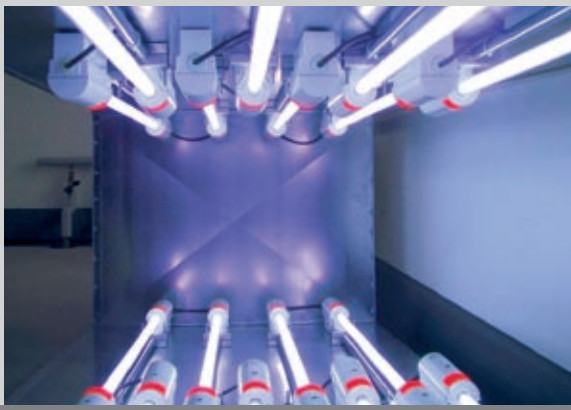


B·A·R·O[®]
Entkeimung mit System

UV-C-TECHNIK

Inaktivierung
von Bakteriophagen in
milchwirtschaftlichen
Betrieben





Der Einsatz von UV-C-Technik zur Inaktivierung von Bakteriophagen

Eine Vielzahl von fermentierten Produkten wie Käse, Wurstwaren, Gemüse, Brot und Wein bereichern unser tägliches Nahrungsangebot. Sie werden alle durch den Einsatz von Bakterienstämmen hergestellt. Diese Produktionen wären ohne die Stoffwechsellösungen der dort eingesetzten Bakterien undenkbar.

Allein in Deutschland wurden in den Jahren 2000 und 2001 ca. 27 Mio. Tonnen Milch zu Milchprodukten verarbeitet. Davon entfielen ca. 750.000 Tonnen auf Speisequark und Frischkäse; das entspricht einem Pro-Kopf-Verbrauch von 9 kg pro Jahr (Statistisches Bundesamt).

Während früher die Säuerung durch die natürliche Flora der Milch erfolgte, werden heute der Milch gezielt Rein- oder Mischkulturen zugesetzt.

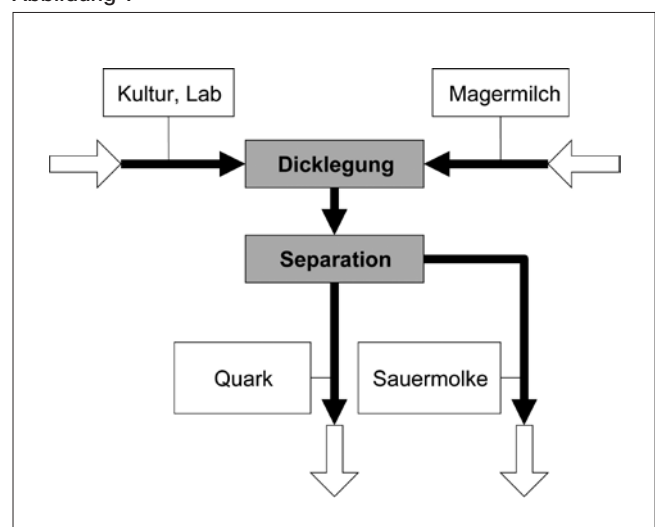
Die wichtigste Fähigkeit der Milchsäurebakterien, Milchsäure aus Milchzucker zu bilden, erfüllt zweierlei Funktionen. Zum einen werden die Milchprodukte durch die Absenkung des pH-Wertes länger haltbar, ohne ihren ernährungsphysiologischen Wert zu verlieren. Zum anderen führt die Absenkung des pH-Wertes unter 4,6 bis 4,8 zum Ausfallen des Milch-Caseins, was die Konsistenz vieler Produkte positiv beeinflusst.

In **Abbildung 1** ist schematisch die Herstellung von Quark dargestellt. Pasteurisierte Milch wird in Labtanks mit Milchsäurebakterien und Lab vermischt. Nach Dicklegung der Milch wird die Molke vom Produkt getrennt (Separatoren). Die Verwendung von Starterkulturen hat in erheblichem Maße zur Verbesserung der Produktqualität beigetragen, damit einhergehend sind aber auch die Anforderungen an die Kulturen mit der Zeit gestiegen. Neben verschiedenen *Lactobacillus*-, *Leuconostoc*- und *Streptococcus*-Stämmen werden auch *Lactococcus*-Stämme für die Fermentation von Milchprodukten eingesetzt. Sie sind insbesondere für die Herstellung verschiedener Käsesorten, Butter und Quark

Autor:

Dr. Andreas Laborius
 ZAQA Dr. Laborius
 Carl-Loewe-Steg 15
 24340 Eckernförde
 Telefon 04351 / 8838 17
 andreas@laborius.de

Abbildung 1

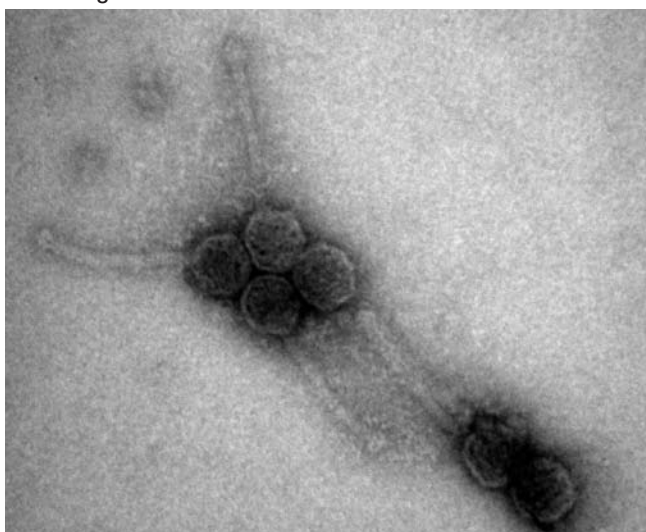


in milchwirtschaftlichen Betrieben

unentbehrlich. 40% der Lebensmittel, die der Verbraucher in der Bundesrepublik Deutschland heute verzehrt, werden mit Hilfe von Starterkulturen und/oder Enzymen produziert. Einige Kulturen beinhalten auch Stämme, die Citrat zu Aroma- und Geschmackskomponenten umwandeln. Auftretende Säuerungsstörungen bei der Herstellung der Milchprodukte können verschiedene Ursachen haben, z. B. bakterielle Verunreinigungen oder der Verlust bestimmter Eigenschaften der Bakterienstämme.

Der größte wirtschaftliche Schaden milchverarbeitender Betriebe (mit 70 bis 80% Hauptursache aller Produktionsstörungen) lässt sich aber auf Bakteriophagen (Phagen) zurückführen. Phagen sind Viren, die Bakterien befallen. Der Befall einer Bakterienkultur mit Phagen kann zum Tod der Bakterienzelle und damit zu leichten bis totalen Produktionsausfällen führen. Durch ihre geringe Größe lassen sich Phagen weder mit bloßem Auge noch im Lichtmikroskop erkennen. Die **Abbildung 2** zeigt eine elektronenmikroskopische Aufnahme eines *Lactococcus*-Phagen. Sie sind weniger als 200 nm groß.

Abbildung 2



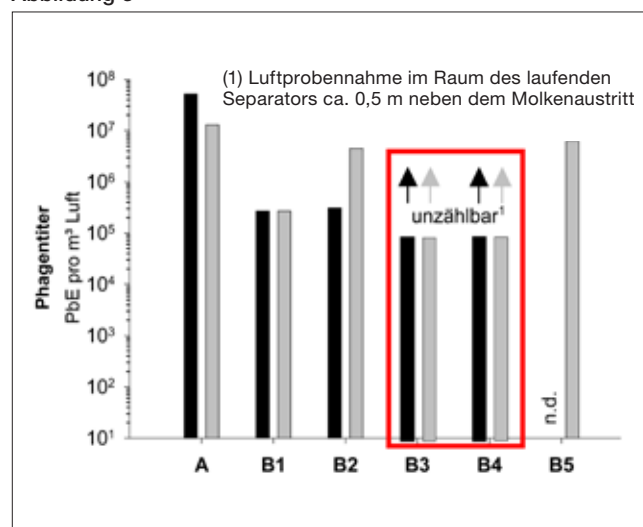
Schon vor mehr als 70 Jahren konnte gezeigt werden, dass der Grund für die Fermentationsausfälle die Infektion der Kulturen mit Bakteriophagen war. Das Wachstum von Starterkulturen während einer von Bakteriophagen infizierten Fermentation kann hierbei entweder stark verlangsamt sein („slow vats“) oder ganz ausbleiben („dead vats“).

Als Infektionsursachen kommen dabei auch heute noch unzureichende Milcherhitzung bzw. Desinfektion oder der Eintrag der Phagen über die Luft in Betracht.

Das Risiko einer Bakteriophageninfektion während einer Fermentation ist sehr hoch, da die meisten Prozesse in milchwirtschaftlichen Betrieben in semisterilen Umgebungen ablaufen. Das Problem ist heute umso größer, da Milchfermentationen nicht selten im großindustriellen Maßstab in 50.000-l-Tanks stattfinden und Ausfälle zu erheblichen ökonomischen Schäden führen.

Phagen befinden sich nicht nur in unbehandelter Rohmilch, sondern hauptsächlich in der Molke und können sich dauerhaft über die Luft verbreiten.

Abbildung 3



Die höchsten Phagentiter innerhalb eines milchwirtschaftlichen Betriebes mit bis zu 10^8 Phagen pro m^3 Luft wurden neben einem laufenden Separator gemessen, **Abbildung 3**. In den Produktionsbereichen ist somit anzunehmen, dass es durch diese Separatoren, die die Molke vom Produkt trennen, zu einer Vernebelung der phagenhaltigen Molke und zu einer permanenten Verteilung des Aerosols innerhalb des Betriebes kommt. Die Luft stellt also gewissermaßen ein Transportsystem für Phagen dar. Mit zunehmender Entfernung vom Separator sinkt auch der Phagentiter.

Ziel

Phagen befinden sich im gesamten Produktionsbereich. Ein übergeordnetes selbstverständliches Ziel eines Hygienemonitorings muss also der Schutz der Starterkultur vor Phageninfektionen sein. Für die Züchtung der Betriebskultur (Säurewecker) muss also ein erheblicher anlagentechnischer Aufwand betrieben werden. Phagen, die vor oder

bei der Züchtung in die Kultur gelangt sind, haben bereits während der Kulturbereitung Gelegenheit, auf ein technologisch bedenkliches Niveau anzuwachsen. Filter lassen keinen umfassenden Schutz zu, da Phagen mitunter kleiner sind als übliche Porengrößen.

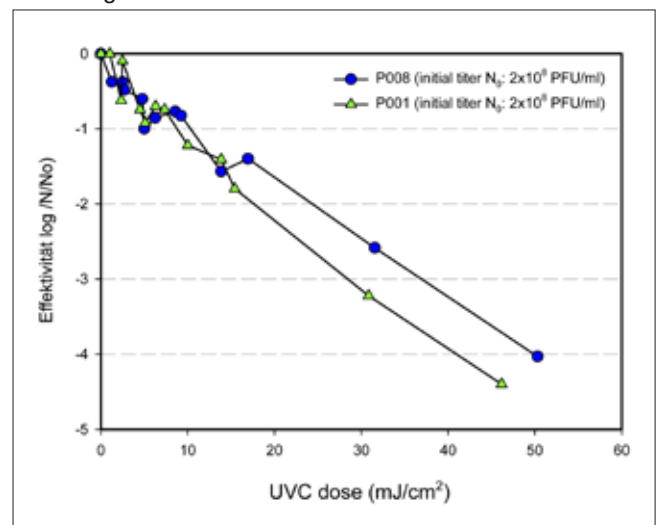
Darüberhinaus darf aber auch die Anlagentechnik nicht außer acht gelassen werden. Zum Beispiel reinigen in modernen Käsereien CIP-Anlagen sowohl Molkebehandlungsanlagen (hohes Phagenrisiko) als auch Kulturenanlagen. Überstehen Phagen die Reinigungs- und Desinfektionslösungen, so kann es zu einer Rekontamination auf sensible Bereiche kommen.

Eine große Möglichkeit und Chance, vornehmlich die Raumluft phagenarm zu halten und damit den Druck auf die Starterkultur zu nehmen, besteht in der Behandlung der Luft mit UV-C-Strahlung. Dazu ist es notwendig, einen Überblick über die Möglichkeiten der Reduzierung zu erhalten. Aus diesem Grunde wurden Versuche zur Inaktivierung von Phagen durch UV-Strahlung durchgeführt.

Abbildung 4



Abbildung 5



Versuchsablauf

Für die Versuche im Labor wurde eine Testumgebung entwickelt, die es ermöglichen sollte, Phagen in flüssigen Medien durch UV-C-Strahlung zu inaktivieren. Dazu wurde eine vorhandene PCR-Kabine so umgestaltet, dass integrierte UV-C-Röhren genutzt werden konnten. In definierten Abständen zur UV-C-Röhre wurden Einschubfächer geschaffen, die es ermöglichten, UV-C-Intensitäten von $0,6 \text{ mW/cm}^2$ zu erreichen, **Abbildung 4**. In Verbindung mit der Expositionszeit ergaben sich daraus UV-C-Dosen von unter 2 bis über 50 mJ/cm^2 .

Die Versuche haben gezeigt, dass verschiedene *Lactococcus*-Phagen (P001 und P008) unterschiedlich auf UV-C-Strahlung reagierten. Eine UV-C-Dosis von 30 mJ/cm^2 führte bei dem Phagen P008 zu einer Reduktion um 2,5 log-Stufen, bei P001 um eine Reduktion von über 3 log-Stufen. Eine Dosis von bis zu 50 mJ/cm^2 führte bei beiden Phagentypen zu einer Reduktion um mindestens 4 log-Stufen.

Abbildung 6



Das bedeutet, dass ausgehend von 10^8 Phagen pro ml nach Bestrahlung nur noch 10^4 Phagen vorhanden waren, oder anders ausgedrückt wurden bei 50 mJ/cm^2 mindestens 99,99 % der Phagen inaktiviert. Untersuchungen beim *E. coli*-Phagen MS-2 zeigten, dass mindesten 119 mJ/cm^2 notwendig waren, um die gleiche Inaktivierungsrate zu erhalten. Mit 10 mJ/cm^2 ließen sich in unseren Versuchen immerhin noch Reduktionsraten von mindestens 90 % erreichen, **Abbildung 5**.

Für den Einsatz unter Praxisbedingungen wurde eine Testumgebung entworfen und gebaut, **Abbildung 6**. An ein vorhandenes UV-C-Umluftentkeimungsmodul wurden im Einlass- und Auslassbereich Entspannungsstrecken angebracht, die es erlauben, mittels eines Luftkeimsammelgerätes und einer sensitiven Kultur den Phagengehalt der Zuluft und Abluft bei Bedarf gesondert zu erfassen. Dieses Modul ist transportabel und lässt sich problemlos in einen bestehenden Produktionsraum integrieren.

Ausblick

Die Versuche lieferten vielversprechende Ergebnisse und zeigten deutlich, dass *Lactococcus*-Phagen sich mit technisch realisierbaren UV-C-Systemen signifikant reduzieren ließen. Ein sinnvoller Einsatz dieser Technologie ist sowohl bei der Anzucht der Kulturen denkbar als auch innerhalb des Produktionsbetriebes. So ließen sich beispielsweise die Separatoren einhausen, um die mit Abstand höchste Emissionsquelle weitgehend zu eliminieren. Diese Lösung ist umso wichtiger, wenn Betriebskulturentanks nicht in einem separaten Raum stehen oder Labtanks, in denen Milch mit Kultur und Lab vermischt wird, noch oben offen gebaut sind.

Eine Adaption dieser Technik auf ähnliche Bereiche wäre auch denkbar. Neben allen milchverarbeitenden Betrieben könnten auch Fleischbetriebe damit ausgerüstet werden. Andere Phagenquellen wie Salzbäder könnten ebenfalls mit dieser Technologie phagenarm gehalten werden.

BÄRO[®]
Entkeimung mit System

Wolfstall 54–56
42799 Leichlingen
Telefon 021 74/799-505
Fax 021 74/799-799
baero-technology@baero.de
www.baero.de