

WPŁYW PARAMETRÓW AMPLITUDOWO-CZASOWYCH IMPULSOWEGO POŁA ELEKTRYCZNEGO NA INAKTYWACJĘ MIKROFLORY W CIEKŁYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

Piotr Makarski

Katedra Podstaw Techniki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Streszczenie. W artykule przedstawiono wyniki badań wpływu parametrów amplitudowo-czasowych impulsowego pola elektrycznego na inaktywację drobnoustrojów w ciekłych produktach spożywczych. Jako źródło pola elektrycznego użyto wysokoomowego generatora wysokiego napięcia z baterią kondensatorów na wyjściu. Do kształtowania impulsów służył iskiernik kulowy z regulowaną przerwą iskrową oraz zestaw dwójników pasywnych o dobranych impedancjach operatorowych, bocznikujących elektrody komory sterylizacyjnej.

Słowa kluczowe: inaktywacja drobnoustrojów, impulsowe pole elektryczne

Wstęp

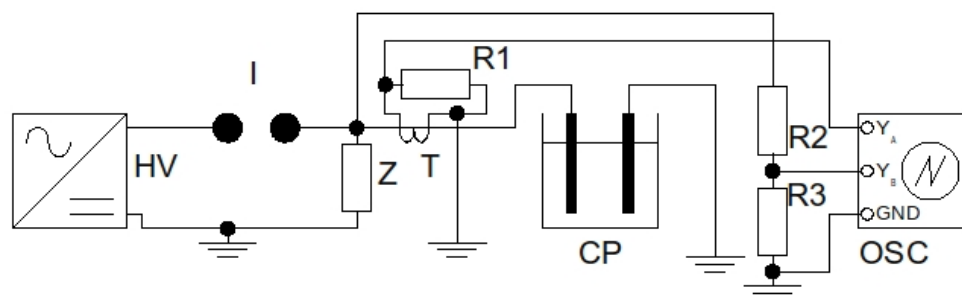
Trwałość produktów spożywczych ma kluczowe znaczenie w aspekcie przechowywania, transportu i zapewnienia bezpieczeństwa żywności. Okres przydatności do spożycia jest silnie zależny od aktywności drobnoustrojów [Molenda 2007]. Zanieczyszczenia mikrobiologiczne prowadzą do szeregu postępujących w czasie niekorzystnych zmian organoleptycznych i chemicznych, w wyniku czego żywność nie nadaje się do konsumpcji [Drożdż i in. 2008]. Dlatego inaktywacja mikroorganizmów jest podstawową metodą przedłużającą trwałość produktów spożywczych. Ze względu na duże zapotrzebowanie na żywność minimalnie przetworzoną [Pietrzyk 2008] jej utrwalanie nie powinno istotnie zmienić właściwości sensorycznych i odżywczych. Konwencjonalne metody przedłużania przydatności do spożycia, takie jak obróbka termiczna, zamrażanie czy suszenie prowadzą z reguły do pogorszenia wartości odżywczych i organoleptycznych. Z kolei utrwalanie chemiczne powoduje pojawienie się w produktach substancji nie występujących naturalnie, często mających szkodliwy wpływ na organizm człowieka. Alternatywą są niekonwencjonalne, fizyczne metody inaktywacji mikroorganizmów, pozwalające zachować większość cech produktu świeżego, przy minimalnej utracie wartości odżywczych. Zaliczamy do nich metodę pulsującego pola elektrycznego PPE [Wouters i in. 1999], wysokie ciśnienie hydrostatyczne HPP, sterylizację radiacyjną [Molenda 2007], sterylizację pulsującym polem magnetycznym PEMF i sterylizację pulsującym światłem. Stosowanie kilku metod jednocześnie (metoda „płatków”) zwiększa skuteczności procesu [Gachovska i in.; [Ngadi i in. 2004; Sampedro i in. 2006].

Cel i zakres badań

W pracy przedstawiono wyniki badań wstępnych nad wpływem wartości natężenia pola, czasu trwania i kształtu impulsów pulsującego pola elektrycznego na inaktywację drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Aktywność odpowiednich szczepów drożdży jest niezbędna w produkcji napojów alkoholowych, czy w przemyśle piekarniczym, natomiast jest bardzo szkodliwa przy produkcji i przechowywaniu soków, dżemów, krajanek i innych przetworów owocowych, prowadząc do ich fermentacyjnego zepsucia. Większość dotychczasowych badań nad inaktywacją mikroorganizmów z wykorzystaniem PEF dotyczy różnych gatunków bakterii [Gachovska i in. 2008; Ngadi i in. 2004; Sampedro i in. 2006; Wouters i in. 1999], mniejszą uwagę poświęca się drożdżom [Eshtiaghi i in. 2008]. Celem badań było wyznaczenie optymalnych parametrów ekspozycji PEM tak, by uzyskać skuteczną inaktywację, w możliwie krótkim czasie, nie powodując znaczącego przyrostu temperatury medium. Otrzymane dane doświadczalne zostaną wykorzystane podczas projektowania i konstrukcji systemu do inaktywacji mikroflory w ciekłych produktach spożywczych.

Metodyka badań

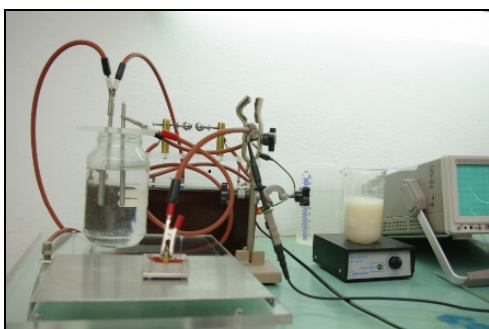
Do badań użyto zawiesinę drożdży w wodnym roztworze sacharozy. Skutki działania pola elektrycznego o różnych parametrach amplitudowo - czasowych analizowano na podstawie obserwacji próbek pod mikroskopem optycznym sprzężonym z cyfrowym aparatem fotograficznym. Wykonano zdjęcia próbek, służące do określania odsetku żywych komórek metodą analizy obrazu. Źródłem pola elektrycznego był zasilacz wysokiego napięcia z baterią kondensatorów na wyjściu. Jako przerywacz zastosowano iskiernik kulowy ze względu na stabilną granicę przeskoku [Flisowski 1995]. Przyrządy te zostały zaprojektowane i skonstruowane w Zakładzie Elektrotechniki i Systemów Pomiarowych Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie. Schemat układu pomiarowego przedstawia rysunek 1.



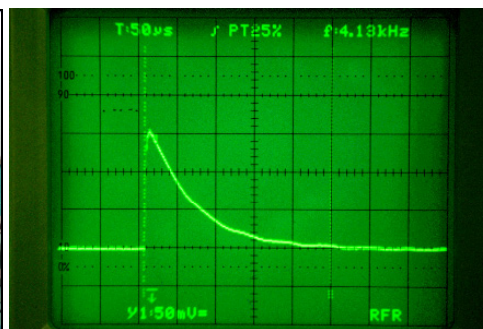
Rys. 1. Schemat układu pomiarowego: HV -zasilacz wysokiego napięcia, I – iskrownik, Z – impedancja obciążenia, R1-R3 – rezystory, T – przekładnik prądowy, CP – celka sterylizacyjna, OSC -oscyloskop

Fig. 1. Measurement setup diagram: HV – high voltage supply, I – spark gap, Z – load impedance, R1-R3 – resistors, T – current transformer, CP – sterilization cell, OSC - oscilograph

Zasilacz HV, będący regulowanym źródłem wysokiego napięcia, posiada baterię kondensatorów na wyjściu, ładowaną przez dużą rezystancję szeregową, w celu ustalenia szybkości narastania napięcia wyjściowego (determinuje ona częstotliwość powtarzania impulsów oraz umożliwienia powstawania drgań gasnących przy rozładowywaniu baterii kondensatorów przez indukcyjność). Iskiernik kulowy I stanowi łącznik zamykający obwód (poprzez wyładowanie iskrowe), gdy napięcie na wyjściu zasilacza przekroczy wartość napięcia przebicia między jego elektrodami. Dzięki możliwości regulacji przerwy iskrowej wartość tego napięcia może być płynnie regulowana w szerokich granicach. Wartość i charakter Impedancji Z , bocznikującej celkę sterylizacyjną CP, decyduje o kształcie i czasie trwania impulsów wysokiego napięcia. Przekładnik prądowy T wraz z rezystorem R1 oraz dzielnik napięcia złożony z rezystorów R2 i R3 umożliwiają obserwację na oscyloskopie przebiegów prądu płynącego przez celkę i napięcia na jej zaciskach. Wykonana jest ona jako naczynie z plexiglasu, zamknięte elektrodami, tak że jedna z nich jest ruchoma. Dodatkową funkcją elektrod jest odprowadzanie wydzielającego się w próbce ciepła. Widok stanowiska przedstawia rysunek 2. Na pierwszym planie widoczna celka, za nią rezystor wodny, z tyłu zasilacz wysokiego napięcia z iskrownikiem.



