

## Einsatz gepulster elektrischer Felder zur Herstellung von Apfelsäften im Hinblick auf Zellaufschluss, Konservierung, Tresterverwertung und Konformität der Säfte

<b>Koordinierung:</b>	Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn
<b>Forschungsstelle I:</b>	Technische Universität Berlin Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, FG Lebensmittelbiotechnologie und -prozessertechnik Prof. Dr. D. Knorr/Dipl.-Ing. H. Jäger
<b>Forschungsstelle II:</b>	Universität Hohenheim Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, FG Lebensmittel pflanzlicher Herkunft Prof. Dr. Dr. R. Carle/PD Dr. A. Schieber/Dr. S. Neidhart
<b>Forschungsstelle III:</b>	Forschungsanstalt Geisenheim Institut für Oenologie und Getränkeforschung, FG Weinanalytik und Getränkeforschung Prof. Dr. H. Dietrich
<b>Industriegruppen:</b>	Verband der Deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V., Bonn VDMA Fachverband Nahrungsmittel- und Verpackungsmaschinen, Frankfurt Forschungskuratorium Maschinenbau e.V., Frankfurt
	Projektkoordinator: Dipl.-Ing. H. M. Dechent, Eckes-Granini GmbH & Co. KG, Nieder-Olm
<b>Laufzeit:</b>	2005 – 2007
<b>Zuwendungssumme:</b>	€ 437.350,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI)

### Ausgangssituation:

Die Herstellung qualitativ hochwertiger Apfelsäfte erfordert als ersten bedeutsamen Schritt eine an die nachfolgende Fest-Flüssig-Trennung angepasste Zerkleinerungs- und Zellaufschlussmethode. Die bisher angewandten mechanischen bzw. nach vorheriger Vorzerkleinerung thermischen oder enzymatischen Zellaufschlussverfahren benötigen viel Energie bzw. führen neben den Enzymkosten zu verlängerten Standzeiten und damit schlechter Ausnutzung der Produktionskapazität. Abbaureaktionen, unerwünschte enzymatische Nebenreaktionen und Oxidationen bewirken dabei eine Verminderung des ernährungsphysiologischen und sensorischen Werts. Zudem sind die anfallenden Trester aufgrund der enzymatischen Schädigung

nicht mehr zur Gewinnung von hochwertigen, hochveresterten Pektinen einsetzbar.

Gegenstand des Forschungsvorhabens war es, mittels Anwendung gepulster elektrischer Felder ein neues technologisches Prozesskonzept zu entwickeln. Grundlage der Wirkweise dieser Technologie ist die Elektropermeabilisierung biologischer Membranen durch ein externes, gepulstes elektrisches Feld (PEF). In Abhängigkeit von der Behandlungsintensität kann das Verfahren für unterschiedliche Anwendungen im Bereich der Lebensmittel- und Biotechnologie eingesetzt werden. Eine reversible Porenbildung induziert Stressreaktionen und damit die Bildung von Sekundärmetaboliten, eine irreversible Zerstörung der Zellmembran kann zur Verbesserung von Stofftransportprozessen eingesetzt werden.

Der irreversible Verlust der Semipermeabilität der Membran führt gleichzeitig zu einem Verlust der Vitalität von Zellen und damit zu einer nicht-thermischen Inaktivierung von Mikroorganismen. Die Anwendbarkeit PEF sowohl zur Erhöhung der Saftausbeute als auch zur Konservierung flüssiger Medien wurde bereits in zahlreichen Studien bestätigt, eine industrielle Anwendung steht jedoch aufgrund der hohen Betriebskosten bei ungünstiger Prozessgestaltung noch aus. Unberücksichtigt blieben v.a. auch die Wechselwirkungen zwischen Produkt und Technologie. Die Dekompartimentierung der Zellen führt, insbesondere bei unvollständiger Inaktivierung der nativen Enzyme durch die gepulsten elektrischen Felder, zu vielfältigen Reaktionen der Zellinhaltsstoffe, die Qualität und Zusammensetzung der Produkte stark beeinflussen. Auch vor dem Hintergrund der Fragestellung „Novel-Food“ ist die Sicherstellung der Konformität mit dem AIJN Code of Practice von ausschlaggebender Bedeutung.

