

Inaktivierung bakterieller Endosporen durch kombinierte Anwendung gepulster elektrischer Felder und thermischer Energie

Koordinierung:	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
Forschungsstelle:	Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik (DIL), Quakenbrück Dr. Volker Heinz/Prof. Dr. Stefan Töpfl/Dr. Martin Linden
Industriegruppen:	Verband der deutschen Fruchtsaftindustrie e. V. (VdF), Bonn VDMA - Fachverband Nahrungsmittel- und Verpackungsmaschinen e. V., Frankfurt
	Projektkoordinator: Dr. Peter Fichtl Uelzena eG, Uelzen
Laufzeit:	2010 – 2013
Zuwendungssumme:	€ 236.850,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Die Haltbarkeit und die damit verbundene mikrobiologische Sicherheit in Lebensmitteln werden durch eine thermische Behandlung, wie z. B. eine Pasteurisation oder eine Sterilisation, erreicht. Neben der Inaktivierung der verderbniserregenden Mikroorganismen werden aufgrund der thermischen Belastung Veränderungen der Produkteigenschaften induziert. In Lebensmitteln mit einem $\text{pH} > 4$, wie z. B. Gemüsesäften, muss mit einer Kontamination mit aus dem Boden stammenden Sporenbildnern, wie z. B. *Bacillus*, gerechnet werden. Bakterielle Endosporen weisen aufgrund ihres spezifischen Aufbaus und besonderer Mechanismen eine hohe Resistenz gegenüber Umwelteinflüssen, wie z. B. Hitze oder Chemikalien, auf. Bedingt durch diese Resistenz ist eine Sterilisation dieser Produkte mit einer Temperatur von über 121°C notwendig. Die hohe thermische Belastung bewirkt allerdings zugleich Veränderungen der Produktqualität.

Zur Verringerung der thermischen Belastung ist die Nutzung von Kombinationsprozessen, d. h. die Anwendung von innovativen Technologien in Kombination mit geringer thermischer Energie, sinnvoll. Im Rahmen des vorliegenden Forschungsvorhabens sollte die Anwendung von gepulsten elektrischen

Feldern (Pulsed Electric Fields, PEF) in Kombination mit thermischer Energie für die Inaktivierung unterschiedlicher Sporenarten untersucht werden. Der PEF-Prozess wird im Bereich Inaktivierung vegetativer Mikroorganismen bereits erfolgreich eingesetzt. Durch die Anwendung kann eine Haltbarkeitsverlängerung mit minimierter thermischer Belastung von frischen Produkten, wie z. B. Orangensaft, erreicht werden.

Ziel des Forschungsvorhabens war es, die Inaktivierung bakterieller Endosporen zu untersuchen werden. Dabei sollte der Einfluss prozess- und produktspezifischer Parameter, wie z. B. der spezifische Energieeintrag, die Temperatur oder der pH-Wert, auf drei verschiedene Sporenarten (*Bacillus subtilis*, *Alicyclobacillus acidoterrestris* und *Geobacillus stearothermophilus*) untersucht werden. Durch die eingetragene Energie kommt es zu einer kurzzeitigen Temperaturerhöhung des Produktes. Durch Erstellen des Temperatur-Zeit-Profiles und eine anschließende Kombination mit dem thermischen Inaktivierungsverhalten der jeweiligen Sporenart lässt sich der Einfluss der Temperatur auf die Inaktivierung während des PEF-Prozesses bestimmen. Um die industrielle Umsetzung der im Vorhaben gewonnenen Erkenntnisse zu demonstrieren, wurde der entwickelte Prozess mit Hefeextrakt und Karottensaft getestet.

Forschungsziel:

Es konnte eine Inaktivierung der Sporen von *B. subtilis*, *A. acidoterrestris* und *G. stearothermophilus* durch die Anwendung von PEF in Kombination mit thermischer Energie erreicht werden. Die innerhalb des Forschungsvorhabens durchgeführten Basisstudien zur Untersuchung des Einflusses der prozess- und produktspezifischen Parameter zeigten die Haupteinflussfaktoren für eine Reduktion der Sporenkonzentration. Einer der Haupteinflussfaktoren stellt die Sporenart dar. Aufgrund des Aufbaus und somit deren Resistenz wurden unterschiedliche Sensitivitäten gegenüber der PEF-Behandlung festgestellt. Die Inaktivierung von *G. stearothermophilus*-Sporen benötigt den höchsten Energiebedarf im Vergleich zur Inaktivierung von *B. subtilis*- und *A. acidoterrestris*-Sporen. Den größten Einfluss im Bereich Prozessparameter hat die Temperatur. Je höher die Temperatur, auf die das Produkt vor der Behandlung erhitzt wird, umso geringer ist der Energiebedarf für eine erfolgreiche Inaktivierung. Insbesondere bei den Sporen von *A. acidoterrestris* und *G. stearothermophilus* zeigten sich Abhängigkeiten der elektrischen Feldstärke. Optimale Prozessbedingungen für die Inaktivierung sind somit eine möglichst hohe Feldstärke (~ 15 kV/cm) und Eingangstemperatur (~ 80°C), um einen möglichst geringen Energieeintrag für die Inaktivierung zu erreichen.

Als Produktparameter wurden Zucker, Fett und pH Wert untersucht. Auf die Inaktivierung von *B. subtilis* hat Fett keinen Einfluss, wohingegen ein geringerer Energieeintrag für die Inaktivierung von *A. acidoterrestris* und *G. stearothermophilus* im fetthaltigen Medium gezeigt werden konnte. Der Einfluss von Zucker im Produkt ist von den verwendeten Prozessparametern, maßgeblich von der elektrischen Feldstärke, abhängig.

Durch die eingetragene Energie kommt es zu einer Temperaturerhöhung im Produkt, die einen Einfluss auf die Gesamtinaktivierung haben kann. Durch Kombination des Temperatur-Zeit-Profiles des PEF-Prozesses mit den thermischen Inaktivierungskinetiken der jeweiligen Sporenart kann die thermische Inaktivierung des PEF-Prozesses berechnet werden. Bei den Sporenarten *B. subtilis* und *A. acidoterrestris* zeigte sich, dass die Inaktivierung nicht allein durch das elektrische Feld induziert wird. Die Gesamtinaktivierung durch

den Prozess teilt sich in eine PEF-Inaktivierung und eine thermische Inaktivierung, wobei in beiden Fällen bei hohen Inaktivierungsraten der PEF-induzierte Anteil höher ist. Beispielsweise beträgt die PEF-induzierte Inaktivierung von *B. subtilis*-Sporen mit einem Energieeintrag von 195 kJ/kg und einer elektrischen Feldstärke von 9 kV/cm 3,25 log bei einer Gesamtinaktivierung von 4,4 log. Auch die mikroskopischen Aufnahmen zeigen, dass die Inaktivierung aus einem thermischen und einem PEF-induzierten Anteil besteht. Aufnahmen nach einer PEF-Behandlung stellen Sporen mit einer ähnlichen Struktur wie die der thermisch inaktivierten Sporen dar und zusätzlich Sporen mit einer sehr unregelmäßigen Struktur, die weder mit der Struktur der thermisch inaktivierten noch unbehandelten Sporen vergleichbar ist. Das thermische Inaktivierungsverhalten von *G. stearothermophilus* zeigte eine hohe thermische Resistenz, aufgrund derer die thermische Inaktivierung während des PEF-Prozesses sehr gering ist.

Die Untersuchungen zum Einfluss von Prozess- und Produktparametern wurden in einer Modelllösung durchgeführt, um den Einfluss einer variierenden Lebensmittelmatrix zu umgehen. Die im Vorhaben durchgeführten Analysen zur PEF-Behandlung von Hefeextrakt und Karottensaft demonstrieren die Anwendung des entwickelten Prozesses auf Lebensmittel. Es konnte in beiden Fällen eine Inaktivierung der Sporen erreicht werden, die somit dem Produkt die mikrobielle Sicherheit gibt. Ein wichtiger Qualitätsparameter für Hefeextrakt ist die Farbe, die während der Lagerung untersucht wurde. Als Ergebnis zeigten sich keine Unterschiede in der Farbveränderung des thermisch behandelten und des PEF-behandelten Produktes. Auch bei der PEF-Behandlung von Karottensaft konnte eine Sporeninaktivierung erreicht werden. Neben pH-Wert und Brix, die keine Unterschiede durch die Behandlung zeigten, wurden der Geschmack, der Polyphenolgehalt und die antioxidative Kapazität bestimmt. Der Geschmack direkt nach der PEF-Behandlung wurde als leichter Fehlgeschmack beschrieben, der während der Lagerung als deutlich schwächer eingestuft wurde. Im Vergleich zum thermisch behandelten Saft ist der PEF-behandelte Saft als süßer und weniger bitter beschrieben worden.

Die dargestellten Ergebnisse zeigen, dass eine Inaktivierung von bakteriellen Endo-

sporen durch eine PEF-Behandlung in Kombination mit thermischer Energie erreicht werden kann. Die Inaktivierung kann als thermisch unterstützte Methode beschrieben werden, da die Inaktivierung einen thermischen Anteil enthält. Die Untersuchung mit Lebensmittelmatrices verdeutlicht die mögliche industrielle Umsetzung.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Aufgrund des ernährungsphysiologischen Vorteils und des zunehmenden Gesundheitsbewusstseins der Bevölkerung spielen Gemüsesäfte eine immer größere Rolle. So werden jährlich ca. 112 Mio. Liter Gemüsesaft konsumiert.

Die hohe mikrobiologische Ausgangsbelastung der Rohwaren, wie z. B. Karotte oder Tomate, durch Kontamination mit einer Vielzahl im Boden vorkommender Sporenbilder, wie z. B. *Bacillus*, macht eine thermische Sterilisation dieser Produkte unabdingbar. Um die thermische Belastung zu verringern, wurde der Prozess einer kombinierten Anwendung von PEF-Energie und thermischer Energie untersucht.

Die Ergebnisse zeigen eine erfolgreiche Inaktivierung von bakteriellen Endosporen. Der Prozess kann als Alternative zu einer thermischen Sterilisation eingesetzt werden. Als wirtschaftlicher Vorteil zeigen sich geringe Betriebskosten, die Möglichkeit zum kontinuierlichen Betrieb ohne Haltezeiten und die geringere thermische Belastung der Produkte. Wie die Ergebnisse zur Untersuchung des Einflusses von Produktparametern, wie z. B. Fett und Zucker, zeigen, ist eine Inaktivierung durch eine eventuelle Variation des spezifischen Energieeintrages in jedem Fall möglich. Somit kann der Prozess auf eine breite Produktpalette von Hefeextrakt bis hin zu Gemüsesäften angewendet werden. Hervorzuheben sind weiterhin die einfache Implementierbarkeit des Prozesses in den betrieblichen Ablauf sowie die gute Prozesskontrolle. Die Versuche wurden im Pilotmaß-

stab durchgeführt und erlauben somit eine einfache industrielle Umsetzung.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht (2013).
2. Siemer, C., Töpfl, S. und Heinz, V.: Inactivation of *B. subtilis* spores by pulsed electric fields (PEF) in combination with thermal energy. I. Influence of process and product parameters. Food Contr., 39, 163-171 (2014).
3. Siemer, C., Töpfl, S. und Heinz, V.: Inactivation of *B. subtilis* spores by pulsed electric fields (PEF) in combination with thermal energy. II. Modeling thermal inactivation of *B. subtilis* spores during PEF processing in combination with thermal energy. Food Contr. 39, 224-250 (2014).
4. Töpfl, S.: Physikalische Technologien zur Haltbarmachung und Strukturbeeinflussung von Fleischwaren. Tagungsband FEI-Jahrestagung 2011, 31-46 (2011).
5. Siemer, C., Kiessling, M., Hertel, C. und Töpfl, S.: Inaktivierung bakterieller Endosporen. Rundsch. Fleischhyg. Lebensmittelüberw. 6, 198-200 (2011).
6. Siemer, C., Kiessling, M., Hertel, C. und Töpfl, S.: Inaktivierung bakterieller Endosporen durch kombinierte Anwendung gepulster elektrischer Felder und thermischer Energie. Rundsch. Fleischhyg. Lebensmittelüberwach. 1, 1-3 (2010).

Weiteres Informationsmaterial:

Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL)
Prof.-von-Klitzing-Str. 7, 49610 Quakenbrück
Tel.: +49 5431 183-228
Fax: +49 5431 183-200
E-Mail: v.heinz@dil-ev.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: +49 228 3079699-0
Fax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via:

