

Zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego wysokiej intensywności do pasteryzacji płynnych produktów żywnościowych

*Bożena Szpryngiel
Zdzisław Targoński*

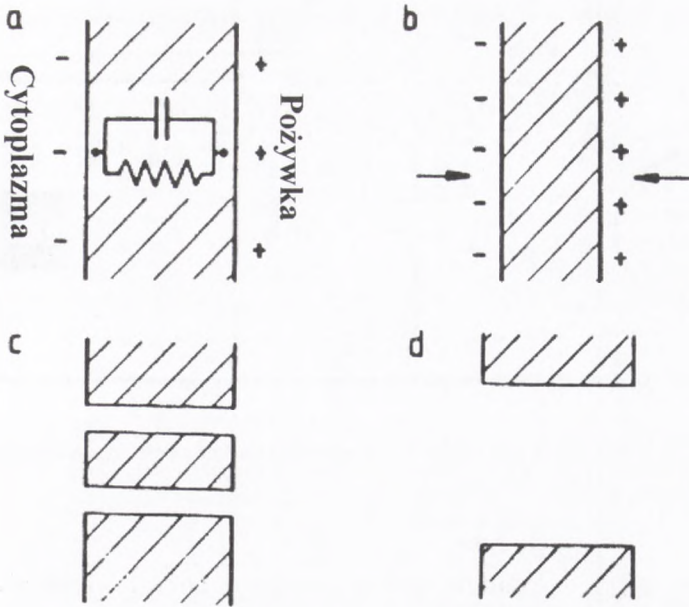
Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowalnictwa
Lublin

1. Wstęp

Obrobka żywności pulsacyjnym polem elektrycznym wysokiej intensywności (ang. PEF) jest nową technologią niszczenia drobnoustrojów i enzymów. Proces ten przebiega z nieznacznym wzrostem temperatury produktu. Inaktywacja mikroorganizmów jest wywołana prawdopodobnie przez zmiany w półprzepuszczalnych błonach komórkowych. PEF stanowi alternatywę dla konwencjonalnych, termicznych metod pasteryzacji, gdzie inaktywacja drobnoustrojów wiąże się ze zmianami we właściwościach sensorycznych i z obniżeniem wartości odżywczej żywności.

2. Mechanizm inaktywacji pulsacyjnym polem elektrycznym

Inaktywacja mikroorganizmów wywołana pulsacyjnym polem elektrycznym PEF jest wynikiem zjawiska związanego z kształtowaniem się porów w tłuszczach lub białkach błony komórkowej, zwanego elektroporacją (1). Mechanizm elektroporacji nie jest do końca poznany. Najpowszechniej przyjęty model, określany jako elektromechaniczne sprężenie błony komórkowej, został zaproponowany przez Zimmermana (1986) (cyt. za 2). W wyniku zastosowania pola elektrycznego na zewnętrznej i wewnętrznej powierzchni błony komórkowej indukowane są ładunki o przeciwnych znakach, które przyciągając się, wywołują podwyższenie ciśnienia wewnątrz komórki. Kiedy potencjał transmembrany osiągnie wartość krytyczną ($\sim 1V$), przyciąganie się ładunków powoduje kształtowanie się porów w błonie komórkowej (2). W wyniku tworzenia się porów bariera przepuszczalności błony komórkowej zostaje częściowo lub całkowicie uszkodzona. Potencjał krytyczny transmembrany, a w konsekwencji krytyczna moc zewnętrznego pola elektrycznego, zależy od

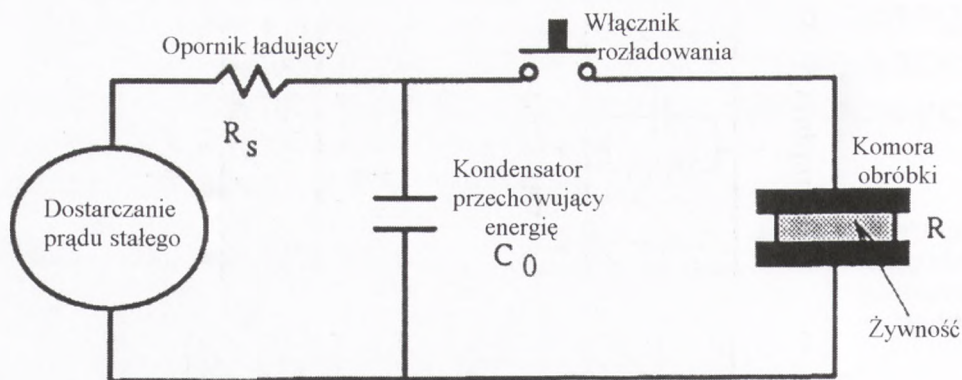


Rys. 1. Przedstawiono odwracalne i nieodwracalne zniszczenie komórki: a) ściana komórkowa o potencjale V_m ; b) ściśnięcie ściany; c) tworzenie się porów, zniszczenie odwracalne; d) tworzą się duże pory, zniszczenie nieodwracalne (wg Zimmermana) (za 5).

kształtu i średnicy komórki. Przepuszczalność błony może wzrosnąć do takiego poziomu, że możliwe jest wniknięcie do komórki pozakomórkowych cząsteczek, np. DNA. Po ustaniu działania pola elektrycznego następuje uszczelnienie porów i komórki zachowują obce DNA, ulegając w ten sposób transformacji. Zjawisko to wykorzystuje się w inżynierii genetycznej do otrzymania transformantów. Jednakże kiedy krytyczna moc pola elektrycznego jest znacznie przekroczona, wytworzenie porów staje się zjawiskiem nieodwracalnym i prowadzi do zniszczenia komórki (3,4). Zniszczenie błony komórkowej tą metodą jest przedstawione schematycznie na rysunku 1 (5).

3. Wytwarzanie impulsów wysokiego napięcia

Żywność w stanie płynnym jest elektrycznym przewodnikiem w wyniku obecności dużego stężenia jonów, które są nośnikami ładunków elektrycznych. Do wytworzenia pulsacyjnego pola elektrycznego o wysokim napięciu w komorze obróbki wykorzystuje się duży strumień prądu płynący w ciągu bardzo krótkiego czasu (μs). Odstęp pomiędzy impulsami jest znacznie dłuższy niż czas trwania impulsu. Zatem wytwarzanie impulsów polega na po-



Rys. 2. Schemat wytwarzania impulsów zanikających wykładniczo (8).

wolnym ładowaniu i szybkim rozładowywaniem energii elektrycznej przechowywanej w kondensatorze (6,7).

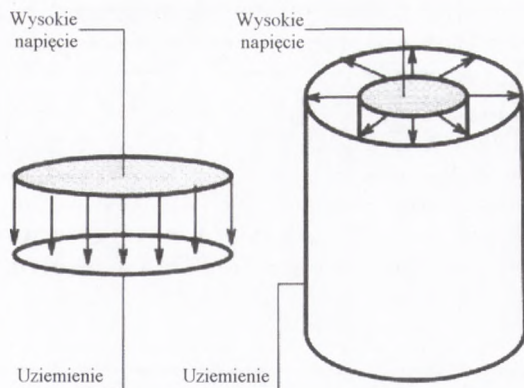
Impulsy elektryczne zanikające wykładniczo można wytworzyć przez rozładowywanie kondensatora w komorze zawierającej żywność. Uproszczony schemat wytwarzania takich impulsów przedstawiono na rysunku 2 (8).

4. Komory do obróbki

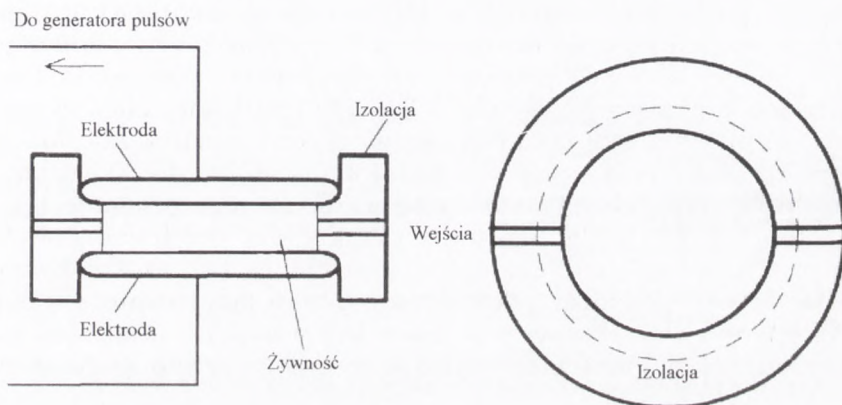
Komora do obróbki, w której umieszcza się żywność, składa się z dwóch elektrod, stanowiących wraz z materiałem izolującym ściany komory. Hofmann (1989) rozważał różne ustawienia elektrod: równoległe płytki, równoległe druty i współosiowe cylindry (cyt. za 7). Dwa rodzaje elektrod przedstawiono na rysunku 3 (9). Najbardziej praktyczne są równoległe płytki, które wytwarzają pole elektryczne jednakowej mocy na dużej powierzchni użytkowej. Natomiast współosiowe cylindry umożliwiają spokojny i jednakowy przepływ produktu, przez co są atrakcyjne dla zastosowania w przemyśle (7).

Przy projektowaniu komory do obróbki należy brać pod uwagę przedstawione warunki:

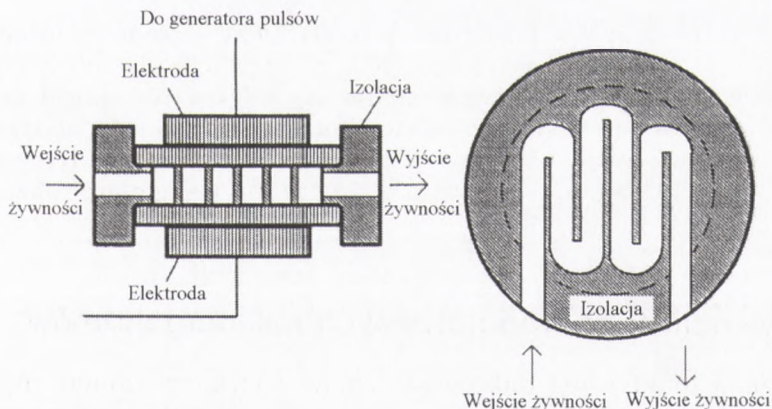
- materiał, z którego jest wykonana komora, musi być łatwy do wymycia i możliwy do sterylizacji. Jako materiału izolacyjnego zaleca się użycie polisulfonu, zaś na elektrody — stali nierdzewnej;
- ponieważ pęcherzyki gazowe mogą przyczynić się do dielektrycznego zniszczenia żywności, przed napełnianiem komory należy usunąć z produktu pęcherzyki powietrzne;
- komorę należy zabezpieczyć przed lokalnym wzmocnieniem pola elektrycznego, które powoduje dielektryczne zniszczenie płynnej żywności;
- przy wysokiej częstotliwości impulsów konieczne jest chłodzenie ele-



Rys. 3. Przykładowe ułożenia elektrod: dwie równoległe płytki i dwa współosiowe walce (9).



Rys. 4. Uproszczony schemat komory statycznej obróbki (6).



Rys. 5. Schematyczny rysunek komory obróbki z ciągłym przepływem żywności (8).

ktrod dla utrzymania niskiej temperatury procesu. Zazwyczaj chłodzenie uzyskuje się poprzez obieg zimnej wody w płaszczu wbudowanym w elektrody;

- niebezpieczne jest zbyt szczelne zamknięcie komory. Konieczne jest zastosowanie zaworów bezpieczeństwa, reagującego na wysokie ciśnienie w komorze, gdyż wzrost ciśnienia w wyniku dielektrycznego zniszczenia żywności może doprowadzić do rozerwania komory (10,11).

Na rysunku 4 (6) przedstawiono komorę obróbki w procesie okresowym, zaś na rysunku 5 (8) pokazano komorę obróbki z ciągłym przepływem żywności.

5. Inaktywacja przetrwalników

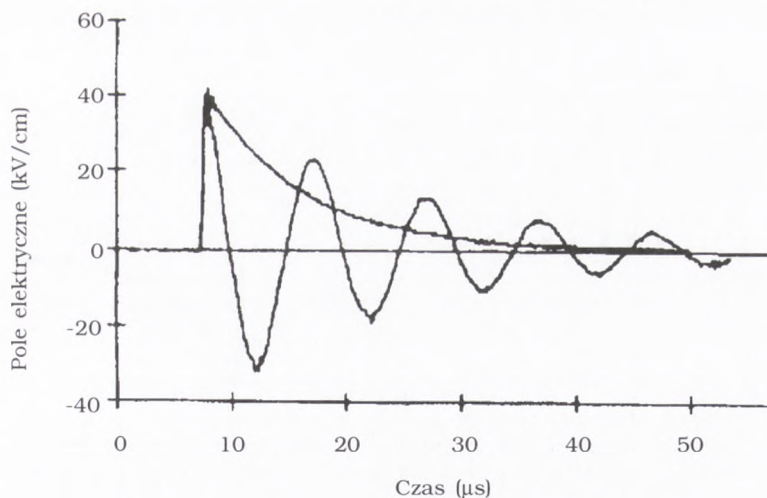
Przetrwalniki (zarówno endospory jak i askospory) są odporne na działanie impulsowego pola elektrycznego, a proces ten nie stymuluje ich kiełkowania. W celu pasteryzacji produktów, zawierających formy przetrwalnikujące metodą PEF, należy wstępnie pobudzić ich kiełkowanie poprzez zastosowanie innych metod (np. stosując wysokie ciśnienie hydrostatyczne, wysoką temperaturę lub ultradźwięki) (12). Podczas gdy spory komórek *Bacillus* sp. były odporne na działanie pola elektrycznego o intensywności do 30 kV/cm, formy wegetatywne z nich powstające były wrażliwe na jego działanie (1). Sakurauchi i Kongo (1980) badali możliwości inaktywacji przetrwalników *Bacillus subtilis*. Zaobserwowali oni, że przetrwalniki mogą być inaktywowane przy długim czasie obróbki (kilka sekund) przy użyciu kondensatora o dużej pojemności oporowej. Ta inaktywacja może być wywołana bezpośrednio przez efekt bakteriobójczy produktów elektrolizy, powstających podczas obróbki elektrycznej (cyt. za 13).

6. Inaktywacja enzymów

Przy zastosowaniu 50 impulsów w polu elektrycznym o intensywności pola 30 kV/cm przy 16°C osiągnięto 90% inaktywację plazminy. Podwyższenie intensywności pola elektrycznego do 45 kV/cm nie dawało znaczącego wzrostu inaktywacji (14). Aktywność fosfatazy alkalicznej pochodzącej z mleka była zredukowana do 65% po 70 impulsach w polu elektrycznym o intensywności 22 kV/cm w temperaturze 22°C (10). Osiągnięto także redukcję aktywności lipazy mleka (5).

7. Inaktywacja form wegetatywnych mikroorganizmów

Na poziom inaktywacji mikroorganizmów z wykorzystaniem metody PEF mają wpływ następujące parametry: intensywność pola elektrycznego, czas obróbki (okres pulsacji x liczba impulsów), kształt fali impulsacyjnej, kształt



Rys. 6. Impulsy zanikające wykładniczo i oscylacyjnie (11).

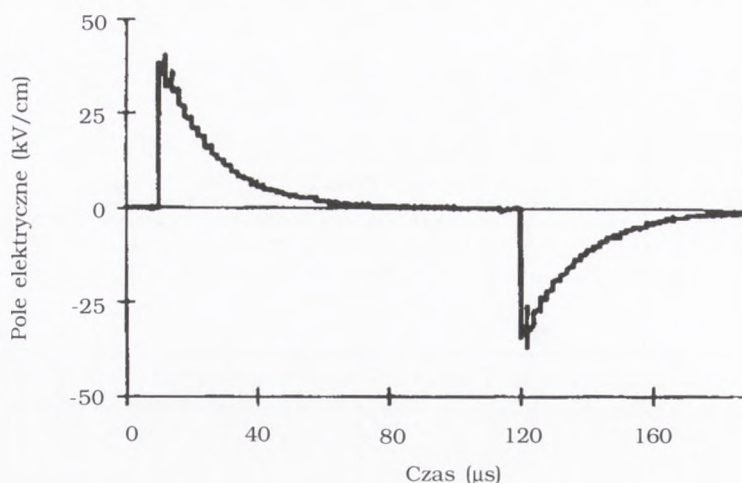
i rozmiar komórek, początkowe stężenie komórek w żywności oraz stan wzrostu komórek (10,15).

7.1. Intensywność pola elektrycznego i czas obróbki

Wielkość pola elektrycznego jest jednym z ważniejszych czynników wpływających na inaktywację mikroorganizmów. Jeżeli pozostałe warunki obróbki pozostają niezmiennie, podwyższona intensywność pola elektrycznego zwiększa poziom niszczenia drobnoustrojów. Taki sam efekt daje zwiększenie ilości zastosowanych impulsów, czyli im dłuższy czas obróbki, tym więcej mikroorganizmów jest niszczonych (10).

7.2. Zastosowany kształt fali impulsacyjnej

Poddawanie soku jabłkowego działaniu impulsów o fali prostokątnej dało o 60% wyższy poziom śmiertelności komórek *S. cerevisiae* niż przy zastosowaniu impulsów o fali zanikającej wykładniczo. Porównując skuteczność inaktywacji komórek *E. coli* przy działaniu fali impulsacyjnej zanikającej zarówno oscylacyjnie jak wykładniczo, efektywniejszy był drugi sposób (rys. 6). Jeszcze większą skuteczność inaktywacji komórek *E. coli* osiągnięto, gdy zastosowano impulsację dwubiegunową z wykładniczo zanikającymi impulsami (rys. 7). Dodatkowo przyczyniała się ona do zminimalizowania niepożądanego elektrolizy żywności w stanie płynnym oraz do zredukowania odkładania się cząstek ciał stałych na elektrodach o więcej niż 80% (11).



Rys. 7. Impulsy dwubiegunowe zanikające wyklaniczo (11).

7.3. Kształt i wielkość komórki

Wykazano, że komórki o dużych średnicach, np. komórki drożdży, są zabijane przy niższej mocy pola elektrycznego, niż komórki o małej średnicy (typowe dla bakterii) (2). Dla określonych warunków obróbki metodą PEF wywołane napięcie w błonie komórkowej jest proporcjonalne do rozmiaru badanej komórki. Hülsheger i wsp. (1981) wyprowadzili równanie określające przeżywalność mikroorganizmów (S), wyrażoną jako stosunek liczby komórek zdolnych do życia po obróbce do liczby komórek zdolnych do życia przed obróbką przy zastosowaniu pola o intensywności E i czasie obróbki (liczba impulsów \times okres pulsacji) t :

$$S = \left(\frac{t}{t_c} \right)^{-\frac{(E-E_c)}{b}}$$

gdzie t_c jest krytyczną wartością czasu obróbki, E_c jest krytyczną wartością intensywności pola, zaś b stałą określoną przez specyfikę mikroorganizmu (cyt. za 16).

7.4. Początkowe stężenie mikroorganizmów w żywności

Zhang i wsp. (1994) wykazali, że doświadczenia przeprowadzone na próbkach zawierających początkowo 1×10^5 cfu/ml komórek *S. cerevisiae* dały wyższy poziom inaktywacji, niż badania nad próbkami o początkowym stężeniu 1×10^7 cfu/ml. Wynikało z tego, że poziom inaktywacji *S. cerevisiae* był także zależny od początkowego stężenia mikroorganizmu. Jednakże takiej

zależności nie znaleziono w przypadku komórek *E. coli*, gdzie niższe początkowe stężenie komórek nie podnosiło poziomu inaktywacji (7).

7.5. Faza wzrostu komórek

W badaniach Jacoba i wsp. (1981) komórki *Saccharomyces cerevisiae* w fazie logarytmicznej były bardziej wrażliwe na działanie PEF niż komórki w fazie stacjonarnej (cyt. za 15). Komórki w środkowej fazie logarytmicznej były bardziej podatne na elektroporację w porównaniu z komórkami we wczesnej lub późnej fazie wykładnikowej (17).

Warunki inaktywacji mikroorganizmów i jej wyniki uzyskane przez różnych naukowców przedstawiono w tabeli 1.

8. Podsumowanie

Zastosowanie technologii impulsowego pola elektrycznego o wysokim natężeniu, jak się wydaje, jest możliwe w obróbce żywności w stanie płynnym. Temperatura żywności w czasie procesu może być utrzymywana poniżej temperatur w tradycyjnych metodach termicznych obróbki. Dzięki temu składniki wrażliwe na ciepło, takie jak białka i witaminy, nie są uszkodzane przez zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego. Dlatego też metoda PEF może być zaliczana do nietermicznych metod obróbki żywności. Wadą tej metody jest to, że przy jej zastosowaniu nie można inaktywować przetrwalników. Można to rozwiązać poprzez zastosowanie kombinacji różnych procesów, gdzie pulsacyjne pole elektryczne dawałoby główny efekt pasteryzacyjny.

TABELA 1
ZESTAWIENIE WYNIKÓW UZYSKANYCH PODCZAS INAKTYWACJI MIKROORGANIZMÓW I ENZYMÓW
PULSUJĄCYM POLEM ELEKTRYCZNYM (1,4,14,15,18,19,21).

Mikroorganizm (enzym)	Pożywka	Poziom inaktywacji	Temperatura (°C)	Intensywność pola elektrycznego (kV/cm)	Czas obróbki (μs)	Liczba pulsów	Literatura
<i>E. coli</i>	1% roztwór NaCl	2 log		19,5			Hamilton i Sale, 1967
<i>S. aureus</i>	bufor fosforanowy (20 mM)	2 log		27,5			Hamilton i Sale, 1967
<i>E. coli</i>	bufor fosforanowy	4 log	20	20	1,08	30	Hülshöger i wsp., 1983
<i>S. cerevisiae</i>	1% roztwór NaCl	3 log		17		780	Mizuno i Horii, 1988
<i>S. typhimurium</i>	roztwór NaCl	5 log		83		20	Gupta i Murray, 1988
<i>P. fragi</i>	mleko	5 log		90		5	Gupta i Murray, 1988
<i>S. cerevisiae</i>	bufor fosforanowy	5 log		30			Matsumoto i wsp., 1991
<i>E. coli</i>	bufor fosforanowy	5 log		40			Matsumoto i wsp., 1991
<i>L. brevis</i>	bufor fosforanowy (0,845/0,186 mM)	4 log	24	16	3200	40	Jayaram i wsp., 1992
<i>L. brevis</i>	bufor fosforanowy (0,845/0,186 mM)	9 log	60	25	9200	200	Jayaram i wsp., 1992
<i>E. coli</i>	mleko	3 log		22	200	5	Ghral i wsp., 1993
<i>S. cerevisiae</i>	agar, dekstroza ziemniaczana	5-6 log	15	40	48	16	Zhang i wsp., 1994
<i>E. coli, S. aureus</i>	agar, dekstroza ziemniaczana	5-6 log	15	40	192	64	Zhang i wsp., 1994
<i>B. subtilis</i>	SMUF*	4-5 log	pokojuwa	16	12 500		Qin i wsp., 1995
<i>L. delbrueckii</i>	SMUF*	4-5 log	pokojuwa	16	10 000		Qin i wsp., 1995
<i>E. coli</i>		4-5 log		16			Pothakamury i wsp., 1995
<i>S. aureus</i>		3-4 log		16			Pothakamury i wsp., 1995
plazmina mleka	SMUF*	90%	15	30 i 45		50	Vega-Mercado i wsp., 1995
<i>E. coli</i>	SMUF*	9 log	20	70	160	80	Zhang i wsp., 1995
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	sok jabłkowy	$z 8 \times 10^7$ do 4×10^4 cfu/ml		40		64	Harrison i wsp., 1997
<i>E. coli</i>	śmietana	2 log		25	45	25	Martin i wsp., 1997

* SMUF — substytut ultrafiltratu mleka

Literatura

1. Pothakamury U. R., Monsalve-González A., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1995), *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.*, 35(1), 101-107.
2. Grahl T., Märkl, (1996), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 45, 148-157.
3. Mertens B., Knorr D., (1992), *Food Technol.*, 46(5), 124-133.
4. Pothakamury U. R., Monsalve-González A., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1995), *Food Res. Int.*, 28(2), 167-171.
5. Castro A. J., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1993), *J. Food Proc. Pres.*, 17, 47-73.
6. Martín O., Zhang Q., Castro A. J., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1994), *Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Aliment.*, 34(1), 1-34.
7. Zhang Q., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1995), *J. Food Engineering*, 25, 261-281.
8. Qin B. L., Vega-Mercado H., Pothakamury U. R., Barbosa-Cánovas G. V., (1995), *J. Franklin Institute*, 332A, 209-220.
9. Qin B. L., Zhang Q., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., Pedrow P. D., (1995), *Trans. ASAE*, 38(2), 557-565.
10. Qin B. L., Pothakamury U. R., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1996), *Critical Rev. Food Sci. Nutrit.*, 36(6), 603-627.
11. Qin B. L., Zhang Q., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., Pedrow P. D., (1994), *IEEE Trans. Dielec. Elec. Insulation*, 1(6), 1047-1057.
12. Knorr D., Geulen M., Grahl T., Sitzmann W., (1994), *Trends Food Sci. Technol.*, 5, 71-75.
13. Qin B. L., Pothakamury U. R., Vega H., Martín O., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1995), *Food Technol.*, 49(12), 55-60.
14. Vega-Mercado H., Powers J. R., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1995), *J. Food Sci.*, 5, 1143-1146.
15. Zhang Q., Monsalve-González A., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1994), *American Society Agricultural Engineers*, 37(2), 581-587.
16. Qin B. L., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., Pedrow P. D., Olsen R. G., (1998), *IEEE Trans. Ind. Applicat.*, 37(1), 43-50.
17. Prasanna G. L., Panda T., (1997), *Bioproc. Engineering*, 16, 261-264.
18. Zhang Q., Qin B. L., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1994), *J. Food Proc. Pres.*, 19, 103-118.
19. Qin B. L., Vega-Mercado H., Pothakamury U. R., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1995), *J. Franklin Institute*, 332A, 209-220.
20. Harrison S. L., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1997), *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 30, 236-240.
21. Martín O., Qin B. L., Chang F. J., Barbosa-Cánovas G. V., Swanson B. G., (1997), *J. Food Process Engineering*, 20, 317-336.

Pasteurization of liquid food products using high-intensity pulsed electric field**Summary**

Food processing using high-intensity pulsed electric fields (PEF) is a new technology to inactivate microorganisms and enzymes. There is only a small increase in food temperature during that process. Inactivation is probably caused by changes in the semipermeable barrier of the cell membrane. High-intensity PEF provides an alternative to conventional thermal methods, where the inactivation of microorganisms implies the loss of valuable nutrients and faste quality.

Key words:

food preservation, nonthermal pasteurization, microbial inactivation, pulsed electric fields.

Adres do korespondencji:

Zdzisław Targoński, Katedra Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego i Przechowywania, Akademia Rolnicza, ul. Skromna 8, 20-950 Lublin.