Ziele des Forschungsvorhabens waren 1. die Realisierung einer Anlage zur nachhaltigen Saftgewinnung durch Zellaufschluss mittels gepulster elektrischer Felder mit anschließender Charakterisierung des aus den Treestern extrahierbaren Pektins sowie die Ermittlung der Konformität der Apfelsäfte mit konventionell erzeugten Produkten; 2. der Einsatz gepulster elektrischer Felder als Konservierungsverfahren unter Berücksichtigung der Konformität der Apfelsäfte sowie der Charakterisierung von Polyphenol-Protein-Interaktionen.

#### Forschungsergebnis:

Zur Erzeugung gepulster elektrischer Felder wurden zwei Anlagen an der Forschungsstelle I konstruiert. Eine Anlage, die auf einem Impulserzeuger der Firma ProPuls basiert, ist zum Zellaufschluss bei einem Energieeintrag von 10 kJ/kg für einen Durchsatz bis zu 3 t/h geeignet. Ein zweites Gerät mit einem Impulserzeuger der Firma ScandiNova, das mit Hilfe der Projektmittel finanziert wurde, kann je nach Variation der Behandlungszelle für den Zellaufschluss von Maischen mit einem Durchsatz bis 2 t/h sowie zur nicht-thermischen Konservierung mit einem Durchfluss bis 100 L/h eingesetzt werden. Diese Anlage ist mit einem Gesamtgewicht von 350 kg und kompakten Ausmaßen insbesondere auch als Demonstrationsobjekt geeignet.

Ein verstärkter Zellaufschluss der Apfelmaische durch PEF-Anwendung mit einem Energieeintrag zwischen 2 und 36 kJ/kg konnte zwar mittels Impedanzmessungen belegt werden, allerdings konnte daraus nur im Labormaßstab ein Vorteil bei der Entsaftung mit einer Ausbeutesteigerung von etwa 5 % sowohl bei Verwendung einer Tinkturenpresse als auch im 50 kg-Maßstab bei Einsatz einer Packpresse gezogen werden. Im Technikumsmaßstab stellte die weichere Struktur der Maische ein Problem für die nachfolgende Fest-Flüssig-Separation dar. Bei keiner der drei im Technikumsmaßstab durchgeführten Versuchsserien sowohl mit Frisch- als auch mit Lagerobst konnte eine Steigerung der Saftausbeute verzeichnet werden. Mit Frischobst wurden mit einer horizontalen Filterpresse sowie einem Dekanter sowohl ohne als auch nach PEF-Behandlung sowie nach Maischeenzymierung vergleichbare Saftausbeuten erzielt, während bei der Verwendung von Lageräpfeln die Enzymierung deutliche Vorteile zeigte. Auch beim Einsatz einer Bandpresse führte der höhere Zellaufschluss nach PEF-Behandlung zu keiner Ausbeutesteigerung. Da aufgrund der natürlichen Schwankungen der Rohware Veränderungen der Ausbeute um 1-2 % nicht aufgenommen werden konnten, wurde abschließend ein Vergleich der Entsaftung unbehandelter und bepulster (ca. 5,6 kJ/kg) Apfelmaische im Industriemaßstab parallel auf horizontalen Filterpressen vorgenommen. Dabei bestätigte sich, dass die PEF-Behandlung keinen Gewinn bei der Entsaftung bewirkt. Im Technikumsmaßstab wurde zudem ein verlangsamter Saftablauf im Vergleich zu nicht bepulsten Kontrollen festgestellt, wohingegen eine Maischeenzymierung die Entsaftung beschleunigte.

Die erhaltenen Säfte wiesen keine Unterschiede bezüglich der untersuchten Qualitätsparameter auf, weshalb selbst bei Einstufung des Verfahrens unter die Novel Food-Verordnung (EC 258/97) mit einer raschen Genehmigung zu rechnen wäre. Eine Steigerung des Übergangs phenolischer Verbindungen in den Saft nach PEF-Behandlung der Maische wurde in einer Versuchsserie beobachtet, in den weiteren jedoch so nicht bestätigt. Die Lagerstabilität von Säften nach PEF-Behandlung der Maische (10 kJ/kg) war vergleichbar mit denen ohne vorherige Behandlung bzw. nach Maischeenzymierung, was ein Realzeitlagerversuch von klaren und naturtrüben Säften über ein Jahr hinweg belegte. Sensorisch erwiesen sich die Säfte nach Behandlung mit PEF als nicht auffällig. Der Trester nach PEF-Behandlung der Maische kann zur



Gewinnung hochveresterten Pektins herangezogen werden, da sich dieses in seiner Qualität nicht von dem aus Kontrollproben extrahierten unterschied. Der Energieverbrauch der verwendeten Anlage belief sich für den Zellaufschluss mit 4 kJ/kg auf 1,6 kWh/t Maische. Bei angenommenen Stromkosten von 0,1 € je kWh ergaben sich damit Energiekosten von 0,16 €/t Maische.

Die Abtötung produktrelevanter Keime zur Konservierung der Säfte konnte im Labormaßstab erfolgreich gezeigt werden. Dabei wurden die Unterschiede der Inaktivierung verschiedener Kulturen und der jeweilige Einfluss von Feldstärke, Energieeintrag und Einlasstemperatur herausgearbeitet. Eine ausreichende Inaktivierung der Enzyme Peroxidase und Polyphenoloxidase wurde bei den eingesetzten Energieeinträgen zwischen 10 und 70 kJ/kg nur bei gleichzeitiger Anwendung von Einlasstemperaturen um 60 °C erzielt. Im Technikumsmaßstab wurden 4 Versuchsansätze mit unterschiedlichen Einlasstemperaturen (20, 30, 40 °C) und Energieeinträgen (100, 121 bzw. 130 kJ/kg) durchgeführt, wobei darauf geachtet wurde, dass die maximale Produkttemperatur 63 °C nicht überschritt, da es sich bei der Anwendung von PEF um ein nicht-thermisches Konservierungsverfahren handeln soll. Die eingesetzte Energie reichte für eine Mikroorganismeninaktivierung von bis zu 3 log-Zyklen. Polyphenoloxidase wurde nur zu maximal 50 % inaktiviert, so dass der Saft noch zu schlagartiger enzymatischer Bräunung bei ausreichendem Sauerstoffkontakt neigte. Weitergehende Untersuchungen des Safts bestätigten seine Konformität mit nicht konservierten bzw. thermisch behandelten Proben.

Für eine Konservierung mit einem Energieeintrag von 120 kJ/kg ist ein Energieverbrauch von 48 kWh und damit Energiekosten von 4,8 €/t verbunden. Die zusätzlich eingetragene Energie zur Vorwärmung der Säfte könnte durch Rückgewinnung bei der Kühlung erhalten werden und würde somit nicht zu weiteren Kosten führen.

Sowohl die erhöhte Dekompartimentierung durch den Zellaufschluss der Maische mittels PEF als auch die unzureichende Inaktivierung von Enzymen bei der nicht-thermischen Haltbarmachung tragen zu verstärkter Oxidation phenolischer Verbindungen des Apfels bei. Diese können wiederum mit Aminogruppen reagieren und so die ernährungsphysiologische Qualität sowie die Allergenität der Säfte beeinflussen. Die kova-

lenten Addukte zweier Modellaminokomponenten, tert-Butyloxycarbonyl-L-Lysin und N-Acetyl-L-Cystein, mit oxidierter Chlorogensäure konnten mittels HPLC-MSn im gepufferten Modellsystem näher beschrieben werden. Bei den nativen pH-Werten des Apfelsaftes konnten lediglich Additionsprodukte mit N-Acetyl-L-Cystein gefunden werden, eine Erhöhung des pH-Wertes des Saftes auf pH 7,0 erlaubte auch die Ausbildung kovalenter Addukte von tert-Butyloxycarbonyl-L-Lysin mit oxidierter Chlorogensäure. Dies ist auf die Unterschiede der Anbindung zurückzuführen, denn während die Thiolgruppe des Cysteins mit dem Chinon der Chlorogensäure reagiert, bildet sich durch kovalente Anbindung des Lysins an ein oxidiertes Dimer der Chlorogensäure eine Benzacridinstruktur aus.

#### Wirtschaftliche Bedeutung:

Innerhalb des Projekts wurde deutlich, dass eine Erhöhung der Saftausbeute mittels PEF mit der üblicherweise in kmU der Fruchtsaftindustrie vorhandenen Entsaftungstechnik nicht möglich ist. Selbst obwohl gezeigt werden konnte, dass einer Anerkennung des PEF-Prozesses als Zellaufschlussverfahren im Rahmen der EU Novel Food-Verordnung (EG 258/97) aufgrund der Konformität mit konventionell hergestellten Säften nichts im Wege steht, bräuchte eine Investition in PEF-Anlagen zum Zellaufschluss deshalb vom derzeitigen Standpunkt der Forschung aus keinen Gewinn für kmU der Fruchtsaftindustrie. Möglicherweise kann eine optimale Anpassung der Entsaftungstechnik auf die Gegebenheiten der weicheren Maischestructur nach der PEF-Behandlung Vorteile aus dem erfolgten Zellaufschluss ziehen. Dies konnte im Rahmen des Projekts nicht weiter behandelt werden und zeigt weiteren Forschungsbedarf zunächst insbesondere für Unternehmen des Anlagenbaus. Des Weiteren ist nicht geklärt, ob mit anderen als der bearbeiteten Rohware Apfel bessere Ergebnisse hätten erzielt werden können. Einen ersten Hinweis darauf konnte in einer zusätzlichen Versuchsreihe erhalten werden, als an der Forschungsstelle III in Zusammenarbeit aller Forschungsstellen die PEF-Auswirkungen (10 bzw. 20 kJ/kg) auf die Entsaftung von Karotten untersucht wurde. In diesem Falle konnte im Vergleich zu unbehandelten Maischen eine Ausbeutesteigerung bei Entsaftung mittels Dekanter erzielt werden. Allerdings war diese geringer als die durch einen optimierten Prozess mittels zweistufiger Vermahlung der Maische mit einer

Supratorn-Mühle erzielte Ausbeute. Entsprechend ist auch in diesem Falle eine wirtschaftliche Umsetzung des Verfahrens nicht sinnvoll.

Eine Erhöhung des Gehalts an Polyphenolen im Saft nach Zellaufschluss der Maische konnte im Rahmen eines Technikumsversuchs zwar festgestellt werden, allerdings blieb dieser Effekt in den weiteren Versuchsreihen aus. Somit wurde auch anders als erwartet keine Steigerung der antioxidativen Kapazität beobachtet. Eine solche hätte durch positive Auslobung den wirtschaftlichen Wert der Säfte nach PEF-Zellaufschluss der Maische steigern können.

Die Inaktivierung von Mikroorganismen zur Verlängerung der Haltbarkeit von Apfelsäften wurde erfolgreich gezeigt. Allerdings führten die Restaktivitäten qualitätsrelevanter Enzyme zu deutlichen sensorischen Veränderungen während der Lagerung der Säfte. Eine ausreichende Enzyminaktivierung wäre nur durch deutlich höhere Energieeinträge, die jedoch mit hohen Kosten verbunden wären oder durch die Kopplung mit thermischen Effekten denkbar.

Auch wenn eine PEF-Anwendung in der Fruchtsaftindustrie derzeit fraglich scheint, konnten dennoch im Rahmen des Projekts für kmU des Anlagenbaus vorwettbewerbliche Kennwerte für eine Anlage im industriellen Maßstab ermittelt werden. Die Grundlagen der PEF-Technologie, für die vielseitige Einsatzgebiete diskutiert werden, sind für alle Anwendungen die gleichen. Die im Rahmen des Projekts entwickelte Demonstrationsanlage kann entsprechend auch für den Aufschluss anderer Zellmaterialien wie Fleischbrät, Zuckerrüben oder Ölsaaten sowie zur Gewinnung intrazellulär gebildeter Stoffe im Bereich der Biotechnologie eingesetzt werden. Zudem ist auch unabhängig vom Fruchtsaftbereich die Inaktivierung von Mikroorganismen in einem breiten Spektrum pumpfähiger Produkte wie anderer flüssiger Lebensmittel oder auch in industriellen Prozessabwässern möglich.

#### Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2007.
2. Heinz, V.: Nicht-thermische Verfahren zur Entkeimung und zur Strukturbeeinflussung von Lebensmitteln. Tagungsband 66. FEI-Jahrestagung 2008, 89-96 (2009).

3. Schilling, S., Sigolotto, C.-I., Carle, R. und Schieber, A.: Characterization of covalent addition products of chlorogenic acid quinine with amino acid derivatives in model systems and apple juice by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Comm. Mass Spectr.* 22, 441-448 (2008).
4. Schilling, S., Toepfl, S., Ludwig, M., Dietrich, H., Knorr, D., Neidhart, S., Schieber, A. und Carle, R.: Comparative study of juice production by pulsed electric field treatment and enzymatic maceration of apple mash. *Eur. Food Res. Technol.* 226, 1389-1398 (2008).
5. Schilling, S., Schmid, S., Jäger, H., Ludwig, M., Dietrich, H., Toepfl, S., Knorr, D., Neidhart, S., Schieber, A. und Carle, R.: Comparative Study of Pulsed Electric Field and Thermal Processing of Apple Juice with Particular Consideration of Juice Quality and Enzyme Deactivation. *J. Agric. Food Chem.* 56, 4545-4554 (2008).
6. Schilling, S., Alber, T., Neidhart, S., Toepfl, S., Knorr, D., Schieber, A. und Carle, R.: Effects of pulsed electric field treatment of apple mash on juice yield and quality attributes of apple juice. *Inn. Food Sci. Emerg. Technol.* 8, 127-134 (2007).
7. Toepfl, S., Mathys, A., Heinz, V. und Knorr, D.: Potential of emerging technologies for energy efficient and environmentally friendly food processing. *Food Rev. Intern.* 22(4), 405-423 (2006).

#### Weiteres Informationsmaterial:

Technische Universität Berlin  
 Institut für Lebensmitteltechnologie  
 und Lebensmittelchemie,  
 FG Lebensmittelbiotechnologie und  
 -prozesstechnik  
 Königin-Luise-Straße 22, 14195 Berlin  
 Tel.: 030/314-71250, Fax: 030/8327-663  
 E-Mail: Dietrich.Knorr@TU-Berlin.de

Universität Hohenheim  
 Institut für Lebensmittelwissenschaft  
 und Biotechnologie,  
 FG Lebensmittel pflanzlicher Herkunft  
 August-von-Hartmann-Str. 3, 70599 Stuttgart  
 Tel.: 0711/459-2314, Fax: 0711/459-4110  
 E-Mail: carle@uni-hohenheim.de



Forschungsanstalt Geisenheim  
Institut für Oenologie und Getränkeforschung  
FG Weinanalytik und Getränkeforschung  
Rüdesheimer Str. 28, 65366 Geisenheim  
Tel.: 06722/502-311, Fax: 06722/502-310  
E-Mail: h.dietrich@fa-gm.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:

