Entwicklung eines Niedertemperatur-Vakuumtrocknungsverfahrens zur Herstellung von Starterkulturen

Koordinierung: Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn

Forschungsstelle I: Technische Universität München
Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung
Abt. Technologie
Prof. Dr. U. Kulozik/Dr. P. Först

Forschungsstelle II: Technische Universität München
Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW
Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie
Prof. Dr. R. F.Vogel

Industriegruppe: Vereinigung zur Förderung der Milchwissenschaftlichen Forschung an der Technischen Universität München

Projektkoordinator: Dr. D. Gölling, Danisco Deutschland, Niebüll

Laufzeit: 2008 – 2010

Zuwendungssumme: € 346.550,--
(Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

Ausgangssituation:

Starterkulturen werden zur gezielten Fermentation von Lebensmittelrohstoffen eingesetzt, um Fehlfermentationen zu vermeiden und eine reproduzierbare Produktqualität sicherzustellen. Die Verwendung von definierten Starterkulturen ist in der Milchverarbeitung Stand der Technik und löst auch in der Herstellung fermentierter Fleisch- und Backwaren zunehmend traditionelle Verfahren ab. Entscheidend für deren effektive Produktion und Distribution sind schonende Verfahren, die eine hohe Vitalität und Aktivität der Bakterien gewährleisten. Bei Probiotika steht dagegen das Überleben im Produkt oder als Nahrungsergänzungsmittel im Vordergrund.

Das Gefrieren bzw. die Gefriertrocknung gelten bisher zwar als schonende Verfahren für die Präparation von Starterkulturen, jedoch ist der Energiebedarf der bei Produktion bzw. beim Transport sehr hoch. Zudem kann bereits durch das Gefrieren der Zellen eine Schädigung eintreten. Eine deutliche Reduktion der Energiekosten kann durch eine Niedertemperatur-Vakuumtrocknung knapp oberhalb des Tripelpunktes erreicht werden. Gleichzeitig ist es hiermit möglich, sowohl thermische als auch gefrierbedingte Schäden auszuschließen und eine höhere Vitalität und Aktivität zu erreichen. In der Gefriertrocknung verringert ein Einsatz von Schutzstoffen, wie Maltose, Sorbit oder Trehalose, Trocknungsschäden und erhöht die Überlebensfähigkeit der Organismen. Die Fähigkeit des Schutzstoffs, während der Trocknung ein Glas auszubilden, wurde als Schutzmechanismus für gefriergetrocknete Zellen während der Lagerung vorgeschlagen. Der physiologische Ausgangszustand beeinflusst ebenfalls die Überlebensrate. Er kann durch geeignete Wachstumsmedien (C-Quelle) sowie Vorkonditionierungen, wie subletalen Kältestress, gezielt beeinflusst werden, um die Vitalität und metabolische Aktivität zu verbessern. Zum Einsatz der Vakuumtrocknung bei der Herstellung von Starterkulturen gibt es bisher nur sehr vereinzelte Untersuchungen, die keine Informationen zum Einfluss der Prozessbedinungen, den Auswirkungen auf die Physiologie der Mikroorganismen oder die Wirkung von Schutzstoffen liefern. Eine industrielle Nutzung dieser Methode in der Starterkulturpräparation ist deswegen bisher nicht möglich.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, die

Vakuumtrocknung für die Herstellung von Starterorganismen und probiotischen Kulturen nutzbar zu machen und durch eine geeignete Anzucht, Vorkonditionierung, Prozessführung sowie durch Schutzstoffzugabe eine hohe Überlebensrate sowie Lagerstabilität der Kulturen zu erreichen. Durch schonende Prozessführung sollte Energie gespart, die Überlebensrate, Revitalisierung und Performance bekannter Starterorganismen durch Feststellen der dafür optimalen Prozessbedingungen möglichst verbessert und die Nutzung neuer Stämme ermöglicht werden.

Forschungsergebnis:

Im Rahmen des Projekts wurden zunächst 6 Organismen ausgewählt, deren Trocknungsresistenz dann in einer standardisierten Gefriertrocknung vergleichend untersucht wurden. Mithilfe dieser Information ließen sich drei Stämme mit möglichst unterschiedlicher Trocknungsresistenz (hoch, mittel, niedrig) identifizieren. Die weiterführenden Untersuchungen wurden nur an diesen drei Stämmen durchgeführt. Anschließend wurde der Einfluss der Anzucht, Vorkonditionierung und der Prozessparameter ohne Schutzstoffe für die drei ausgewählten Stämme ermittelt. Dies führt zur Kenntnis der optimalen Trocknungsparameter hinsichtlich der Prozessführung und Vorkonditionierung bzw. der Auswirkung der Trocknung auf den physiologischen Zellzustand. Darauf aufbauend wurde der Einfluss von Schutzstoffen auf den Trocknungsverlauf und auf die Vitalität und Zellintegrität bestimmt. Die dann vorliegenden Ergebnisse dienten als Grundlage dazu, einen Trocknungsprozess für die sich anschließenden Lagerversuche identifizieren zu können, der zu einer hohen Keimzahl führt. Die Lagerversuche sollten die Lagerstabilität niedertemperaturvakuumgetrockneter im Vergleich zu gefriergetrockneten Zellen aufzeigen. Als abschließende Untersuchungen wurden an den beiden Forschungsstellen die konkreten Eckdaten aus verfahrenstechnischen, mikrobiologischen und physiologischen Parameterkombinationen ermittelt und zusammengefasst, um das Potenzial der Vakuumtrocknung im Vergleich zur standardisierten Gefriertrocknung erkennen zu können.

