



Weißer Biotechnologie für innovative Lebensmittel

EU und Sachsen fördern **Verbundprojekt** mit großer Zukunft

Abbildung 1: Parallelreaktorsystem MULTIFORS

Der Mensch macht sich die positive Wirkung von Pflanzenstoffen schon seit Jahrtausenden zu Nutzen. Pflanzliche Extrakte werden für alle möglichen Anwendungen eingesetzt. Die traditionelle Produktion pflanzlicher Sekundärmetabolite ist jedoch stark abhängig von vielen Umweltfaktoren wie Wetter, Schädlinge etc..

Neue Nutzung durch High-Tech im Labor

Eine Alternative stellt die *in vitro* Kultivierung pflanzlicher Zell- und Gewebekulturen im Bioreaktor dar (s. Abb 1), die eine ganzjährige, kontinuierliche Produktion unter optimierten Bedingungen und mit gleichbleibender Qualität und Quantität erlaubt. Pestizide sind dabei überflüssig und die Produktion erfolgt nachhaltig



Unsere Autorin: Dr.-Ing. Juliane Steingroewer
 Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik, Technische Universität Dresden,
 Tel.: +49 351/463 33386, Fax: +49 351/463 37761, e-mail: juliane.steingroewer@tu-dresden.de

und umweltschonend. Der Europäische Sozialfonds und der Freistaat Sachsen fördern das Projekt, in dem sich Nachwuchswissenschaftler der Institute für

Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik, Botanik, Holz- und Faserwerkstofftechnik, sowie des Lehrstuhls für Betriebliche Umweltökonomie an der Technischen Universität Dresden mit der Generierung und dem Screening von Pflanzzellkulturen befassen.

Industrieprozesse sind das Ziel

Ziel der Forschungsarbeiten ist die Etablierung der verfahrenstechnischen Grundlagen für GMP-gerechte Komplettlösungen zum Einsatz in der Lebensmittelindustrie (Farb- und Aromastoffe), Holzwerkstoffindustrie (fungizide Beschichtungen) sowie Pharma- und Kosmetikindustrie (Wirkstoffe) gelegt. Möglich wird diese praxisorientierte Forschung durch das interdiszi-

pliniäre Arbeiten unter Einbeziehung einer Ökobilanz.

Kalli und Hairy Roots: der pfiffige Weg zu neuen Produkten

Den ersten Schritt bei der Entwicklung von Prozessen zur Gewinnung pflanzlicher Metabolite stellt die Erzeugung entsprechender Zell- und/oder Gewebekulturen der Modellpflanzen *Salvia sp.* (Salbei), *Helianthus annuus* (Sonnenblume), *Symphytum officinale* (Beinwell) und *Beta vulgaris* (Rote Beete) für die Produktion der gewünschten Sekundärmetabolite (siehe Tabelle) dar. Ausgangspunkt für die Generierung pflanzlicher Zellsuspensionskulturen ist die Kallusinduktion. Kalli (Kallus = Wund- und Vernarbungsgewebe) bestehen aus ungeordneten, undifferenzierten Zellen, die prinzipiell aus Gewebestücken aller Pflanzenteile gewonnen werden können. Das Kalluswachstum erfordert feste Nährmedien, die aus Mineralsalzen, einer Kohlenstoffquelle (meist Saccharose) und Vitaminen bestehen. Zudem ist der Zusatz entsprechender Phytohormone, wie 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure, Kinetin oder 3-Indolessigsäure in einem optimalen Verhältnis erforderlich. Nach erfolgter Kallusinduktion können die Kalli unter sterilen Bedingungen subkultiviert oder z. B. durch Erhöhung des Gehaltes an Vitaminen und Phytohormonen im Nährmedium in Zellsuspensionskulturen überführt werden. Neben den beschriebenen Kalluskulturen kommen auch sogenannte Hairy roots (Wurzelhaare) zum Einsatz.

Tabelle: Überblick der Modellpflanzen und deren ernährungsphysiologische bzw. pharmazeutische Bedeutung

Pflanze	(Wirk)Stoff	Bedeutung
Salbei	Triterpensäuren (Ursolsäure, Oleansäure)	<ul style="list-style-type: none"> · hepatoprotektiv · entzündungshemmend · antikanzerogen · fungizid
Sonnenblume	α-Tocopherol (Vitamin E)	<ul style="list-style-type: none"> · antioxidative Wirkung · Lebensmittelzusatzstoff E307
	Exopolysaccharide	<ul style="list-style-type: none"> · präbiotisches Potential · verlangsamte Alterung von Backerzeugnissen
Beinwell	Alantoin	<ul style="list-style-type: none"> · fördert Zellwachstum und -regeneration
	Cholin	<ul style="list-style-type: none"> · hemmt die Ödembildung · fördert die Durchblutung
Rote Beete	Betanin	<ul style="list-style-type: none"> · gesundheitlich unbedenklicher roter (Lebensmittel)Farbstoff E162

Im Gegensatz zu anderen pflanzlichen Gewebekulturen oder Kalluskulturen wachsen Hairy roots auf Nährmedien ohne Phytohormone. Daraus ergibt sich ein weitreichender Vorteil für den späteren

industriellen Einsatz, da die Hormone einen relativ hohen Kostenfaktor darstellen.

Am Institut für Lebensmittel- und Bioverfahrenstechnik der TU Dresden steht für die Kontrolle der Atmungsaktivitäten

WELCH-ILMVAC

Ihr Vakuumpartner im Lebensmittellabor



Rotationsverdampfer

LVS 105 T - 10 ef



Vakuumpumpen



ILMVAC



Vakuumpumpen



MPC 601 T

- Einfache Bedienung • Vollautomatisches Vakuummanagement
- Digitales Display • Integrierte Lösungsmitteltabelle
- Energiesparend durch Drehzahlsteuerung

- Chemiebeständig • Absolut ölfrei
- Saugvermögen 63 L/min • Enddruck 2 mbar
- 4 PTFE Pumpenköpfe

www.welch-ilmvac.com



Abbildung 2:
RAMOS
inklusive 8
Messkolben
mit Suspensi-
onskulturen
von *Helian-
thus annuus*
(einjährige
Sonnenblume)

ein Respiration Activity Monitoring System (RAMOS, siehe Abbildung 2) zur Verfü-

Bestimmung der Atmungsaktivität der Kulturen

gung. Dieses System ermöglicht die Bestimmung von Atmungsaktivitäten auf der Basis von Sauerstofftransferaten (OTR) in mehrfach parallelen Ansätzen in Schüttelkolben und lässt Rückschlüsse auf die Stoffwechselaktivität bei unterschiedlichen Bedingungen zu. Das Messprinzip beruht auf der Bestimmung von Partialdruckänderungen des Sauerstoffs in der Gaspase des Kultivierungssystems.

Auch die Untersuchungen zum weiteren *Scale-up* in den Technikumsmaßstab erfolgen aus den bereits genannten Gründen in einem parallelisierten Fermentersystem (MULTIFORS, siehe Abbildung 1), über 4 Reaktoren (Arbeitsvolumen 700 ml) mit integrierter Abgasanalytik.

Neue Analytik mit DC/HPLC/GC/MS

Zur Feststellung des Gehalts an Sekundärmetaboliten wurde u. a. eine Analysenmethode mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie entwickelt, deren Anwendung auf Kalluskultur-Extrakte eine erfolgreiche Differenzierung zwischen produktiven und nicht-produktiven Zelllinien ermöglicht. Die anschließende Quantifizierung erfolgt mittels High Performance Liquid Chromatography (HPLC, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) bzw. Gaschromatographie/Massen-Spektrometrie (GC/MS). Die GC/MS bietet den Vorteil, dass auch sehr komplexe Stoffgemische aufgetrennt und analysiert werden können, so dass neben Aussagen zur Identität

und Reinheit der Zielprodukte auch Informationen über das Vorhandensein möglicher weiterer Metabolite gewonnen werden.

Simulation ist alles

Ein weiteres Ziel der Forschungsarbeiten ist die Modellierung und Simulation der Kultivierungsprozesse, die sich in Biomasseaufbau und Metabolitproduktion gliedern. Diese Nachbildung von Wachstum und Produktbildung ermöglicht eine kosten- und ausbeuteoptimierte Nutzung der Produktionskapazität von Pflanzenzellen und ist hilfreich bei der Auslegung der Reaktorsysteme und bei der Auswahl geeigneter Kultivierungsstrategien.

Neben der verfahrenstechnischen Prozessoptimierung werden auch molekularbiologische Ansätze zur Erhöhung der Ausbeute an Sekundärmetaboliten bzw. zur Entfernung toxischer Begleitsubstanzen verfolgt. So beschäftigen sich Wissenschaftler der Arbeitsgruppe am Institut für Botanik mit der Erzeugung von genetisch modifizierten Kulturen. Zum einen soll die α -Tocopherolausbeute in Sonnenblumenzellen durch Eingriff in den Tocopherolstoffwechsel erhöht werden. Andererseits werden Hairy roots des Beinwell derart verändert, dass die Bildung hepatotoxischer Pyrrolizidinalkaloide unterdrückt wird.

Alle gewonnenen Forschungsergebnisse inklusive der entsprechenden Ökobilanzen für die einzelnen Prozesse werden am Ende der Projektlaufzeit in eine Technologieplattform einfließen, auf deren Grundlage gezielter Wissenstransfer erfolgen und neue innovative Verfahren in der Lebensmittelindustrie und anderen relevanten Wirtschaftszweigen umgesetzt werden können.

KLARTEXT Stochern im Nebel geht weiter

EHEC WEITET SICH IN DEUTSCHLAND UND IN DER EU AUS

EHEC Infektionen an sich sind nicht ungewöhnlich, pro Jahr werden etwa 900 Erkrankte in Deutschland erfasst, weniger als z.B. durch Salmonellen oder Campylobacter. Einzelfälle verlaufen allerdings tödlich. Betroffen sind hauptsächlich gesunde Erwachsene. Gemeinsames Merkmal: Verzehr bestimmter Gurken aus Spanien mit bestätigtem EHEC-Befund, evtl. kommen noch weitere Quellen in Betracht. Die Studie des Robert-Koch-Instituts gilt nur für Hamburg, die vom BfR ausgesprochene einschränkende Verzehr-Empfehlung trifft dagegen viele Verbraucher und Erzeuger, den Handel und Weiterverarbeiter.

Die Quelle der kontaminierten Produkte ist bislang für bestimmte spanische Gurken belegt, jedoch erklärt diese Kontamination laut Behörden nicht alle Infektionen. Aus der Kenntnis der deutschen Landwirtschaft heraus ist die Behandlung von Gemüse mit Gülle unwahrscheinlich. Landwirte rechnen und handeln verantwortungsvoll.

Eine flächendeckende Beprobung ist nicht sinnvoll, stichprobenweise Routineanalytik in den Überwachungslabors jedoch selbstverständlich. Das Chemische und Veterinäruntersuchungsamt Stuttgart hat von 2006 bis 2010 insgesamt 2105 Proben auf EHEC untersucht. 86 Proben oder 4,1% wurden positiv getestet. EHEC wurden aber in keinem einzigen Fall in pflanzlichen Produkten, sondern vor allem in Hackfleisch und in wenigen Rohmilchproben festgestellt. Trinkwasserproben waren in 2010 zumindest in Stuttgart negativ.

Im Augenblick bleibt also Vieles Spekulation. Die Empfehlung lautet also: Ruhe bewahren und Anbaumethoden transparent kommunizieren. Sonst werden wenige, beunruhigende EHEC Fälle mit kurzfristigen Umsatzeinbußen für Bauern und Handel, zum existenziellen Problem für den gesamten Gemüseanbau. Beispiele dafür gibt es in der Vergangenheit reichlich, meint Thomas Kützemeier.



EHEC im Mikroskop