insertionsmutanten (grau). Klone, bei denen die Insertion über homologe Rekombination letal ist, deuten auf klonierte Fragmente hin, die Bestandteile essentieller Gene sind (weiß).

Etwa 500 solcher wachstumsdefizienter Mutanten wurden identifiziert. Durch Rückgriff auf die Referenzbank konnten die jeweiligen Fragmente amplifiziert und anschließend sequenziert werden. Die erhaltenen Sequenzen wurden mittels BLAST (Basic Local Alignment Search Tool)-Analyse nach Homologien zu bereits bekannten Genen untersucht. Ergebnis dieser Arbeit war eine genomische Karte letaler Insertionsmutanten (Abb. 2).

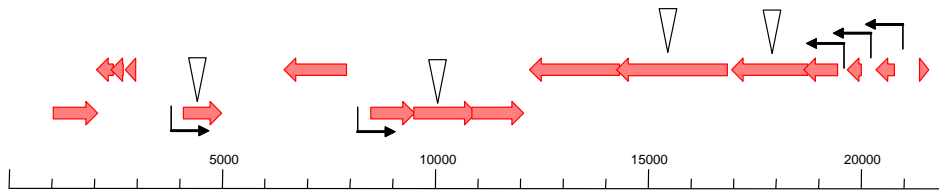


Abb. 2: Ausschnitt aus der Genomkarte von *S. typhimurium*. Die hier gezeigte Region umfasst mehrere Operons, die funktional bislang nicht charakterisiert worden sind. Die Dreiecke markieren Gene, die durch das Verfahren der Insertionsmutagenese als vermutlich essentiell identifiziert wurden. Die Pfeile stehen für vorhergesagte Promotoren.

Aus den ermittelten Fragmenten leiteten wir etwa 220 Gene ab; diese Gene machen knapp die Hälfte aller für *S. typhimurium* essentiellen Gene aus. Darunter findet sich eine Vielzahl von Genen, die für Proteine unbekannter Funktion codieren. Um aus der Gesamtgruppe die vielversprechendsten antibakteriellen Zielmoleküle herauszufiltern, wendeten wir ein Validierungsschema an, das u. a. die Löslichkeit der von ihnen codierten Proteine sowie die Verbreitung der Gene in anderen, medizinisch relevanten Bakterien, untersuchte. Zur Aufklärung ihrer zellulären Funktion beginnen wir z. Zt. mit der biochemischen und genetischen Charakterisierung ausgewählter essentieller Gene.



## Arbeitsgruppe: Ökologie von pathogenen Bakterien aus Lebensmitteln

Gruppenleiter: Klaus Neuhaus

Nur wenige krankheitserregende Bakterien sind strikt auf den Menschen angewiesen. In den meisten Fällen besteht ein *Infektionszyklus*, bei dem der Wirt „Mensch“ lediglich eine Zwischen- oder gar Endstation darstellt. Der Infektionszyklus des Pesterregers (*Yersinia pestis*) geht von Nagetieren über deren Flöhe und wieder zurück. Nagetiere sind also das *Reservoir* für diesen Erreger. In ungünstigen Situationen beißen die Flöhe Menschen, die in diesem Fall eine Endstation für *Y. pestis* darstellen (zum Schaden des Infizierten). Aber längst nicht bei allen pathogenen Bakterien sind die Infektionszyklen bzw. die Reservoire bekannt. *Listeria monocytogenes* ist z.B. ein mehr oder weniger überall vorkommende Bakterium, vorwiegend assoziiert mit Pflanzen. Erst seit neuerer Zeit vermutet man freilebende Amöben in Wasser und Boden als ein Reservoir für diesen Erreger. Der Haupt-Infektionszyklus ist besser bekannt: Beispielsweise wird *L. monocytogenes* mit Pflanzenmaterial in Silage eingetragen, wo sich der Erreger bei fehlerhafter Silierung vermehren kann. Mit der Silage werden Kühe gefüttert und diese dadurch infiziert. Schließlich kann wiederum über Milch- und Fleischprodukte der Mensch angesteckt werden und an einer Listeriose erkranken. Dagegen weiß man von EHEC man kaum etwas über die Ökologie, d.h. dem Vorkommen und der Lebensweise dieses Erregers außerhalb eines Wirtes. Kühe können sich mit EHEC und verwandten Bakterien auf der Weide infizieren, ohne dass diese Tiere einem offensichtlichen Reservoir ausgesetzt waren. Wo lebt EHEC? Wie wird der Keim übertragen? Bilden auch hier Amöben oder Insekten ein unterschätztes Reservoir? Welche Gene sind für das Überleben außerhalb des Wirtes wichtig? Wenn solche ökologischen Fragen beantwortet sind, können wirksame Maßnahmen entwickelt werden, um den Erreger präventiv zu bekämpfen („hurdle strategy“). Aus diesem Grunde befassen wir uns mit dem vergleichsweise wenig bearbeiteten Gebiet der Ökologie von Krankheitserregern außerhalb des Wirtes und konzentrieren uns dabei auf die Keime, die durch Lebensmittel übertragen werden.

### ***lux*-Promotor Studien in pathogenen *Escherichia coli* (EHEC)**

*lux-promoter studies in pathogenic E. coli (EHEC)*

Klaus Neuhaus, Michael Käser, Katharina Gebendorfer

Eine Gruppe von neuartigen Pathogenen sind die enterohämorrhagischen *E. coli* Stämme, insbesondere des Typs O157:H7. Sie persistieren vermutlich in Weidevieh subklinisch bzw. völlig symptomlos und lösen erst beim Menschen Gastroenteritis aus. Der erste dokumentierte Fall von *E. coli* O157:H7 trat in den Vereinigten Staaten im Jahre 1983 auf und betraf unzureichend durchgegart Hamburger-Frikadellen. Weltweit werden in den verschiedensten Labors Anstrengungen unternommen, um die Pathogenitätsmechanismen dieses und verwandter Bakterien aufzuklären. Unzureichend bekannt sind aber die Infektionskreisläufe in der Natur und die daran beteiligten Gene im Bakterium. Diese Problematik wurde offensichtlich, als man die komplett sequenzierten Genome verschiedener pathogener *E. coli* Stämme untersuchte. Ca. 1/3 aller Gene sind der Wissenschaft quasi unbekannt (vergl. Tabelle 1). Als Quelle für diese Gene wird u.a. lateraler Gentransfer zwischen den Bakterien angenommen, wobei zu bemerken ist, dass die allermeisten Mikroben nicht kultivierbar sind. (Schätzungen gehen bis  $10^7$  unbekannt Arten im Vergleich zu ca.  $6 \cdot 10^3$  bekannten).

Tab. 1: Vergleich von Bakterien deren gesamtes Genom sequenziert wurde in Bezug auf bekannte und unbekannte Gene.

Art	Gene gesamt	bekannte Gene	unbekannte Gene	Referenz	Vorkommen
<i>Bacillus anthracis</i>	5842	4173 (71%)	1669 (29%)	Ivanova (2003)	Pathogen
<i>Bacillus cereus</i>	5366	3839 (72%)	1527 (28%)	Ivanova (2003)	Path./Umw.
<i>Bacillus subtilis</i>	4100	2379 (58%)	1721 (42%)	Kunst (1997)	Umwelt
<i>Blochmannia floridanus</i>	625	555 (88%)	70 (12%)	Gil (2003)	Symbiont
<i>Campylobacter jejuni</i>	1654	1290 (78%)	364 (22%)	Parkhill (2000)	Pathogen
<i>E. coli</i> OH157:H7	5361	3185 (59%)	2176 (41%)	Hayashi (2001)	Pathogen
<i>Escherichia coli</i> K12	4288	2659 (62%)	1629 (38%)	Blattner (1997)	Kommensale
<i>Listeria innocua</i>	2973	1541 (62%)	1132 (38%)	Glaser (2001)	Umwelt
<i>Listeria monocytogenes</i>	2853	1845 (65%)	1008 (35%)	Glaser (2001)	Pathogen
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	1990	1075 (54%)	915 (46%)	Nelson (2003)	Pathogen
<i>Salmonella enterica typhi</i>	4599	3788 (82%)	811 (18%)	Parkhill (2001a)	Pathogen
<i>Wolinella succinogenes</i>	2046	1260 (62%)	786 (38%)	Baar (2003)	Kommensale
<i>Yersinia pestis</i> CO92	4012	3208 (80%)	804 (20%)	Parkhill (2001b)	Pathogen
<i>Yersinia pestis</i> KIM	4198	2580 (61%)	1618 (39%)	Deng (2002)	Pathogen

Um Promoter-Studien unbekannter Gene durchführen zu können eignet sich die *luxCDABE*-Genkassette besonders. Bei einer Aktivierung dieses Genclusters aus marinen Leuchtbakterien kommt es zur Produktion von Licht, welches mit hochempfindlichen Kameras detektiert werden kann. Das *lux*-Reporter-System hat mehrere Vorteile: i) Es können bakterielle Interaktionen zwischen anderen Bakterien oder Organismen untersucht werden, ii) das zu untersuchende System ist unabhängig von der Zugabe irgendwelcher künstlicher Substanzen (z.B. Antibiotika, Substrate etc.), iii) ein breites Spektrum an unterschiedlichen Wachstumsbedingungen ist testbar (z.B. von Käseoberflächen bis hin zu *in situ* Untersuchungen in lebenden Mäusen), iv) und verschiedene Zeitpunkte können *online* in ein und demselben Experiment gemessen werden, was die statistische Varianz verringert.

Ein Plasmid mit geringer Hintergrundrate an Transkription wurde mit einer *luxCDABE*-Genkassette ohne Promoter ausgestattet.

Zum Nachweis einer prinzipiellen Funktion im angestrebten Sinn, wurden zunächst Promotoren von Genen verwendet, die auf bekannte Umweltstimuli reagieren, wie pH- oder Temperatur-Stress. EHEC mit den besagten Promotoren wurden zunächst an dem Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* und der Ackerschmalwand *Arabidopsis thaliana* getestet. Weitere unbekannte Gene sind in Arbeit, die dann unter weiteren Umweltbedingungen getestet werden können.

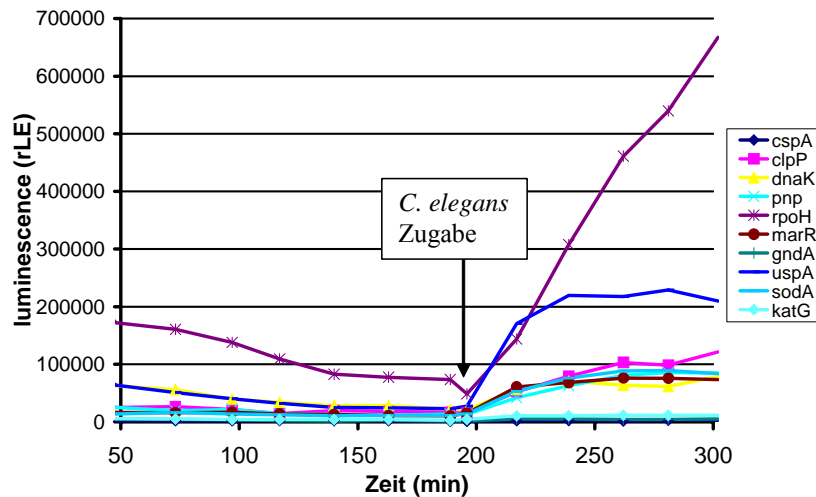


Abb. 1: Induktion verschiedener Promotoren in *E. coli* O157:H7 nach Zugabe von *C. elegans*.

### Säureanpassung der Gram-positiven Bakterien *Listeria monocytogenes* und *Corynebacterium glutamicum*

*Acid Adaptation of the Gram negative bacteria Listeria monocytogenes and Corynebacterium glutamicum*

Peter Satorhelyi, Kinga Jakob, Volker Wendisch, Klaus Neuhaus, Siegfried Scherer

Bakterien zeichnen sich durch eine hohe Anpassungsleistung aus. So toleriert *L. monocytogenes* pH-Werte im Bereich von pH 5 und übersteht kurzfristig niedrigere pH-Werte von pH 3. Diese Eigenschaft erlaubt es dem Gram positiven pathogenen Stäbchen auf Rotschmirekäs zu wachsen. Diese Rotschmirekäs werden häufig über ein als alt-jung Schmierer bezeichnetes Verfahren produziert. Dabei werden die frischen Käserohlinge mit dem Waschwasser älterer Käse geschmiert und dabei die Mikroflora übertragen. Rohe Käse zeichnen sich durch niedrige pH-Werte aus, die nur Hefen das Wachstum erlauben. Die Hefen entsäuern den Käse und die Bakterien, die den typischen Geschmack ausmachen, entwickeln sich. *L. monocytogenes* ist durch seine Säureresistenz einer der ersten Bakterien, welche auf jungen Käsen wachsen kann. Durch seine Pathogenität und der Möglichkeit die Blut-Hirn, bzw. Blut-Plazenta-Schranke zu überwinden ist es für empfängliche Personen und Schwangere ein besonderes Risiko. Die Säurestressantwort von Gram negativen, wie den Enterobakterien ist gut untersucht, Daten für Gram positive gibt es fast nur für *Bacillus*. Ziel war es, mehr über die Säurestressantwort bei *L. monocytogenes* zu erfahren. Mit Mikroarrays wurden daher geschockte und nicht geschockte Zellen in ihrer Transkription verglichen und mehrere hundert hoch- bzw. herunterregulierte Gene wurden gefunden. Ausgewählte, interessante Gene wurden mit RT-PCR unabhängig von den Mikroarrays überprüft. Zusätzlich wurden Gene des PrfA-Regulons mit RT-PCR untersucht, da die verwendeten Mikroarrays der ersten Generation bei *prfA* und anderer Virulenzgenen aus diesem Regulon keine verlässlichen Daten lieferten.

Hochreguliert nach Säurestress waren, neben allgemeinen Stressproteinen, insbesondere Transportproteine für Substanzen, die unter Verbrauch von Protonen reduziert werden kön-

nen, um so den cytosolischen pH-Wert anzuheben. Ähnliche Systeme sind auch bei anderen Gram-positiven bekannt geworden. DNA-Reparatur Gene und Oxidationsschutzgene waren ebenfalls erhöht nach Säurestress. Eine interessante Gruppe für abregulierte Gene waren viele Gene, die am Aufbau der Flagellen beteiligt sind. Man könnte denken, dass Flagellen unter sauren pH Werten nützlich sind, um an andere, pH-neutralere Orte vordringen zu können, jedoch werden die Flagellen abgeschaltet. Dies hängt vermutlich mit der Induktion von Virulenzgenen zusammen. Die Magenpassage bei niedrigen pH-Werten ist, neben einer Temperatursteigerung auf 37°C anscheinend ein weiteres Signal um Virulenzfaktoren zu induzieren. Die Flagellen sind ein gutes Ziel sowohl für die humorale, als auch zelluläre Immunantwort und werden bei einer Wirtsinfektion pathogener Bakterien im Normalfall ausgeschaltet. Das Abschalten der Flagellen ist damit ein „indirekter Virulenzfaktor“. Auffällig war auch der Anstieg der PrfA-mRNA, sowie verschiedener Internaline und anderer Virulenzfaktoren. Eine Veröffentlichung zu dieser Thematik ist in Vorbereitung.

Interessanterweise wurden auch Schwermetallschutzgene exprimiert, was vermutlich durch eine erhöhte Bioverfügbarkeit von Metallen bei niedrigen pH-Werten bedingt ist.

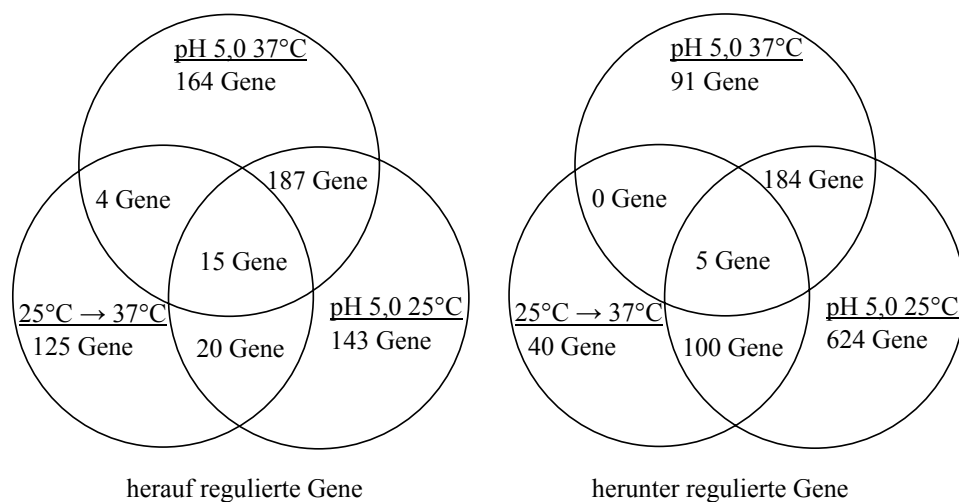


Abb. 1: Die Säureschockantwort bei verschiedenen Temperaturen von *L. monocytogenes* im Überblick.

*C. glutamicum* hingegen ist nicht pathogen, aber Mitglied in der derselben Familie wie *Mycobacterium*, dem Erreger der Tuberkulose. *C. glutamicum* wird in der Industrie für vielfältige Fermentationsprozesse, wie z.B. die Herstellung von Aminosäuren, benutzt. Während dieser Fermentationsprozesse wird der pH-Wert allerdings künstlich auf einem den Bakterien zu-träglichen Wert eingestellt und die Forschung an einer Säureschockantwort wurde vernachlässigt. Auch hier wurden Mikroarrays benutzt, um das Geschehen innerhalb der Zelle auf der Ebene des Transkriptoms (also der mRNA) zu erfassen. Ähnlich wie bei *L. monocytogenes* war auch hier eine erhöhte DNA-Reparatur, Verstärkung Protonen verbrauchender Prozesse und eine Änderung in der Membran- und Zellwand festzustellen. Übereinstimmend wurden auch hier Schwermetallrestenzen vermehrt exprimiert und Eisen-Transporter hochreguliert.

Das letztere überraschende Phänomen wurde genauer untersucht. Es zeigte sich, dass Eisen nur in einem nahezu anorganischen Minimal-Medium unter sauren Bedingungen besser verfügbar war. In komplexen Medien wird das verfügbare Eisen durch unbekannte Prozesse den Zellen entzogen, welches die Induktion von Eisentransportern auslöst. Dieser Befund ist insofern interessant, als das in der Natur sicher eher Verhältnisse vorkommen, die komplexen Medien ähneln als Minimal-Medien. Mutanten der hochregulierten Säurestressgene ergaben, dass die Säurestressantwort komplex und redundant ist. Nur eine sigB-Mutante war deutlich in ihrer Säuretoleranz beeinträchtigt. SigB ist ein globaler Regulator für eine allgemeine Stressantwort in Gram positiven. Alle anderen Mutanten von Säurestressgenen zeigten keinen Unterschied in der Wachstumsgeschwindigkeit, d.h. die Funktion der Gene konnte von anderen übernommen werden.

Abschließend bleibt noch der interessante Befund zu erwähnen, daß rund ein Drittel der induzierten Gene sowohl in *L. monocytogenes* als auch in *C. glutamicum* unbekannter Natur sind, d.h. es ist nicht klar was diese tun. Die Stoffwechselwege und Lebensäußerungen von Bakterien sind offensichtlich noch bei weitem nicht so bekannt oder erforscht, wie man glauben möchte.

### **Charakterisierung des Kälteadaptations-Stimulons bei dem psychrotoleranten Lebensmittelpathogen *Yersinia enterocolitica***

*Characterization of the cold-adaptation stimulon in the psychrotolerant food pathogen Yersinia enterocolitica*  
Geraldine Bresolin, Klaus Neuhaus, Siegfried Scherer, Thilo M. Fuchs

Bei dem psychrotoleranten Bakterium *Yersinia enterocolitica* handelt es sich um einen häufigen Krankheitserreger des Menschen. Die Übertragung auf den Menschen erfolgt in erster Linie durch die Aufnahme kontaminierter Lebensmittel. Neben Milch und Milchprodukten stellen rohe und nicht ausreichend gekochte Fleischerzeugnisse von infizierten, symptomlosen Schweinen die wichtigste Infektionsquelle für den Menschen dar. Die ausgeprägte Kältetoleranz von *Y. enterocolitica*, welche ein Wachstum bei Temperaturen von bis zu  $-5^{\circ}\text{C}$  ermöglicht, stellt in diesem Zusammenhang eine besondere Gefährdung dar, da sich durch die übliche Kühlung Lagerung von Lebensmitteln das Wachstum dieses Erregers nicht ausreichend hemmen lässt.

Alle frei lebenden Mikroorganismen besitzen die Fähigkeit, sich unterschiedlichen Umweltbedingungen, wie z. B. Temperaturveränderungen, anzupassen. Der physiologische Adaptationsprozess von Bakterien an niedrige Wachstumstemperaturen lässt sich in verschiedene Phasen aufteilen. Unmittelbar nach einer Temperaturabnahme ist die so genannte Kälteschockantwort zu beobachten, die sich durch eine vorübergehende Überexpression der Hauptkälteschockproteine (CSPs, *cold shock proteins*) auszeichnet. Den CSPs wird eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung molekularer Prozesse wie Replikation, Transkription und Translation, beigemessen. Die Schockphase geht dann über in die Kälteadaptationsphase, in welcher die so genannten Kälteadaptationsproteine (CAPs, *cold adaptation proteins*) exprimiert werden. Per Definition sind CAPs in kalte-gestressten Zellen permanent und auf einem deutlich erhöhten Niveau präsent.

Das hier vorgestellte Projekt zielt auf die molekularbiologische Charakterisierung der bislang noch wenig erforschten Kälteadaptationsphase ab, die vermutlich entscheidend dazu beiträgt,

dass psychrotoleranten Mikroorganismen, im Gegensatz zu mesophilen Mikroorganismen, ein mehr oder weniger harmonisches Wachstum bei niedrigen Temperaturen möglich ist. Die Identifizierung kälteinduzierter Gene in *Y. enterocolitica* wurde durch einen Luciferase-Screening-Assay vorgenommen. Mittels Transposonmutagenese wurden zufällige Transkriptionsfusionen zwischen chromosomalen Promotoren und einem promotorlosen *luxCDABE*-Reporter erzeugt. Durch die gleichzeitige Erfassung von Lumineszenz und optischer Dichte in kälte-gestressten wie auch in nicht kälte-gestressten Yersinien war es möglich die Promotoraktivität mit dem Wachstum, welches bei niedrigen Temperaturen deutlich vermindert ist, zu korrelieren. Kälteinduzierte Gene konnten durch ihre erhöhte Lichtemission bei niedrigen Temperaturen identifiziert werden.

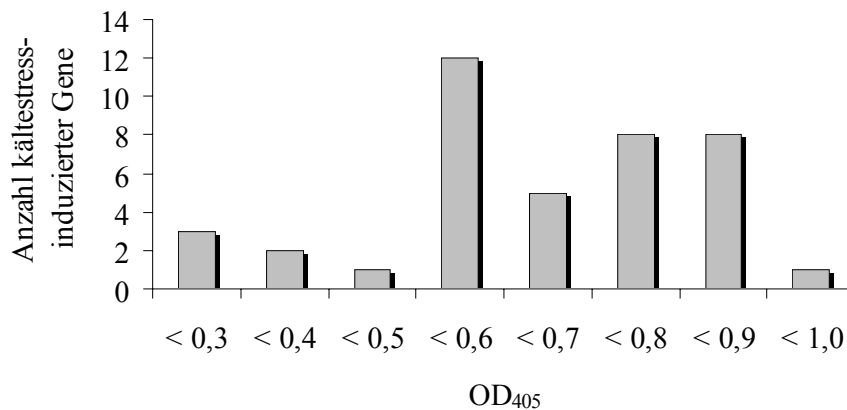


Abb. 1: Alle Gene von *Y. enterocolitica* mit erhöhter Promotoraktivität bei 10°C sind hinsichtlich ihrer Induktionszeitpunkte (OD<sub>405</sub>-Werte) sortiert und graphisch dargestellt.

Insgesamt wurden 5700 Transposonmutanten untersucht. Die Auswertung ergab 40 kälteinduzierte Transkriptionseinheiten, welche entsprechend ihrer Induktionszeitpunkte in einen zeitlichen Kontext gestellt werden konnten. In Abbildung 1 ist die Verteilung der kältestress-induzierten Transkriptionseinheiten über die gesamte Wachstumsdauer von *Y. enterocolitica* bei 10°C dargestellt. Aus dieser Abbildung geht hervor, dass es sich bei der Adaptation von *Y. enterocolitica* an niedrige Wachstumstemperaturen um einen andauernden Anpassungsprozess handeln muss, der die Induktion verschiedener Gene in Abhängigkeit von der Wachstumsphase erfordert. Der Schwerpunkt dieses Prozesses scheint dabei weniger auf der unmittelbaren Kältestressantwort zu liegen, als viel mehr auf einer verzögerten, aber kontinuierlichen Stressantwort. Dabei zeigte sich, dass einzelne funktionelle Gruppen in bestimmten Phasen verstärkt auftreten. Der Anfang der Adaptationsphase ist geprägt von Genen, die in Regulation und Signaltransduktion involviert sind. Diesen Genen schließt sich eine große Gruppe an, die überwiegend Motilitäts- sowie Chemotaxisgene umfasst, aber auch Gene, die im Zusammenhang stehen könnten mit der Virulenz von *Y. enterocolitica*. Die Induktion dieser Gene ist der frühen und mittleren exponentiellen Phase zuzuordnen. Die späte exponentielle/frühe stationäre Phase hingegen ist geprägt von einer Gruppe von Genen, die in erster Linie in Stoffwechselwege involviert sind.

## Arbeitsgruppe: Mikrobielle Ökologie von Starter- und Reifungskulturen

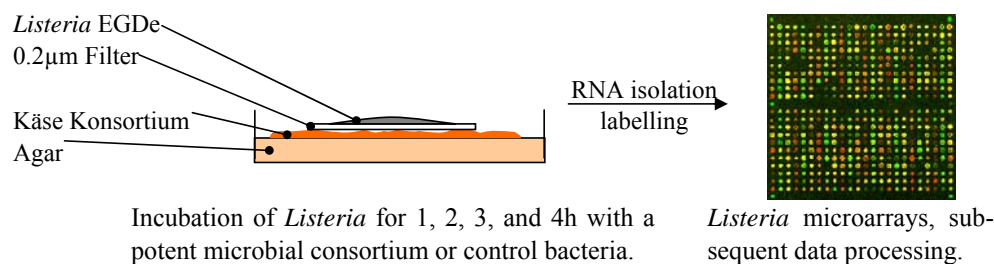
Gruppenleiter: Siegfried Scherer

### Einfluß von hemmenden Starterkulturen auf das Transkriptom von *Listeria monocytogenes* *Influence of inhibiting starter cultures on the transcriptome of *Listeria monocytogenes**

Klaus Neuhaus, Barbara Silakowski, Siegfried Scherer

Das opportunistisch intrazelluläre Lebensmittelpathogen *Listeria monocytogenes* steht aufgrund seiner Fähigkeit bei Personen bestimmter Risikogruppen (JASI, Junge, Alte, Schwangere, Immuno-Kompromittierte) schwere systemische Infektionen und Erkrankungen des Nervensystems auszulösen im besonderen Interesse der Wissenschaft. Das Wachstum und Überleben der Bakterien in einem breiten Temperatur- und pH-Spektrum, sowie unter hohen Salzkonzentrationen von bis zu 10% NaCl ermöglicht deren ubiquitäre Verbreitung und erhöht das Kontaminationsrisiko für bestimmte Lebensmittel, wie (Roh-)Milchprodukte, Fleisch, Rohkost und ungenügend pasteurisierte Fertignahrung. Wir haben unsere Arbeiten auf oberflächengereifte Käse konzentriert, welche in der Vergangenheit zahlreiche Ausbrüche verursacht haben. Im Mittelpunkt standen die Reaktion von *L. monocytogenes* auf die Interaktion mit den komplexen mikrobiellen Konsortien, welche die Käsereifung verursachen.

Bestimmte Starterkulturen von Käseoberflächen hemmen Listerien durch ein bislang unbekanntes Prinzip. Dieses wirksame Prinzip ist nicht diffusibel, und es muss ein enger (direkter?) Kontakt der hemmenden Flora mit den Listerien vorliegen. Listerien wurden diesen hemmenden Kulturen ausgesetzt und das Transkriptom mit der Mikrorarray-Technik untersucht (vergl. Abb).



Jeweils  $10^9$  Bakterien der antilisteriellen Reifungskultur oder eine Mischung von Kontrollbakterien ohne jede antilisterielle Wirkung wurden für 48h bei 30°C auf PC<sup>3+</sup>-Agar inkubiert. Die antilisterielle Reifungskultur von Käsen der Firma „R“ ist komplex und setzt sich unter anderem aus *Arthrobacter nicotianae*, *Brevibacterium linens*, *Corynebacterium variabile* (Hauptkeim mit ca. 80%), *C. casei*, *Microbacterium gubbense*, *Marinolactobacillus psychrotolerans* und zwei unbeschriebenen Spezies zusammen. Die Kontrollkultur von einem anderen Käse („K“) enthielt Bakterien aus z.T. denselben Gattungen, entfaltete aber keine Wirkung gegen die Listerien. Auf die vorkultivierten Konsortien wurden Nitrocellulose-Membranen mit 0,2µm Poren aufgelegt und  $10^{10}$  Listerien aufgegeben. Die Listerien wurden 1, 2, 3, oder 4h auf der Membran inkubiert, danach deren RNA extrahiert. Die RNA der Listerien wurde jeweils markiert und mit den Microarrays hybridisiert.

Insgesamt wurden 386 regulierte Gene (herauf und herunter) gefunden. Davon sind 121 Gene stark – d.h. mehr als 3fach – hochreguliert. Die häufigsten Gen-Gruppen sind: Zucker und Energie (18), Membran und Zellwand (15), Xeno- und Antibiotisch (11), Katabolische Reaktionen (9), DNA-Metabolismus (8), und Schwermetall bzw. Aminosäure (je 7). Die Befunde sind insofern interessant, als das sowohl bei der Gruppen „Membran und Zellwand“ als auch „Xeno- und Antibiotisch“ an Schutzmechanismen gegen die Einwirkung des antilisteriellen Prinzips gedacht werden kann. Ein weiteres Puzzleteil in der Beantwortung nach der spezifischen antilisteriellen Wirkung der Starterkulturen, bietet eine Differenzmatrix der Geninduktionen durch einerseits bekannte antilisterielle Substanzen (z.B. Bakteriozine) mit andererseits der hemmenden Oberflächenkultur, ähnlich wie es in der Abgrenzung der Säureschock-Antwort (siehe oben) von der Antwort auf ein antilisterielles Konsortium bereits gemacht wurde. Um die Regulation der antilisteriellen Starterkultur noch genauer zu verstehen, werden verschiedene Mutanten von vorerst induzierten Regulationsgenen, aber auch anderen wichtig erscheinenden Genen und Gengruppen untersucht.

Die Überlappung des Gensets, der bei Säurestress hochreguliert wird (vergleiche oben), mit dem der bei Kontakt mit dem Reifungskonsortium induziert wird, ist nicht ausgeprägt. Ca. 45 Gene werden sowohl bei Säurestress als auch bei der antilisteriellen Kultur hochreguliert und ca. 20 Gene sind jeweils herunterreguliert. Unter den gleichartig hochregulierten Genen finden sich allgemeine Stressproteine (*uspA*, ribosomale Proteine), etliche Enzyme, die an allgemeinen Stoffwechselreaktionen beteiligt sind, also auch einige unbekannte *open reading frames*. Es läßt sich also festhalten, dass die Antwort des Transkriptoms auf die antilisterielle Kultur sich eindeutig vom Säurestress abgrenzen lässt und damit anscheinend nur durch die antilisterielle Wirkung des Konsortiums zustande kommt.

### **Untersuchung der anti-listeriellen Aktivität von Hefen mit Schwerpunkt auf Hefen von Rotschmierekäsen**

*Screening for anti-listerial activity in yeast especially from red smear cheeses*

Stefanie Goerges, Barbara Silakowski, Ulrike Aigner, Siegfried Scherer

Bei der Produktion von Rotschmierekäse besteht auch heute noch die Gefahr einer Listerienkontamination. Anti-listerielle Substanzen von Rotschmierebakterien wurden bereits an unserem Institut untersucht und ihr Einsatz auf Modellkäsen ist durchaus erfolgreich. Allerdings ist das Wachstum der Reifungsbakterien auf der Käsoberfläche von einer pH-Wert Erhöhung von ca. 5,0 auf ca. 6,0 abhängig, was eine Folge der Milchsäure-Metabolisierung der Hefen ist. Aus diesem Grund können die anti-listeriellen Substanzen, die von Rotschmierebakterien gebildet werden, erst nach einer gewissen Reifungszeit ihre Wirkung zeigen. Listerien sind jedoch in der Lage, in saurer Umgebung, wie sie zu Beginn der Käsureifung herrscht, zu überleben und bei pH-Werten von ca. 5,0 zu wachsen. Während des frühen Stadiums der Käsureifung dominieren Hefen die Mikroflora, da sie sehr säuretolerant sind. Somit könnte durch Hefen mit anti-listeriellem Potential dem Listerienwachstum bereits ab dem Zeitpunkt der Kontamination, d.h. nach den ersten Schmierbehandlungen, entgegengewirkt werden. Bisher wurde jedoch nur ein geringer Aufwand in die Untersuchung von Hefen oder Schimmelpilzen auf ihre anti-listerielle Aktivität investiert.



Tab. 1: Anti-listerielle Aktivität gegen vier verschiedene *L. monocytogenes* Indikatorstämme als Summe der Bewertungspunkte<sup>a</sup>, die in vier Wiederholungen des Screenings erreicht wurden

Hefen-Spezies	Stamm <sup>bc</sup>	<i>L. monocytogenes</i> Stamm WSLC <sup>d</sup>				Anti-listerielle Aktivität gesamt <sup>e</sup>
		1039	1211	1364	1416	
<i>Candida parapsilosis</i>	WSYC 51	12	13	15	17	57
<i>Candida zeylanoides</i>	WSYC 22	0	0	1	1	2
<i>Debaryomyces hansenii</i>	WSYC 184	3	2	4	3	12
<i>Geotrichum candidum</i>	WSYC 122	5	7	10	7	29
<i>Issatchenkia occidentalis</i>	WSYC 312	17	15	16	15	63
<i>Issatchenkia orientalis</i>	WSYC 263	17	13	17	14	61
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	WSYC 1	9	12	13	14	48
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	WSYC 215	2	2	1	2	7
<i>Pichia membranifaciens</i>	WSYC 223	17	15	17	14	63
<i>Pichia triangularis</i>	G 1077	1	3	1	1	6

<sup>a</sup> Maximaler Wert: 20; minimaler Wert: 0.

<sup>b</sup> WSYC: Weihenstephan Yeast Collection, Abteilung Mikrobiologie, ZIEL Weihenstephan, Freising.

<sup>c</sup> G: Glycerin-Nummer, Abteilung Mikrobiologie, ZIEL Weihenstephan, Freising.

<sup>d</sup> WSLC: Weihenstephan Listeria Collection, Abteilung Mikrobiologie, ZIEL Weihenstephan, Freising.

<sup>e</sup> Summe der Werte der anti-listeriellen Aktivität, die für die verschiedenen Indikatorstämme in vier Wiederholungen erreicht wurden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, eine einfach durchzuführende Screening-Methode zu entwickeln, um Hefen gezielt auf ihr anti-listerielles Potential zu untersuchen. Insgesamt wurden 404 Hefen unterschiedlicher Spezies gescreent, die überwiegend von verschiedenen Rot-schmierekäsen isoliert worden waren. Als *L. monocytogenes* Indikatorstämme wurden Human- und Lebensmittelisolate verschiedener Serovare eingesetzt. Bei der entwickelten Screening-Methode wurden Zellen einer Hefen-Flüssigkultur auf eine Nitrocellulose-Membran aufgetropft, die auf einem mit *Listeria monocytogenes* inokulierten Softagar platziert worden war. Nach der Inkubationszeit wurde die Hemmung von *L. monocytogenes* nach Entfernung der Membran unter Verwendung von „Henry’s Illumination“ bewertet. Für die Beurteilung der anti-listeriellen Aktivität wurde ein Bewertungsschema von 0 bis 5 - keine bis sehr starke anti-listerielle Aktivität - entwickelt. Durchschnittlich zeigten 10 bis 20 % der Isolate eine starke bis sehr starke Hemmung. Sehr schwache bis mäßige Hemmleistung konnte bei 50 bis 70 % der getesteten Isolate verzeichnet werden. In 20 bis 30 % der Fälle lag kein Hemmpotential vor bzw. es entstand eine Weißfärbung des Softagars unter den auf der Membran aufgetragenen Hefenzellen. Die Ursache für die Weißfärbung konnte bisher noch nicht geklärt werden und wurde insofern als nicht evaluierbar gewertet. In unten abgebildeter Tabelle sind Ergebnisse eines Reproduzierungs-experiments aufgeführt, bei dem ein Set von Hefen in vier Wiederholungen gegen vier verschiedene *L. monocytogenes* Indikatorstämme getestet wurde. Es sind deutliche Unterschiede im anti-listeriellen Potential der einzelnen Hefen erkennbar.

Derzeit werden weitere Arbeiten durchgeführt, um den möglichen Einsatz dieser Hefen zur Bekämpfung von Listerien auf Weichkäsen zu auszuloten. Bis zu einem Einsatz im Betrieb ist es jedoch noch ein weiter Weg.

## **Arbeitsgruppe: Stabilität des BSE-Erregers in Lebensmitteln**

### **Gruppenleiterin: Simone Müller-Hellwig**

Prionenerkrankungen sind seit langem bekannte Erkrankungen des zentralen Nervensystems. Die transmissiblen spongiformen Enzephalopathien (TSE) kommen sowohl im Tierreich als auch beim Menschen vor. Die Krankheit zeichnet sich durch eine langsame Degeneration des Zentralnervensystems aus, die unweigerlich zum Tode führt.

Als erste menschliche Prionenerkrankung wurde die Creutzfeld-Jakob-Disease (CJD) 1920/21 von H.G. Creutzfeld und A.M. Jakob unabhängig voneinander beschrieben. Man unterscheidet die sporadische, familiäre und iatrogene CJD. Prionenerkrankungen haben eine sehr lange Inkubationszeit, das bedeutet, die Zeitspanne zwischen der stattgefundenen Übertragung einer Prionenerkrankung und ihrem Ausbruch kann mehrere Jahre bis Jahrzehnte dauern. 1996 wurde erstmals eine neue Variante der klassischen CJD beschrieben (vCJD). Im Gegensatz zu CJD sind vor allem jüngere Menschen betroffen und es zeigte sich vom klassischen Bild der anderen CJD-Formen abweichende Krankheitsverläufe. Die Ursache der Krankheit ist nach dem derzeitigen Stand der Forschung in dem Verzehr von BSE-kontaminiertem Rindfleisch zu suchen.

Daneben sind auch einige Tierarten von Prionenkrankheiten betroffen. Als wichtigste Vertreter sind hier die Traberkrankheit (Scrapie) bei Schafen und Ziegen sowie bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) beim Rind zu nennen. Scrapie ist in Europa seit über 270 Jahren bekannt. Die Krankheit ist in Schafspopulationen vertikal und horizontal übertragbar, nach heutigem Kenntnisstand jedoch nicht auf den Menschen.

Die beim Rind auftretende BSE wurde erstmals 1986 bei Rindern in Großbritannien festgestellt. Von 1988 bis zum Ende der neunziger Jahre kam es vor allem in Großbritannien zu einer BSE-Epidemie unter den dortigen Rindern. Von den englischen Inseln ausgehend gelangte die Krankheit durch Importe von Rindfleisch auf den europäischen Kontinent, wo sie seit 1989 in verschiedenen Ländern auftritt, jedoch in wesentlich geringerem Maße als in Großbritannien.

Als Auslöser der Krankheit gilt das Prion (PrP) (proteinaceous infectious particle). Der Nobelpreisträger Stanley Prusiner postulierte 1989 das sogenannte "Protein only"-Modell, welches einen Erreger annimmt, der nur aus Protein besteht, aber keine Erbsubstanz trägt.

Es handelt sich dabei um eine völlig neue Erregerart, die sich von Bakterien und den bis heute bekannten Viren unterscheidet. Prionen sind äußerst resistent gegen Hitze und Chemikalien. Das Erhitzen auf 100°C kann Prionen nicht inaktivieren und gebräuchlichen Desinfektionsmittel bewirken keine Inaktivierung des Krankheitserregers.

Die Pathogenität des Erregers entsteht aus einem körpereigenen Protein PrP<sup>C</sup> durch eine Konformationsänderung während die Primärsequenz identisch bleibt. Das normale nicht pathogene

Protein PrP<sup>C</sup> (c = zellulär) ist in vielen Geweben vorhanden, besonders hoch ist die Konzentration in den neuronalen Zellen des zentralen Nervensystems. Die pathogene Form des Proteins wird häufig in Anlehnung an die Scrapie des Schafes als PrP<sup>Sc</sup> bezeichnet. Das Ergebnis der Umfaltung ist ein um 43% höherer  $\beta$ -sheet Anteil und eine Reduzierung der  $\alpha$ -Helices um 30%, während die Disulfidbrücken erhalten bleiben. Es ist bekannt, dass im Gegensatz zum normalen zellulären PrP<sup>C</sup>, die pathogene Isoform gegenüber einem Verdau mit Proteinase K weitgehend resistent ist, es verbleibt ein etwa 30 kDa großes Fragment PrP<sup>27-30</sup>, welches weiterhin infektiös ist.

Im Hinblick auf die potentielle Infektiosität, die vom PrP<sup>Sc</sup> ausgeht, ist eine genauere Untersuchung der pathogenen Form notwendig. Das Wissen um die Stabilität von PrP<sup>Sc</sup> in Lebensmitteln ist von zentraler Bedeutung für die Risikoabschätzung hinsichtlich der Lebensmittelsicherheit. Das Ziel des Projektes ist es, die Frage zu beantworten, ob lebensmittelrelevante Bakterien in der Lage sind, PrP<sup>Sc</sup> abzubauen, bzw. zu inaktivieren. Es wurde nach bakteriellen Proteasen gesucht, die bestenfalls das PrP<sup>Sc</sup> in Fragmente abbauen kann, von denen keine Infektiosität mehr ausgeht. Aus der zur Verfügung stehenden umfangreichen Mikroorganismensammlung der Abteilung Mikrobiologie wurden vor allem Reifungs- und Starterkulturen mit hoher proteolytischer Aktivität für das Screening ausgewählt.

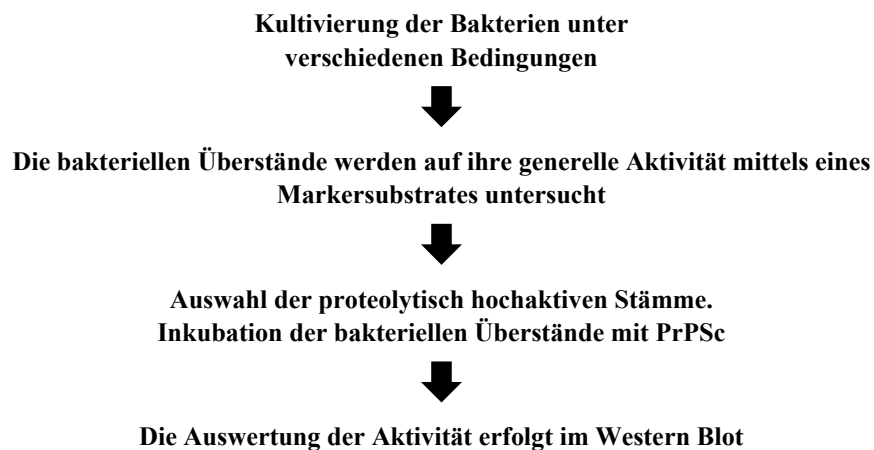


Abb. 1: Flussdiagramm des Bakterien-Screenings. Insgesamt wurden 703 lebensmittelrelevante Bakterien untersucht.

Die Identifizierung der entsprechenden Bakterien beginnt mit einem breiten Screening (Abb. 1). Da die Produktion von aktiven Proteinen stark von den Kultivierungsbedingungen abhängig ist, wurden diese zunächst optimiert. In einem weiteren Schritt wurden die bakteriellen Überstände auf ihre proteolytische Aktivität getestet, indem die Umsetzung eines Markerproteins gemessen wurde. Im Anschluss folgt die Inkubation der aktiven Überstände mit dem PrP<sup>Sc</sup>. Für die Degenationsversuche wurde mit PrP<sup>Sc</sup> aus Scrapie-infizierten homogenisierten Hamsterhirnen (Stamm 263K) gearbeitet. Das Scrapie infizierte Hirnhomogenat wird mit dem aktivem bakteriellen Überstand inkubiert und der PrP<sup>Sc</sup> Abbau mittels Western-Blot Analyse überprüft. Die Detektion des PrP<sup>Sc</sup> erfolgt mit einem kommerziell erhältlichen Anti-Prion

Antikörper. Als Negativkontrolle wird hitzeinaktivierter bakterieller Überstand eingesetzt. Insgesamt wurden 703 Bakterien auf ihre generelle proteolytische Aktivität untersucht. 202 Stämme zeigten eine hohe proteolytische Aktivität. Sechs hochaktive bakterielle Überstände zeigen das Potential, in vitro PrP<sup>Sc</sup> zumindest teilweise abbauen zu können. Ein Beispiel für den Prionenabbau ist in Abb. 1 gezeigt.

Das Gesamtprojekt wird in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. E. Märtlbauer, LMU-München (Herstellung von monoklonalen Antikörpern und Entwicklung einer extrem sensitiven Nachweismethode von PrP<sup>Sc</sup>), Prof. Dr. M. Gareis, BAFF-Kulmbach (Abbau von PrP<sup>Sc</sup> im Gastrointestinaltrakt von Tieren) und Dr. M. Groschup, Inst. für neue und neuartige Tierseuchenerreger, Insel Riems (Prüfung der Infektiösität) bearbeitet. Das Forschungsprojekt ist eingebunden in den Bayerische Forschungsverbund Prionen (FORPRION) und wird finanziert vom Bayerischen Staatsministerium für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz (Projekt 1205 TG 81 LMU 19a)

## Dissertationen, Diplom-, Master- und Bachelorarbeiten

### Dissertationen

**Wenning, Mareike:** „Identifizierung von Mikroorganismen aus Lebensmitteln durch Fourier-transformierte Infrarot (FTIR)-Mikrospektroskopie.“

**Bresolin, Geraldine:** „Charakterisierung des Kälteadaptions-Stimulons von *Yersinia enterocolitica* durch transposongestützte Genomanalyse.“

### Diplom- und Masterarbeiten

**Grallert, Harald:** „Sequenzierung und Charakterisierung der für die emetische Toxinbildung in *Bacillus cereus* verantwortlichen Genlocus.“

**Dietrich, Jochen:** „Identifizierung des lebensmittelrelevanten Krankheitserregers *Listeria monocytogenes* durch FTIR-Spektroskopie.“

**Landsmann, Stephanie:** „Effect of heat on non-starter lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese.“ Durchgeführt am Hannah Research Institute, Ayr, Scotland.

**Aigner, Ulrike Theresa:** „Untersuchung verschiedener Hefen europäischer Rotschmierekäse auf ihre anti-listerielle Aktivität.“

**Ilgen, Denise:** „Expression der putative insecticidal toxin Loci *tcaA1*, *tcbA1* und *tcbA2* aus *Yersinia enterocolitica*.“

### Bachelorarbeiten

**Sedlmeier, Eva-Maria:** „Einfluss verschiedener Stressfaktoren auf das Wachstum von mesophilen und psychrotoleranten *Bacillus cereus* Stämmen.“

**Lichstein, Maja:** „Erstellung einer Genombibliothek, Sequenzierung und bioinformatische Analyse des Genoms des *Listeria*-Bakteriophagen B025.“

**Spinnler, Clemens:** „Selected essential Salmonella genes and their chromosomal context.“

**Lantermann, Alexandra:** “Bindungsstudien von CBD’s von Phagen-Endolysinen an die Listerienoberfläche.“

**Heim, Markus:** „Induktion der Kälteschockantwort in *Escherichia coli* durch "ribosome stalling.“

**Kiermaier, Evi:** „Abbau von PrPsc durch bakterielle Proteasen von lebensmittelrelevanten Bakterien.“

## Vorträge und Poster

### 1. Wissenschaftliche Vorträge

**Dommel-Grinnell, M., Ehling-Schulz, M., Scherer, S.:**

„Molecular Analysis of High and Low Emetic Toxin Producing *Bacillus cereus*“

6<sup>th</sup> Meeting EU project QLK1-CT-2001-00854: Preventing *Bacillus cereus* foodborne poisoning in Europe – Detecting hazardous strains, tracing contamination routes and proposing criteria for foods, Avignon, France, 22.-24.09.2004

**Ehling-Schulz, M.:**

“Emetic Toxin Formation of *Bacillus cereus* is Restricted to a Single Evolutionary Lineage of Closely Related Strains”

5<sup>th</sup> Meeting, EU project QLK1-CT-2001-00854: Preventing *Bacillus cereus* foodborne poisoning in Europe – Detecting hazardous strains, tracing contamination routes and proposing criteria for foods, Lund, Sweden, 05.-07.05.2004

“Characterization of the Cereulide Peptide Synthetase”

5<sup>th</sup> Meeting, EU project QLK1-CT-2001-00854: Preventing *Bacillus cereus* foodborne poisoning in Europe – Detecting hazardous strains, tracing contamination routes and proposing criteria for foods, Lund, Sweden, 05.-07.05.2004

„Emetic toxin production in the *Bacillus cereus* group species”

Workshop: Health and Environmental Risks by the use of Organisms for Biological Control of Pests and Diseases in Agriculture, Elsinore, Denmark, 15.-16.11.2004

**Ehling-Schulz, M., Fricker, M., Scherer, S.:**

„Molecular assays for detection of emetic toxin producing *Bacillus cereus*”

6<sup>th</sup> Symposia of Food Microbiology, Suhl, Germany, 10.-12.03.2004

„Charakterisierung der Cereulidsynthetasegene von *Bacillus cereus* - Molekularer Nachweis von emetischen Stämmen in Lebensmitteln“

4tes Symposium Schnellmethoden und Automatisierung in der Lebensmittelmikrobiologie, Lemgo, Deutschland, 14.-16.07.2004

**Ehling-Schulz, M., Fricker, M., Dommel-Grinnell, M., Scherer, S.:**

„Molecular Assays for Detection of Emetic Toxin Producing *Bacillus cereus*“  
COST Action 920: Quantification of microbes by molecular tools, Vienna, Austria, 04.-05.11.2004

**Fricker, M.; Ehling-Schulz, M.; Scherer, S.:**

“PCR-Detection of Emetic *Bacillus cereus* in Foods”  
6<sup>th</sup> meeting EU project QLK1-CT-2001-00854: Preventing *Bacillus cereus* foodborne poisoning in Europe – Detecting hazardous strains, tracing contamination routes and proposing criteria for foods, Avignon, France, 22.-24.09.2004

**Fuchs, T. M.:**

“Trapping lethal insertions: the essential gene set of *Salmonella typhimurium*”  
Department of Nutrition, ZIEL, Freising, 27.01.2004

“Trapping lethal insertions: the essential gene set of *Salmonella typhimurium*”  
Int. Workshop on the Structural Proteomics of Integral Membrane Proteins (SPIMP), Rauschholzhausen near Marburg, Germany, 27.-30.09.2004

“Functional genome analysis in *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*”  
Beiratssitzung des PathoGenoMik-Netzwerkes, Würzburg, 01.-02.12.2004

**Goerges, S.; Scherer, S.:**

„Phenotypic characterisation of yeast and bacterial isolates”  
EU-Meeting, Prag, Tschechien, 25.03.2004

„Characterisation of the surface microflora of smear-ripened cheeses“  
EU-Meeting, Paris, Frankreich, 25.08.2004

„Probing frozen smears“  
EU-Meeting, Paris, Frankreich, 26.08.2004

**Neuhaus, K.:**

„lux promoter studies in EHEC”  
Ziele und Konzepte im Rahmen der Ernährungsforschung, Hohenkammer, Deutschland, 19.03.2004

„Pathogenic *E. coli* strains (EHEC) in food and monitoring of relevant genes by luxCDABE-promoter fusions”  
EHEC-Workshop 2004, Wildbad Kreuth, Deutschland, 27.07.2004

**Rebuffo, C.:**

“Rapid characterization and classification of atypical Mycobacteria species by FT-IR microspectroscopy”  
International Workshop on Vibrational Spectroscopy applied to microbiology and biomedical research, La Plata, Buenos Aires, Argentina, 21.-23.11.2004

**Scherer, S.:**

„Was macht Mikroorganismen pathogen? Die Arsenale molekularer Waffen von Krankheitserregern“

Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, Weihenstephan, 07.–08.10.2004

„Die Identifizierung von Mikroorganismen durch FTIR Spektroskopie“

5. Grundlagenseminar: Aktuelle Themen zur Rohmilchqualität, Kempten, Deutschland, 10.–11.11.2004

**Piry, A.; Boese, M.; Seiler, H.:**

„Einsatzmöglichkeiten der FT-IR-Spektroskopie in der Lebensmittel-Mikrobiologie und Biotechnologie“

Symposium Schnellmethoden und Automatisierung in der Lebensmittel-Mikrobiologie, Lemgo, 14.–16.07.2004

**Wenning, M.; Scherer, S.:**

„Microbial population analyses by FT-IR microspectroscopy“

Workshop Robert Koch-Institut, Berlin, 21.-22.10.2004

„FT-IR spectroscopy in food microbiology: Identification of microorganisms by extensive reference libraries“

Int. Workshop on Vibrational Spectroscopy Applied to Microbiology and Biomedical Research, La Plata, Argentinien, 21.-23.11.2004

„Microbial population analyses by FT-IR microspectroscopy.“

Int. Workshop on Vibrational Spectroscopy Applied to Microbiology and Biomedical Research, La Plata, Argentinien, 21.-23.11.2004

## 2. Posterpräsentationen

**Dorscht, J.:**

“Comparative Genomics of *Listeria*-Bacteriophages”

Bioperspectives, Wiesbaden, (04.-06.05.2004)

“Comparative Genomics of *Listeria*-Bacteriophages”

ISOPOL XV, Uppsala, Schweden, (12.-15.09.2004)

**Fricker, M.; Ehling-Schulz, M.; Scherer, S.:**

„Detection of emetic *Bacillus cereus* in foods“

VAAM 6. Symposia of Food Microbiology, Suhl, Germany (10.-12.03.2004)

**Goerges, S., Bonaiti, C., Bora, N., Gelsomino, R., Scherer, S.:**

“Surface Microflora of Limburger Cheese”

IDF Symposium on Cheese, Prag, Tschechien, (21.-25.3.2004)

**Klumpp, J., Fuchs, T. M.:**

“Identification and characterisation of novel gene clusters contributing to intracellular survival of *Salmonella*”

International Symposium Thread of Infection - Microbes of High Pathogenic Potential-Strategies for Detection, Control and Eradication, Würzburg, (25.-28.07.04)

**Przybilla, K., Klumpp, J., Fuchs, T. M.:**

„Functional genome analysis of *Salmonella typhimurium*“

Beiratssitzung des PathoGenoMik-Netzwerkes, Würzburg (01.-02.12.2004)

**Rebuffo, C., Seiler, H., Scherer, S.:**

„Rapid Identification of *Listeria* Species by FT-IR Micro- and Macrospectroscopy”

DGHM- Fachgruppe Lebensmittelmikrobiologie - 6. Fachsymposium, Suhl, Deutschland (10.-12.03.2004)

„Rapid Identification of species of *Listeria* by FT-IR spectroscopy and artificial neural networks”

Workshop Robert Koch-Institut, Berlin, (21.-22.10.2004)

**Veröffentlichungen**

**Brennan, N.M., Cogan, T.M., Loessner, M., Scherer, S.:** Bacterial Surface-ripened Cheeses. – In: Cheese – Chemistry, Physics and Microbiology 2 (Elsevier Academic Press, Amsterdam, 2004), S. 199-225

**Ehling-Schulz, M., Fricker, M.; Scherer, S.:** Identification of emetic toxin producing *Bacillus cereus* strains by a novel molecular assay. – In: FEMS Microbiol Lett. 232 (2004), S. 189-195

**Ehling-Schulz, M., Fricker, M., Scherer S.:** *Bacillus cereus*, the causative agent of an emetic type of food borne illness. – In: Mol. Nutr. Food Res. 48 (2004), S. 479 – 487

**Ehling-Schulz, M.; Vukov, N., Schulz, A., Shaheen, R., Andersson, M., Märtlbauer, E., Scherer S.:** Identification and partial characterization of the nonribosomal peptide synthetase gene responsible for cereulide production in emetic *Bacillus cereus*. – In: Appl. Environ. Microbiol., in press

**Knuth, K., Niesalla, H., Hueck, C.J., Fuchs, T.M.:** Large-scale identification of essential *Salmonella* genes by trapping lethal insertions. – In: Molecular Microbiology 51 (2004), S. 1729-1744

**Mayr, R., Gutser, K., Busse, M., Seiler, H.:** Indigenous aerobic sporeformers in high heat treated (127°C, 5 s) German ESL (Extended Shelf Life) milk. – In: Milchwissenschaft 59 (2004), S. 143-146

**Mayr, R., Fricker, M., Maoz, A., Scherer, S.:** Anti-listerial activity and biodiversity of cheese surface cultures: influence of the ripening temperature regime. – In: Eur Food Res Technol 218 (2004), S. 242-247

**Mayr, R., Gutser, K., Busse, M., Seiler, H.:** Gram positive non-sporeforming recontaminants are frequent spoilage organisms of German retail ESL (Extended Shelf Life) milk. – In: Milchwissenschaft 59 (2004), S. 262-266

**Seiler, H.:** Beurteilung von Keimen bei der Schadensfallanalyse. – In: DMZ 125 (2004), S. 31-35



---

# ZIEL – Arbeitsgruppe Rohmilchqualität

---

## Adresse

ZIEL, Abt. Mikrobiologie  
AG Rohmilchqualität  
Weihenstephaner Berg 3  
D- 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3505  
Telefax: 08161-71-4404  
E-mail: J.Buchberger@lrz.tum.de

## Personal

Leitung der AG:	Dipl.-Landw. Dr. Johann Buchberger	71-3505
Mitarbeiterin:	Christine Biechl	71-5527

## Forschung

### Ergebnisse

#### **Einfluss der Rasse auf die Käseereitauglichkeit der Milch**

*Influence of breed on cheese making ability of milk*

Buchberger, J.; Biechl, Ch.; Miller, M.; Uth, M.; Willeke, H.: - In: dmz Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft 125 (2004), Nr. 11, S. 26-29 (Teil I), Nr. 13, S. 28-34 (Teil II und Nr. 16, S. 34-37 (Teil III)

Dieses im Jahr 2000 begonnene Forschungsvorhaben wurde im Berichtszeitraum abgeschlossen. Die sog. Käseereitauglichkeit der Milch ist in den letzten Jahren immer stärker in den Blickpunkt der Milchwirtschaft gerückt, weil einerseits immer mehr Milch zu Käse verarbeitet wird und weil andererseits aus verschiedenen Ländern, wie z.B. Frankreich, Italien, Schweden und Finnland, von einer abnehmenden Käseereitauglichkeit der Anlieferungsmilch berichtet wird. Eine gute Käseereitauglichkeit der Milch ist aber für eine wirtschaftliche Käseproduktion von großer Bedeutung. Über den Einfluss der Rasse auf die Käseereitauglichkeit der Milch liegen weltweit betrachtet nicht viele Untersuchungen vor. Dies trifft besonders auch für Bayern zu; so wurden z.B. die Gerinnungseigenschaften der Milch – ein wichtiger Teilaspekt des Begriffes „Käseereitauglichkeit der Milch“ – bisher nur an einer kleinen Stichprobe von reinrassigen bayerischen Fleckviehkühen ermittelt (Buchberger et al., Mitteilungsblatt der ARGE Pinzgauer Rinderzuchtverbände (1998) Nr. 168/169, S. 25-26). Daher sollten im vorliegenden Forschungsvorhaben die Gerinnungseigenschaften und weitere für die Käseereitauglichkeit der Milch wichtige Parameter der Rohmilch untersucht werden, wobei in Versuch 1 die Rassen Fleckvieh, Braunvieh sowie Schwarzbunt und in Versuch 2 die Rassen Fleckvieh, Gelbvieh und Schwarzbunt für die Untersuchungen herangezogen wurden.

Folgende Parameter wurden ermittelt:

Versuch 1:

- a) 247 Mischmilchproben (83 Fleckvieh, 82 Braunvieh, 82 Schwarzbunt): Gefrierpunkt, Eiweiß-, Nichtcaseineiweiß- und Caseingehalt, Caseinzahl, relativer Anteil von  $\kappa$ -,  $\alpha_{s2}$ -,  $\alpha_{s1}$ - und  $\beta$ -Casein am Gesamtcaseingehalt, Fettgehalt, Lactosegehalt, pH-Wert, Natrium-, Kalium- und Calciumgehalt sowie Zellzahl
- b) 202 Mischmilchproben: R-Wert,  $A_R$ -,  $A_{10}$ - und  $A_{20}$ -Wert
- c) 186 Mischmilchproben: relativer Anteil von  $\alpha$ -Lactalbumin, Blutserumalbumin und  $\beta$ -Lactoglobulin am Molkenproteingehalt
- d) 72 Mischmilchproben: Caseinmicellengröße

Versuch 2:

- a) 174 Mischmilchproben (58 Fleckvieh, 58 Gelbvieh, 58 Schwarzbunt), alle Parameter wie in Versuch 1-a
- b) 138 Mischmilchproben: Gerinnungsparameter wie in Versuch 1-b
- c) 116 Mischmilchproben: Molkenproteinfraktionen wie in Versuch 1-c
- d) 32 Mischmilchproben: Caseinmicellengröße

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. In Versuch 1 wurden für die Rassen Braunvieh, Fleckvieh und Schwarzbunt ohne Korrektur auf den Eiweißgehalt der Milch Gerinnungszeiten von 8.82, 9.22 bzw. 9.85 min ermittelt, wobei sich der Wert von 9.85 min signifikant von den beiden anderen Werten unterschied. Nach Korrektur auf Eiweißgehalt lagen die Gerinnungszeiten bei 8.63 min (Braunvieh), 9.20 min (Fleckvieh) und bei 9.98 min (Schwarzbunt). Hier waren alle Differenzen zwischen den Rassen signifikant. In Versuch 2 betrug die Gerinnungszeiten vor der Korrektur 8.80, 8.88 und 9.72 min für die Rassen Fleckvieh, Gelbvieh und Schwarzbunt. Nach der Korrektur auf den Eiweißgehalt waren die Werte fast ähnlich wie vor der Korrektur. Die R-Werte der Gelbvieh- bzw. Fleckviehmilch unterschieden sich vor und nach Eiweißkorrektur signifikant von den Werten der Milch der Schwarzbuntkühe.
2. Die unkorrigierten  $A_R$ -Werte nahmen in der Reihenfolge Braunvieh (14.70 cm), Fleckvieh (13.88 cm) und Schwarzbunt (12.80 cm) ab, d. h. Braunvieh wies die besten Festigkeitswerte der Labgallerte auf und Schwarzbunt die schlechtesten; ebenso nahmen in derselben Reihenfolge der Rassen die unkorrigierten  $A_{20}$ -Werte ab (16.11, 15.58 und 14.76 cm), wobei bei beiden Parametern alle Differenzen zwischen den drei Rassen signifikant waren. Nach Korrektur auf den Eiweißgehalt der Milch ergab sich bei beiden Parametern in absoluten Zahlen ebenfalls dieselbe Reihenfolge; es waren jedoch nur mehr der  $A_R$ - und der  $A_{20}$ -Wert der Milch der Schwarzbunten signifikant von den  $A_R$ - bzw.  $A_{20}$ -Werten der Braunvieh- bzw. Fleckviehkühe verschieden. In Versuch 2 wurden für die Rassen Fleckvieh, Gelbvieh und Schwarzbunt unkorrigierte

$A_R$ -Werte von 13.72, 13.92 und 13.06 cm beobachtet und die  $A_{20}$ -Werte lagen bei 15.82, 15.75 und 15.03 cm; die Gelbvieh- und Fleckviehwerte waren nicht signifikant von einander verschieden, sie waren aber signifikant besser als die der Schwarzbuntrasse. Die Korrektur auf den Eiweißgehalt der Milch ergab kaum Änderungen bei den absoluten  $A_R$ - und  $A_{20}$ -Werten und keine Änderung bei den Signifikanzen.

3. In der Reihenfolge Braunvieh, Fleckvieh und Schwarzbunt nahmen in Versuch 1 der Eiweißgehalt (3.52, 3.40 und 3.27 %), der Caseingehalt (2.80, 2.70 und 2.58 %) sowie der relative Anteil von  $\kappa$ -Casein am Gesamtcaseingehalt (9.25, 8.13 und 7.59 %) ab; innerhalb der einzelnen Parameter waren alle Differenzen zwischen den drei Rassen signifikant. In Versuch 2 wurden für die Rassen Fleckvieh, Gelbvieh und Schwarzbunt Eiweißwerte von 3.36, 3.33 und 3.28 % (Schwarzbunt signifikant zu Gelbvieh und Fleckvieh) und Caseinwerte von 2.66, 2.63 und 2.58 % errechnet; hier war die Differenz Fleckvieh-Schwarzbunt signifikant. Der relative Anteil von  $\kappa$ -Casein am Gesamtcaseingehalt nahm in der Reihenfolge Gelbvieh, Fleckvieh und Schwarzbunt (9.71, 8.48, 7.65%) jeweils signifikant ab.
4. Die Caseinzahl betrug im 1. Versuch 79.46, 79.18 und 78.46 % für die Rassen Braunvieh, Fleckvieh und Schwarzbunt und die Caseinzahl der Schwarzbunten unterschied sich signifikant von der von Braunvieh bzw. Fleckvieh. In Versuch 2 lagen die Caseinzahlen der Rassen Fleckvieh, Gelbvieh und Schwarzbunt bei 79.14, 79.16 und 78.64 %; hier war die Differenz zwischen Fleckvieh und Schwarzbunt signifikant.
5. In Versuch 1 lagen die Lactosewerte bei 4.77, 4.76 und 4.69 für die Rassen Braunvieh, Fleckvieh und Schwarzbunt und in Versuch 2 wurden Werte von 4.79, 4.80 und 4.73% für die Rassen Fleckvieh, Gelbvieh und Schwarzbunt ermittelt, wobei in beiden Versuchen die Differenzen zwischen der Schwarzbuntrasse und den übrigen Rassen signifikant waren.
6. Der pH-Wert von 6.745 beim Gelbvieh unterschied sich signifikant von dem von Fleckvieh und Schwarzbunt.
7. Der Calciumgehalt der Milch von Braunvieh- und Fleckviehkühen war in Versuch 1 signifikant höher als der von Schwarzbunkühen (122.5, 123.1 bzw. 115.1 mg/100 ml); in Versuch 2 war der Calciumgehalt der Milch von Fleckvieh und Gelbvieh im Vergleich zu Schwarzbunt signifikant höher (124.6, 123.4 bzw. 117.6 mg/100 ml).
8. In Versuch 1 lagen die Zellzahlen für die Rassen Braunvieh, Fleckvieh und Schwarzbunt bei 235.000, 175.000 und 237.000/ml; in Versuch 2 wurden Zellzahlen von 199.000, 242.000 und 275.000/ml (Fleckvieh, Gelbvieh, Schwarzbunt) beobachtet. In beiden Versuchen unterschieden sich die Werte von Fleckvieh signifikant von denen der anderen Rassen.
9. Die durchschnittliche Caseinmicellengröße für Braunvieh, Fleckvieh und Schwarzbunt betrug 152.1, 164.0 und 174.9 nm, wobei alle Differenzen signifikant waren. In Versuch 2 ergaben sich für Fleckvieh, Gelbvieh- und Schwarzbunt Caseinmicellengrößen von 158.8, 161.1 und 172.6 nm. Hier war der Unterschied zwischen den Schwarzbunkühen und den Fleckvieh- bzw. Gelbviehtieren signifikant.

10. Mögliche Ursachen der zwischen den Rassen unterschiedlichen Gerinnungseigenschaften, wie Eiweiß- und Caseingehalt, Frequenz von  $\kappa$ -Casein B, relativer Anteil von  $\kappa$ -Casein am Gesamtcaseingehalt, Lactosegehalt, pH-Wert, Calciumgehalt, Zellzahl und Caseinmicellengröße, werden diskutiert.

Das Forschungsvorhaben wurde vom Bayerischen Staatsministerium für Landwirtschaft und Forsten gefördert.

#### **Einfluss des $\beta$ -Lactoglobulingenotyps bzw. der Zellzahl auf den Caseingehalt und die Caseinzahl der Milch von zwei Rinderrassen**

*Influence of  $\beta$ -lactoglobulin genotype and number of somatic cells on casein content and casein number of milk of two dairy breeds*

Buchberger, J.; Biechl, Ch.; Uth, M.; Miller, M.; Mitterwallner, I.<sup>1</sup>; Edenhauser, T.<sup>1</sup>

Die Untersuchungen für dieses Forschungsvorhaben wurden im Berichtszeitraum abgeschlossen. Insgesamt wurden Mischmilchproben von 138 Pinzgauer- bzw. von 74 Fleckviehbetrieben aus Maishofen/Österreich bzw. aus dem Dienstgebiet des Landwirtschaftsamtes Traunstein auf folgende Parameter untersucht: Eiweiß-, Nichtcaseineiweiß- und Caseingehalt, Caseinzahl, Fett-, Lactose- und Zellgehalt sowie Gefrierpunkt der Milch untersucht; z.Z. erfolgt die statistische Analyse des Datenmaterials.

Das Forschungsvorhaben wurde von der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V. gefördert.

#### **Einfluss der Varianten $\beta$ -Casein B und $\alpha_{s1}$ -Casein C auf die Käseereitauglichkeit der Milch**

*Influence of genetic variant  $\beta$ -casein B and  $\alpha_{s1}$ -casein C on cheese making ability of milk*

Buchberger, J.; Biechl, Ch.; Uth, M.; Miller, M.

Dieses Forschungsvorhaben wurde im Berichtszeitraum fortgeführt. Bisher wurden insgesamt 140 Einzelkuhmilchproben der Jerseyrasse erfasst und auf für die Käseereitauglichkeit der Milch wichtige Parameter analysiert.

Das Forschungsvorhaben wurde von der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München in Freising-Weihenstephan e.V. gefördert.

#### **mRNA Expression von immunologischen Faktoren und Milchproteinen in Milchdrüsen- gewebe und Milhzellen und ihre Konzentration in der Milch während einer subklini- schen Mastitis**

*mRNA expression of immune factors and milk proteins in mammary tissue and milk cells and their concentration in milk during subclinical mastitis*

Schmitz, S.<sup>2</sup>; Pfaffl, M.W.<sup>2</sup>; Miller, M.; Buchberger, J.; Meyer, T.<sup>3</sup>; Sauerwein, H.<sup>3</sup>; Buckmaier, R.M.<sup>2</sup>; - In: *Milchwissenschaft* 59 (2004), S. 351-355

Näheres siehe Institut für Physiologie

<sup>1</sup> In Zusammenarbeit mit dem Rinderzuchtverband Maishofen/Österreich

<sup>2</sup> Institut für Physiologie Weihenstephan

<sup>3</sup> Institut für Physiologie, Biochemie und Tiergesundheit, Bonn

### Genetische Varianten der Milchproteine beim Estnischen Landvieh

#### *Genetic variants of milk proteins in Estonian Cattle*

Henno, M.<sup>4</sup>; Kübarsepp, I.<sup>4</sup>; Mihhejev, K.<sup>4</sup>; Buchberger, J.; Biechl, Ch.; Krause, I.<sup>5</sup>; Sperrer, I.<sup>5</sup>: - In: Arche Nova (2004) Nr. 4, S. 12-13

Vom Estnischen Landvieh (auf Estnisch "Eesti maakari") gibt es heute nur noch etwa 500 weibliche Tiere in Estland; die Rasse ist somit stark vom Aussterben bedroht. Im Berichtsjahr wurden in 118 Milchproben von reinrassigen Estnischen Landviehkühen die genetischen Varianten der Milchproteine mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung ermittelt. Die Allelfrequenzen sind in Tab. 1 wiedergegeben.

Tab. 1: Allelfrequenzen beim Estnischen Landvieh

Allel		Frequenz (%)
alpha <sub>s1</sub> -Casein	B	0.915
	C	0.085
beta-Casein	A <sup>1</sup>	0.318
	A <sup>2</sup>	0.644
	B	0.038
kappa-Casein	A	0.695
	B	0.305
beta-Lactoglobulin	A	0.314
	B	0.686

Insgesamt weisen die Allelfrequenzen keine Besonderheiten auf. Die für die Gerinnungseigenschaften der Milch günstige Variante κ-Casein B kommt beim Estnischen Landvieh im Vergleich zu anderen Milchviehrassen leicht überdurchschnittlich vor.

## Lehre, Vorträge

### Lehre

Fach Rohstoffkunde: Wintersemester 2 Semesterwochenstunden

Fach Rohstoffkunde: Sommersemester 1 Semesterwochenstunde

### Vorträge

#### **Buchberger, J.:**

„Vergleich von Milchleistung und Milchqualität aus biologischer bzw. konventioneller Erzeugung.“

Fortbildungsveranstaltung der Prüf- und Besamungsstation München-Grub e.V., Grub, 17.03.2004

<sup>4</sup> Institute of Animal Science, Estonian Agricultural University, Tartu, Estonia

<sup>5</sup> ZIEL, Abtl Biofunktionalität, AG Proteinanalytik

„Einfluss des Melkverfahrens auf die Qualität der Anlieferungsmilch.“

ebenda

„Fragen zur Sicherheit der MLP.“

ebenda

„Genetische Varianten der Milchproteine: Eine Möglichkeit zur Überwachung der MLP.“

Sitzung des Ausschusses des Zuchtverbandes für Fleckvieh Pfaffenhofen Oberbayern e.V., Pfaffenhofen, 18.03.2004

„Zur Entwicklung der Häufigkeit von  $\kappa$ -Casein B beim Fleckvieh in den Jahren 1975-1993.“

ebenda

„Milchqualität bei automatischen Melkverfahren, beim Melkstand und bei der Rohmelkanlage im Vergleich.“

ebenda

„Einfluss der genetischen Varianten der Milchproteine auf Zusammensetzung und technologische Eigenschaften der Milch.“

Seminar „Tierische Erzeugung“, Fachhochschule Weihenstephan, Abteilung Triesdorf, Triesdorf, 30.03.2004

„Aktuelle Fragen zur Milchqualität.“

ebenda

„Gefrierpunkt der Roh- und Konsummilch. Was Labormeister darüber wissen sollten.“

Seminar im Rahmen der Fortbildung zum Milchwirtschaftlichen Labormeister des Lehr-, Versuchs- und Fachzentrums für Milchwirtschaft, Triesdorf, 30.03.2004

„Gibt es Unterschiede in der Zusammensetzung von ökologisch bzw. konventionell erzeugter Milch?“

ebenda

„Zum Einfluss des Melkverfahrens auf die Qualität der Anlieferungsmilch.“

ebenda

„Einfluss der Rasse auf die Käseereitauglichkeit der Milch.“

Diskussionsveranstaltung der Rinderzuchtverbände Südtirols, St. Lorenzen/Südtirol, Italien, 14.06.2004

„Einfluss der Rasse auf die Käseereitauglichkeit der Milch.“

Allgäuer Herdebuchgesellschaft, Kaufbeuren, 27.09.2004

„Einfluss der Rassen Gelbvieh, Fleckvieh und Schwarzbunt auf die Käseereitauglichkeit der Milch.“

Landeskuratorium der Erzeugerringe für Tierische Veredelung in Bayern e.V. und Rinderzuchtverband Würzburg e.V., Würzburg 29.10.2004

„Einfluss der Rasse auf die Käseereitauglichkeit der Milch.“

Seminar des Institutes für Tierzucht der LfL Grub, Grub, 24.11.2004

„Vergleich der Käseeritauglichkeit der Milch von Fleckvieh, Braunvieh und Schwarzbunt.“  
Mitgliederversammlung der Prüf- und Besamungsstation München-Grub e.V.,  
Grub, 01.12.2004

## Beratung

Beratung im Zusammenhang von Überschreitungen des Grenzwertes beim Gefrierpunkt der Milch

Auftragsuntersuchungen zur Ermittlung der genetischen Varianten der Milchproteine

Auftragsuntersuchungen zur Bestimmung der genetischen Varianten der Milchproteine im Rahmen der sog. Bestandsnachprüfung (Auftraggeber: Landeskuratorium der Erzeugerringe für Tierische Veredelung in Bayern e.V., München)

## Wissenschaftliche Zusammenarbeit mit Organisationen

Mitglied im Ausschuss der Prüf- und Besamungsstation München-Grub e.V.

## Besucher

08.03. – 09.03.2003 Frau Ivi Kübarsepp, Landwirtschaftliche Universität, Tartu, Estland

02.11. – 31.01.2004 Herr Konstantin Mihhejev, Landwirtschaftliche Universität, Tartu, Estland

## Veröffentlichungen

**Buchberger, J.; Biechl, Ch.; Weiß, G.; Steidle, E.; Rosenberger, E.; Dodenhoff, J.:** Melkroboter und Milchqualität – Einfluss des Melkverfahrens auf die Qualität der Anlieferungsmilch. In: Neue Landwirtschaft (2004), Nr. 1, S.60-61.

**Buchberger, J.; Biechl, Ch.; Miller, M.; Uth, M.; Willeke, H.:** Einfluss der Rasse auf die Käseeritauglichkeit der Milch. Teil I. In: dmz Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft 125 (2004), Nr. 11, S.26-29.

**Buchberger, J.; Biechl, Ch.; Miller, M.; Uth, M.; Willeke, H.:** Einfluss der Rasse auf die Käseeritauglichkeit der Milch. Teil II. In: dmz Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft 125 (2004), Nr. 13, S.28-34.

**Buchberger, J.; Biechl, Ch.; Miller, M.; Uth, M.; Willeke, H.:** Einfluss der Rasse auf die Käseeritauglichkeit der Milch. Teil III. In: dmz Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft 125 (2004), Nr. 16, S.34-37.

**Buchberger J.; Biechl, Ch.; Miller, M.; Uth, M.; Willeke, H.:** Käseeritauglichkeit der Milch von Braunvieh im Vergleich zur Milch von Fleckvieh und Schwarzbunten. In: Allgäuer Bauernblatt 71 (2004), Nr. 49, S. 89-91.

**Buchberger J.; Biechl, Ch.; Miller, M.; Uth, M.; Willeke, H.:** Käseeritauglichkeit der Milch von Fleckvieh im Vergleich zur Milch von Braunvieh und Schwarzbunten. In: Zucht und Besamung in Niederbayern 2004, S. 75-77.

**Buchberger, J.; Krause, I.; Biechl, Ch.:** Milchproteinallele bei den Pustertaler Sprinzen. In: Arche Nova (2004), Nr. 1, S.5-6.

**Buchberger, J.; Steidle, E.; Weiß, G.; Rosenberger, E.; Dodenhoff, J.; Biechl, Ch.:** Melkzeug contra Roboter: Welche Milch ist besser? – In: Allgäuer Bauernblatt 72 (2004), Nr. 6, S.22-24.

Buchberger, J.; Steidle, E.; Weiß, G.; Rosenberger, E.; Dodenhoff, J.; Biechl, Ch.: **Einfluss des Melkverfahrens auf die Milchqualität. In: Milchpraxis 42 (2004), Nr. 4, S.168-169.**

**Henno, M.; Kübarsepp, I.; Mihhejev, K.; Buchberger, J.; Biechl, Ch.; Krause, I.; Sperrer, I.:** Genetische Varianten der Milchproteine beim Estnischen Landvieh. In: Arche Nova (2004), Nr. 4, S.12-13.

**Schmitz, S.; Pfaffl, M.W.; Miller, M.; Buchberger, J.; Meyer, T.; Sauerwein, H.; Bruckmaier, R. M.:** mRNA of immune factors and milk proteins in mammary tissue and milk cells and their concentration in milk during subclinical mastitis. – In: Milchwissenschaft 59 (2004), S.351-355.



---

## ZIEL – Arbeitsgruppe Proteinanalytik

---

### Adresse

Hochfeldweg 1  
D- 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161/71-4055

Telefax: 08161/71-2102

### Personal

Leb.-Chem. Ingolf Krause	-4055
Elisabeth Hofmair	-3850
Irmgard Sperrer	-3850

### Forschung

In der Arbeitsgruppe Proteinanalytik werden folgende Themen schwerpunktmäßig bearbeitet:

- Spezielle kompositorische Analytik von milchproteinhaltigen Lebensmitteln zur Charakterisierung der Authentizität, Qualität und biofunktionellen Eigenschaften.
- Untersuchungen zur Antigenität und zum allergenen Potenzial von hitze- und hochdruckbehandelten Milchproteinen.

Mit dem Umzug der Arbeitsgruppe in die Räume der Abteilung Biofunktionalität bzw. des Lehrstuhls für Biofunktionalität der Lebensmittel (Leitung: Prof. Dr. Dr. G. Rechkemmer) im März 2004 wurde der methodische Schwerpunkt auf die Analytik biofunktioneller Inhaltsstoffe, vor allem auf Peptide aus Milch und Molke mittels Chromatographie/Massenspektrometrie erweitert. Unter Einbringung von Fördermittel im HBMG-Verfahren konnte ein Ionenfallen-Massenspektrometer beschafft werden.

Die Bedeutung der biofunktionellen – insbesondere der gesundheitsförderlichen – Eigenschaften von Milchinhaltsstoffen hat in den letzten Jahren stetig zugenommen. Im Hinblick auf eine gleichzeitig steigende Verunsicherung des Verbrauchers durch die neue Lebensmittelkennzeichnung ist es gerade deshalb wichtig, gesundheitsförderliche, endogene Milchinhaltsstoffe ohne gentechnischen Hintergrund zu beschreiben. Einen herausragenden Stellenwert nehmen dabei die bioaktiven Peptide ein, die zunächst inaktiv in den Sequenzen der Milchproteine latent vorhanden sind [1] und durch fermentative Prozesse sowie während der Verdauung und Resorption freigesetzt werden können [2, 3, 4].

---

<sup>1</sup> Meisel H. *Int. Dairy J.* (1998) 8: 363 – 373

<sup>2</sup> Meisel H. Bockelmann W. *Antonie van Leeuwenhoek* (1999) 76: 217-215

<sup>3</sup> Gobetti M., Stepaniak L., DeAngelis M., Corsetti A., DiCagno R. *Critical Reviews in Food Science and Nutr.* (2002) 43: 223 – 239

Eine physiologische Wirksamkeit, z.B. Senkung des arteriellen Blutdrucks [5], als opioide Agonisten oder Antagonisten, immunstimulierende, antithrombotische, antimikrobielle und antioxidative Eigenschaften konnte in vielen Fällen eindeutig belegt werden [1-6]. Zum Nachweis und zur Identifizierung der bioaktiven Peptide werden vorzugsweise die Elektrospray-Ionisierung-Massenspektrometrie-Techniken [7] eingesetzt. Die nach Labspaltung der Caseine mit der Molke abgehenden  $\kappa$ -Casein-Fragmente, die nicht glycosylierten (CMP) und glycosylierten Casein-Makropeptide (GMP), weisen eine Reihe von biologischen Eigenschaften auf, wie z.B. die Bindung von Enterotoxinen (*V. cholerae*, *E. coli*), die Verhinderung des bakteriellen und viralen Adhesion an Darmepithelzellen, die Unterdrückung der Magensaftsekretion sowie die Wachstumsförderung von Bifidus-Kulturen [8]. Eine Zuordnung dieser ernährungsphysiologisch wertgebenden Eigenschaften zu isolierten, konkreten Substrukturen bzw. individuellen Glycomakropeptiden könnte hilfreich sein, Wertgebung und Wertschöpfung des Massen-Rohstoffes Molke neu zu beurteilen.

## Ergebnisse

### Precipitation behaviour of caseinomacropeptides and their simultaneous determination with whey proteins by RP-HPLC

*Das Fällungsverhalten der Glycomakropeptide und ihre simultane Bestimmung durch RP-HPLC*

Thomä, C.<sup>9</sup>, Krause, I.Kulozik, U.

An RP-HPLC method on polyvinylbenzene/divinylbenzene copolymer resin was applied for the quantitative determination of glycosylated and non-glycosylated caseinomacropeptides (CMP), in presence of the major whey proteins ( $\alpha$ -la,  $\beta$ -lg). The peak profile of the CMP-fractions was calibrated using the response factor determined by amino acid analysis. By omitting any critical precipitation step (e.g. trichloroacetic acid) usually applied to remove whey proteins, the method allows the simultaneous determination of the major whey proteins and CMP – the complete native spectrum - in a single run. As a prerequisite for forthcoming kinetic studies of CMP release – the precipitation sensitivity of individual whey proteins or CMP fractions against trichloroacetic acid (TCA) or perchloric acid (PCA) was studied systematically. All CMP fractions were partially precipitated even at low TCA concentrations, whereas PCA treatment resulted in negligible decrease of CMPs solubility. (Int. Dairy Journal, submitted).

<sup>4</sup> Ferranti P., Traisci M.V., Picariello G., Nasi A., Boschi V., Siervo M., Falconi C., Addeo F. *J. Dairy Res.* (2004) 71: 74 – 87

<sup>5</sup> Seppo L., Jauhiainen T., Korpela R. *Am. J. Clin. Nutr.* (2003) 77: 326 – 330

<sup>6</sup> Shah N.P. *British J. Nutr.* (2000) 84: S3 – S10

<sup>7</sup> van Elswijk D.A., Diefenbach O., van den Berg S., Irth H., Tjaden H., van der Greef J. *J. Chromatogr.* (2003) A 1020: 45 – 58

<sup>8</sup> Brody E. *British J. Nutr.* (2000) 84: S39 – S46

<sup>9</sup> In Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie der TU-München

## **Beratung, Tagungen, Exkursionen**

### **Beratung**

#### **Krause, I.:**

Auftragsuntersuchungen zur Bestimmung der Proteinzusammensetzung und –denaturierung in Milch und Milcherzeugnissen, zum Nachweis von Kuhmilch in Schaf-, Ziegen- und Büffelmilchkäse; Bestimmung der freien Aminosäuren bzw. der Aminosäurezusammensetzung nach chemischer und enzymatischer Hydrolyse sowie Nachweis von biogenen Peptiden und Aminen in Lebensmitteln und pharmazeutischen Präparaten.

Beurteilung der Antigenität / Allergenität von Milchproteinhydrolysaten und hypoallergenen Nahrungen durch elektrophoretische, immunologische und chromatographische Untersuchungen.

---

# ZIEL – Abteilung Technologie

## Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie

---

### Adresse

Weihenstephaner Berg 1  
D- 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-3535 und -4205  
Telefax: 08161-71-4384  
Internet: <http://www.weihenstephan.de/blm/lmvt>  
E-mail: Ulrich.Kulozik@wzw.tum.de  
Sabine.Becker@wzw.tum.de  
Birgit.Weber@wzw.tum.de

### Personal

Leitung:	Univ. Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik	-3535
Sekretariat:	Sabine Becker	-4205
	Birgit Weber	-4205
Mitarbeiter:	Hans-Willi Bäurle	-3534
	Dipl.-Ing. (FH) Martin Bönisch	-5056
	Dipl.-Ing. (FH) Manfred Brack (bis 30.06.2004)	-5031
	Dipl.LM-Ing. Selda Bulca	-3855
	Katharina Daimer (ab 01.09.2004)	-3939
	Rosemarie Eberhard	-3942
	Christian Ederer, Werkstattleiter	-3537
	Dipl.-Ing. Patrick Engelhard	-3534
	Dr.-Ing. Petra Först	-3536
	Franz Fraunhofer	-3537
	Dipl.-Ing. (FH) Bettina Geiler (bis 30.06.2004)	-3855
	Dipl.-Ing. MSc. Fabien Guilmineau	-3547
	Dipl.-Ing. (FH) Mirco Gschwander (ab 15.11.2004)	-5031
	Dipl.-Ing. (FH) Marina Hahn (ab 15.09.2004)	-5031
	Brigitte Härter	-5032
	Dipl.-Ing. Bettina Higl	-3856
	Marianne Holzmann	-3538
	Dipl.-Ing. (FH) Manfred Huß	-3547
	Mag.-Ing. Malgorzata Kuropatwa (ab 01.10.2004)	-3939
	Dr.-Ing. Sabine Lauber	-3855
	Dipl-Ing. (FH) Jeanette Leder (bis 30.06.2004)	-5031
	Dipl.oec.troph. Andrea Metzler (Elternzeit ab 30.08.2004)	-3939

	Maria Muranyi	-3538
	Dr.-Ing. Britta Rademacher (bis 28.02.2004)	-3536
	Dipl.-Ing. Wolfgang Ranfft (extern, seit 01.11.2003)	
	LM.-Chem. Sonja Röck	-3855
	Chalat Santivarangkna (MSc)	-3856
	Erich Schneider	-3537
	Dipl.-Ing. agr. Felix Sedlmeyer	-3856
	Dipl.-Ing. (FH) Susanne Steinle	-5031
	Dipl.oec.troph. Corinna Thomä	-5032
	Dipl.oec.troph. Michaela Tilgner	-3939
	Dipl.-Ing. Alexander Tolkach	-3536
	Günther Unterbuchberger	-3942
	Dipl.-Ing. Qin Wang	-5056
	Karin Zielonka-Richter	-5032
Gäste:	Mario-Henrique Martinez-Marins, UNICAMP, Cide Universitária Zeferino, Sao Paulo, Brazil (15.05.–31.08.2004)	
	Fabio Reis, UNICAMP, Cide Universitária Zeferino, Sao Paulo, Brazil (30.06.–31.07.2004)	
	Patricia Fuentes, Pontificia Universidad Católica, Valparaiso, Chile (04.09.–20.12.2004)	
	Cécile Bertrand, ENSIA, Rennes, Frankreich (06.09.–31.10.2004)	

## Vorwort

Am 1. März 2004 wurde der Lehrstuhl für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie 30 Jahre alt. Seitdem haben unter der Leitung von Prof. Dr.-Ing. H.G. Kessler und Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik 391 Studenten ihre Diplomarbeiten und 39 Wissenschaftler ihre Doktorarbeiten angefertigt. Im Vergleich zu den früheren Jahren haben sich besonders in den letzten 3 Jahren die Aufgaben in der Lehre deutlich erweitert. Durch die Vernetzung des Lehrstuhls im Rahmen der neuen Strukturen und Strategien an der TUM werden nunmehr auch Lehrveranstaltungen für die Studiengänge Ernährungswissenschaft, Ökotrophologie, Molekulare Biotechnologie, Dairy Science and Technology sowie für die technikorienteerte Betriebswirtschaftslehre (TUM-BWL) abgehalten. Dies hat konsequenterweise zur Folge, dass sich auch Studenten aus den verschiedenen Disziplinen zu Diplom- bzw. Master- und Bachelorarbeiten einfinden.

Auch die Forschung ist so mehr durch interdisziplinäre Themen geprägt worden. Zunehmend haben die Forschungsgebiete in der Verfahrenstechnik einen mehr oder weniger nahen Bezug zur physiologischen Relevanz der Substratveränderungen, welche somit neben die technologischen Ziele tritt. Dem „Maßstab“ Milch und Milch Inhaltsstoffe werden exemplarisch andere Substrate zur Seite gestellt: Polysaccharide, Hydrokolloide, Eigelb, Eiklar mit ihren charakteristisch unterschiedlichen Inhaltsstoffen. Hier handelt es sich ebenfalls um überaus komplexe Substrate. Die Idee dabei ist, die etablierten Methoden und Erkenntnisse aus der Milchtechno-

logie in Bezug auf die Vernetzung von Verfahrenstechnik und Substrat bzw. stofflicher Fragen und technologischer Auswirkungen auf andere Lebensmittelsysteme zu übertragen, um herauszufinden, ob bzw. zu welchem Grade es sich um generalisierbare Methoden handelt. Gleichzeitig können so neue Anstöße für die Milchtechnologie aufgenommen werden. Beispielsweise hat das System Ei unser Denken in Richtung alkalischer pH-Wert erweitert. Während zuvor nur ab pH 6,7 in Richtung saurer pH-Wert gedacht wurde, hat das Ei mit seinem pH-Wert zwischen 7-9 und isoelektrischen Punkten bei teilweise pH 11 hier andere stoffliche Grundlagen.

Auch wurde durch das gezielte Arbeiten mit ausgewählten anderen Substraten die Neugier für Wechselwirkungen zwischen Milchproteinen und anderen Lebensmittelproteinen bzw. Polysacchariden geweckt. Alle untersuchten Modell – oder reale Systeme sind komplexer Natur. Dies erfordert zunehmend weitere analytische Methoden, da zum möglichst umfassenden Verständnis dieser Systeme mehr als eine Messtechnik Aussagen liefern muss. So haben wir im letzten Jahr die Kernresonanzspektroskopie (NMR) sowie die Fluoreszenzspektroskopie mit in das Portfolio unserer Methoden aufgenommen. Im Jahr zuvor waren die Zeta-Potentialmessung sowie die Ultraschallspektroskopie und die DSC hinzugekommen. Weiter haben für spezifisch analytische Fragestellungen zur Beschreibung der prozesstechnisch ausgelösten stofflichen Veränderungen Kooperationen mit speziell analytisch ausgerichteten Einrichtungen an Bedeutung gewonnen. Dipl.-LM.Chem. Ingo Krause des Lehrstuhls für Biofunktionalität der Lebensmittel (Prof. Dr. Gerhard Reckemmer) sowie der Arbeitsgruppe von Prof. Wolfgang Doster und Dr. Ronald Gebhard des Lehrstuhls für Physik (E.13) in Garching und Dr. Mareike Wenning in der Abteilung Mikrobiologie des ZIEL von Prof. Dr. Siegfried Scherer sei herzlich für die konstruktive Zusammenarbeit gedankt. Eine Reihe von Projekten (Doktorarbeiten) haben sich 2004 dem Ende genähert, die ersten Doktoranden werden im Jahr 2005 ihre Promotionen abschließen. Hieraus werden dann vermehrt Publikationen hervorgehen.

Neben diesen positiven Entwicklungen hat sich herausgestellt, dass die Finanzlage des Bundes eine Reihe von Lücken in der Finanzierung bereits genehmigter Forschungsprojekte ergeben hat, die auf anderem Weg, zumindest zwischenzeitlich, überbrückt werden müssen. Hier hat sich die Großzügigkeit der Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung als sehr hilfreich erwiesen. Den Förderern sei an dieser Stelle ebenfalls sehr herzlich gedankt.

#### **Internationale Forschungsk Kooperationen bestehen mit:**

- Pontificia Universidad Católica de Chile, Dept. of Chemical Engineering and Bioprocesses, College of Engineering, Santiago, Chile (Prof. Dr. J. Aguilera)
- Royal Veterinary University (KVL), Department of Dairy and Food Science, Food Chemistry, Frederiksberg Copenhagen, Dänemark (Prof. Dr. L. Skibsted)
- Universidade Estadual de Campinas, Food Technology (UNICAMP), FEA/UNICAMP, Cidade Universitaria Zeferino Vaz, Campinas, Sao Paulo, Brasilien (Prof. W. Hanada; Prof. L. Viotto)
- Institute of Chemical Technology, Faculty of Food and Biochemical Technology, Prague, Tschechien (Prof. Dr. Filip. Prof. Dr. Čurda)

**Hervorragende Kontakte und Austauschprojekte bestehen mit:**

- University of Technology, Lithuanian Food Institute, Kaunas, Litauen (Dr. D. Leskauskaitė)
- Lehrstuhl der Milchproduktion und Angewandte Biotechnologie, Nordkaukasische Staatliche Technische Universität, Stavropol, Russland (Prof. Dr. V. Evdokimov, Dr. L. Alieva)
- Uniwersytet Warmińsko-Mazurski W Olsztynie, Olsztyn, Institute for Food Science, Polen (Prof. Dr. Smietana; Prof. Dr. Zjaika)
- Católica Universidad de Valparaíso, Dept. of Food Science, Valparaíso, Chile (Prof. Dr. B. Cancino)

**Forschung****Arbeitsgruppe Bioprozesstechnik / Aseptik****Leitung: Dr.-Ing. Petra Först / Dipl.-Ing. Patrick Engelhard****Einfluss der Animpfdichte und der Konzentration an Caseinomakropeptid (CMP) und seinen Fraktionen auf das Wachstumsverhalten von *Bifidobacterium lactis* Bb12***Influence of inoculum and caseinomacropetide (CMP) concentration on the growth enhancement of *Bifidobacterium lactis* Bb12*

Petra Först, Michaela Pfindel

Probiotische Kulturen erlangen eine immer größer werdende Bedeutung in der Herstellung von funktionellen Lebensmitteln mit gesundheitsförderndem Zusatznutzen. Probiotische Kulturen sollen laut Experten vor allem die Gesundheit von Kleinkindern und anderen Risikogruppen positiv beeinflussen, indem sie das Immunsystem stimulieren, sowie die Verdauungstätigkeit und die Atmung anregen. In kommerziell vertriebenen probiotischen Produkten kommen neben *Lactobacillus acidophilus* ssp. und *Lactobacillus casei* ssp. auch Vertreter der Gattung Bifidobakterien zum Einsatz. Der hier betrachtete Keim *Bifidobacterium lactis*, der von der Firma Christian Hansen unter der Bezeichnung Bb12 vertrieben wird, vermindert laut Literatur das Auftreten von Durchfallerkrankungen, steigert die Immunantwort und zeigt gegenüber EHEC (enterotoxinbildende *E. coli*) sowie *Salmonella typhimurium* antagonistische Wirksamkeit.

Bei der Herstellung der Produkte werden die probiotischen Kulturen in hohen Keimzahlen (ca.  $10^8$  Keime/g) zugesetzt, da davon ausgegangen wird, dass sich die Keime im Verlauf des Herstellungsprozesses (z.B. Joghurtfermentation) nicht weiter vermehren. Der Grund dafür liegt darin, dass die Wachstumsgeschwindigkeit von probiotischen Bakterien, insbesondere von Bifidobakterien im Vergleich zu den üblicherweise eingesetzten Starterkulturen, wie z.B. Joghurtkulturen, sehr niedrig ist. Andererseits stellte sich heraus, dass die Kulturen, die durch eine Vermehrung bereits an ein Medium adaptiert sind, eine anschließende Lagerung des Produkts besser überleben. Eine hohe Überlebensrate ist auch die Voraussetzung für einen gesundheitsfördernden Effekt.

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob das Wachstum von *Bifidobacterium lactis* durch einen Zusatz von CMP verbessert werden kann. Dazu wurden Fermentationen mit verschiedenen CMP-Konzentrationen und verschiedenen Animpfdichten in rekonstituierter Magermilch durchgeführt. Die Fermentationen erfolgten jeweils bei einer Temperatur von 37 °C

und einem pH von 6,5. Es wurden CMP Zusätze im Bereich von 0,01 g/l bis 2 g/l untersucht und Animpfdichten im Bereich zwischen  $10^4$  KBE/ml und  $10^9$  KBE/ml. Um weiterhin zu untersuchen, welcher Bestandteil des CMPs für den wachstumsfördernden Effekt verantwortlich ist, kam zudem ein CMP-Pulver mit einem höheren glykosylierten Anteil (Fa. Arla) zum Einsatz als auch isolierte Bestandteile des glykosylierten Rests wie N-Acetylneuraminsäure (Sialinsäure) und N-Acetylgalactosamin.

Es stellte sich heraus, dass bei einer hohen Animpfdichte der CMP-Zusatz keinen wachstumsfördernden Effekt hervorruft und das Wachstum ähnlich verläuft wie bei einer Fermentation ohne CMP-Zusatz. Für niedrige Animpfdichten (bis etwa  $10^7$  KBE/ml) ist ein wachstumsfördernder Effekt zu verzeichnen und zwar umso stärker, je höher die CMP-Konzentration ist. Zusammengefasst sind diese Ergebnisse in der Abb. 1 dargestellt. Der Faktor  $E_f$  bezeichnet hierbei die Keimzahl in der stationären Phase am Ende der Fermentation bezogen auf die Anfangskeimzahl bzw. Animpfdichte.

Im Bezug auf die Untersuchungen hinsichtlich der Wirkung einzelner CMP-Bestandteile auf das Wachstum von Bb12 wurde festgestellt, dass das Wachstum durch den Zusatz des kommerziellen CMP-Pulvers mit einem Anteil von 68 % GMP im Vergleich zum selbst produzierten CMP-Pulver mit einem GMP-Anteil von 48 % etwas verbessert werden konnte. Dies deutet auf die bioaktive Wirksamkeit der GMP-Fraktion hin. Um zu untersuchen, ob insbesondere die Zuckerreste N-Acetylneuraminsäure (Sialinsäure) und N-Acetylgalactosamin eine wachstumsfördernde Wirkung besitzen, wurden jeweils Fermentationen mit den isoliert zugesetzten Inhaltsstoffen durchgeführt und zwar in jenen Konzentrationen, wie sie einem CMP-Zusatz von 1 g/l sowie 2 g/l entsprechen. Bei diesen Versuchen wurde festgestellt, dass Sialinsäure eine mindest ebenso große Wachstumssteigerung hervorruft wie CMP-Pulver mit der gleichen Konzentration an gebundener Sialinsäure. Bei N-Acetylgalactosamin war die Wirksamkeit etwas schwächer ausgeprägt, ein wachstumsteigernder Effekt war aber auch hier erkennbar. Diese Untersuchungen deuten auf die bioaktive Wirksamkeit speziell von Sialinsäure hin, welche Bestandteil der glykosylierten Fraktion des CMP ist.

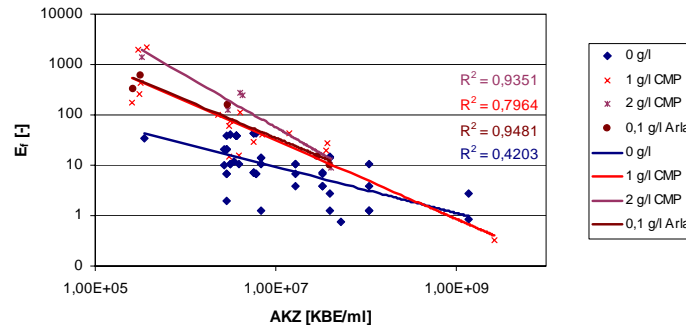


Abb. 1 Einfluss der Animpfdichte (Anfangskeimzahl AKZ) auf die Wachstumssteigerung  $E_f$  von CMP mit unterschiedlicher Konzentration.  $E_f$  ist definiert als die Keimzahl in der stationären Phase bezogen auf die Keimzahl zu Beginn der Fermentation. Die Bezeichnung CMP bezieht sich auf das selbst produzierte CMP-Pulver; die Bezeichnung Arla auf das kommerzielle CMP-Pulver mit einem erhöhten GMP-Anteil.



### Haltbarkeitsverlängerung von Milchprodukten durch Optimierung der Keiminaktivierung im Lebensmittel und auf Packstoffen

*Shelf life extension of dairy products through the optimization of the inactivation of microorganisms in foodstuff and on packaging material surfaces*

Patrick Engelhard

Aufgrund der Forderungen des Handels nach längeren Haltbarkeiten der Produkte und Bestrebungen der Industrie, den Einsatz an chemischen Entkeimungsmitteln zu reduzieren, sollen neue Verfahren zur Keiminaktivierung entwickelt bzw. bestehende Verfahren verbessert werden. Zu diesem Thema wurde ein AiF-Forschungsvorhaben im Zeitraum Februar 2002 bis Juli 2004 durchgeführt. Im Rahmen dieses Vorhabens wurden folgende Ergebnisse erzielt:

Beim Entkeimen von Oberflächen mit wasserstoffperoxidhaltiger Heißluft kann das Vorgehen beim künstlichen Verkeimen der Testoberflächen den Verlauf der Inaktivierungskinetik und folglich auch den Inaktivierungseffekt deutlich beeinflussen. Bei der Validierung von Anlagen mit diesem Entkeimungsverfahren ist die Versuchsmethodik dahingehend festzulegen, ob die Keime aufgesprüht werden sollen, was eher einer natürlichen Verkeimung der Packstoffe entspricht, oder in Form von Tropfen aufgetragen werden. In Abb. 1 sind Inaktivierungsverläufe von *Bacillus atrophaeus* Sporen, die aufgetropft bzw. aufgesprüht wurden, bei der Behandlung mit wasserstoffperoxidhaltiger Heißluft dargestellt.

Während die aufgesprühten Sporen nach einer Reaktion 1. Ordnung absterben, verlangsamt sich das Absterben der aufgetropften Sporen nach einer Behandlungszeit von 10 s, es tritt ein so genanntes „Tailing“ ein. Das Auftropfen der Sporen stellt folglich den „worst case“ für die Entkeimung mit peroxidhaltiger Heißluft dar.

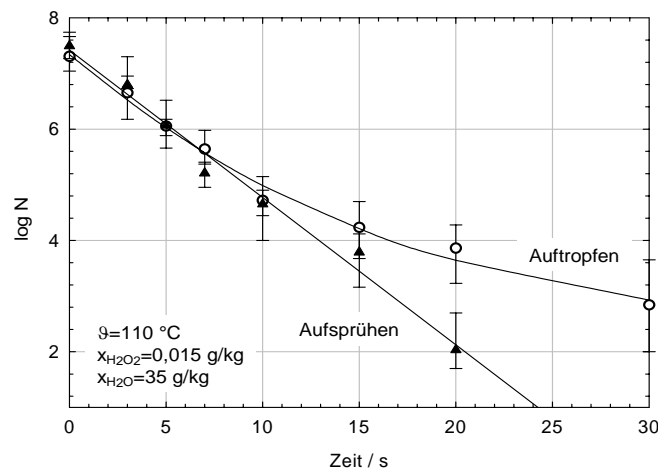


Abb. 1: Inaktivierung von *Bacillus atrophaeus* Sporen mittels wasserstoffperoxidhaltiger Heißluft bei verschiedenen Arten zur Auftragung

Mit der Darstellung von verschiedenen Optionen zur Auftragungstechnik von Testverkeimungen konnten Beiträge sowohl zur aktuell diskutierten Problematik des „Tailings“ sowie

zur konkreten Vorgehensweise zur Durchführung von Entkeimungstests nach dem VDMA-Merkblatt geliefert werden.

Es wurden die physikalischen Zusammenhänge der IR-Entkeimung, ein Verfahren, welches häufig bei der Entkeimung von Deckelplatinen aus Aluminium eingesetzt wird, untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Beschaffenheit der Deckelplatine in Bezug auf Prägung und Siegellack einen deutlichen Einfluss auf das Aufheizverhalten und somit auf den Inaktivierungserfolg hat. Für die Praxis ist bei Einsatz der IR-Entkeimung zu empfehlen, das Platinenmaterial nach diesen Gesichtspunkten zu spezifizieren. Weiterhin wurden neuartige IR-Strahler auf ihre Leistungsfähigkeit zur Packstoffentkeimung untersucht. Durch deren Einsatz ist eine deutliche Reduzierung der zur Entkeimung benötigten Zeit möglich, wie in Abb. 2 zu sehen ist. Dargestellt ist das Aufheizverhalten einer siegelfähigen Deckelplatine, die mit Sporen von *Bacillus atrophaeus* beimpft waren. Aus den Ergebnissen wurde deutlich, dass die IR-Entkeimung für hitzebeständige Packmittel eine leistungsfähige Alternative zu chemischen Entkeimungsverfahren darstellt.

Durch ein Kombinationsverfahren aus IR-Bestrahlung und einer vorhergehenden Beaufschlagung der Platinen mit geringen Mengen an verdünnten Wasserstoffperoxidlösungen ist es möglich, den Entkeimungsschritt weiter zu verkürzen.

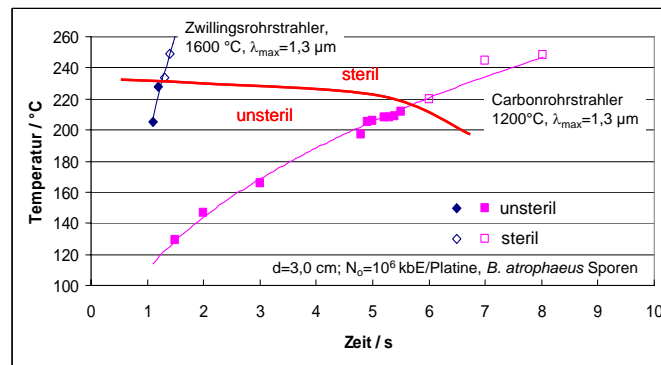


Abb. 1: Inaktivierung von *Bacillus atrophaeus* Sporen mittels wasserstoffperoxidhaltiger Heißluft bei verschiedenen Arten zur Auftragung

Dieses Verfahren kann durch einen einfachen Umbau bestehender Anlagen genutzt werden. Zudem wurde die Oberflächenentkeimung mit peroxidhaltiger Heißluft untersucht. Es konnte erstmalig gezeigt werden, dass der Wassergehalt der Luft dabei eine wichtige Einflussgröße darstellt.

Im Gegensatz zur reinen Heißluftentkeimung werden die bakteriellen Sporen umso schneller inaktiviert, je weniger Wasser in der peroxidhaltigen Heißluft vorhanden ist. Ergebnisse hierzu sind in Bild 3 zu sehen.

Durch die niedrige Wasserfracht der Luft kann eine Kondensation des Entkeimungsagens und somit das Rückstandsproblem vermieden werden.

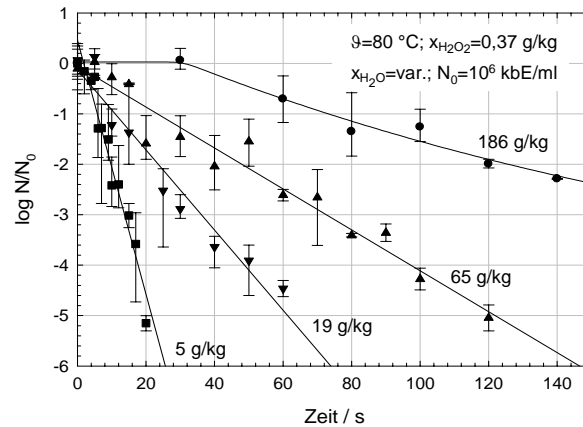


Abb. 3: Einfluss des Wassergehalts auf die Inaktivierung von *Bacillus atrophaeus* Sporen mittels wasserstoffperoxidhaltiger Heißluft

Die Haupteinflussgröße auf die Inaktivierung von Mikroorganismen stellt bei diesem Verfahren der Wasserstoffperoxidgehalt in der heißen Luft dar. Bisher wurde nicht berücksichtigt, dass sich Wasserstoffperoxid in der Gasphase teilweise zersetzt.

Deshalb wurde ein neuartiges Messverfahren auf Basis einer Gaswäsche mit anschließender jodometrischer Bestimmung des Wasserstoffperoxids für diesen Anwendungsfall entwickelt. Dies ermöglichte es, Inaktivierungskinetiken bei genau definierten Bedingungen zu erstellen, die dann auf reale Packstoffe übertragen werden können. Außerdem konnte gezeigt werden, dass mit diesem Messverfahren die Prozessbedingungen in einer Abfüllanlage in der Praxis überprüft werden können. Für den hitzeresistenten Schimmelpilz *Chaetomium globosum* wurde ermittelt, welchen Einfluss die Luftfeuchte und somit die Wasseraktivität im Lebensmittel auf die Inaktivierung hat. *C. globosum* ist unter Wasserstoffperoxideinfluss sehr leicht zu inaktivieren.

Durch die im Laufe dieses Vorhabens gewonnenen Ergebnisse wurden wichtige Erkenntnisse zum Verständnis der untersuchten Entkeimungsverfahren gewonnen. Dieses neu gewonnene Wissen kann von Anlagenherstellern sowie Abfüllbetrieben gleichermaßen genutzt werden, um Entkeimungsprozesse effektiver zu gestalten und folglich wirtschaftlicher zu produzieren.

Dank: Dieses Vorhaben wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft und Arbeit/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert. Projekt Nr.: 13202 N

### **Einfluss der Prozessparameter auf die Überlebensrate von *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* bei der Gefriertrocknung**

*Influence of process parameters on survival rate of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* subjected to freeze drying*

Bettina Higl, Veronika Kaufmann, Petra Först

Schon seit einigen Jahren beschreibt man den positiven Effekt von probiotischen Keimen auf

die Gesundheit. Mittlerweile werden diese Mikroorganismen erfolgreich zur Behandlung von Darmerkrankungen eingesetzt und sind in Kapselform oder als milchbasierte Nahrungsergänzungsmittel verfügbar. Als probiotische Kulturen finden Bifidobakterien und einige Stämme von Milchsäurebakterien Verwendung.

Im Hinblick auf die Deklaration von probiotischen Eigenschaften muss eine geforderte Mindestkeimzahl über einen längeren Zeitraum gewährleistet werden. Um dies zu erreichen, müssen die Keime jedoch konserviert werden, was wiederum zu einem Verlust der Lebendkeimzahl führt. Um die Ausbeute an Mikroorganismen bei der Herstellung eines lagerstabilen Produktes zu erhöhen, ist es notwendig, den Einfluss des Konservierungsverfahrens auf die Inaktivierung von Mikroorganismen zu untersuchen, da hierzu keine ausreichenden Kenntnisse vorliegen. Die Gefriertrocknung stellt eine schonende Methode zur Herstellung eines über einen längeren Zeitraum bei moderaten Temperaturen lagerfähigen Produktes dar. Besonders bei der Konservierung von empfindlichem Material hat sich die Gefriertrocknung als sehr geeignet erwiesen. Allerdings müssen auch bei diesem Trocknungsverfahren je nach Keim höhere oder niedrigere Einbußen der Funktionalität des Präparates durch Schädigungen der Zellen bei der Herstellung und Lagerung in Kauf genommen werden.

Es ist bekannt, dass Substanzen wie Disaccharide, Alkohole und Aminosäuren als sogenannte Cryo- und Lyoprotektanten einen Schutzeffekt besitzen und die Zellen während des Gefrierens und der Trocknung vor extremer Schädigung bewahren. Die schützende Wirkung ist jedoch vom physikalischen Zustand der Substanz abhängig, der wiederum durch die Prozessbedingungen beeinflusst werden kann. Welchen Einfluss die Prozessparameter bei der Gefriertrocknung auf die Inaktivierung der Mikroorganismen im Verlauf des Wasserentzugs besitzen, ist bisher jedoch unklar.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Einfluss der Prozessbedingungen hinsichtlich Produkttemperatur und Trocknungsrate auf die Inaktivierung von Mikroorganismen mit und ohne Schutzstoffe untersucht. Als probiotischer Testkeim diente *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*. Als Schutzstoffe kamen Lactose und Magermilch zum Einsatz.

Zur Herstellung von Untersuchungsmaterial wurde der Keim fermentiert und anschließend vom Fermentationsmedium mittels Zentrifugation getrennt. Die Schutzstoffzugabe erfolgte nach dem Separationsschritt. Als Referenz diente eine Suspension der Zellen in Phosphatpuffer. Im Anschluss an die Zellaufbereitung wurden die Proben bei  $-20\text{ °C}$  für eine Stunde gefroren. Bei der darauf folgenden Sublimation wurde durch den Kammerdruck die Produkttemperatur  $T_P$  und durch die Stellflächentemperatur  $T_S$  die Trocknungsrate vorgegeben. Die Überlebensrate wurde während, nach dem Gefrieren und während der Sublimation zu verschiedenen Zeiten der Trocknung bestimmt.

Abb. 1 zeigt den Verlauf der Überlebensrate von *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* während der Gefriertrocknung ohne Schutzstoffe in Abhängigkeit der entfernten Wassermenge bei den Produkttemperaturen  $T_{P1} = -20\text{ °C}$  und  $T_{P2} = -30\text{ °C}$ . Die Trocknungsrate ist in beiden Fällen gleich.

Es wird deutlich, dass die Produkttemperatur für die untersuchten Temperaturen einen erheblichen Einfluss auf die Überlebensrate der Keime bei hohen Restwassergehalten besitzt. Es ist

jedoch auch zu erkennen, dass die Überlebensrate bei niedrigen Restwassergehalten kaum noch durch die Prozessbedingungen gesteigert werden kann.

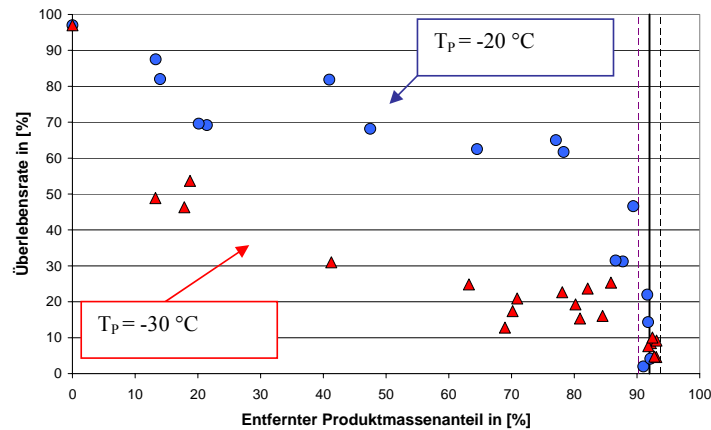


Abb. 1: Verlauf der Überlebensrate in Abhängigkeit des entfernten Wassers bei den Produkttemperaturen -20°C und -30°C und gleicher Trocknungsrate (- max. entfernbare Wasser, --- Standardabweichung)

Im Rahmen zukünftiger Forschungen soll untersucht werden, ob hinsichtlich der Lagerungsstabilität ein höherer Restwassergehalt durch eine niedrigere Lagertemperatur ausgeglichen werden kann und welche Rolle dabei die Glasübergangstemperatur bei der Lagerung mit Schutzstoffen spielt.

### Effect of Sorbitol on the Inactivation Kinetics of *Lactobacillus helveticus* during Vacuum Drying

*Einfluss von Sorbit auf die Inaktivierungskinetik von Lb. helveticus während der Vakuumtrocknung*

Chalat Santivarangkna, Petra Först

Because of the high cost of conventional cell preservation such as freezing and freeze drying, many attempts have been made to develop an alternative drying method with lower cost. Vacuum drying is a promising process if dehydration inactivation, which is the dominant problem during low temperature drying, could be minimized. In a screening experiment with different carbohydrates, we previously found that sorbitol could protect *Lactobacillus helveticus* cells during vacuum drying; survival of cells and cells with the addition of 1 % sorbitol after vacuum for 12 h at 43 °C, 100 mbar was 8 and 18% respectively.

We therefore investigated the effect of sorbitol on the drying and inactivation kinetics of the cells during the drying, so that we could know whether the protective effect was due to the change of drying kinetic from the supplementation.

Fig. 1 shows the changes in water content, drying rate, water activity, and survival with drying time for both cells and cells with 1% sorbitol addition. Water activities were constant at the beginning of the drying process before decreasing corresponding to change of water content. As the water activity is related to the change of free water of the samples, the dramatic decrease of survival of cells at this period did not seem to occur because of the loss of free

water. The drying rates were high during the first 1-2 h, and then decreased to a slight degree and kept constant after about 15 h until the end of drying process.

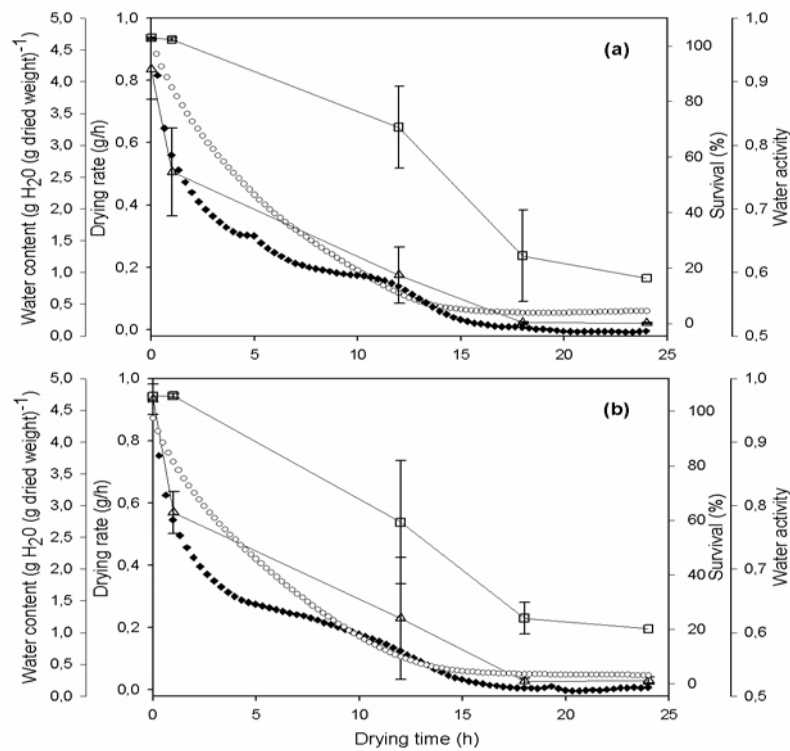


Fig. 1: Changes of drying rate (◆), water content (○), water activity (□) and survival (Δ) of *Lb. helveticus* cells (a) and cells mixed with 1% sorbitol (b) during vacuum drying at 43 °C, 100 mbar. At 0 h, samples were subjected to only pressure ramps without actual drying. The error bars indicate the standard deviation.

Clear differences in drying rate, moisture content and water activity between cells and cells supplemented with 1% sorbitol were absent. This inferred that a physical effect which would be related to change in drying rate from sorbitol addition on survival refinement might be irrelevant and another mechanism, for example, prevention of cell membrane damage (Lievens *et.al.* 1994) or protein and membrane damage (Leslie *et al.* 1995) should be considered.

As FTIR-spectroscopy has been developed and applied in microbial analysis in recent years (Schmitt and Flemming 1998), this technique was employed in our investigation to get insight knowledge into the physiological inactivation mechanism such as the alteration of cellular membrane or proteins. The FTIR-spectrum of *Lb. helveticus* is shown in Fig. 2. We found that cells after 12 h drying showed distinct deviation of some FTIR bands which might related to membrane damage and protein denaturation, i.e. 3100-2800 and 1470-1350 cm<sup>-1</sup> and approx. 3200 and 1700-1500 cm<sup>-1</sup> respectively.

The alteration of characteristic IR-bands in the spectra of cells and cell with sorbitol after vacuum drying for different periods of time were also measured and are now being evaluated to get an insight into the mechanism of inactivation.

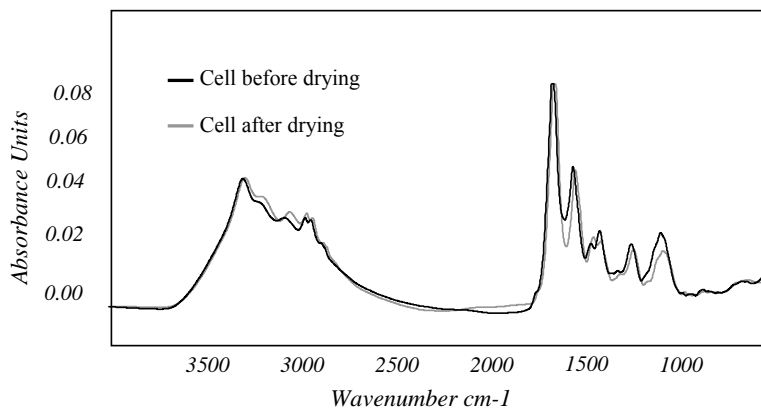


Fig. 2: FTIR-spectrum of *Lb. helveticus* cells before and after drying for 12 h at 43 C, 100 mbar. (The help of Dr. M. Wenning in conducting the FTIR measurements is gratefully acknowledged).

In conclusion, our results demonstrated the potential of vacuum drying as an alternative method for starter preservation. The investigation for the mechanism of inactivation and of protection by sorbitol should be further studied, especially during the beginning and late drying period where the fall of survival is pronounced.

#### References:

- Leslie, S.B., Israeli, E., Lighthart, B., Crowe, J.H. and Crowe, L.M. (1995) Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying. *Appl Environ Microbiol* 61, 3592-3597.
- Lievens, L.C., Verbeek, M.A.M., Taekema, T., Meerdink, G. and Van 't Riet, K. (1992) Modelling the inactivation of *Lactobacillus plantarum* during a drying process. *Chem Eng Sci* 47, 87-97.
- Schmitt, J. and Flemming, H-C. (1998) FTIR-spectroscopy in microbial and material analysis. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 41, 1-11.

#### Arbeitsgruppe Proteintechnologie / Membrantechnik

Leitung: Dr. -Ing. Sabine Lauber / Dipl.-Ing. Alexander Tolkach

#### Untersuchungen zur Strukturbildung von Molkenprotein-Carrageenan-Mischungen unter Hochdruck

*Investigations on structure formation of whey protein-carrageenan-mixtures under high pressure treatment*

Sabine Lauber, Andrea Metzler, Stefanie Schmidt

Die Möglichkeit, durch druckinduzierte Strukturveränderungen in Lebensmitteln neue Produkte zu schaffen, wird derzeit aufgrund mangelnder Kenntnisse über die Modifikation von

Lebensmittelinhaltsstoffen unter Hochdruck noch kaum genutzt. Ein breites Arbeitsgebiet stellt das Verhalten von Protein- und Hydrokolloid-Gemischen unter Hochdruck bezüglich ihrer Struktur- und Gelbildungseigenschaften dar. Ziel dieser Arbeit ist es, die unter Hochdruck gebildeten Strukturen von Molkenprotein-Carrageenan-Lösungen zu analysieren und zu charakterisieren. Außerdem sollen mögliche Wechselwirkungen zwischen den beiden Komponenten herausgearbeitet werden. Wie bei traditionellen Verfahren können Proteine und Hydrokolloide kompatibel oder inkompatibel reagieren. Zur Beschreibung der unter Hochdruck entstandenen Strukturen wurden die Parameter Viskosität, Partikelgröße, Denaturierungsgrad und dynamische Rheologie herangezogen.

Als Ausgangsmaterial wurde Molkenproteinisolat sowie ein Hybrid-Carrageenan ( $\kappa$ : $\lambda$ - Verhältnis = 0,6) für die Hochdruckbehandlung eingesetzt. Die Proben wurden bei 30 °C für 30 min einer Druckhöhe von 400 bzw. 600 MPa ausgesetzt. Es fand keine Variation der Druckabbaugeschwindigkeit statt, da in Vorversuchen gezeigt werden konnte, dass die Entspannungsgeschwindigkeit keinen Einfluss auf die Strukturbildung hat. Bei allen Versuchen wurde mit einer Geschwindigkeit von 200 MPa/min entspannt. Die durch eine Druckbehandlung mit 600 MPa gebildeten Strukturen sind in Abbildung 1 als Strukturdiagramm mit einer qualitativen Bewertung der vorhandenen Strukturen dargestellt.

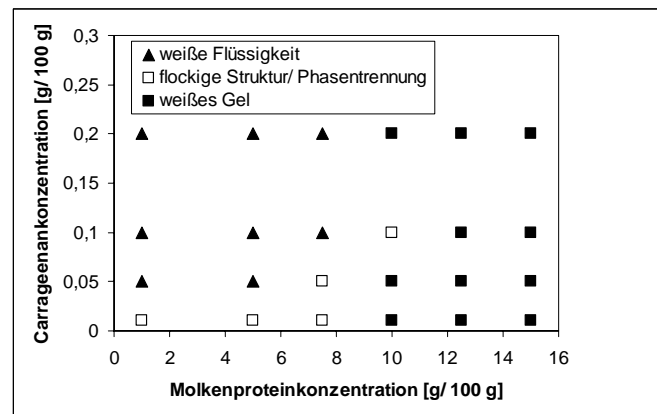


Abb. 1: Strukturdiagramm von druckbehandelten Molkenproteinlösungen mit unterschiedlichen Carrageenankonzentrationen (600 MPa)

Durch eine Hochdruckbehandlung bei 600 MPa/ 30 °C und einer Druckdauer von 30 Minuten konnten je nach Molkenprotein- bzw. Carrageenankonzentration folgende Strukturen bzw. Phasen hergestellt werden: homogen flüssig bzw. flüssig mit Phasentrennung, flüssig mit flockigen Partikeln sowie feste weiße Gele. Vergleichbare Strukturen konnten durch eine Hochdruckbehandlung mit 400 MPa erzeugt werden.

Die flüssig gebliebenen Proben mit einer Molkenproteinkonzentration kleiner als 7,5 g/ 100 g wurden anschließend mittels Fließkurven rheologisch untersucht (Abb. 2). Dabei konnte ein Anstieg der Viskosität in Abhängigkeit von der Molkenprotein- und Carrageenankonzentration beobachtet werden. Für die Proben mit 7,5 % Molkenprotein sowie 0,01 % bzw. 0,05 % Carrageenan konnte aufgrund der beginnenden Gelbildung keine Messung der scheinbaren Viskosität erfolgen.



Dieses Verhalten kann über die Bildung von fraktalen Molkenproteinpartikeln aufgrund der hydrostatischen Proteindenaturierung sowie der Serumbindung der äußeren Phase durch die gebildeten Partikel erklärt werden. Auch die Eigenschaft des Carrageenans als Verdickungsmittel unterstützt diesen Viskositätsanstieg.

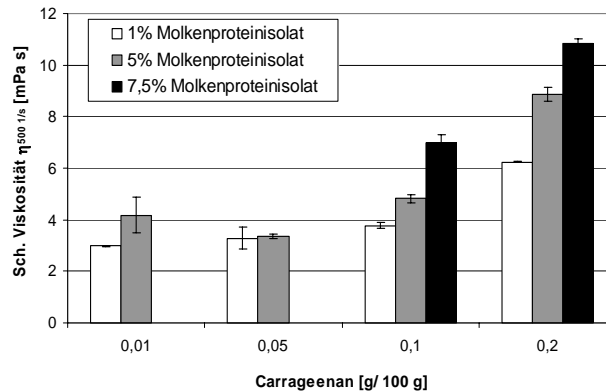


Abb. 2: Scheinbare Viskosität  $\eta_{500/1s}$  [mPas] in Abhängigkeit von der Molkenprotein- und Carrageenan-Konzentration nach einer Druckbehandlung von 600 MPa

Aus den Ergebnissen der Partikelgrößenmessung geht hervor, dass die Anwesenheit von Carrageenan zu kompakteren, kleineren Partikel aus denaturiertem Molkenprotein führt. Die Viskosität reiner Molkenproteinlösung wird allerdings erst ab einer Carrageenankonzentration von 0,1 % für die Protein/Hydrokolloid-Mischungen erreicht, da aufgrund der kompakteren Struktur weniger äußere Phase gebunden werden kann. Die nach Hochdruckbehandlung entstandenen Gelstrukturen wurden mittels zerstörungsfreier Oszillationsmessung auf das Speichermodul  $G'$ , ein Maß für das elastische Verhalten eines Gels, sowie mittels Texturanalyse auf die Maximalkraft  $F$  hin untersucht. Es konnte eine Zunahme der Gelfestigkeit mit steigendem Carrageengehalt festgestellt werden (Abb. 3).

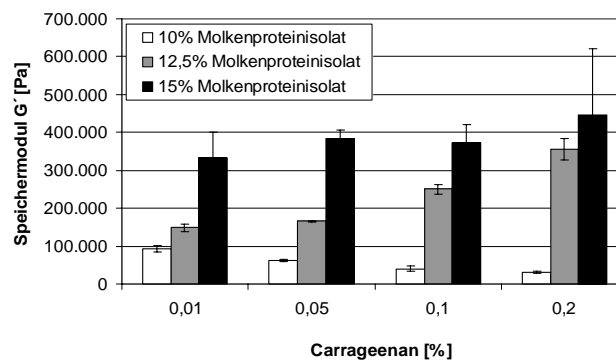


Abb. 3: Speichermodul  $G'$  [Pa] in Abhängigkeit von der Molkenprotein- und Carrageenan-Konzentration nach einer Druckbehandlung von 400 MPa

Die abweichenden Ergebnisse bei den Gelen mit einer Molkenproteinkonzentration von 10 % lassen sich auf eine zu geringe Gelhöhe zurückführen, was bei der Messung zu möglichen Randeffekten führt. Der synergistische Effekt von Molkenprotein und Carrageenan bezüglich der Gelstärke konnte auch bei thermischer Behandlung beobachtet werden.

Hier vermutet man, dass Carrageenan aufgrund der thermodynamischen Inkompatibilität ein Netzwerk in den Poren des Proteinnetzwerkes ausbildet. Bei einer Erhöhung der Carrageenankonzentration führt dies zu einer Stärkung des Hydrokolloidnetzwerkes und somit zu einer Zunahme der Gelfestigkeit. Dieses Phänomen könnte ebenfalls eine Erklärung für den Einfluss von Carrageenan auf die Gelstärke der unter Hochdruck gebildeten Gele darstellen. Vergleicht man das Speichermodul  $G'$  eines reinen 12,5 %igen Molkenproteingels mit einem Molkenprotein/Carrageenan-Gel, mit ebenfalls 12,5 % Molkenproteingehalt, wird deutlich, dass eine Konzentration von 0,05 % Carrageenan vorliegen muss, damit die Speichermodule  $G'$  vergleichbare Werte annehmen. Ab dieser Carrageenankonzentration wirkt sich das Hydrokolloid positiv auf die Gelstärke aus. Durch die Unverträglichkeit der beiden Komponenten entsteht zwar ein Molkenproteingel, jedoch steht bei dieser Konzentration scheinbar ausreichend Hydrokolloid zur Verfügung, so dass ein Hydrokolloidnetzwerk in den Poren des Proteinnetzwerkes ausgebildet werden kann. Diese Ergebnisse legen folgende Modellvorstellung als Erklärung nahe: Unter Druck aggregieren zunächst die denaturierten Molkenproteine, bevor das Hydrokolloid während der Druckabbauphase oder im Anschluss an die Hochdruckbehandlung ein Gel in den Poren des Proteinnetzwerkes ausbildet. Es konnte gezeigt werden, dass auf der Basis von Molkenprotein/Carrageenan-Mischungen unterschiedliche Strukturen mittels Hochdruckbehandlung erzielt werden können. Weiterführende Analysen bezüglich der Gelstrukturen sowie der Zusammensetzung der Gele sollen Kenntnisse über die Wechselwirkungen zwischen den Biopolymeren liefern. Dazu sollen mikroskopische Analysen der Gelstrukturen durchgeführt werden, um die einzelnen Komponenten im Gel zu identifizieren.

### **Einfluss einer UHT-Behandlung auf die enzymatische Quervernetzung von nativen Caseinmicellen mittels mikrobieller Transglutaminase**

*Effect of UHT-treatment on the Enzymatic Crosslinking of Native Casein Micelles with Microbial Transglutaminase*

Martin Bönisch, Georg Lutterschmid

Das Enzym Transglutaminase (EC 2.3.2.13) katalysiert die Quervernetzung von Proteinen mittels einer Acylgruppen-Transferreaktion zwischen der  $\gamma$ -Carboxyamidgruppe eines Glutamylrestes und verschiedenen primären Aminen einschließlich der  $\epsilon$ -Aminogruppe von Lysin. Bei protein- oder peptidgebundenen Glutamin- und Lysinresten kommt es zur Ausbildung von kovalenten Isopeptidbindungen ( $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glutamyl)Lysin), welche inter- oder intramolekular gebildet werden können. Diese Quervernetzungen beeinflussen die Funktionalität von Proteinen und somit die Struktur vieler Lebensmittel. Dabei wirkt sich die enzymatische Quervernetzung auf Gelbildung, Emulgier- und Schaumeigenschaften sowie auf das Wasserbindungsvermögen der Proteine aus. Im Bereich der Milchproteine weisen besonders die Caseine eine hohe Reaktivität gegenüber Transglutaminase auf, was auf deren gut zugängliche molekulare Struktur zurückzuführen ist. Trotzdem zeigten verschiedene Untersuchungen, dass die Reaktivität der Transglutaminase in Rohmilch sehr gering ist und es erst nach einer entsprechenden

Vorerhitzung des Substrates zur Ausbildung von Quervernetzungen kommt. Dies wurde verschiedentlich der Auffaltung von Molkenprotein (MP) infolge Denaturierung zugeschrieben.

Ziel der vorliegenden Arbeiten war es, zunächst den Einfluss einer Erhitzung der Caseinfraktion im UHT-Bereich im Abwesenheit von MP auf die Quervernetzungsreaktion zu untersuchen. Hierbei wurden gezielt UHT-Bedingungen gewählt, um eine mögliche Veränderung der Micellstruktur zu induzieren. Des Weiteren sollte geklärt werden, warum die Reaktivität mikrobieller Transglutaminase in unerhitzter Milch so gering ist.

Dazu wurden native Caseinmicellen mittels Membrantrenntechnik von den MP getrennt (MF-Diafiltration) gewonnen, wobei die Molkenproteine entfernt wurden, um einen alleinigen Effekt der Erhitzung auf die Caseinfraktion untersuchen zu können. Mittels UF-Permeat (Milchserum) bzw. wässriger  $\text{CaCl}_2$ -Lösung und den nativen Caseinmicellen wurden 3 %-ige Caseinmizell-Lösungen hergestellt. Für die Erhitzungsversuche wurden die Proteinlösungen in einer kontinuierlichen UHT-Anlage erhitzt ( $140\text{ }^\circ\text{C}$ , 20 s). Sowohl die nativen als auch die erhitzten Caseinlösungen wurden anschließend für 90 min mit Transglutaminase inkubiert (3 Units/g Protein,  $40\text{ }^\circ\text{C}$ ). Die Proteinquervernetzung wurde unter reduzierenden Bedingungen mittels Gelpermeationschromatographie untersucht.

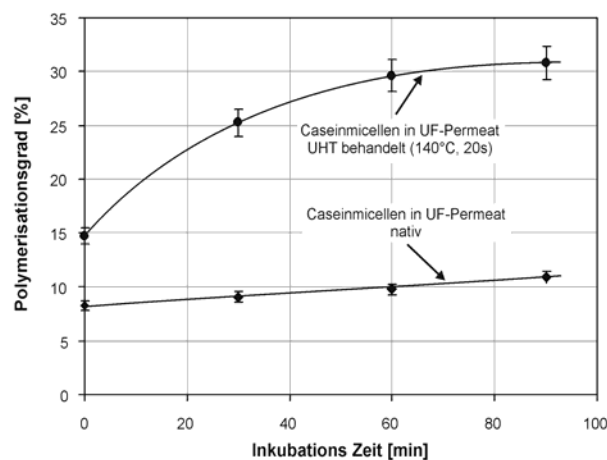


Abb. 1: Polymerisationsgrad Caseinlösung (nativ/UHT-behandelt)

In Abbildung 1 ist der Polymerisationsgrad einer nativen und einer UHT-behandelten Caseinlösung als Funktion der Inkubationszeit mit Transglutaminase dargestellt. Es zeigt sich, dass in der nativen Probe nur ein minimaler Anstieg des Polymerisationsgrades über der Inkubationszeit zu verzeichnen ist. Eine vorherige UHT-Behandlung erhöht den Ausgangspolymerisationsgrad auf etwa 15 % und führt zu einem deutlichen Anstieg des Polymerisationsgrades über der Inkubationszeit. Nach 90 Minuten Inkubation erreicht der Polymerisationsgrad Werte von etwa 31 %.

Als Erklärung für den Anstieg der Transglutaminase-Reaktivität liegen zunächst thermisch bedingte Veränderungen der Caseinmicelle nahe, wodurch die Zugänglichkeit der Bindungsstellen für das Enzym verbessert wird. Weiterführende Untersuchungen bezüglich des Einflusses der Milieubedingungen auf die Quervernetzung deuten jedoch auf einen Einfluss der

Erhitzung auf das Lösungsmedium. In diesen Versuchen wurden die Caseinmicellen einerseits in UF-Permeat (natürliches Milchserum) gelöst und andererseits in einer wässrigen  $\text{CaCl}_2$ -Lösung. Der eingestellte  $\text{CaCl}_2$ -Gehalt von 240 mg/l sollte sicherstellen, dass keine Disaggregation der Caseinmicellen stattfindet, andererseits jegliche sonstige niedermolekulare Komponenten ausschließen.

In Abbildung 2 ist der Polymerisationsgrad für micellares Casein in diesen beiden wässrigen Phasen als Funktion von der Inkubationszeit dargestellt.

Die Transglutaminase-Inkubation führt in dem System mit UF-Permeat zu keinem deutlichen Anstieg des Polymerisationsgrades. Jedoch steigt der Polymerisationsgrad des micellaren Caseins, gelöst in  $\text{CaCl}_2$ -Lösung, auf bis zu 31 % an. Dieses Ergebnis lässt sich nur durch den Einfluss eines TG-Inhibitors in Untersuchungen von De Jong et al. (2003) erklären.

Die Ergebnisse haben eine potentielle Bedeutung für den Einsatz der Transglutaminase bei der Joghurt- oder Käseherstellung, wo eine thermische Vorbehandlung der Milch zu einem drastischen Anstieg der TG-Wirkung führt und damit den Quervernetzungseffekt erheblich steigert.

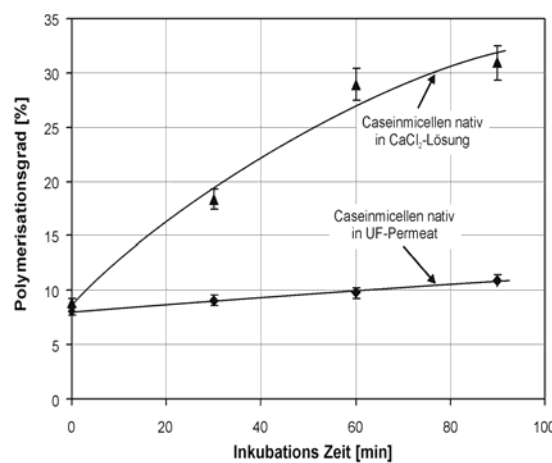


Abb. 2: Polymerisationsgrad in wässrigen Phasen

Literatur:

De Jong GAH, Wijngaards G, Koppelman SJ. 2003. Transglutaminase Inhibitor from Milk. J Food Sci 68:820-825

### Schaum- und Emulgier Eigenschaften von Caseinomakropeptid

*Foaming and emulsifying properties of caseinomacropeptide*

Corinna Thomä, Sabine Eichl, Nadja Siegert

Milch enthält ein breites Spektrum an ernährungsphysiologisch relevanten Inhaltsstoffen, zu denen das Caseinomakropeptid (CMP) zählt. CMP entspricht dem hydrophilen Teil des  $\kappa$ -Caseins, der bei der enzymatischen Hydrolyse von  $\kappa$ -Casein während der Labeinwirkung bei der Herstellung von Käse freigesetzt wird und dabei in die entstehende Süßmolke übergeht.

Die ernährungsphysiologisch interessanten Eigenschaften des CMP basieren auf dessen Aminosäurezusammensetzung sowie der im Molekül enthaltenen Kohlenhydratketten. Jedoch beinhaltet der chemisch-molekulare Aufbau von CMP neben einer hohen physiologischen Wirksamkeit ein viel versprechendes technologisch-funktionelles Potenzial. CMP besitzt keine Sekundärstruktur, worauf seine hohe Hitzestabilität zurückzuführen ist. Die hohe negative Ladung über einen weiten pH-Bereich, die glykosidische Struktur sowie der leicht amphiphile Charakter versprechen grenzflächenaktive sowie gelbildende Eigenschaften. CMP macht bis zu 25 % des Proteingehaltes in Süßmolke aus. Daher ist es denkbar, dass seine technologisch-funktionellen Eigenschaften die Funktionalität von Molkenproteinprodukten, insbesondere Molkenproteinkonzentraten mitbestimmt und beeinflusst. Allerdings ist über das Potenzial zur Strukturbildung durch CMP nur ein sehr karges Wissen vorhanden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde in vergleichenden Untersuchungen CMP auf technologisch-funktionelle Eigenschaften, im Speziellen auf Grenzflächeneigenschaften gegenüber Luft und Öl untersucht.

Die Schaumeigenschaften von CMP wurden im Vergleich zu Molkenproteinkonzentrat (WPC 80) sowie Eiklar untersucht. Hierzu wurde jeweils eine 5 %ige Proteinlösung bei 5 °C in einem Thermomix für 90 sec bei 1000 U min<sup>-1</sup> aufgeschlagen. Zur Charakterisierung der Schäume wurde der im Schaum enthaltene Gasanteil (Overrun) als Maß für die Schaumbildung sowie die Schaumfestigkeit und der Schaumzerfall (Drainage) als Maß für die Schaumstabilisierung ermittelt. Die Struktur und Stabilität eines Schaums wird maßgeblich von der Größe der entstandenen Schaumblasen bestimmt. Abb. 1 zeigt mikroskopische Bilder der entstandenen Blasenstrukturen von verschiedenen Proteinschäumen. Es ist zu sehen, dass mittels CMP hergestellte Schäume ähnliche Blasenstrukturen wie Eiklar und  $\beta$ -Lactoglobulin ergeben.

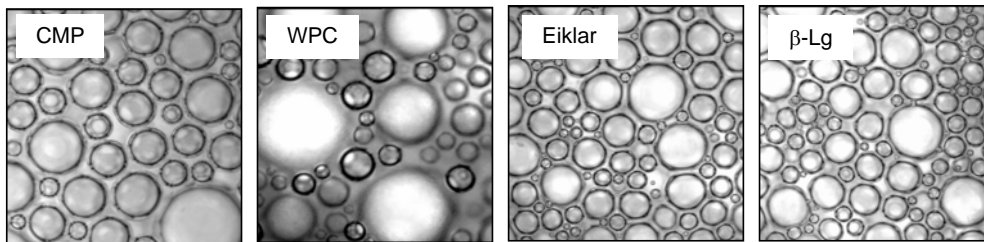


Abb.1: Lichtmikroskopische Aufnahmen verschiedener Proteinschäume

Die Ergebnisse der Untersuchungen zu den Schaumbildungseigenschaften zeigen, dass CMP eine hohes Schaumbildungsvermögen und eine gute Schaumstabilität besitzt. CMP weist einen ähnlich hohen Overrun wie Eiklar und somit eine große Gashaltekapazität auf (Bild 2a). Die Drainage von CMP ist im Vergleich zu Molkenproteinisolat (WPI) und Molkenproteinkonzentrat (WPC) vermindert, was auf ein höheres Wasserbindevermögen von CMP zurückzuführen ist (Abb 2b).

Die Emulgierereigenschaften von CMP wurden in vergleichenden Untersuchungen zu Molkenproteinisolat (WPI), Natrium-Caseinat sowie  $\beta$ -Lactoglobulin ermittelt. Hierzu wurden jeweils 10 % Sonnenblumenöl in einer 1 %igen Proteinlösung mittels einstufigem Hochdruckhomogenisator bei 500 bar emulgiert. Die Emulgierereigenschaften wurden durch Be-

stimmung der Aufrahmung mittels multipler Lichtstreuung sowie der Tröpfchengrößen in An- und Abwesenheit von SDS und den daraus resultierenden Aggregations- und Koaleszenzfaktoren verifiziert.

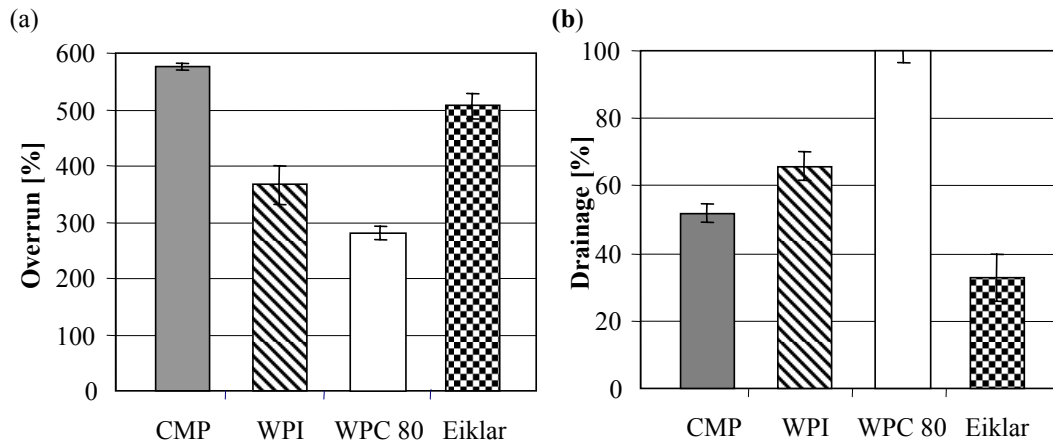


Abb. 2: Overrun (a) und Drainage (b) von verschiedenen Proteinschäumen, 5% Proteinkonzentration

Die Ergebnisse zeigen, dass CMP eine gute Emulgierkapazität und Emulsionsstabilität aufweist. Vergleicht man die Emulgiereigenschaften von CMP mit anderen Milchproteinen (Abb. 3), so ist zu erkennen, dass die Emulgierkapazität von CMP ähnlich der von Natrium-Caseinat und  $\beta$ -Lactoglobulin ist und die Emulsionsstabilität im Bereich von Molkenproteinisolat (WPI) liegt. Diese hohe Emulsionsstabilität ist darauf zurückzuführen, dass keine Aggregation und kaum Koaleszenz der Fettkugeln auftreten, wohingegen  $\beta$ -Lactoglobulin-stabilisierte Emulsionen stark zu Aggregation neigen.

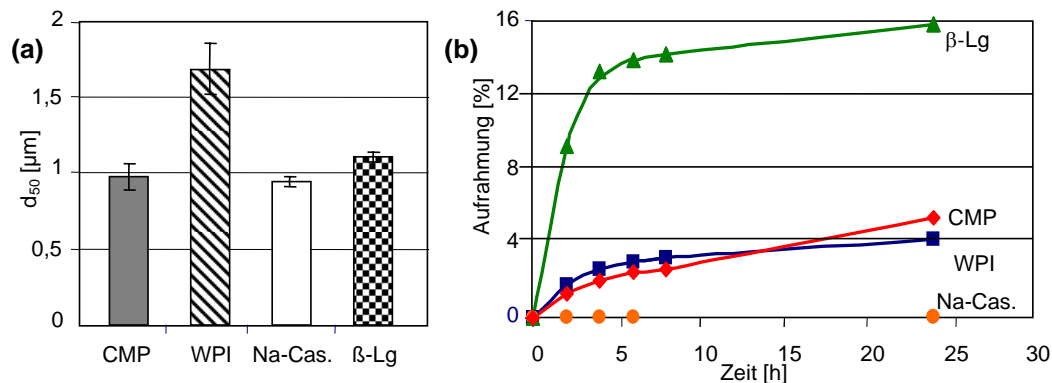


Abb. 3: Mittlere Partikeldurchmesser (a) und Aufrahmung während der Lagerzeit (b) Milchprotein-stablisierter Emulsionen

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Schwankungen der Funktionalität von Molkenproteinprodukten u.a. auf einen unterschiedlichen Gehalt an CMP zurückgeführt werden können. Weiter eröffnen die gewonnenen Ergebnisse neue Wege zum Einsatz von CMP, indem die

nutritiven Funktionen mit den Möglichkeiten zur Produktgestaltung im Zusammenhang mit Milchprodukt- bzw. Lebensmittelstrukturen kombiniert werden können.

Dank: Dieses Projekt wird aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (Bundesministerium für Wirtschaft/AiF) über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert – Projekt-Nr. AiF-FV 13733 N).

### **Untersuchung der Oberflächenhydrophobizität von thermisch behandelten Caseinmicellen**

#### *Investigation of surface hydrophobicity from thermal treated casein micelle solutions*

Selda Bulca

Wie bereits beschrieben führt eine Erhitzung reiner Caseinmicellen zu strukturellen Veränderungen. Um diese Vorgänge, die zu einer Veränderung der Labgelbildung führen, näher zu beleuchten, wurde die Oberflächenhydrophobizität der Caseinmicellen untersucht. Die Oberflächenhydrophobizität stellt ein Maß dar, inwieweit sich die Caseinmicelle infolge einer thermischen Behandlung verändert hat.

Zur Struktur der Caseinmicelle existieren nach wie vor unterschiedliche Vorstellungen. Nach Cheffel et al. besitzen Caseine eine relativ hohe Gesamthydrophobizität. Weiter wird angenommen, dass die hydrophilen und hydrophoben Bereiche in der Aminosäuresequenz deutlich getrennt voneinander vorliegen. Nach dem von Horne et al. entwickelten Caseinmodell werden die Micellen durch zwei Bindungsmechanismen stabilisiert. Dies sind zum einen hydrophobe Wechselwirkungen und zum anderen kolloidale Calciumphosphat-Brücken. Untersuchungen von Van Vliet et al. bestätigen, dass hydrophobe Interaktionen für den hydrophoben Charakter der Caseinmoleküle verantwortlich und diese Interaktionen auch in Labcaseingelen als dominierende Kräfte anzusehen sind.

Das Ziel dieser Untersuchungen war es, Veränderungen der Oberflächenhydrophobizität von Caseinmicellen in Folge von Hitzebehandlung zu detektieren und zu klären, inwiefern dies den Koagulationsmechanismus beeinflussen kann. Zur Untersuchung der Oberflächenhydrophobizität der Caseinmicelle wurde die Methode von Nakai und Li-Chan et al. angewandt. Das Prinzip der Methode beruht darauf, dass die hydrophoben Bereiche der Proteinoberfläche mit dem fluoreszierenden Farbstoff ANS (1-anilinonaphthalene-8-sulfonic acid) bedeckt werden und anschließend die Fluoreszenz der Proteinlösung mittels Fluoreszenzspektrometer gemessen wird. Dazu wurden unterschiedlich erhitzte Caseinlösungen nach der Erhitzung mit 0,01 M Phosphatpuffer (pH 6,8) auf Proteinkonzentrationen von 0,02 bis 0,12 % verdünnt und anschließend Kalibriergeraden erstellt.

Es wurden die relativen Fluoreszenzintensitäten (RIF) von Proben gemessen, die bei 130 °C unterschiedlich lang erhitzt wurden, und über der Proteinkonzentration aufgetragen (siehe Abb.1).

Es zeigt sich, dass mit zunehmendem Proteingehalt die relative Fluoreszenzintensität RFI zunimmt. Auch ist zu erkennen, dass mit zunehmender Erhitzungsdauer die Steigung der Geraden abnimmt. Dies bedeutet, dass die relative Fluoreszenzintensität RFI bei zunehmender Erhitzungsdauer bei einer konstanten Erhitzungstemperatur abnimmt. Aus der Steigung dieser Ausgleichsgeraden kann die Oberflächenhydrophobizität  $S_0$  ermittelt werden. Weiter wurde das Verhalten der Oberflächenhydrophobizität von Caseinmicellen in Abhängigkeit von der Erhitzung bei unterschiedlichen Temperatur/Zeit-Kombinationen untersucht.

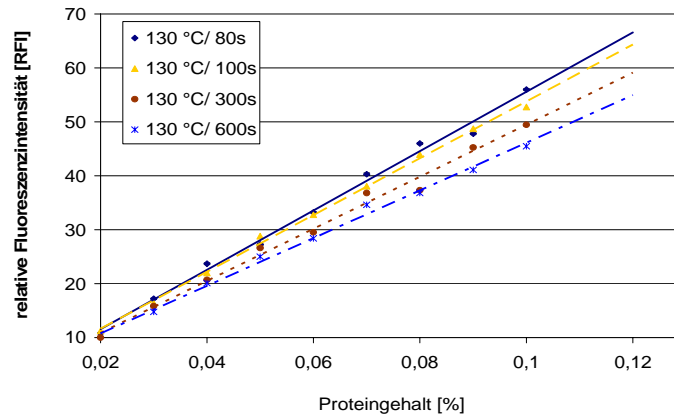


Abb.1: Relative Fluoreszenzintensität von unterschiedlich lang erhitzten Caseinlösungen, in Abhängigkeit von deren Proteingehalten

Abbildung 2 zeigt die Oberflächenhydrophobizität von Caseinmicellen bei Temperaturen von 120 bis 145 °C und Heisshaltezeiten von 30 bis 1200 Sekunden sowie nativen Caseins. Es ist zu erkennen, dass die Oberflächenhydrophobizität mit zunehmender Heisshaltezeit bei allen Erhitzungstemperaturen abnimmt. Dabei gilt, dass bei einer bestimmten Heisshaltezeit, z.B. 300 s, mit zunehmender Erhitzungstemperatur die Oberflächenhydrophobizität abnimmt.

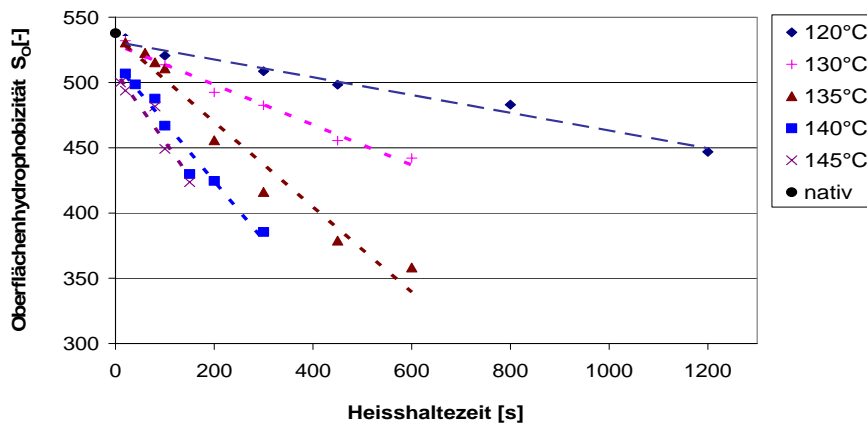


Abb. 2: Oberflächenhydrophobizität  $S_0$  von unterschiedlich erhitzten Caseinlösungen

Diese Ergebnisse zeigen deutlich die Abnahme der Oberflächenhydrophobizität der Caseinmicelle infolge thermischer Behandlung. Diese Veränderung der Oberflächenhydrophobizität kann somit als eine Ursache für die Verschlechterung der Labgeigenschaften erhitzter Caseinmicellen angesehen werden, da v.a. hydrophobe Wechselwirkungen die dominierenden Kräfte in Labcaseingelen darstellen.

Dank: Dieses Projekt wurde aus Mitteln der industriellen Gemeinschaftsforschung (BMW/AiF über den FEI e. V.) gefördert, AiF-Projekt Nr. 12718 N.



## Literatur:

- CHEFTEL, J.C., CUQ, J.L., LORIENT, D. (1992): Lebensmittelproteine- Biochemie, Funktionelle Eigenschaften, Ernährungsphysiologie, Chemische Modifizierung. Behr's Verlag, Hamburg
- HORNE, D. S. (1998): Casein interactions: Casting light on the black boxes, the structure in dairy products. *Int. Dairy J.*, 8: 171-177
- VAN VLIET, T., ROEFFS, S. P. F., ZOON, P., WALSTRA, P. (1989): Rheological properties of casein gels. *J. Dairy Res.*, 56: 529-534
- NAKAI, S., LI-CHAN, E. (1988): Hydrophobic interactions in food systems. Page: 192. Boca Raton, USA.

**Caseinmicellen unter Hochdruckeinfluss***Casein Micelles under High Pressure*

R. Gebhardt, W. Doster, J. Friedrich, U. Kulozik

Casein Micelles are large and polydisperse particles which constitute 80% of the protein normally found in bovine milk. They mainly consist of a mixture of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\kappa$ -casein in the ratios 5:4:1 and colloidal calcium phosphate particles. The physiological function of casein micelles are the transport of insoluble calcium salt to the neonates. Due to a loss of casein crystals, structural details of caseins are unknown. Presently caseins are considered both as globular proteins with a specific secondary and tertiary structure and as structureless proteins which show a rheomorphic behavior.

Structural details of the quaternary structure of caseins - the casein micelle - are still under discussion. Proposed models for casein micelles can be divided in two groups: subunit models, internal structure models.

Casein subunit models postulate spherical casein submicelles with sizes around 20 nm. Two types can be distinguished. The first one consists of  $\alpha$ - and  $\beta$ -casein and is mainly placed in the interior while the other one is built of  $\alpha$ - and  $\kappa$ -casein. The latter one is located on the outside of the micelle.

The dual binding model (Horn, 2003), a representative of internal structure models, focuses on specific interactions between the constituents of the micelle. The individual casein molecules are considered as block copolymers interacting with themselves via hydrophobic or across calcium phosphate particles via electrostatic forces. To modulate the specific interactions being responsible for the stability and integrity of the casein micelle, temperature, calcium concentration, pH or hydrostatic pressure can be changed. High Hydrostatic pressure leads to the irreversible dissociation of casein micelles into smaller constituents which was shown by imaging techniques such as electron microscopy (Needs, 2000), AFM (Regnault, 2004), turbidity measurements (Anema, 1997) as well as by direct measurement of micelle radii by photon correlation spectroscopy (Desobry-Banon, 1994).

By using high-pressure dynamic light scattering we observe in situ micelle dissociation, while AFM measurements allow us to observe irreversible changes after pressure treatment. We observe two-step pressure dissociation curves depending on temperature, pH and calcium concentration. A thermodynamic model based on two micelle conformations accounts for the

data (Fig.1). Size distribution functions were determined from AFM pictures ex situ across the transition (Fig.2).

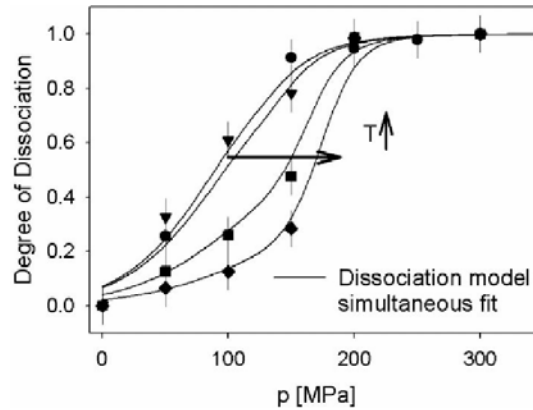


Fig. 1: Degree of dissociation of casein micelles as a function of pressure

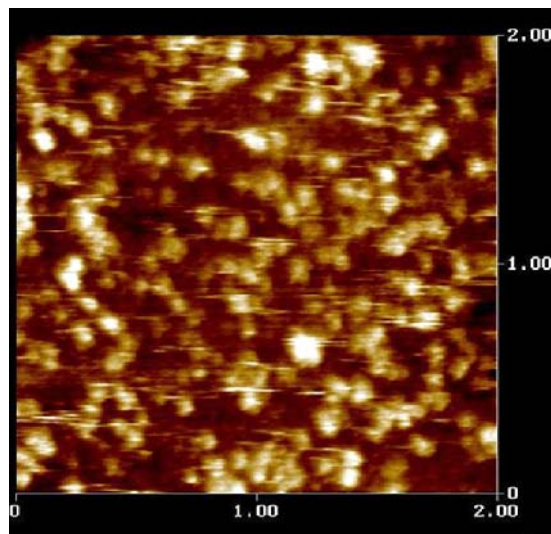


Fig. 2: Visualisation of casein micelles under pressure

#### Literature:

Anema S.G., Lee S.K., Schrader K. and Buchheim W. (1997) Effect of pH on the turbidity of pressure-treated calcium caseinate suspensions and skim milk. *Milchwissenschaft*, 52, 141-146

Desobry-Banon S., Richard F., Hardy J. (1994) Study of acid and rennet coagulation of high pressurized milk. *Journal of Dairy Science*, 77, 3267-3274

Needs E.C., Stenning R.A., Gill A.L, Ferragut V. and Rich G.T. (2000) High pressure treatment of milk: Effects on casein micelle structure and on enzyme coagulation. *Journal of Dairy Research*, 67, 31-42

Regnault S., Thiebaud M., Dumay E., Cheftel J.C. (2004) Pressurisation of raw skim milk and of a dispersion of phosphocaseinate at 9°C or 20°C: effects on casein micelle size distribution *Horn*, 2003

**Denaturierungskinetik von  $\beta$ -Lactoglobulin im sauerem pH-Bereich***Denaturation kinetics of  $\beta$ -Lactoglobulin in low pH range*

Alexander Tolkach, Susanne Steinle

$\beta$ -Lactoglobulin ( $\beta$ -Lg) ist mit seinem Gehalt von 50 % die Hauptfraktion der Molkenproteine. Deshalb werden viele funktionelle Eigenschaften von Molkenproteinpulver durch die entsprechenden Eigenschaften von  $\beta$ -Lg bestimmt, u.a. seine Fähigkeit zu denaturieren und dadurch unterschiedliche Strukturen vom Gel bis zu feinen Partikeln auszubilden. Allerdings hängt diese Eigenschaft des  $\beta$ -Lg von seinem Denaturierungsverhalten ab, das wiederum stark von den Milieubedingungen beeinflusst wird. Zu einem der wichtigsten Milieuparameter, der die Denaturierungsgeschwindigkeit von  $\beta$ -Lg beeinflusst, zählt der pH-Wert.

Es gibt eine Reihe von Untersuchungen, die sich mit dem Einfluss des pH-Werts auf das Denaturierungsverhalten von  $\beta$ -Lg befassen. Allgemein wurde beobachtet, dass ein sinkender pH-Wert,  $\beta$ -Lg gegen thermische Denaturierung stabilisiert. Jedoch wurden die Versuche oft nur bei einer Temperatur im Auffaltungsbereich bzw. mittels DSC durchgeführt, so dass die Ergebnisse für eine kinetische Beschreibung der Denaturierung von  $\beta$ -Lg in einem breiten Temperaturbereich nicht angewendet werden können.

Ziel dieser Arbeit war, das Denaturierungsverhalten von  $\beta$ -Lg in Sauermolke bei einem pH-Wert von 4,6 in einem breiten Temperaturbereich (70 bis 120 °C) zu untersuchen. Der pH-Wert von 4,6 war auch deshalb von besonderem Interesse, da er dem isoelektrischen Punkt eines denaturierten  $\beta$ -Lg-Moleküls entspricht. Laut Literaturrecherche weist  $\beta$ -Lg bei Untersuchungen mittels DSC oder Erhitzung im Wasserbad bei 80 °C, bei pH 4,6 eine höhere thermische Stabilität auf als bei dem nativen pH-Wert von Molke (pH 6.5).

Als Untersuchungsmedium wurde eine  $\beta$ -Lg-Lösung in Permeat verwendet. Der pH-Wert wurde mittels 0.1 M Salzsäure eingestellt. Die Erhitzungsversuche wurden im Wasserbad (für die Untersuchungstemperaturen bis 95 °C) oder mittels einer mit Sattendampf gespeisten Röhrenheizungsanlage (Untersuchungstemperaturen über 100 °C, Erhitzungszeiten über 100 sec) bzw. einer kontinuierlichen UHT Anlage (Untersuchungstemperaturen über 100 °C, Erhitzungszeiten unter 100 sec) durchgeführt. Die Konzentration des nativen  $\beta$ -Lg-Gehaltes wurde mittels HPLC bestimmt. Die Ergebnisse wurden formalkinetisch ausgewertet und für jede Erhitzungstemperatur eine Denaturierungsgeschwindigkeitskonstante ermittelt (Reaktionsordnung 1,5).

Abb. 1 stellt die Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten der  $\beta$ -Lg-Denaturierung von der Erhitzungstemperatur laut ARRHENIUS-Beziehung bei pH 4,6 und 6,5 dar. Es ist deutlich zu erkennen, dass der Einfluss des pH-Wertes streng von der Erhitzungstemperatur abhängt. Während eine pH-Absenkung von 6,5 auf 4,6 bei Erhitzungstemperaturen unter 90°C die Denaturierungsreaktion hemmt, beschleunigt sie die  $\beta$ -Lg-Denaturierung im Temperaturbereich über 90°C. Bei Temperaturen um 90 °C spielt der pH-Wert keine Rolle für die Denaturierungsgeschwindigkeit des Proteins.

Die Ursachen dieses Verhaltens liegen offensichtlich in der Komplexität der Denaturierungsreaktion von  $\beta$ -Lg, die aus einer Auffaltung und einer Aggregation zusammengesetzt ist. Offenbar stabilisiert die pH-Absenkung die Auffaltung des Proteinmoleküls, beschleunigt jedoch den Aggregationsprozess durch die Neutralisierung der negativen Ladung des Proteins. Daher

wirkt sich die Abnahme des pH-Wertes stabilisierend auf das  $\beta$ -Lg im auffaltungslimitierten Temperaturbereich aus und destabilisierend im aggregationslimitierten Bereich. Dies soll bei der Erhitzung von Molkenproteinkonzentraten berücksichtigt werden, zu deren Herstellung Sauermolke verwendet wird.

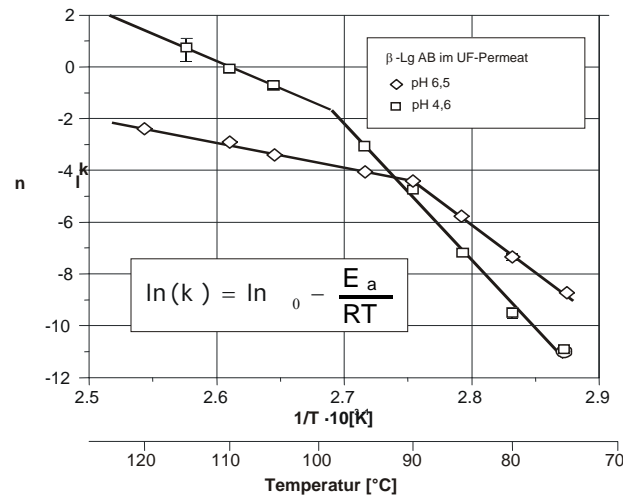


Abb. 1: Temperaturabhängigkeit der Denaturierungsgeschwindigkeitskonstante von  $\beta$ -Lg.

#### Arbeitsgruppe Rheologie und Mikrostruktur

Leitung: Dipl.-Ing. Fabien Guilmineau / Dipl.-Ing. agr. Felix Sedlmeyer

#### Einfluß der Milieubedingungen auf die emulgierenden Eigenschaften von nativem und thermisch denaturiertem Eigelb

*Impact of the environmental conditions on the emulsifying properties of native and thermally denatured egg yolk*

Fabien Guilmineau

Funktionelle Ingredienten wie Eigelb müssen aufgrund der Variabilität in der Zusammensetzung von Nahrungsmitteln ein hohes Maß an Funktionalität in einem weiten Bereich an Milieubedingungen aufweisen. Wie bereits bekannt ist, wirken sich physikalisch-chemische Faktoren wie pH und Ionenstärke auf die Struktur der Proteine aus, da das Milieu Einfluss auf die Wechselwirkungen proteinlöslicher Komponenten innerhalb eines komplexen Systems nimmt. Demnach führen die Milieubedingungen zur Änderung der funktionellen Eigenschaften der Proteine, welche sich erheblich auf die Merkmale des Endproduktes auswirken. Vorhergehende Arbeiten haben sich darauf konzentriert, den Einfluss einer thermischen Denaturierung auf die Emulgierereigenschaften in Eigelb zu beschreiben, da während der Pasteurisation Strukturveränderungen in Eigelbproteinen stattfinden. Die thermische Denaturierung zeigte eine positive Auswirkung auf die Emulgierereigenschaften von Eigelb, wodurch es nun von Interesse ist, aufzuzeigen, in welcher Weise der Effekt einer Hitzebehandlung durch die Änderung der Milieubedingungen beeinflusst wird. In dieser Studie untersuchen wir die Auswirkungen der Ionenstärke (IS) und des pH-Wertes auf die Emulgierereigenschaften von nicht erhitztem und erhitztem Eigelb.

Eine 20 %ige Eigelblösung wurde hergestellt, indem frischer Eidotter mit 1 % - NaCl Lösung in einem Verhältnis 1:4 (w:w) verdünnt wurde. Ein Teil dieser Lösung wurde für 12 Minuten bei 74 °C erhitzt, um die Proteine teilweise zu denaturieren. Die andere Hälfte blieb nativ (nicht erhitzt). Emulsionen mit 30 % Sonnenblumenöl wurden mittels eines Hochdruckhomogenisators bei 200 bar hergestellt. Die kontinuierliche Phase der Emulsionen enthielt entweder 0,15 M oder 0,52 M NaCl, der pH-Wert wurde entweder auf dem nativem Niveau von Eigelb (pH=6,5) gehalten, oder mittels 0,1 M Acetatpuffer auf einen pH-Wert 4 justiert.

Die Konzentration des Eigelbs in der kontinuierlichen Phase der Emulsionen betrug 2 % (w/w). Die so erhaltenen Emulsionen wurden durch Öltröpfchengrößenverteilung und Flockulierung (Laserbeugungsspektroskopie) sowie durch Grenzflächenproteinkonzentration und Aufrahmstabilität (optische Lichtstreuung) charakterisiert.

Wie Abb. 1 zeigt, werden die kleinsten Tröpfchen bei hoher Ionenstärke und hohem pH gebildet. Bei diesen Bedingungen herrscht in nativem Eigelb die maximale Löslichkeit der Granulen und folglich die höchste emulgierende Wirkung. Die niedrige Löslichkeit der Granulen bei niedriger Ionenstärke und niedrigem pH führt zu etwas größeren Tröpfchen, vor allem wenn beide Bedingungen kombiniert werden (Abb. 1 a).

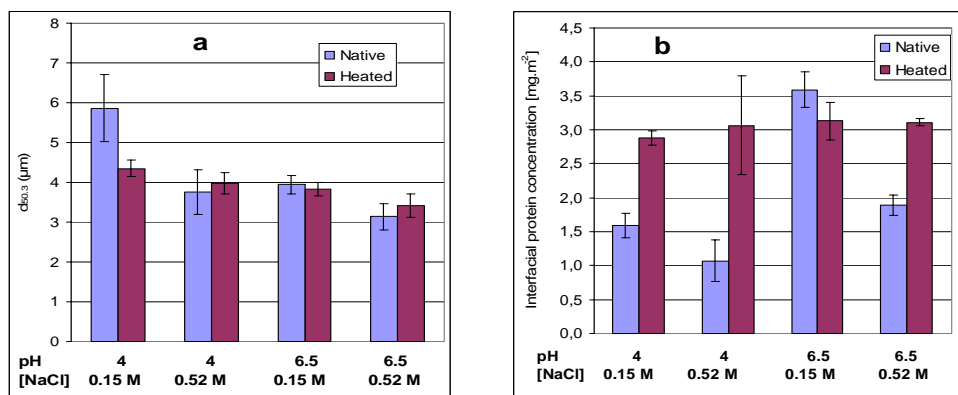


Abb. 1: Einfluss der Milieubedingungen auf: (a) den mittleren Öltröpfchendurchmesser  $d_{50,3}$  und (b) die Grenzflächenproteinkonzentration in O/W Emulsionen hergestellt mit nativem und teildenaturiertem Eigelb

Erhitzte Proben zeigen eine sehr ähnliche Tröpfchengröße verglichen mit den nativen, ausgenommen bei niedriger IS und niedrigem pH. Bei diesen Bedingungen führt die Erhitzung zu deutlich kleineren Tröpfchen als bei den nativen Proben.

Eine teilweise Denaturierung der Eigelbproteine führt zur Bildung eines dickeren Films, besonders bei niedrigem pH, bei dem der Film der nativen Eigelbproteine sehr dünn vorliegt. Die erhöhte Dicke der Grenzflächenschicht kann die Abnahme der Tröpfchengröße bei einer Erhitzung bei niedrigem pH und niedriger IS erklären, da Rekoaleszenz der kürzlich gebildeten Tröpfchen direkt nach der Zerkleinerung in der Homogenisatordüse verhindert wird.

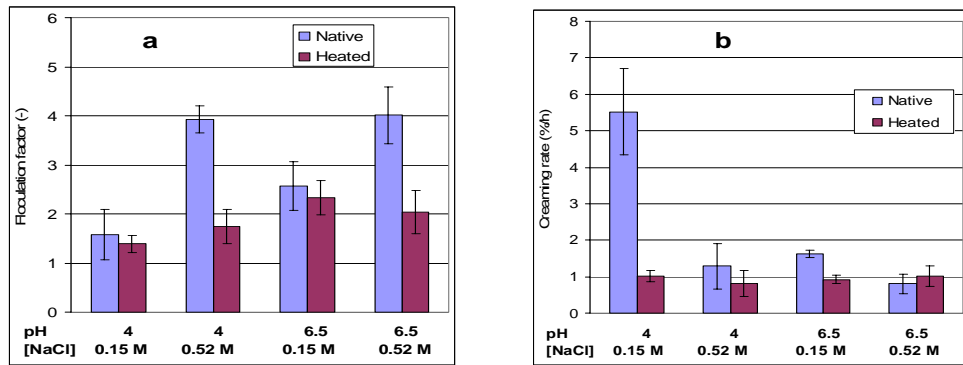


Abb. 2: Einfluss der Milieubedingungen an: (a) den Flockulierungsfaktor und (b) die anfängliche Aufrahmrungsrate von O/W Emulsionen hergestellt mit nativem und teildenaturiertem Eigelb

Die Flockulierung bei nativem Eigelb ist bei niedriger Ionenstärke und bei niedrigem pH am geringsten. Dies könnte aber an der deutlich höheren Tröpfchengröße liegen. Die Flockulierung ist bei hoher IS wesentlich höher als bei niedriger IS, wobei der pH eine sehr geringe Rolle in der Flockulierung zu spielen scheint. Bei Proben mit hoher IS führt eine Teildenaturierung der Proteine zu einer deutlichen Abnahme in der Flockulierung. Es wird ein ähnlich niedriges oder sogar niedrigeres Niveau als bei Proben mit niedriger IS erreicht. Dies kann durch die erhöhte sterische Abstoßung zwischen den Tröpfchen erklärt werden, da die denaturierten Proteine eine dickere Grenzflächenschicht bilden.

Abb. 2 zeigt, dass der Einsatz von teildenaturierten Proteinen zu einer Stabilisierung der anfänglichen Aufrahmrungsrate führt, wobei bei allen Milieubedingungen ähnliche Beobachtungen gemacht werden konnten. Der fördernde Effekt einer Eigelbdenaturierung auf die Aufrahmrungsstabilität ist besonders bei niedrigem pH und niedriger Ionenstärke festzustellen. Dies ist mit der damit in Verbindung stehenden Abnahme der Tröpfchengröße zu begründen. Es ist anzumerken, dass die Abnahme in der anfänglichen Aufrahmrungsrate sogar bei Proben beobachtet werden kann, deren Tröpfchengröße nicht entscheidend durch eine Denaturierung beeinflusst wird (niedriger pH und hohe IS, hoher pH und niedrige IS). Eine Erklärung dafür kann im abnehmenden Dichteunterschied gefunden werden, der durch die zunehmende Proteinbeladung der Grenzflächenschicht entsteht, wodurch hauptsächlich die Aufrahmrungsrate der kleinen Tröpfchen beeinflusst wird.

Diese Arbeit zeigt, dass eine teilweise thermische Denaturierung von Eigelb die Emulgierereigenschaften über einen breiten Bereich an Milieubedingungen verbessern kann. Der bemerkenswerteste Effekt ist eine erhöhte Proteinkonzentration an der Grenzfläche und eine verringerte Flockulierung bei allen Milieubedingungen. Wir können sagen, dass eine thermische Behandlung die geringfügige Abnahme der Funktionalität von Eigelb bei niedrigem pH und/oder niedriger Ionenstärke ausgleichen kann, was von grundlegendem Interesse bei der Anwendung in sauren Salatdressings ist.

**Einfluss der Hitzedenaturierung auf natürliche und enzymatisch behandelte Eigelblösungen und ihr Verhalten in O/W-Emulsionen**

*Impact of thermal treatment on fresh and enzymatically treated egg yolk solutions and their behaviour in o/w-emulsions*

Katharina Daimer, Eva Ried, Fabien Guilmineau

Hühnereigelb verfügt über eine dominierende Position als Emulgator in der Lebensmittelindustrie. Mit seinen technologisch-funktionellen Eigenschaften unterstützt es nicht nur grundlegend das Erzeugen physikalisch stabiler Emulsionen, sondern beeinflusst über die damit verbundene Strukturausbildung auch die organoleptischen Charakteristika einer großen Bandbreite von Feinkostprodukten wie Mayonnaise oder Salatdressings. Eigelb ist ein von vielen Faktoren beeinflusstes bzw. beeinflussbares System verschiedener hochkonzentrierter Phospholipide, Proteine bzw. Lipoproteine, weniger Kohlenhydrate und hoher Trockenmasse (~52 %), über welches nur ansatzweise Kenntnisse zum Effekt einer thermischen Behandlung vorliegen, insbesondere hinsichtlich einer möglichen Funktionalitätsoptimierung.

Eigelb wird teilweise mittels des Enzyms Phospholipase behandelt, wodurch der Acylrest im Triglycerid von Lecithin in Position 2 abgespalten wird. Folge ist ein gesteigertes Emulgiervermögen und eine deutlich höhere Hitzestabilität. Bisher wurden die Unterschiede im thermischen Verhalten von modifiziertem Low-Density-Lipoprotein (LDL) mittels DSC untersucht. Dabei wurde vermutet, dass es während der Hitzebehandlung zur Bildung eines hitzestabilen Komplexes von Lyso-Phospholipiden/Polypeptiden in LDL kommt. Die Hydrolyse scheint eine Wechselwirkung zwischen Proteinen zu verhindern und die Wechselwirkungen zwischen Proteinen (v. a. LDL-Apoproteinen) und den Lyso-Phospholipiden zu steigern. Für pasteurisiertes, sowie pasteurisiertes, enzymatisch behandeltes Eigelb liegt jedoch hinsichtlich des Einflusses der Pasteurisationsbedingungen auf die Emulgiereigenschaften noch kein umfassendes Verständnis vor.

In dieser Arbeit soll der Einfluss einer Hitzebehandlung von natürlichem und enzymatisch behandeltem Eigelb auf die Eigenschaften der Eigelblösungen, sowie deren Auswirkungen auf die Emulgiereigenschaften in O/W-Emulsionen untersucht werden.

Bei allen Versuchen wurde der natürliche pH-Wert von Eigelb (pH 6,5) und das natürliche Ionenmilieu von Eigelb (Ionenstärke 0,17 M) beibehalten. Zuerst wurde durch Verdünnung mit 1 %iger NaCl eine Lösung mit insgesamt 84 % Eigelb hergestellt, die für 3 Stunden bei 55 °C mit dem Enzym Phospholipase A<sub>2</sub> inkubiert wurde. Eine Referenzprobe wurde unter den gleichen Bedingungen, aber ohne eine Enzymzugabe inkubiert, um einen Effekt der langzeitigen Erwärmung auszuschließen und ein weiterer Teil der Lösung wurde als frisches, unbehandeltes Eigelb behalten. Alle Lösungen wurden zu einer 25 %igen Eigelblösung verdünnt und bei 74 °C mit verschiedenen Haltezeiten erhitzt (0/2/12/40 min). Die Analysen der nativen und denaturierten Eigelblösungen erfolgten jeweils an frischem Eigelb, enzymatisch behandeltem Eigelb und der Referenzprobe. Sie wurden mittels Fließkurve und Denaturierungsgrad charakterisiert.

Die Ergebnisse der Referenzprobe stimmen sehr gut mit den Ergebnissen für frisches Eigelb überein, wodurch die Annahme bestätigt werden konnte, dass die lange Warmhaltephase während der Inkubation keinen Einfluss auf die Eigenschaften der Eigelblösung nimmt. Alle beobachteten Effekte können folglich der Enzymtätigkeit zugeschrieben werden. Zur besseren

Übersicht sind im Folgenden nur die Ergebnisse der frischen und enzymatisch behandelten Proben verglichen.

Die Emulsionen enthielten 30 % Sonnenblumenöl und wurden mit einem Hochdruckhomogenisator bei 200 bar hergestellt. Die kontinuierliche Phase der Emulsionen bestand aus den nativen bzw. erhitzten Eigelblösungen mit einer Konzentration von jeweils 2 % Eigelb. Die so erhaltenen Emulsionen wurden durch die Fetttröpfchengrößenverteilung und die Aufrahmungsgeschwindigkeit charakterisiert.

Wie Abbildung 1 bereits zeigt, hat eine Erhitzung bei enzymatisch behandeltem Eigelb keine deutliche Erhöhung der Viskosität zur Folge, während bei frischem Eigelb ein starker Anstieg der Viskosität mit zunehmender Haltezeit der Erhitzungstemperatur zu finden ist. Ursache dafür könnte sein, dass die Bildung eines hitzestabilen Lyso-Phospholipid-/apo-LDL-Komplexes eine Gelbildung verhindert, auch wenn andere Proteine noch denaturieren.

Die Denaturierung von LDL ist maßgeblich an der Bildung einer Gelstruktur beteiligt. Die Annahme einer hitzestabilen Struktur, in der Proteine vor einer Auffaltung geschützt sind, wird durch den niedrigen Denaturierungsgrad von enzymatisch behandeltem Eigelb bestätigt (Abb.2).

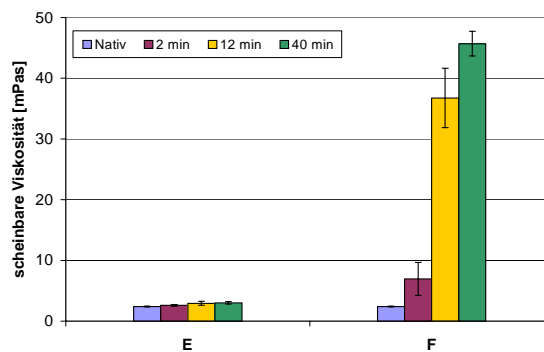


Abb. 1: Scheinbare Viskosität von 25 %igen Eigelblösungen (E = enzymatisch behandelt; F = frisch), in Abhängigkeit von der Erhitzungsdauer bei 74 °C.

Bei frischem Eigelb steigt der Denaturierungsgrad nach einer Haltezeit von 2 min auf über 20% und liegt nach 40 min bereits bei 80 %.

Durch die vorangegangene Hydrolyse sind die Eigelblösungen sehr hitzestabil. Bei einer gleich bleibenden Temperatur von 74 °C wirkt sich eine Verlängerung der Haltezeit bis zu 40 Minuten nur geringfügig auf den Denaturierungsgrad aus.

Während der Denaturierungsgrad von frischem Eigelb bei einer Verlängerung der Haltezeit von 2 auf 40 Minuten um 60 % ansteigt, ist bei enzymatisch behandeltem Eigelb nur eine geringe Zunahme von 5-6 % zu erkennen. Dies lässt ebenfalls die Vermutung zu, dass die Proteine durch die enzymatische Behandlung vor einer Hitzeauffaltung geschützt sind. Weitere Versuche (hier nicht dargestellt) konnten inzwischen zeigen, dass durch eine extremere Erhitzung ein höherer Denaturierungsgrad erreicht werden kann. Bei einer Haltezeit von 40 Minuten bei 84 °C werden 55 % denaturiert, wobei im Hinblick auf die hohe Temperatur und die



sehr lange Haltezeit, immer noch von einer relativ niedrigen Denaturierung gesprochen werden kann. Eine qualitative Analyse der Proteine mittels SDS-Page soll in zukünftigen Arbeiten Auskunft darüber geben, welche Proteine im hydrolysierten Eigelb denaturieren und welche vor einer Hitzeauffaltung „geschützt“ werden.

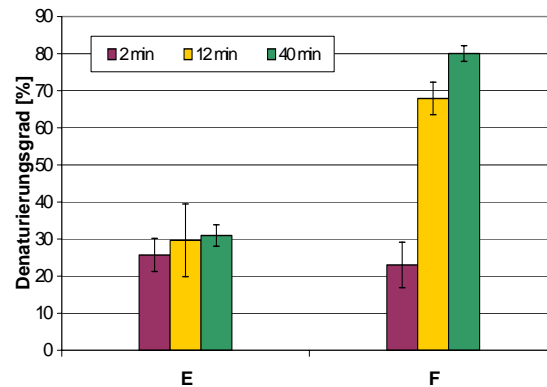


Abb. 2: Denaturierungsgrad [%] von enzymatisch behandeltem Eigelb (E) und frischem Eigelb (F) in Abhängigkeit von der Erhitzungszeit bei 74 °C.

Der Einsatz von enzymatisch behandeltem Eigelb als Emulgatorprotein bei der Herstellung von 30 %igen Emulsionen zeigt deutliche Auswirkungen auf die Fetttropfchengröße (Abbildung 3). Bei allen Temperatur-Zeit-Kombinationen können nach der Homogenisierung kleinere Fetttropfchen erhalten werden, als bei frischem Eigelb. Vor allem bei den nativen Proben wird deutlich, dass die Fetttropfchen, die mit hydrolysiertem Eigelb hergestellt wurden, offenbar stabiler sind und weniger zur Rekoaleszenz neigen. Diese Beobachtung führt zu der Schlussfolgerung, dass die durch enzymatische Behandlung entstandenen Lyso-Phospholipide bessere o/w-Emulgatoren sind.

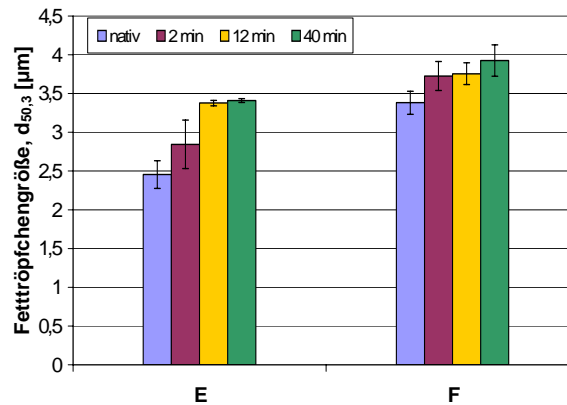


Abb. 3: Fetttropfchengröße bei Emulsionen, hergestellt mit enzymatisch behandeltem Eigelb (E) und frischem Eigelb (F), in Abhängigkeit von der Erhitzungsdauer der eingesetzten Eigelblösungen bei 74 °C

Die Fetttropfchen werden nach der Homogenisierstufe sofort stabilisiert, wodurch kleinere Tröpfchen erhalten werden. Der Effekt der kleineren Tröpfchen konnte auch an der Aufrahmggeschwindigkeit gezeigt werden. In Abbildung 4 ist deutlich zu erkennen, dass die Emulsionen mit enzymatisch behandeltem Eigelb deutlich langsamer aufrahmen.

Diese Beobachtung lässt sich durch das Stokes-Gesetz untermauern, das besagt, dass die Aufrahmggeschwindigkeit proportional ist zum Tröpfchendurchmesser im Quadrat. Folglich ist die Aufrahmggeschwindigkeit bei kleineren Tröpfchen, wie sie bei Emulsionen mit enzymatisch behandeltem Eigelb vorliegen, deutlich langsamer.

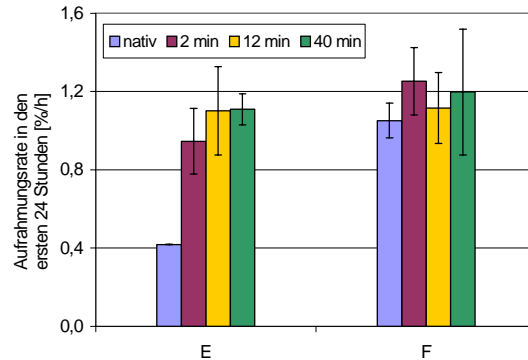


Abb. 4: Aufrahmrates während der ersten 24 Stunden bei Emulsionen, hergestellt mit enzymatisch behandeltem Eigelb (E) und frischem Eigelb (F), dargestellt in Abhängigkeit von der Erhitzungsdauer der Eigelblösungen bei 74 °C.

Im Rahmen der bisherigen Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine Fermentation von Eigelb mit Phospholipase A<sub>2</sub> zu einer deutlichen Hitzestabilität führt und es somit möglich ist, Eigelb bei höheren Temperaturen und längeren Haltezeiten zu pasteurisieren. Die technologisch-funktionellen Eigenschaften von Eigelb, sowie die Emulgierereigenschaften können dadurch weiter verbessert werden.

Literatur: Mine, Y. (1997). Structural and Functional Changes of Hen's Egg Yolk Low Density Lipoproteins with Phospholipase A<sub>2</sub>. J. Agric. Food Chem., 45, 4558-4563.

### **Einfluss der Erhitzungs- und Milieubedingungen auf die Funktionalität von Eiklarprotein hinsichtlich der Ausbildung von viskosen Strukturen und Gelen**

*Impact of heating conditions and various compositional factors on the functionality of egg white proteins regarding the formation of viscous structures and gels*

M. Tilgner, A. Matthe

Eine Hitzebehandlung von Flüssigeiprodukten ist aus rechtlichen Gründen vorgeschrieben und führt neben der gewünschten Inaktivierung von Mikroorganismen oftmals auch zu einer Veränderung der funktionellen Eigenschaften. Eine teilweise („partielle“) Denaturierung des Eiklars kann daher wie in der Milchtechnologie als Möglichkeit zur Erhöhung der Verschäumbarkeit in Betracht gezogen werden. Darüber hinaus dürfte eine Viskositäts-erhöhung

infolge des Hitzeeinflusses eine Immobilisierung der während des Aufschäumens eingebrachten Gasblasen ermöglichen, welche die Destabilisierung des Schaumgefüges auf Grund von Drainagevorgängen vermindert.

Fundierte Kenntnisse über den Zusammenhang einer Vordenaturierung und der Funktionalität einzelner Eiklarproteine, speziell auch bei Variation der Proteinkonzentration, des pH-Wertes oder bei Zugabe von Salz oder Zucker sind bis dato noch nicht bekannt und bleiben daher für eine gezielte Beeinflussung dieser Eigenschaften zu erarbeiten. Ziel dieser Arbeit war es daher, hitzebedingte Veränderungen hinsichtlich der Ausbildung viskoser Strukturen beziehungsweise Gelen zu charakterisieren, um somit ein Grundverständnis bezüglich des Koagulationsverhaltens von Eiklarprotein unter Variation der Erhitzungs- und Milieubedingungen zu erlangen.

Hierzu wurden Eier einer definierten Hühnerrasse (*Leghorn Brown* der TU Versuchsstation Thalhausen) manuell getrennt, das Eiklar auf einem Magnetrührer homogenisiert und durch Verdünnung mit einer 0,5 %igen NaCl-Lösung auf eine Proteinkonzentration von 1 %, 3 %, 5 %, 7 % und 9 % eingestellt. Nach Zugabe verschiedener Zucker bzw. pH-Einstellung wurden je 20 ml der Eiklarlösung in verschließbare PP-Becher (Höhe: 5 cm, Ø 3,5 cm) abgefüllt und in einem Temperaturbereich von 56 °C bis 88 °C sowie bei sechs verschiedenen Erhitzungszeiten von 60 s bis 1800 s im Wasserbad erhitzt. Die erhaltenen Strukturen von flüssig bis durchgehend fest wurden hinsichtlich der rheologischen Eigenschaften sowie des Serumbindevermögens in Abhängigkeit von stofflichen Faktoren untersucht.

So ergab beispielsweise ein Zusatz von 10 % Galaktose bzw. Laktose deutliche Unterschiede in der mittels Texture Analyser bestimmten Gelfestigkeit der unter Variation der Proteinkonzentration und Erhitzungsdauer bei 88 °C erhitzten Eiklarproben. Wie in Abb. 1 dargestellt, ergibt eine Zugabe von 10 % Galaktose bzw. Laktose eine Erhöhung der aufzubringenden Maximalkraft gegenüber Proben ohne Zuckerzusatz bei dieser Temperatur, wobei Galaktose als Vertreter der Monosaccharide eine etwas höhere Reaktivität hinsichtlich zunehmender Gelfestigkeit zeigt.

Mit diesen Resultaten lässt sich zeigen, dass ein Potential zur Steigerung der Hitzestabilität von Eiklar besteht, was eine Relevanz für das Herstellen von Desserts im höheren Temperaturbereich hat.

In weiterführenden Arbeiten sollen Erkenntnisse zu den strukturellen Veränderungen der einzelnen Eiklarproteine in Abhängigkeit von den Erhitzungsbedingungen, von den Schutzstoffen und vom pH-Wert erarbeitet werden, um hitzeinduzierte Interaktionen der Proteine im komplexen System Eiklar hinsichtlich der Ausbildung viskoser Strukturen beziehungsweise Gelen zugänglich zu machen. Dies soll weiterhin zur Optimierung einer hitzebedingten Vorfunktionalisierung bezüglich der Verschäumung sowie Gelbildung untersucht werden.

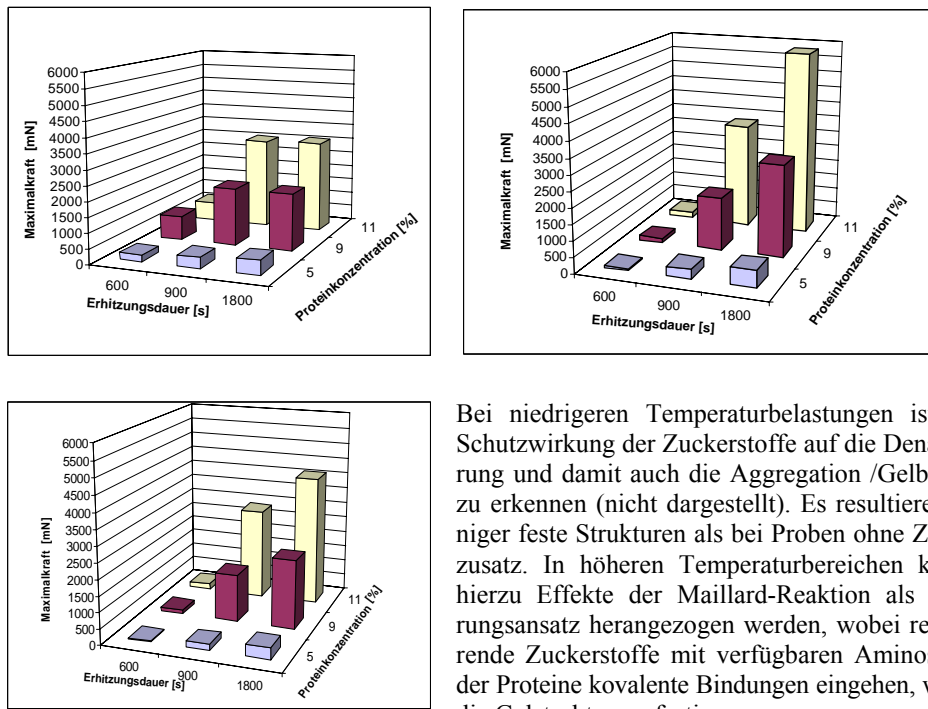


Abb. 1: Darstellung der mittels Texture Analyser gemessenen Maximalkraft von bei 88 °C erzielten Eiklargelen ohne (a), mit Zusatz von 10 % Galaktose (b) bzw. mit Zusatz von 10 % Laktose (c) unter Variation der Proteinkonzentration und Erhitzungszeit

Bei niedrigeren Temperaturbelastungen ist eine Schutzwirkung der Zuckerstoffe auf die Denaturierung und damit auch die Aggregation /Gelbildung zu erkennen (nicht dargestellt). Es resultieren weniger feste Strukturen als bei Proben ohne Zuckerzusatz. In höheren Temperaturbereichen können hierzu Effekte der Maillard-Reaktion als Erklärungsansatz herangezogen werden, wobei reduzierende Zuckerstoffe mit verfügbaren Aminosäuren der Proteine kovalente Bindungen eingehen, welche die Gelstruktur verfestigen.

### Protein-Protein-Wechselwirkungen: Einfluss von Wechselwirkungen zwischen Milch- und Eiklarproteinen auf die Verschäumungseigenschaften

*Protein-protein-interactions: Impact of interactions between milk and egg white proteins on foaming properties.*

Malgorzata Kuropatwa, Michaela Tilgner

Auf der Basis von Matrices unterschiedlicher Proteinquellen, z.B. Milch, Molke und Ei können in Milch- und Milchlischprodukten unterschiedliche Strukturen erzeugt werden, wobei besonders geschäumte Produkte aufgrund ihres sensorisch leichten Eindrucks von den Verbrauchern präferiert werden. Für eine Optimierung der Verschäumbarkeit des eingesetzten Substrates können folgende technologischen Verfahrensweisen genutzt werden:

- Zugabe von Hydrokolloiden
- Funktionalisierung von Protein durch z.B. thermische Vorbehandlung sowie
- verstärktes Ausnutzen von Protein-Protein-Wechselwirkungen zur Strukturbildung.

Letzteres wird in der Literatur bisher noch wenig beschrieben. An diesem Punkt setzt das vorliegende Arbeitsthema an. Es sollen hierbei synergistische Effekte zwischen Eiklar und Milchproteinen dahingehend untersucht werden, inwieweit diese die Verschäumungseigenschaften beeinflussen bzw. optimieren können.

Für die Versuche wurden Eier aus der universitätseigenen Zuchtstation Thalhausen von Hühnern bekannter Rasse (Leghorn Brown), Alter und Haltungsbedingungen bezogen, manuell getrennt und das Eiklar (egg white protein „EWP“ mit einem Ausgangsprotein Gehalt von 11 %) mit einer 0,5 %igen (w/w) NaCl-Lösung auf verschiedene Proteinkonzentrationen verdünnt. Ebenso wurden Molkenproteinisolat-Lösungen („WPI“) durch Verdünnen mit destilliertem Wasser hergestellt. Die Lösungen wurden in verschiedenen Verhältnissen gemischt, so dass sie in Form von WPI-EWP-Gemischen mit einem Gesamtprotein Gehalt von je 5 % vorlagen. Die auf 5 °C abgekühlten Lösungen wurden im Thermomix (Vorwerk) bei einer Drehzahl des Rührflügels von 3300 1/s für 90 s aufgeschäumt. Zur Charakterisierung der erzielten Schäume wurden die Schaumbildungskapazität (Overrun (OV) [%], Gleichung 1), Stabilität (Drainage nach 30 Minuten [%], Gleichung 2) und Festigkeit [mN] gemessen. Die Festigkeit wurde mit Hilfe eines am Texture Analyser durchgeführten Penetrationstests bestimmt, bei dem ein Fadenkreuzprüfkörper mit einer konstanten Geschwindigkeit von 0,2 mm/s bis zu einer Tiefe von 20 mm in den Schaum eindringt.

$$OV = \frac{m_{\text{Lösung}} - m_{\text{Schaum}}^{*})}{m_{\text{Schaum}}} \cdot 100\% \quad \text{*) bei konstantem Volumen}$$

$$DR = \frac{m_{\text{Drainage, 30 min}}}{m_{\text{Schaum}}} \cdot 100\%$$

Gleichung 1: Schaumbildungskapazität (OV) bei konstantem Volumen

Gleichung 2: Berechnung der Drainage t= 30 min [%]

Zur Berechnung des Overruns nach der gravimetrischen Methode ist die Kenntnis der Dichte der Lösungen bei der Aufschlagtemperatur notwendig. Diese wurde mit einem Biegeschwinger DMA 45 (chempro, PAAR) bei einer Messtemperatur von 5 °C ermittelt.

Zur weiteren Charakterisierung der aufzuschäumenden Lösungen wurden je Mischung zwei Fließkurven bei 5 °C in einem Doppelspaltsystem am Contraves Rheomat 115 (Haake) aufgenommen. Diese Fließkurven wiesen eine Aufwärtsrampe von 0 bis 3300 s<sup>-1</sup> in 240 s, eine Haltezeit von 90 s bei 3300 s<sup>-1</sup> und eine Abwärtsrampe von 3300 s<sup>-1</sup> bis 0 s<sup>-1</sup> in wiederum 240 s auf. Zum Vergleich der Lösungen wurden die Werte der scheinbaren Viskosität bei einer Scherrate von 3300 s<sup>-1</sup> herangezogen, welche der maximalen Scherrate innerhalb des Thermomix entspricht.

Im nachfolgenden Diagramm (Abb. 1) sind die Mischungsverhältnisse, die bei den genannten Aufschlagbedingungen optimale Schaumcharakteristika, also einen möglichst großen Overrun bei möglichst kleiner Drainage aufweisen, dargestellt. Aus den Lösungen mit 2 %, 2,5 % und 3 % WPI, jeweils kombiniert mit 3 %, 2,5 % und 2 % EWP, wurden Schäume mit hohem Overrun und vergleichsweise niedriger Drainage erzielt. Aufgrund der Ergebnisse sieht man deutlich, dass reine EWP- und WPI -Lösungen schlechtere Verschäumungseigenschaften als synergistisch aufeinander wirkende Proteinlösungen aufweisen. Je größer der WPI-Anteil in einer Proteinlösung, desto größer ist die Schaumbildungskapazität bei konstantem Energieeintrag. Als Grund kann hier die Tatsache angeführt werden, dass Molkenproteine aufgrund ihrer Molekülkonformation schneller an der Grenzfläche adsorbieren und so ein höheres Schaumbildungsvermögen resultiert.

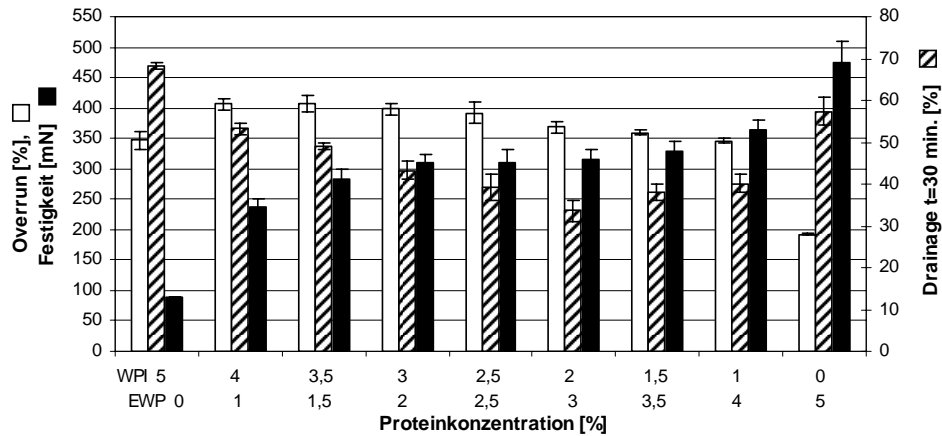


Abb. 1: Schaumcharakteristika von WPI-EWP-Lösungen mit unterschiedlichem Mischungsverhältnis

Abb. 2 stellt den Verlauf der Viskosität der WPI-EWP-Lösungen in Abhängigkeit vom Proteinvhältnis für eine Scherrate von  $3300 \text{ s}^{-1}$  am Anfang und am Ende der Haltezeit dar. Diese Tendenz entspricht den Drainageänderungen. Mit steigendem EWP-Anteil und gleichzeitig steigender Viskosität sinkt die Drainageeignung, bis sie bei reinem EWP-Schaum wieder ansteigt. Auch die Entwicklung der Schaumfestigkeit entspricht in etwa dem Verlauf der Viskosität, wobei diese mit steigendem EWP-Anteil ansteigt.

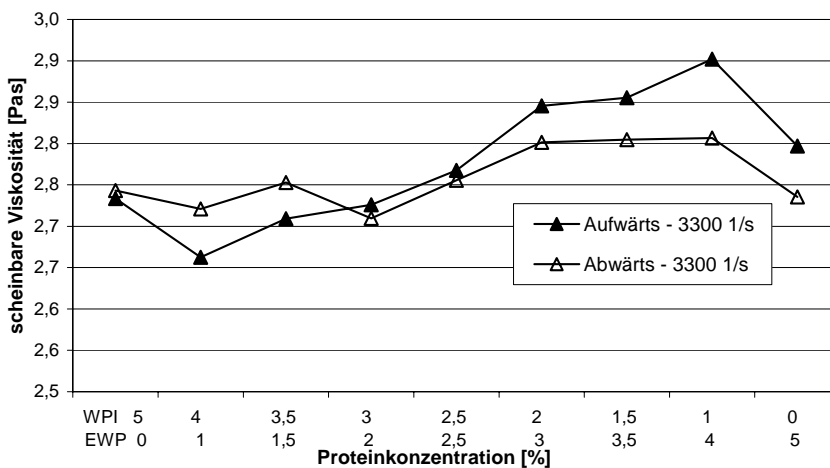


Abb. 2: Viskosität der WPI-EWP-Lösungen bei einer Scherraten von  $3300 \text{ s}^{-1}$  am Anfang (aufwärts) und am Ende (abwärts) der Haltezeit.

In weiteren Versuchen sollen Wechselwirkungen zwischen Casein und EWP sowie der Einfluss einer Erhitzung oder pH-Wert-Einstellung auf die Verschäumungseigenschaften der genannten Milchprotein-EWP-Mischungen untersucht werden.

## **Einfluss von UHT-Prozessparametern auf die Kompatibilität von Mischsystemen aus Milchproteinen und Carrageenan**

*Impact of UHT process conditions on the compatibility of mixtures of milk proteins and carrageenan*

Felix Sedlmeyer

Carrageenan wird zur Stabilisierung und zur Verbesserung des Mundgefühls bei verschiedenen Milchmixgetränken eingesetzt. Dabei sind sog. schwache Gele erwünscht, die einerseits während der Lagerung aufgrund durchgehender Netzwerkstrukturen die Sedimentation und Entmischung von Inhaltsstoffen verhindern, andererseits beim Konsum durch gezieltes Auseinanderreißen der Netzwerkstränge für die gewünschte Vollmundigkeit sorgen. Eine Abweichung von der kompatiblen Einsatzkonzentration des Hydrokolloids äußert sich in verschiedenen Inkompatibilitätserscheinungen:

- 1.) Zu festes, zur Synärese neigendes Gel bei zu hoher Einsatzkonzentration,
- 2.) Unvollständiges Gel bzw. Sediment und fehlende Vollmundigkeit bei zu niedriger Menge.

Wie sich in der Praxis zeigt, hängt die optimale kompatible Einsatzkonzentration des Hydrokolloids nicht nur von der übrigen Zusammensetzung des Mischsystems ab, sondern muss zudem auch noch an den jeweils verwendeten Prozess angepasst werden.

Das Ziel dieser Versuchsreihen ist daher eine systematische Untersuchung des Einflusses verschiedener Prozessparameter an verschiedenen exemplarisch ausgewählten Mischsystemen auf Milchprotein-Carrageenanbasis.

Die Versuche werden im Technikumsmaßstab an einer UHT-Pilotanlage mit Homogenisation von 200 bar und Eiswasserkühlung durchgeführt. Als Ergebnis zeigt Abb. 1 den Einfluss der maximalen Temperatur im UHT-Erheizungsabschnitt auf die rheologisch erfassbare Struktur in einem System aus Magermilch und 0,04 % Carrageenan. Als Maß für den Strukturaufbau der schwachen Gelstruktur, die letztendlich für Stabilisation und Mundgefühl verantwortlich ist, wurde die Hysteresefläche zwischen Aufwärts- und Abwärtsrampe einer Fließkurve im Rheometer gewählt. Dabei zeigt sich, dass mit zunehmender UHT-Erheizungstemperatur die Strukturierung der Probe unabhängig von der Carrageenankonzentration zunimmt.

Eine Veränderung der UHT-Temperatur kann also zu einem wichtigen Einflussfaktor oftmals beobachteter Viskositätsschwankungen werden. Um ein vollständiges Bild der Prozesseinflüsse zu erhalten, werden die Untersuchungen durch Einbezug weiterer Parameter wie Kühltemperatur oder Homogenisationsdruck ergänzt.

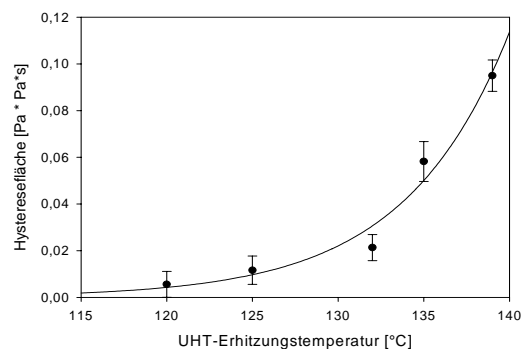


Abb. 1: Einfluss der UHT-Erheizungstemperatur auf die Hysteresefläche zwischen Aufwärts- und Abwärtsrampe einer Fließkurve als Maß für die Struktur eines Mischsystems aus Magermilch und 0,04% Carrageenan.

### Bestimmung des Lactosehydrolysegrades mit niederenergetischem Ultraschall

*Determination of the hydrolysis degree of lactose by low intensity ultrasound*

Qin Wang

Ultraschall stellt eine empfindliche Methode zur Messung des Hydrationszustandes von Molekülen wie Zucker dar. Das Prinzip beruht darauf, dass die Ultraschallgeschwindigkeit eine Funktion der Kompressibilität  $\kappa$  sowie der Dichte  $\rho$  der Probe ist. Die Kompressibilität  $\kappa$  einer Lösung hängt von der Kompressibilität des Lösungsmittels, der Kompressibilität des gelösten Stoffes und der Kompressibilitätsänderung aufgrund der Hydratation des Stoffes ab.

Bei der Lactosehydrolyse wird die Lactose in Galactose und Glucose gespalten. Dabei ändert sich der Hydrationszustand des Substrates. So wird es möglich, mit Ultraschall den Hydrolysegrad von Laktose zu erfassen. Ziel dieser Arbeit ist es, eine Anwendbarkeit der Ultraschallmethode zur Bestimmung des Hydrolysegrades zu überprüfen und eine Korrelation zwischen der Ultraschallgeschwindigkeit und dem Lactosehydrolysegrad zu erstellen.

In dieser Arbeit wurde Permeat aus der Ultrafiltration von Milch (UF-Permeat) bei 37 °C und pH 6,5 mit dem Enzym Laktase Maxilact® LX2000 von DSM Food Specialities, Delft, Niederlande, hydrolysiert. Diese Lactase wurde aus der Milchhefe *Saccharomyces (Kluyveromyces) marxianus var. lactis* isoliert. Die Ultraschallgeschwindigkeit wurde während der Hydrolyse mittels des Ultraschallmessgerätes ResoScan (TF Instruments, Heidelberg) bei 7,8 MHz gemessen.

Die Differenz zwischen der Ultraschallgeschwindigkeit in UF-Permeat mit Lactase und ohne Lactase ( $\Delta U$ ) wurde in Abb. 1 als Funktion von der Inkubationszeit aufgetragen. Es ist ersichtlich, dass die Ultraschallgeschwindigkeit mit der Inkubationszeit zunimmt, was auf eine erhöhte Hydratation aufgrund der Lactosespaltung zurückzuführen ist. Mit steigender Laktasekonzentration nimmt die Schallgeschwindigkeit schneller zu, was auf eine höhere Hydrolysegeschwindigkeit schließen lässt.

Um die Änderung der Ultraschallgeschwindigkeit mit dem Hydrolysegrad der Lactose zu vergleichen, wurden Hydrolyseversuche im Wasserbad bei 37 °C durchgeführt. Nach bestimmten Zeitabständen wurde die enzymatische Reaktion durch eine Erhitzung bei 85 °C für 5 min gestoppt. Der Hydrolysegrad in den Proben wurde mittels HPLC bestimmt. Der Hydrolysegrad wurde definiert als  $\text{Hydrolysegrad}_t = 1 - (c_{\text{Lactose}, t} / c_{\text{Lactose}, t_0})$ , mit  $c_{\text{Lactose}, t_0}$  als Lactosekonzentration in der Ausgangslösung, und  $c_{\text{Lactose}, t}$  als Laktosekonzentration in der Probe nach der Inkubationszeit  $t$ .

Der mittels HPLC bestimmte Hydrolysegrad wurde gegen  $\Delta U$  bei gleichen Inkubationszeiten aufgetragen (Abb. 2). Es ist zu erkennen, dass zwischen der Ultraschallgeschwindigkeitsdifferenz und dem Hydrolysegrad eine lineare Korrelation besteht. Die Variation der Enzymkonzentration hat nur einen geringen Einfluss auf die Schallgeschwindigkeit.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass es möglich ist, anhand einer Kalibrierkurve den Hydrolysegrad von Laktose in UF-Permeat durch Messung der Schallgeschwindigkeit während des Hydrolyseprozesses zu bestimmen. In weiterführenden Arbeiten soll nun untersucht werden, ob diese lineare Korrelation zwischen der Ultraschallgeschwindigkeit und dem Lactosehydrolysegrad auch bei anderen Substraten, z.B. Milch und Molke, besteht. Ferner wird



der Einsatz der Ultraschalltechnik als neues Messverfahren zur Aufklärung von Strukturbildungsreaktionen eingesetzt, um aus den Messergebnissen im Kontext mit anderen Messtechniken (Rheologie, DSC, NMR) Reaktionsmechanismen in komplexen Systemen aufzuklären.

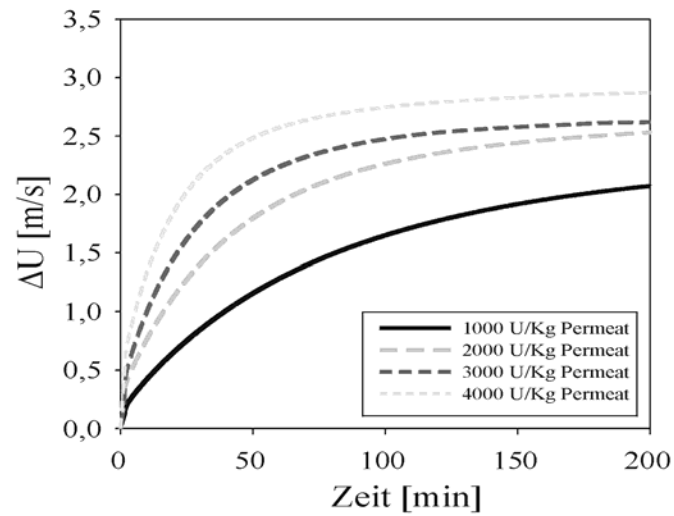


Abb. 1: Änderung der Ultraschallgeschwindigkeit über der Inkubationszeit bei der Laktosehydrolyse

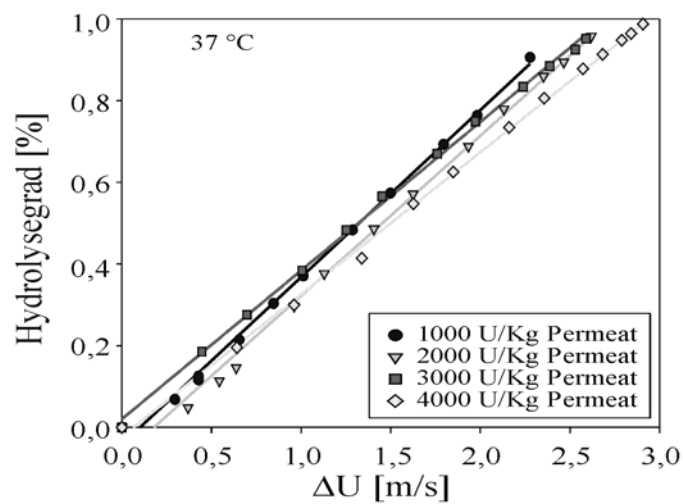


Abb. 2: Änderung der Ultraschallgeschwindigkeit in Abhängigkeit von dem Lactosehydrolysegrad bei unterschiedlichen Enzymkonzentrationen (Lactosekonzentration 4,6%)

## Untersuchung der Strukturbildungsreaktionen in Käseprodukten

### *Investigation of structure forming reaction of cheese products*

Sonja Röck, Katharina Daimer, Cordula Kunz, Manfred Huss

Trotz des hohen technologischen Fortschrittes bei der industriellen Herstellung von Lebensmitteln entstehen Produkte wie Frisch- oder Schmelzkäse auf der Basis von wissenschaftlich nicht durchdrungenen Strukturbildungsreaktionen. Diese komplexen Lebensmittel bestehen neben Wasser hauptsächlich aus Proteinen und Fett sowie Zusatzstoffen, wie Schmelzsalze und Hydrokolloide. Neben den inhaltlichen Einflussgrößen spielen auch die Prozessfaktoren wie Temperatur, Zeit und Grad der mechanischen Bearbeitung eine entscheidende Rolle bei der Herstellung. Welche Reaktionen aber letztlich an der Strukturbildung bei diesen Produkten beteiligt sind, ist bisher noch nicht vollständig geklärt. Ziel dieses Projektes ist es daher, die bei der Strukturbildung ablaufenden Reaktionen zu charakterisieren und den Verlauf der Reaktion in Abhängigkeit von Produktzusammensetzung und Prozessfaktoren beschreiben zu können.

Es wurde zunächst eine Messmethode entwickelt, mit welcher es möglich ist, den Verlauf der Strukturbildung online während der Herstellung zu verfolgen. Dabei ergibt sich ein charakteristischer vierstufiger Strukturbildungsverlauf, der sich in Variationen in Abhängigkeit von Zusammensetzung und Prozessführung meist in separate Phasen gliedert: Anlaufphase, 1. Anstiegsphase, Plateauphase und 2. Anstiegsphase (siehe Abb. 1)

Durch folgende Faktoren bezüglich Produktzusammensetzung und Prozessvariablen lässt sich der Strukturbildungsverlauf beeinflussen:

- Proteingehalt und –art
- Casein-/Molkenprotein- Verhältnis
- Thermische Vorbehandlung der Proteine
- Fettgehalt
- Trockenmasse
- Vorbehandlung des Fettes (Homogenisieren, Bedeckung mit Emulgatoren)
- pH-Wert
- Temperatur
- Grad der mechanischen Beanspruchung (Scherung)

Abbildung 1 zeigt den Verlauf der scheinbaren Viskosität über der Herstellungszeit in Abhängigkeit vom Fettgehalt. Um zu gewährleisten, dass bei allen Proben die Trockenmasse konstant bei 41 % lag, wurde die fehlende Fettmenge durch Lactose ersetzt. Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, erfolgt die Strukturbildung mit zunehmendem Fettgehalt früher und die scheinbare Viskosität steigt steiler an. Bis zu einem Fettgehalt von 15 % ergibt sich keine Plateauphase vor dem zweiten Anstieg der Viskosität.

Erst ab einem Fettgehalt von 20 % ergibt sich der charakteristische 4-stufige Strukturbildungsverlauf. Daraus folgt, dass Fett bei der Strukturbildung eine entscheidende Rolle spielt.

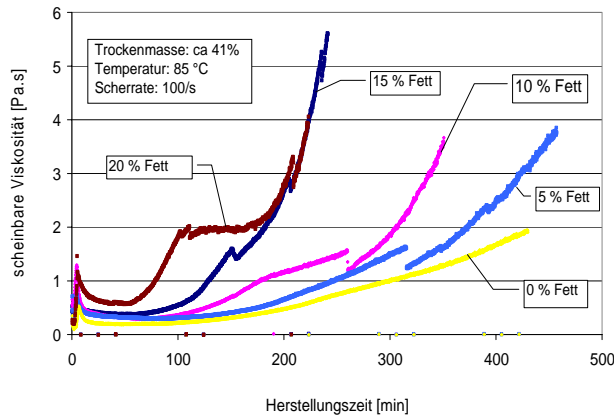


Abb.1: Verlauf der scheinbaren Viskosität über der Herstellungszeit in Abhängigkeit vom Fettgehalt

Es stellte sich weiter heraus, dass auch der pH-Wert selbst in sehr kleinen Abstufungen von großer Bedeutung für die Strukturbildung ist. In Abbildung 2 ist der Einfluss des pH-Wertes auf den Strukturbildungsverlauf dargestellt.

Es ist zu erkennen, dass bei einem pH-Wert von 7,23 und 6,52 keine Strukturbildung erfolgt. Erst ab einem pH-Wert von 6,11 ergibt sich der charakteristische Strukturbildungsverlauf, der hier durch eine lange Plateauphase gekennzeichnet ist. Die Kurvenverläufe von pH 5,96 und 5,84 sind sehr ähnlich und weisen den typischen 4-stufigen Verlauf auf.

Außerdem zeigen sie, dass mit abnehmendem pH-Wert die Strukturbildung zeitlich früher erfolgt. Bei pH-Werten kleiner 5,62 erfolgt die Strukturbildung noch rascher, jedoch fehlt die Plateauphase und somit auch die zweite Anstiegsphase.

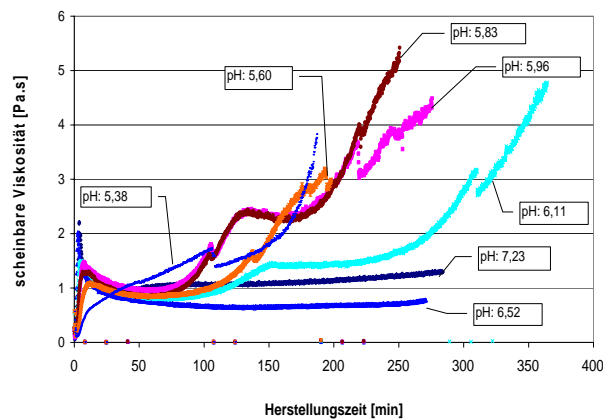


Abb. 2: Verlauf der scheinbaren Viskosität über der Herstellungszeit in Abhängigkeit vom pH-Wert

Im Hinblick auf die Aufklärung der Strukturbildungsreaktionen konnte gezeigt werden, dass sowohl Proteine an der Ausbildung eines Netzwerkes in der kontinuierlichen Phase beteiligt

sind, als auch der Emulsionsstatus bei der Strukturbildung eine Rolle spielt. Ob Fett jedoch nur als Füllstoff in die Struktur eingebaut wird oder auch in Wechselwirkung mit der Matrix steht, bleibt zu klären. Ebenso soll die Frage, welche Reaktionen sich welchem Abschnitt des charakteristischen Stufenverlaufs zuordnen lassen, mit Hilfe weiterer Untersuchungen geklärt werden.

Bezüglich des Einflusses von Prozessfaktoren zeigte sich, dass für den Ablauf der Reaktion Temperaturen von größer als 70 °C notwendig sind. Auch der Grad der mechanischen Beanspruchung scheint von Bedeutung für die Strukturbildung zu sein. Weiterhin gilt, dass ein bestimmter pH-Wert für die Strukturbildung essentiell ist.

Um einen tieferen Einblick in die Struktur dieser komplexen Lebensmittelsysteme zu bekommen, ist der Einsatz von bildgebender Analytik geplant. Daneben soll herausgefunden werden, ob die Untersuchung des Wasserbindevermögens mittels niedrig auflösender NMR (Kernresonanz), einen Beitrag zur Aufklärung der Strukturbildungsreaktionen leisten kann.

## Diplomarbeiten und Masterarbeiten

**Möller, Henrike:** „Inaktivierung von Mikroorganismen auf festen Oberflächen mit Gasgemischen aus Heißluft, Wasser- und Wasserstoffperoxiddampf – Einfluss des Wassergehaltes“

**Reitmaier, Tobias:** „Untersuchung der unterschiedlichen Zellschädigung bei der Gefrier-trocknung von *Lactobacillus helveticus*“

**Lutterschmid, Georg:** „Einfluss unterschiedlicher Proteinvorbehandlungen auf die Quervernetzung von Casein mittels Transglutaminase“

**Luh, Jan-Peter:** „Einfluss der Hitzedenaturierung von Eigelb auf dessen Grenzflächenverhalten in Öl- in Wasser-Emulsionen“

**Kljajic, Marija:** „Impact of a heat treatment on the emulsifying properties of diluted egg yolk solutions“

**Eichl, Susanne:** „Technologisch funktionelle Eigenschaften von Caseinmacropeptid (CMP)“

**Misira, Athina:** „Inaktivierung von Mikroorganismen mittels hypochloridhaltigem Wasser hergestellt nach dem System Purester“

**Korthals, Melanie:** „Novel technologies for kefir manufacture and kefir related functions in ACE-inhibition“

**Tchakam-Tschasso, Théodore:** „Effect of protein concentration on the thermally induced changes in egg yolk solutions“

**Baráč, Dominika:** „Keimzahlreduzierung auf Hühnereiern durch unterschiedliche Waschverfahren“

**Mayr, Andreas:** „Inaktivierung von Bazillus Sporen mit peroxidhaltiger Heißluft“

**Daimer, Katharina:** „Strukturbildungsreaktionen bei der Schmelzkäseherstellung“

**Schmidt, Stefanie:** „Strukturbildung durch hydrostatische Druckbehandlung von Molkenproteinen und Carrageenan“

**Peinelt, Peter:** „Integration denaturierter Molkenproteine in die Matrix von Mozzarella – Einfluss auf Strukturbildung und Ausbeute“

**Linsenmeier, Andreas:** „Einfluss von Prozess- und Fermentationsparametern auf die Joghurtfermentation mit Transglutaminase“

**Kreppold, Mirjam:** „Functional properties of dried biopolymer mixtures“

**Egger, Verena:** „Phase separation in Milk-Peptin-Systems and its influence on the fermentation process“

**Pfindel, Michaela:** „Einsatzmöglichkeiten von Caseinmakropetid als Wachstumspromoter für Bifidobakterien – Einfluss der Animpfdichte und des Verhältnisses zwischen glykosyliertem und nicht-glykosyliertem Anteil“

**Durner, Dominik:** „Enzymatische Modifikation von Proteinen mittels mikrobieller Transglutaminase – Einfluss auf die Emulgatoreigenschaften von Lebensmittelproteinen“

## Semester- und Bachelorarbeiten

**Schuster, Frank:** „Denaturierungsverhalten von  $\beta$ -Lactoglobulin bei unterschiedlichen Milieubedingungen“ – Einfluss von Calcium

**Hutschenreuther, Simon:** „Denaturierungsverhalten von  $\beta$ -Lactoglobulin bei unterschiedlichen Milieubedingungen“ – Einfluss von Lactose

**Raddatz, Aline:** „Thermische Behandlung von Schäumen aus Eiklar-, Raps- und Lupinenprotein“

**Lenzer, Kerstin:** „Messeauftritt des Forschungsdepartments für Lebensmittel und Ernährung der TUM Freising-Weihenstephan auf der ANUGA Food Tec 2003 in Köln – Reflexion und Feedback“

**Ried, Eva:** „Messeauftritt des Forschungsdepartments für Lebensmittel und Ernährung der TUM Freising-Weihenstephan auf der ANUGA Food Tec 2003 in Köln – Planung und praktische Vorbereitung“

**Forstner, Judith:** „Messeauftritt des Forschungsdepartments für Lebensmittel und Ernährung der TUM Freising-Weihenstephan auf der ANUGA Food Tec 2003 in Köln – Erarbeitung des theoretischen Hintergrundes anhand wissenschaftlicher Literatur“

**Samesreuther, Maja:** „Messeauftritt des Forschungsdepartments für Lebensmittel und Ernährung der TUM Freising-Weihenstephan auf der ANUGA Food Tec 2003 in Köln – Organisation und Durchführung“

**Paulin, Bernd:** „Charakterisierung viskoser Flüssigkeiten am Beispiel verschiedener Joghurt-Fruchtzubereitungen“

**Köhlhofer, Bernd:** „Einfluss des pH-Wertes auf die Strukturbildungsreaktionen bei der Schmelzkäseherstellung“

**Abels, Georg:** „Einfluss verschiedener technologischer Maßnahmen auf die Oberflächen – Hydrophobizität von Milchproteinen“

**Mugrauer, Julia:** „Untersuchungen zur Fraktionierung von CMP in seine glykolysierten und nicht-glykolysierten Bestandteile mittels Membrantrenntechnik“

**Obermaier, Kersten:** „Einfluss der Temperatur auf die Strukturbildungsreaktion bei der Schmelzkäseherstellung“

**Wahl, Astrid:** „Einfluss von Zuckerstoffen auf das Denaturierungsverhalten von Eiklarproteinen“

**Hundhammer, Helena:** „Inaktivierung des Transglutaminase-Inhibitors im Milchserum“

**Gärtner, Felizitas:** „Untersuchungen zum Schmelzverhalten von Schmelzkäsescheiben“

**Mrosek, Hanne:** „Untersuchung des Strukturbildungsvermögens von verschiedenen Casein-Molkenprotein-Verhältnissen mit und ohne Zusatz von Öl“

## Vorträge und Posterpräsentationen

**Bönisch, M., Kulozik, U.:** Einfluss einer UHT Erhitzung auf die Quervernetzung von nativen Caseinmicellen mittels Transglutaminase, GVC Tagung 2004 in Baden-Baden, 22.03.04-24.03.04

**Bönisch, M., Huß, M., Kulozik, U.:** Novel Insights in the Crosslinking of Milk Proteins by Means of Transglutaminase: Effects on the Structure Formation in fermented Dairy Products, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Bönisch, M., Tolkach, A.:** Transglutaminase Inhibitor in Milk: Thermal Stability, Molecular Properties and Consequences for TG Applications in Milk Products, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Bulca, S., Tolkach, A.:** Effect of UHT-conditions on changes in casein micelles: kinetics of dissociation and crosslinking reactions of casein fractions and its influence on renneting properties, Technology Seminar “

Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Engelhard, P., Kulozik, U.:** Einfluss der Auftragsart auf den Inaktivierungserfolg von per-oxidhaltiger Heißluft auf künstlich verkeimte Packstoffoberflächen, Sitzung des GVC-Fachausschusses „Lebensmittelverfahrenstechnik“ am 22./23.03.2004 in Baden-Baden

**Engelhard, P., Kulozik, U.:** Entkeimung von Packstoffoberflächen mittels peroxidhaltiger Heißluft, Arbeitstagung der Amtsingenieure/-innen Milchwirtschaftlichen Landesvereinigungen und Genossenschaftsverbänden, 20.-23. 04.2004 in Zinnowitz, Usedom

**Engelhard, P., Kulozik, U.:** Keimreduzierung auf technischen Oberflächen und stückigen Lebensmitteln mittels Hypochlorid aus elektrolysiertem, HCl-haltigem Wasser, Arbeitstagung der Amtsingenieure/-innen, Milchwirtschaftlichen Landesvereinigungen und Genossenschaftsverbänden, 20.-23. 04.2004 in Zinnowitz, Usedom

**Engelhard, P., U. Kulozik.:** Entkeimung von festen Oberflächen mittels peroxidhaltiger Heißluft, Arbeitssitzung VDMA – Workshop Freising, 28.04.2004

**Engelhard, P., Kulozik, U.:** Neue Methoden zur rückstandsfreien Entkeimung von Packstoffen, Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung, 7.10.2004, Weihenstephan

**Först, P.:** Ultrahochdruckbehandlung von Lebensmitteln – Anwendungspotenziale im Vergleich zu thermischen Verfahren, 33. Wissenschaftliche Informationsveranstaltung der Berliner Gesellschaft für Getreideforschung, 16.01.2004

**Först, P.:** Vitality of probiotic bacteria in dried dairy products. Importance of encapsulation matrix and drying method, Vortrag KVL Kopenhagen, 04.02.04

**Först, P.; Kulozik, U.:** Validation of an *in-situ* microbalance technique and continuous measurement of sugar solutions during vacuum drying (Poster), 2<sup>nd</sup> International Symposium on Spray Drying of Milk Products in Cork, Ireland, 19-21.10.2004

**Gebhardt, R.; Doster, W.; Kulozik, U.:** Pressure-Induced Dissociation of Casein Micelles: Size Distribution and Effect of Temperature, 3. International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology, HPBB, 26.-30.09.2004

**Geiler, B., Först, P.:** Influence of caseinomacropptide on the growth of probiotic lactic acid bacteria, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Guilmineau, F.:** Increased emulsification functionality of egg yolk proteins through optimised thermal pre-treatment, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Guilmineau, F.:** Thermal denaturation of egg yolk proteins and its influence on egg yolk's emulsifying properties in oil-in-water emulsions (Poster), Sitzung des GVC-Fachausschusses „Lebensmittelverfahrenstechnik“ am 22./23.03.2004 in Baden-Baden

**Guilmineau, F.:** Description of egg yolk proteins' thermal denaturation using formal reaction kinetics (Poster), Sitzung des GVC-Fachausschusses „Lebensmittelverfahrenstechnik“ am 22./23.03.2004 in Baden-Baden

**Guilmineau, F.:** Thermal denaturation of egg yolk proteins and its influence on egg yolk's emulsifying properties in oil-in-water emulsions (Poster), International Congress on Engineering and Food, ICEF 9, Montpellier, 08.-10.03.2004  
**Hinrichs, R., Sedlmeyer, F.:** Water binding capacity and means to assess bound and mobile water contents in milk products and its relation to rheological properties, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Kulozik, U.:** Master Course, Dairy Science and Technology, JOINT SDT/AEDIL International Symposium on „Dairy Education & Training“, Blackpool, 23.06.2004

**Kulozik, U.:** Wissenschaftliche Ansätze mit Potential für Innovative Lösungen in der Prozess- und Produktgestaltung, Informationstag ZIEL, Freising-Weihenstephan, 18.06.2004

**Kulozik, U.:** Wissenschaftliche Ansätze mit Potential für Innovative Lösungen in der Prozess- und Produktgestaltung, Technologie-Workshop, Weiler, 29.10.2004

**Kulozik, U.:** Technology Programmes in Food Process Engineering and Dairy Technology, Konolfing, Schweiz, 5.11.2004.

**Kulozik, U.:** Optimisation of technological properties through protein modification by different means: Thermal processing, Ultrahigh pressure treatment, Enzymatic Processes, Isoelectrical aggregation and glycosylation, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Kulozik, U.:** Microfiltration of milk and whey: Effect of membrane type and pore size, protein concentration and processing factors; Novel membrane processing concepts, Technology Seminar „Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Kulozik, U., Engelhard, P.:** Sanitation of surfaces with hypochloric water, IDF World Dairy Summit, 20.11.-02.12.2004

**Kulozik, U.:** Sanitation of surfaces by means of Infrared Radiation, Technology-Workshop, Tokyo, 17.-25.05.2004

**Kulozik, U.:** Innovation potential through technology, Technology Workshop, Tokyo, 17.-25.05.2004

**Kulozik, U., Metzler, A., Merel, E., Hinrichs, J., Rademacher, B.:** Hydrostatische Druckbehandlung von Milchproteinen und Hydrokolloiden zum Erzeugen definierter Partikel- und Gelstrukturen, Molkenproteine und Carrageenan, Statusseminar Hochdruck, Freising 20.-21.10.2004

**Kulozik, U., Wang, Q., Röck, S.:** Assessment of gel structure formation based on various sources of proteins, polysaccharides and various processing conditions, “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Metzler, A., Brack, M.:** Effect of ultrahigh pressure on the casein micelle structure and interactions with hydrocolloids, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Röck, S.:** Proteinfunktionalität und Strukturbildungsmechanismen bei der Schmelzkäseherstellung, Heimenkirch, 01.03.2004

**Röck, S.:** Einfluss von Temperatur, Scherrate und pH-Wert auf die Strukturbildungsreaktionen im Schmelzkäse, Heimenkirch, 26.07.2004

**Röck, S.:** Einfluss von Prozessparametern und Produktzusammensetzung auf die Strukturbildungsmechanismen bei der Schmelzkäseherstellung, Heimenkirch, 13.10.2004

**Steinle, S., Tolkach, A.:** Viscosity increase of casein-whey protein mixtures as a function of thermal pre-treatment and its relevance to gel and foam formation, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004



**Sedlmeyer, F.:** Influence of processing parameters and process order on rheological properties of mixed gels of milk proteins and carrageenan (Poster), Sitzung des GVC-Fachausschuss „Lebensmittelverfahrenstechnik“ am 22./23.03.2004 in Baden-Baden

**Thomä, C.:** Technological and physiological properties of caseinomacropeptide, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Thomä, C., Steinle, S., Tovarova, I.:** Novel concepts to obtain caseinomacropeptide by fractionation of milk or whey, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Thomä, C., Tovarova, I.:** Separation of caseinomacropeptide released from renneted milk using membrane techniques and its functional properties, Technology Meeting, Prag, 22.01.2004

**Thomä, C., Steinle, S., Sperber, E.:** Gewinnung und technologische Nutzung des Caseinomakropeptids aus Milch, 41. Wissenschaftlicher DGE-Kongress, Freising-Weihenstephan, 11.-12.03.2004

**Tilgner, M., Tolkach, A., Kulozik, U.:** Reaktionskinetik der thermischen Denaturierung von Eiklarproteinen und ihre Relevanz für eine Optimierung der Eiklarpasteurisierung, GVC Tagung 2004 in Baden-Baden, 22.03.04-24.03.04

**Tilgner M., Tolkach, A., Kulozik, U.:** Denaturation kinetics of hen egg white proteins as affected by various compositional conditions and its influence on foam formation, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Tilgner M., Tolkach, A., Kulozik, U.:** Synergistic effects between  $\beta$ -Lactoglobulin and egg white proteins in the formation of foams, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Tolkach, A.:** Methods to assess the molecular state and degree of technological modification of proteins, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Tolkach, A.:** Novel ways to improve the functionality and structure formation capabilities of whey proteins: Processing and compositional factors, „Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Tolkach, A.:** Optimisation of process conditions for separation of proteins and peptides from whey by means of physical or chemical pre-treatments in connection with membrane separation techniques, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg” Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Tolkach, A.:** Formation of lactulose in whey permeate: Processing techniques and applications, Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Tolkach, A., Huss, M.:** Impact of whey source and composition on yield and options for application of whey proteins („Whey is not equal whey”), Technology Seminar „Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg”, Weihenstephan, July 1-2, 2004

**Santivarangkna, C., Först, P., and Kulozik, U.:** Changes of the Survival of *Lactobacillus helveticus* during Vacuum Drying with Carbohydrates and Skimmed Milk (Poster), GVC Tagung 2004 in Baden-Baden, 22-24.03.2004

**Santivarangkna, C., Först, P., and Kulozik, U.:** Effect of Carbohydrates and Skimmed Milk on the Survival and Inactivation Kinetic of *Lactobacillus helveticus* during Vacuum Drying (Poster), 5<sup>th</sup> European Symposium on Biochemical Engineering Science in Stuttgart, 8-11.09.2004

**Santivarangkna, C., Först, P., and Kulozik, U.:** Influence of Added Carbohydrates on *Lactobacillus helveticus* Subjected to Vacuum Drying (Poster), 2<sup>nd</sup> International Symposium on Spray Drying of Milk Products in Cork, Ireland, 19-21.10.2004

**Wang Q., Rademacher B., Sedlmeyer F., Kulozik U.:** Gelation behaviour of aqueous solutions of different types of carrageenan investigated by low-intensity-ultrasound measurements, International Congress on Engineering and Food, ICEF9, Montpellier, France, 07-09.03.2004

## Technologietransfer

Technology Seminar “Novel Technologies to Obtain and to Optimise the Functionality of Proteins from Milk, Whey and Egg - Innovative Processes, Technologies and new Insights for Product Design“, Freising-Weihenstephan, July 1 – 2, 2004

AiF-FV 13202 N „Haltbarkeitsverlängerung von Milchprodukten durch Optimierung der Keiminaktivierung im Lebensmittel und auf Packstoffen“; Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 28.04.2004 in Freising-Weihenstephan

AiF-FV 13733 N „Kontinuierliche Gewinnung von Glykomakropeptid durch Membranverfahren und Einsatz seiner technologischen Funktionalität in Milch und Diätprodukten“; Sitzung des Projektbegleitenden Ausschusses am 07.12.2004 in Freising-Weihenstephan

Weihenstephan von innen – Die milchwissenschaftlich forschenden Institute stellen sich vor, Freising-Weihenstephan, 18.06.2004

Unternehmensspezifische Technologie-Workshops im Rahmen verschiedener Forschungsoperationen.

## Exkursionen

28.01.2004 Fachexkursion mit 30 Studenten der Vorlesung „Qualitätssicherung in der Speiseproduktion“ zur LSG Sky Chefs, Flughafen München

30.05.-04.06. Fachexkursion mit 37 Studenten des Studiengangs Lebensmitteltechnologie zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Erfurt-Weimar-Kulmbach (Milchwerke Thürungen, GmbH, Erfurt, Papalina, Becker’s Bester, Fruchtsäfte, Eisleben,

Rotkäppchen, Freyburg, SüdzuckerAG, Zeitz, Altenburger Brauerei GmbH, Altenburg, Ireks GmbH, Kulmbach)

16.07.2004 Fachexkursion zur Firma LSMW GmbH (Life Science Meissner + Wurst), Stuttgart im Rahmen der Vorlesung Bioprozesstechnik der Lebensmittel I mit 10 Studenten des Studiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel

26.11.2004 Fachexkursion zur Firma Boehringer Ingelheim, Biberach im Rahmen der Vorlesung Bioprozesstechnik der Lebensmittel I, mit 18 Studenten des Studiengangs Technologie und Biotechnologie der Lebensmittel

## **Medienarbeit**

Filmaufnahmen des Senders PRO7, (Sendung Galileo), zum Thema Herstellung von Quark (Käsesahnetorte) im Juni 2004

Filmaufnahmen des Bayerischen Rundfunks zum Thema Milch für das Gesundheitsmagazin im April 2004

## **Partnerschaft Technische Universität München in den bayerischen Gymnasien**

Folgende Gymnasien werden im Rahmen des TUM – Programms Partnerschaft Schule betreut:

Dom-Gymnasium	Freising, Studiendirektor Josef Sonner
Staatliches Gymnasium	München-Moosach, Oberstudiendirektor Dr. Peter Riedner
Katharinen-Gymnasium	Ingolstadt, Studiendirektor Rudolf Schweiger
Gnadenthal-Gymnasium	Ingolstadt, Oberstudiendirektor Karl Finkenzeller

## **Zusammenarbeit mit wissenschaftlichen Expertengremien und Organisationen**

### **Kulozik, U.**

- Mitglied der Jury zur Verleihung des European FoodTec Award durch die Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft
- Mitglied im Editorial Board des International Dairy Journal
- Mitglied im Wissenschaftlichen Ausschuss des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
- Vorsitzender (Chairman) im Standing Committee of Dairy Science and Technology der International Dairy Federation (IDF)
- Technologieausschuss des Verbandes Deutscher Marktmolkereien (VDM)
- Stellvertretender Vorsitzender der Deutschen Gesellschaft für Milchwissenschaft
- Wissenschaftlicher Berater im Verein zur Förderung lebensmitteltechnologischer Innovationen (VFL) e.V., Bonn
- Mitglied im Wissenschaftlichen Ausschuss des Milchindustrieverbandes (MIV) e.V., Bonn

**Huß, M.**

- Teilnahme an amtlichen Qualitätsprüfungen
- Geschäftsführer des Verbandes ehemaliger Weihenstephaner Lebensmitteltechnologien und Milchwirtschaftler e.V.

**Engelhard, P.**

- Wissenschaftliche Unterstützung der Amts- und Beratungsingenieure der Landesregierungen

**Higl, B.** (ab 01.03.2004)

- Stellvertretende Frauenbeauftragte im Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt

**Rademacher, B.** (bis 28.02.2004)

- Mitglied im Wissenschaftlichen Ausschuss der Gesellschaft Deutscher Lebensmitteltechnologien e.V. (GDL)
- Stellvertretende Frauenbeauftragte im Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt
- Mitglied der DFG-Forschergruppe „Einfluss von Hochdruck auf molekulare und zelluläre Systeme in Lebensmitteln“
- Mitglied verschiedener Berufungskommissionen der Technischen Universität München

**Besucher/Besuche**

- 23.-26.03.04 und 12.-17.09.04 Präsident Prof. Dr. Boris Mikhailovich und Frau L.R. Alieva, Nordkaukaser Staatliche Technische Universität, Prospekt Kulakova 2, 355029 Stavropol, Russland
- 26.03.04 und 22.-24.09.04 Prof. Dr.-Ing. Beatrice Canzino, Department of Food Technology, Universidad Católica de Valparaiso, Waddington 716, Valparaiso, Chile
- 23.06.2004 Besuch einer chinesischen Delegation (Department of Science and Technology der Provinz Zhejiang unter der Leitung des Deputy Directors Zhu Deqi) zusammen mit Prof. Engel, Lehrstuhl für Allgemeine Lebensmitteltechnologie zur Besichtigung des Technikums
- 28.06.2004 Zwei Kindergruppen der Organisation Science Lab - Kinder (Frau Dr. Heike Schettler, Starnberg)
- 14.07.2004 Wilhelm Consulting, Steingaden (im Auftrag des Bayerischen Wirtschaftsministeriums) mit einer Gruppe von 23 südafrikanischen Lebensmittelexperten aus den Provinzen Gauteng (Johannesburg) und Western Cape (Kapstadt)
- 20.09.2004 Dr. Wanna Tungjaroenchai (KMITL), Dr. Kanokorn Inarapichet (Suranaree University of Technology), Dr. Ninnart Chinporahat (Chulalongkorn University), King Mongkuts Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, Thailand
- 30.09.2004 Eléonore Rabemanajara-Andrianoely, Robinson Raharivola, Halijao Rakotonirainy, Alphonse Ralison, Rakoto Rabemanatsoa Volana, Toto Julien

- Malazarivo, Nilam Hirdijee, (International Trading & Development, Dep. Agro-Alimentaire), Madagaskar, Südafrika
- 10.11.2004 Wilhelm Consulting, Steingaden (im Auftrag des Bayerischen Wirtschaftsministeriums) mit einer Gruppe von 20 chinesischen Experten des Gesundheitsschutzes und der Lebensmittelsicherheit aus der Provinz Shandong

## Veröffentlichungen

- Tolkach, A.; Huss, M.; Kulozik, U.:** Einfluss der Molkenzirkulierung auf die Käseausbeuteerhöhung, Deutsche Molkerei Zeitung (dmz), 2/2004, 25 - 27
- Bulca, S.; Leder, J.; Kulozik, U.:** Impact of UHT or high heat treatment on the rennet gel formation of Skim milk with various whey protein contents, Milchwissenschaft 59 (11/12) 2004, 590-593
- Tolkach, A.; Kulozik, U.:** Fractionation of Whey Proteins and Peptides by Means of Membrane Techniques in Connection with Chemical and Physical Pretreatments, Bulletin of the IDF Nr. 389/2004, II/2
- Bulca, S.; Kulozik, U.:** Heat-Induced Changes in Native Casein Micelles Obtained by Micro-Filtration, Bulletin of the IDF Nr. 389/2004, II/5
- Thomä, C.; Kulozik, U.:** Methods of Obtaining Isolated Caseinmacropeptide from Milk and Whey And Functional Properties, Bulletin of the IDF Nr. 389/2004, III/5
- Kulozik, U.:** TU München-Weihenstephan von innen – Einblicke in die Milchforschung und intensiver Austausch mit der Praxis, Deutsche Milchwirtschaft 15 (2004), 55. Jg., 610-611
- Bönisch, M.; Lauber, S.; Kulozik, U.:** Effect of Ultra High Temperature Treatment on the Enzymatic Crosslinking of Micellar Casein and Sodium Caseinate by Transglutaminase, Journal of Food Science 2004, Vol. 69, Nr. 8, 398-404
- Först, P.:** Ultrahochdruckbehandlung von Lebensmitteln – Anwendungspotenziale im Vergleich zu thermischen Verfahren, Getreidetechnologie 3, 2004, 160-162
- Kulozik, U.; Steinle, S.; Tolkach, A.:** Grenzschichtphänomene an Membranen: Einfluss von Porengröße und Prozessführung bei der Mikro- und Ultrafiltration, Der Weihenstephaner 4, 2004
- Kulozik, U.; Steinle, S.; Tolkach, A.:** Grenzschichtphänomene an Membranen: Einfluss von Porengröße und Prozessführung bei der Mikro- und Ultrafiltration, Teil I, Deutsche Molkerei Zeitung (dmz) 21, 2004, 30-33
- Kulozik, U.; Steinle, S.; Tolkach, A.:** Grenzschichtphänomene an Membranen: Einfluss von Porengröße und Prozessführung bei der Mikro- und Ultrafiltration, Teil II Deutsche Molkerei Zeitung (dmz) 23, 2004, 28-31
- Tolkach, A.; Kulozik, U.:** Fractionation of whey proteins and caseinmacropeptide by means of enzymatic crosslinking and membrane separation techniques, Journal of Food Engineering, 67, 2005, 13-20
- Thomä, C.; Krause, I.; Kulozik, U.:** Precipitation behaviour of caseinmacropeptides and their simultaneous determination with whey proteins by RP – HPLC, International Dairy Journal, submitted
- Gebhardt, R.; Doster, W.; Kulozik, U.:** Pressure-Induced Dissociation of Casein Micelles: Size Distribution and Effect of Temperature, submitted for Proceeding of 3. International Conference on High Pressure Bioscience and Biotechnology, HPBB, Rio de Janeiro, 26.-30.09.2004

---

# Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologe n. V.

---

**Adresse**            Weihenstephaner Berg 1  
                          D- 85354 Freising-Weihenstephan

                          Telefon: 08161-71-3547  
                          Telefax: 08161-71-4384  
                          E-mail: manfred.huss@wzw.tum.de

## **Verbandsinformation 2004 (Stand 31.12.2004)**

Mitglieder gesamt: 1.170 (Vorjahr: 1.135)

Verstorbene  
Mitglieder 2004:    Andreas Stocker, Rohrdorf (2003)  
                          Johann Göbel, Scheidegg (2003)

Kassenprüfer:      Caroline Schmalen, Freising  
                          Dirk Wehnsen, Landshut

Mitgliedsbeitrag  
für 2005:            20,00 Euro (einstimmiger Beschluss der Mitgliederversammlung 2004)

Versammlungen:    Vorstandssitzung am 31.03.2004  
                          Vorstandssitzung am 06.10.2004  
                          Mitgliederversammlung am 07.10.2004

## **Geförderte Exkursionen**

- 30.05.-04.06.04    unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Kulozik) der TUM mit 37 Studenten zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben im Raum Erfurt-Weimar-Leipzig
- 21.06.-23.06.04    unter Leitung des Instituts für Lebensmitteltechnologie (Prof. Dr. Rehmann) der Fachhochschule Weihenstephan zu Lebensmittel- und Zulieferbetrieben in Schwaben
- 10.11.-12.11.04    unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Kulozik) mit 2 Gaststudenten aus Tajikista und Kroatien zur Brau Beviale nach Nürnberg

26.11.04 unter Leitung des Lehrstuhls für Lebensmittelverfahrenstechnik und Molkereitechnologie (Prof. Dr. Kulozik) der TUM mit 15 Studenten zu Boehringer-Ingelheim nach Biberach

## **Ehrungen anlässlich der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung**

### *Ehrung langjähriger Verbandsmitglieder*

Bereits seit vielen Jahren ehrt der Verband anlässlich der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung seine langjährigen Mitglieder. In diesem Jahr war neben der Gruppe der Mitglieder mit 40 jähriger Zugehörigkeit auch eine Gruppe von Mitgliedern mit 50 jähriger Mitgliedschaft vertreten.

### *Mitglieder mit 40 jähriger Mitgliedschaft*

Johann Bosch, Reithmehring; Erich Frank, Aislingen; Werner Hackenschmied, München; Helmut Klinger, Fulda; Günter Liebert, Roßtal; Gerhard Metzger, Eichstätt; August Sauber, Fridolfing; Ernst Steimer, Segnitz; Adolf Wichmann, Bönningstedt; Dirk Pitzel, Radolfzell

### *Mitglieder mit 50 jähriger Mitgliedschaft*

Erich Anton, Garmisch-Partenkirchen; Theo Kehm, Kitzingen; Anton Mezger, Schabach-Wolkerdorf; Ernst Möbus, Flachslanden; Heinz Nagel, Rosenheim; Hans Rauser, Freising; Manfred Stepponat, Hammoor

Leider konnten nicht alle Jubilare anwesend sein. Unser Dank gilt allen unseren langjährigen Mitgliedern für ihre Großzügigkeit, denn durch die langjährige Beitragszahlung haben sie der Generation der studentischen Mitglieder stets eine Förderung ermöglicht. Durch die langjährige Treue haben die Jubilare Vorbildfunktion für die junge Generation der Mitglieder erworben.



Wenn auch die jungen Mitglieder im Verband der Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologe e.V. noch nicht auf diese Weise geehrt werden können, ermutigen wir Sie ebenso, die Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung in Verbindung mit einem „Ehemaligentreffen“ zu betrachten und sich jahrgangsweise bei der Tagung und beim geselligen Abend zu treffen.

Das Bild zeigt (v.l.n.r.) Vorsitzender Dr. Christoph Gernedel, Johann Bosch, Helmut Klinger, Adolf Wichmann, August Sauber, Ernst Steimer, Werner Hackenschmied, Dirk Pitzel (alle mit 40 jähriger Mitgliedschaft) und Prof. Dr. Ulrich Kulozik

**Preis für „beste Diplomarbeit“**

Der zum neunten Mal in Folge ausgeschriebene Preis des Verbands Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologe e.V. ging im Jahr 2004 an **Frau Dipl.-Ing. agr. Maria Kollmann**, geb. am 05.10.1979 in Krumbach (Schwaben). Die mit dem Prädikat 1,0 beurteilte Diplomarbeit wurde von der Jury einstimmig für die Preisverleihung durch den Verband vorgeschlagen.

Frau Kollmann studierte „Agrarwissenschaften“ an der TUM in Freising/Weihenstephan und fertigte ihre Diplomarbeit am Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Department für Tierwissenschaften, Lehrstuhl für Physiologie, mit dem Titel **„Physiologisch – anatomische Untersuchungen an Kühen mit Incontinentia lactis“** an.

Die Diplomarbeit wurde von Herrn apl. Prof. Dr. R.M. Bruckmaier und Herrn Prof. Dr. Dr. H.H.D. Meyer betreut.

Gesunde Tiere sind die entscheidende Voraussetzung für die Erzeugung qualitativ hochwertiger tierischer Lebensmittel. Wegen erhöhtem Infektionsrisiko bei Incontinentia lactis (das Laufenlassen von Milch in der Zwischenmelkzeit) war dieses Phänomen Gegenstand von Untersuchungen. Die Ursachen wurden bisher widersprüchlich diskutiert.

Frau Kollmann konnte nachweisen, dass während des Auftretens der Incontinentia lactis keine Milchejektion stattfindet, das heißt es handelt sich bei der laufengelassenen Milch ausschließlich um Zisternenmilch. Als Ursache der Incontinentia lactis ist ein erhöhter Euterinnendruck zu sehen, der in erster Linie auf die größeren Euterzisternen solcher Kühe zurückzuführen ist. Für die praktische Milchproduktion liefert die Erkenntnis, dass Incontinentia lactis nichts mit Milchejektion zu tun hat, einen wichtigen Beitrag. Dies bedeutet, dass, entgegen der gängigen Meinung in der Praxis, vor dem Melken eine Vorstimulation auch der Euter der Kühe mit Incontinentia lactis nötig ist. Das Wissen über die Ursachen der Incontinentia lactis kann au-

ßerdem dazu genutzt werden, die damit verbundenen Probleme zu mildern, indem dem Phänomen züchterisch entgegengewirkt wird.

Der Verband gratuliert der Preisträgerin und ermutigt gleichzeitig die Studenten der Lebensmitteltechnologie und Milchwissenschaften, sich an den Einrichtungen der Milch- und Lebensmittelforschung in Weihenstephan weiterhin zu engagieren.



Vorsitzender Dr. Gernedel, apl. Prof. Dr. Bruckmaier, Prof. Dr. Meyer und Prof. Dr. Ulrich Kulozik freuen sich mit der Preisträgerin Maria Kollmann



# Verleihungsrichtlinien zum Preis für Diplomarbeiten von Verbandsmitgliedern

## Präambel

Der Verein Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologe e.V. ist einer der traditionsreichsten Hochschulverbände mit über 1100 Mitgliedern. Das stetige Wachsen des Verbands ist eng mit den Erfolgen der Absolventen der Milch- und Lebensmittelforschung in Weihenstephan verbunden. Der Verband möchte durch die Vergabe eines Preises für Diplomarbeiten die Verbundenheit zu den Forschungsinstituten noch stärker zum Ausdruck bringen und die studentischen Mitglieder dazu ermutigen, sich an den Einrichtungen der Milch- und Lebensmittelforschung weiter zu engagieren.

## Dotierung

Der Preis ist mit 1.000,- € dotiert und wird jährlich verliehen. Im höchsten Fall werden zwei Diplomarbeiten prämiert (jeweils 1.000,- €).

## Auswahlkriterien

- Der/die Ausgezeichnete muss Mitglied beim Verband Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologe e.V. sein.
- Es muss sich um eine herausragende Diplomarbeit in Zusammenhang mit einer überdurchschnittlichen Gesamtdiplomnote handeln.
- Die Arbeit muss aus dem Themenbereich der Milch oder Lebensmittel kommen.

## Bewerbung und Verleihungsverfahren

Die Diplomarbeit muss vom betreuenden Institut bzw. Lehrstuhl der Diplomarbeit nominiert werden. Die Arbeit wird zusammen mit einem Bewerbungsformular bei der Geschäftsstelle des Verbands der Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologe e.V., spätestens am 30. Juni des laufenden Jahres, eingereicht. Die Diplomarbeit darf als ältestes Datum (Abgabetermin beim Lehrstuhl) den 30. Juni des Vorjahres tragen. Die Preise werden vom Vorstand des Verbands jährlich bei der Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung verliehen. Nur der Vorstand des Verbands ist berechtigt, die Preisträger öffentlich bekannt zu geben.

## Jury

Die Jury besteht aus 5 Professoren der TUM und der Fachhochschule Weihenstephans. Die Jury kontrolliert, ob die vorgeschlagenen Kandidaten den Bedingungen dieser Verleihungsrichtlinien entsprechen, prüft die eingereichten Unterlagen und benennt die Preisträger. Sie ist berechtigt, sich Beurteilungen von dritter Seite zu beschaffen und Kandidaten zur persönlichen Beurteilung einzuladen. Die Entscheidung der Jury ist unanfechtbar. Ein Rechtsanspruch auf Zuerkennung eines Preises besteht nicht.

*Antragsformulare können beim Geschäftsführer des Verbands angefordert werden.*

---

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

---

## Adresse

c/o Lebensmittelverfahrenstechnik – WZW  
Weihenstephaner Berg 1  
D- 85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: 08161-71-4205

Telefax: 08161-71-4384

## Vorstand

1. Vorsitzender	Prof. Dr. Jakob Stöckl
Stellvertr. Vorsitzender	Dr.-Ing. Hans Schraml
2. Stellvertr. Vorsitzender	Timo Winkelmann
Geschäftsführer	Prof. Dr.-Ing. Ulrich Kulozik

## Mitgliederversammlung am 7. Oktober 2004

Der 1. Vorsitzende der Vereinigung, Herr Prof. Stöckl, begrüßt die anwesenden 15 Mitglieder und stellt fest, dass die Einladung zur Mitgliederversammlung mit der Tagesordnung rechtzeitig und satzungsgemäß erfolgt ist.

Herr Prof. Kulozik berichtet, dass auch im vergangenen Jahr von der Vereinigung die satzungsgemäßen Aufgaben erfüllt werden konnten. Entsprechend der Satzung wurde der ständige Gedanken- und Erfahrungsaustausch mit der milchwirtschaftlichen Praxis auch 2004 gefördert; es wurden Forschungsprojekte sowie Forschungsstipendiaten unterstützt.

Die Milchwirtschaft wurde über laufende Forschungsvorhaben und deren Ergebnisse unterrichtet. Zurzeit werden 4 Forschungsvorhaben mit insgesamt € 92.990,00 über den Forschungskreis der Ernährungsindustrie/AiF mitfinanziert. Ein wichtiges Hilfsmittel zum Informationsaustausch ist der vom Forschungszentrum für Milch und Lebensmittel Weihenstephan herausgegebene "*Wissenschaftliche Jahresbericht*", der mit Unterstützung der Vereinigung zusammengestellt wurde. Neben diesem Bericht sind auch regelmäßige Rundschreiben sowie die Weihenstephaner Milchwirtschaftliche Herbsttagung tragender Bestandteil und wesentlicher Beitrag zur Informationspolitik der Vereinigung.

Ein Schwerpunkt der Aktivitäten lag in der Umsetzung der neuen Satzung und Beitragsordnung. Zusammen mit den Beitragsrechnungen 2004 wurde neben einem weiteren erläuternden Schreiben eine Einladung zu einer *Informationsveranstaltung* „Weihenstephan von innen – die milchwissenschaftlich forschenden Institute stellen sich vor“ am 17./18. Juni 2004 versandt. Etwa 40 Teilnehmern wurde die Arbeitsweise der 5 betroffenen Einrichtungen vor Ort im Detail erläutert. Die Resonanz war exzellent. Die Veranstaltung wird u.a. Möglichkeiten als Muster für die zukünftige Kommunikation mit den Mitgliedern gesehen. Eine erste Kon-

sequenz war das Anbieten von Institutsführungen im Rahmen der diesjährigen Herbsttagung mit ebenfalls positiver Resonanz.

Der Mitgliederstand betrug zum 01.01.2004 75 Mitglieder. 8 Mitglieder kündigten im Jahr 2004 ihre Mitgliedschaft. Inzwischen konnte der erwartete abnehmende Trend in der Entwicklung der Mitgliedszahlen aufgefangen werden. 2 Neumitglieder konnten inzwischen gewonnen werden (Stand 07.10.2004: 69 Mitglieder).

Aus der neuen Beitragsordnung ergibt sich bei der o.g. Mitgliederzahl ein vollkommen neuer finanzieller Rahmen für die Forschungsförderung. Insgesamt hat sich also die strategische Entscheidung zur Änderung der Mitgliedsbeitragsordnung als mutige, aber richtige und hinsichtlich ihrer Umsetzung erfolgreiche Maßnahme erwiesen.

Bewertung der Herbsttagung 2004: Auch hier konnte festgestellt werden, dass einige strategische Maßnahmen gegriffen haben. Das Programm wurde als überaus interessant angesehen, und die Inhalte erwiesen sich als sehr relevant für die Teilnehmer auch aus anderen Branchen. Die Resonanz war überaus positiv, die Zahl der anwesenden Teilnehmer sehr zufrieden stellend. Im Jahr 2005 sollen die Bemühungen hinsichtlich hochwertigem Programm, Ansprache und Einladung, sowie Ehemaligentreffen weiter verstärkt werden.

Der Tätigkeitsbericht der Geschäftsführung wurde von der Mitgliederversammlung ohne Erinnerung zur Kenntnis genommen. Der Geschäftsführer gab weiterhin eine Übersicht über die Einnahmen- und Ausgabenrechnung sowie über die Vermögenslage per 31.12.2003 ab.

Herr Prof. Kulozik berichtet, dass die Kassenprüfung am 02.02.2004 von den Rechnungsprüfern, Herrn Dr. Guehl und Herrn Dr. Kunz, vorgenommen und die einwandfreie Kassenführung bestätigt wurde. Der Prüfungsbericht liegt schriftlich vor und bestätigt, dass der vorgelegte Abschluss 2003 in seinen Einnahmen und Ausgaben in Ordnung ist und die Bilanz den Unterlagen entspricht. Herr Dr. Guehl stellt Antrag auf Entlastung des Vorstandes und des Kuratoriums. Die Entlastungen werden mit 14 Ja-Stimmen erteilt. Der Geschäftsführer enthält sich der Stimme, Nein-Stimmen lagen nicht vor.

Nach § 8 der Satzung sind in diesem Jahr turnusgemäß neu zu wählen: Herr Prof. Dr. Stöckl, Herr Epp und Herr Dr. Seufferlein. Außerdem wurde bei der letzten Kuratoriumssitzung beschlossen, einen zweiten stellvertretenden Vorsitzenden zu wählen. Das Kuratorium schlägt hierfür Herrn Timo Winkelmann vor.

Nach dem Ausscheiden von Herrn Dr. Gernedel als Vorsitzender des die Herbsttagung mit veranstaltenden Verbandes Weihenstephaner Milchwirtschaftler und Lebensmitteltechnologien e.V. wurde Herr Dipl.-Ing. Jürgen Kinna (Applexion Deutschland GmbH) als dessen Nachfolger gewählt und steht in dieser Funktion auch als Vertreter des Verbandes im Kuratorium der Vereinigung zur Verfügung.

Mit je 14 Ja-Stimmen, einer Stimmenthaltung und ohne Nein-Stimmen werden Herr Prof. Dr. Stöckl, Herr Epp, Herr Dr. Seufferlein, Herr Winkelmann und Herr Kinna einzeln für 3 Jahre gewählt. Die Herren nehmen die Wahl an und danken den Mitgliedern für das ihnen entgegengebrachte Vertrauen.

Abschließend dankte Herr Prof. Stöckl allen anwesenden Mitgliedern und lud alle Teilnehmer und Mitglieder ein, auch an der nächstjährigen *Weihenstephaner Milchwirtschaftlichen Herbsttagung* (13./14. Oktober 2005) sowie an der Mitgliederversammlung teilzunehmen.

---

## 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.

Für den Druck des Jahresberichtes hat darüber hinaus die Staatliche Molkerei Weihenstephan GmbH & Co. KG finanzielle Mittel zur Verfügung gestellt.

### Verzeichnis der Fachfirmen

	Seite
1. Bayerische Milchindustrie BMI eG, Landshut	191
2. Bayernland eG, Nürnberg	206
3. Campina GmbH & Co. KG, Heilbronn	205
4. CSB-System AG, Geilenkirchen	189
5. Danisco Deutschland GmbH, Niebüll	185
6. Degussa Food Ingredients GmbH, Freising	192
7. Döhler GmbH, Darmstadt	184
8. Domspitzmilch eG, Regensburg	196
9. DSF – Deutsch-Schweizerische Früchteverarbeitung GmbH	186
10. Endress + Hauser Messtechnik GmbH & Co. KG, Weil am Rhein	194
11. frischli Milchwerke GmbH, Rehburg-Loccum	195
12. GEA Tuchenhagen Dairy Systems GmbH, Sarstedt	204
13. Gebrüder Wörle Ges.m.b.H., Henndorf b. Salzburg/Österreich	197
14. Goldsteig Käsereien Bayerwald GmbH, Cham	188
15. Chr. Hansen GmbH, Nienburg/Weser	203
16. Hochland AG, Heimenkirch	196
17. Hofmeister Käsewerk GmbH & Co. KG, Moosburg an der Isar	187
18. Humana Milchunion eG, Everswinkel	190
19. Karwendel-Werke Huber GmbH & Co. KG, Buchloe im Allgäu	197
20. Käserei Champignon Hofmeister GmbH & Co. KG, Lauben im Allgäu	187

## **Verzeichnis der Fachfirmen (Fortsetzung)**

	Seite
21. Landesvereinigung der Bayerischen Milchwirtschaft e.V., München	207
22. Milchwerke Schwaben eG, Ulm	202
23. Molkerei Alois Müller GmbH & Co., Aretsried	193
24. Molkerei Gropper GmbH & Co., Bissingen	192
25. Molkerei Meggle GmbH, Wasserburg a. Inn	188
26. Nordmilch eG, Bremen	201
27. Tetra Pak GmbH, Hochheim	198
28. Tirol Milch reg.Gen.m.b.H., Innsbruck/Österreich	199
29. Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen	200
30. Zott GmbH & Co. KG, Mertingen	202































