Die Untersuchungen der Trocknungsresistenz in einer standardisierten Gefriertrocknung zeigten, dass große stammspezifische Unterschiede hinsichtlich der Überlebensrate bestehen. Als besonders labil wurde *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* identifiziert. Besonders stabil dagegen zeigte sich *B. lacits* Bb12. Als moderat stabiler Stamm wurde für die weiteren Untersuchungen *Lb. paracasei ssp. paracasei* F19 verwendet. Die Überlebensrate nach der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung wird für alle untersuchten Stämme sehr stark durch die Prozessbedingungen beeinflusst. Der Prozesseinfluss lässt sich für *Lb. paracasei* F19 zu einem Teil durch die maximale Produkttemperatur erklären, zum anderen aber auch durch den nach der Trocknung vorliegenden Restwassergehalt. Für die beiden anderen Stämme sind hinsichtlich der festgestellten Unterschiede allerdings noch Fragen über den Haupteinfluss offen. So wurde zwar für die Überlebensrate von *B. lactis* Bb12-Präparationen eine Abhängigkeit vom Restwassergehalt festgestellt. Diese Abhängigkeit konnte allerdings nicht alle Unterschiede erklären. Eine empirische Optimierung ist allerdings mit den gewonnenen Daten in allen Fällen möglich. Es konnte darüber hinaus auch eine Steigerung der Überlebensrate durch die Zugabe von Schutzstoffen erreicht werden. Hinsichtlich der Lagerstabilität der Präparationen konnte festgestellt werden, dass die Inaktivierungsgeschwindigkeit bei 37 °C Lagertemperatur grundsätzlich höher ist als bei 4 °C. Im Falle von 37 °C Lagertemperatur fällt auf, dass eine höhere Lagerfeuchte (aw = 0,3) zu schnellerem Absterben führt als dies bei einer niedrigeren Lagerfeuchte (aw = 0,1) der Fall ist. Ein Einfluss der verwendeten Schutzstoffe konnte nur für Maltose beim Einsatz in *Lb. paracasei* F19-Präparationen nachgewiesen werden. Beim Vergleich der Lagerstabilität von niedertemperaturvakuumgetrockneten und gefriergetrockneten Proben zeigte sich, dass die vakuumgetrockneten Präparationen in allen Fällen stabiler sind.

Durch Verfahren zur Bestimmung der Membranphase und -integrität, der Aktivität einzelner Proteine und der Zellvitalität, gezeigt am Beispiel von frischen und gefriergetrockneten, rehydrierten Zellen von *Lb. paracasei ssp. paracasei*, konnten die Haupteinflussgrößen, die die Anwendbarkeit von getrockneten Starterkulturen bestimmen, herausgearbeitet werden. Beim Vergleich der physiologischen Parameter von frischen und gefriergetrockneten rehydrierten Bakterien zeigten sich deutliche, messbare Unterschiede, wobei die Integrität als auch die Fettsäurezusammensetzung der zytoplasmatischen Membran als Schlüsselparameter für die Überlebensfähigkeit nach der Rehydrierung angesehen werden kann. Des Weiteren zeigte die fluoreszenzoptische Bestimmung der Zellvitalität eine gute Übereinstimmung mit der an der For-

schungsstelle 1 durchgeführten Bestimmung der Überlebensrate, wobei fluoreszenzoptisch der Verlauf der Regeneration der getrockneten Bakterien während der ersten Stunden nach der Rehydrierung aufgezeichnet wurde. Die etablierten Methoden zur Bestimmung der Zellvitalität, -integrität und -funktionalität zeigten, dass die gefriergetrockneten Proben eine jeweils geringfügig höhere Aktivität/Integrität (z.B. Proteinaktivität, metabolische Aktivität, Beginn der Säuerung in Fermentationen, Zellmembranintegrität) im Vergleich zu den vakuumgetrockneten Zellen aufwiesen. Jedoch setzte sich die erhöhte Aktivität/Integrität der gefriergetrockneten Proben nicht in reproduzierbare bessere Fermentationsergebnisse um. Es zeigte sich, dass in diesem Zusammenhang die vakuumgetrockneten Proben zwar nicht die maximal erreichte Fermentationsperformance einzelner gefriergetrockneten Proben aufwiesen, jedoch praktisch in allen durchgeführten Tests die reproduzierbareren Ergebnisse lieferten. Die Zuverlässigkeit der Starterkulturperformance von vakuumgetrockneten Proben konnte somit als entscheidender Vorteil des Verfahrens gegenüber der konventionellen Gefriertrocknung herausgearbeitet werden. Durch die erhöhte Lagerstabilität weist die Vakuumtrocknung bei allen untersuchten Stämmen Vorteile gegenüber der Gefriertrocknung auf.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Die angestrebten Forschungsergebnisse können insbesondere von Kulturenherstellern, d.h. von Produzenten von Starterkulturen und probiotischen Kulturen, und deren Abnehmern in der Molkereiwirtschaft, der Fleischwaren- und Backmittelindustrie sowie in der Biotechnologie, genutzt werden. Der größte Abnehmer von Starterkulturen und Probiotika ist derzeit die milchverarbeitende Industrie, die mit einem Jahresumsatz von ca. 20 Mrd. € den größten Wirtschaftszweig der Lebensmittelindustrie darstellt. Fermentierte Milchprodukte, die fast ausnahmslos unter Verwendung von Starterkulturen und zunehmend mit Probiotika hergestellt werden, tragen mit insgesamt ca. 4 Mio t p.a. überproportional zur Wertschöpfung bei. Zur Herstellung dieser fermentierten Milchprodukte werden in Deutschland schätzungsweise mehrere 100 t Starterkulturen eingesetzt.

Die im Rahmen des vorliegenden Projektes gefundenen Ergebnisse zeigen, dass die Nutzung der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung eine ökonomisch und ökologisch sinnvolle Alternative zur Gefriertrocknung darstellt, da die Überlebensraten z.T. höher als bei der Gefriertrocknung sind und die Lagerstabilität der niedertemperaturvakuumgetrockneten Zellen in allen Fällen höher als die der gefriergetrockneten ist. Die Implementierung dieser Konservierungstechnik lässt daher erwarten, dass die Produktion von Kulturpräparaten günstiger und effizienter wird und auch bisher nicht-präparierbare Kulturen der Präparation zugänglich werden. Von derartigen Einsparungen könnten Kulturenhersteller aber auch die verarbeitenden Betriebe der Milch-, Fleischwaren- und Backmittelindustrie profitieren. Darüber hinaus zeigen die Ergebnisse, dass im Falle von trocknungslabilen Bakterienstämmen, wie am Beispiel von *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* gezeigt, eine kommerzielle Nutzung als definiertes Trockenprodukt mit dem Verfahren der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung erst möglich wird. Die Umsetzung der Ergebnisse in die industrielle Praxis ist allerdings nur mit Neuinvestitionen im Bereich der Niedertemperatur-Vakuumtechnik möglich.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2010.
2. Bauer, S. A. W., Schneider, S., Kulozik, U. und Först, P.: Einfluss der Prozessbedingungen und des Fermentations-pH auf das Trocknungsergebnis der Niedertemperatur-Vakuumtrocknung von Starter- und probiotischen Bakterienkulturen. Chem. Ing. Tech., 82 (9), 1496-1497 (2010).
3. Bauer, S. A. W., Kulozik, U. und Först, P.: Influence of process conditions and protectants on the survival and residual water content of starter and probiotic cultures in low-temperature vacuum drying. Proc. 17th Intern. Drying Symp., Magdeburg, Germany, 2214-2220 (2010).
4. Bauer, S. A. W., Schneider, S., Kulozik, U. und Först, P.: Influence of process conditions and fermentation pH on the drying result of starter and probiotic cultures in the low-temperature vacuum drying. J. Biotechnol. 150, 61-62 (2010).

Der Schlussbericht ist für die interessierte Öffentlichkeit bei den Forschungsstellen abzurufen.

Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität München
Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung, Abt. Technologie
Weihenstephaner Berg 1
85350 Freising-Weihenstephan
Tel.: 08161/71-3535, Fax: 08161/71-4384
E-Mail: ulrich.kulozik@wzw.tum.de

Technische Universität München
Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW
Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie
Weihenstephaner Steig 16
85350 Freising-Weihenstephan
Tel.: 08161/71-51 69, Fax: 08161/71-33 27
E-Mail: Rudi.Vogel@wzw.tum.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150
E-Mail: fei@fei-bonn.de

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

gefördert durch/via:

Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie

AiF Ideen eine Zukunft geben

FEI Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V.

Das o.g. IGF-Vorhaben der Forschungsvereinigung Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.