Rys. 2. Widok stanowiska badawczego
Fig. 2. Test stand view



Rys. 3. Oscylogram impulsu prądu płynącego przez celkę
Fig. 3. Oscillogram of current impulse flowing through cell

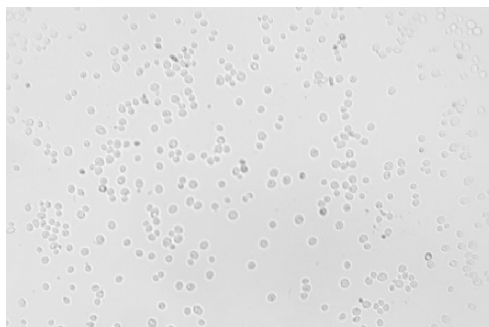
Celkę sterylizacyjną napełniano przygotowanym roztworem i poddawano działaniu impulsowego pola elektrycznego. Odległością elektrod iskrownika, przy ustalonej odległości elektrod celki, regulowano wartość szczytową napięcia wyładowania, a co za tym idzie, natężenie impulsowego pola elektrycznego między elektrodami celki. Wartość impulsu w funkcji czasu kształtowano dobierając impedancję bocznikującą. Przykładowy impuls przebiegu prądu przepływającego przez celkę, przy zbocznikowaniu jej rezystorem, pokazuje rysunek 3. Przeprowadzono szereg prób zmieniając opisane powyżej parametry. Wartość szczytową natężenia pola ustawiano w granicach $5\text{--}25\text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Całkowity czas ekspozycji próbki zmieniano w zakresie $1\text{--}10\text{ s}$. Przeprowadzono próby zarówno przy ekspozycji ciągłej, jak również przerywanej, gdzie na każdą 1 s ekspozycji przypadało 10 s przerwy. Badano zachowanie się próbek pod działaniem impulsów o kształcie wykładni-

czym (celka sterylizacyjna zbocznikowana rezystorem wodnym) oraz oscylacyjnym gasnącym (celka zbocznikowana cewką indukcyjną). Częstotliwość powtarzania impulsów wynosiła ok. 10 Hz. Próbki po ekspozycji barwiono błękitem metylenowym i poddawano obserwacji pod mikroskopem optycznym. Dzięki barwieniu organizmy martwe, z uszkodzoną błoną komórkową, przybierały kolor granatowy, natomiast żywe pozostawały bezbarwne.

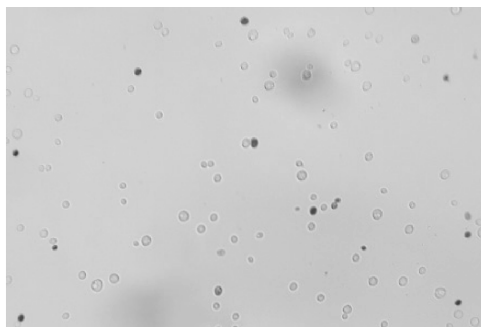
Wyniki badań

Skuteczność inaktywacji rosła wraz z natężeniem pola elektrycznego, czasem trwania impulsów i ich ilością. Pozytywny rezultat osiągnano zarówno przy impulsach o kształcie wykładniczym zanikającym, jak i oscylacyjnym tłumionym, niezależnie czy impulsy następowały jednym ciągiem, czy seriami w czasie 1 s, po których następowały 10s przerwy. Zastosowanie ekspozycji przerywanej miało na celu zminimalizowanie nagrzewania się próbki. Zaobserwowano występowanie efektu progowego – minimalna wartość natężenia pola elektrycznego, przy której inaktywacja zachodziła, wynosiła ok. $10 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$.

Przykładowy obraz dla próbki kontrolnej, nieeksponowanej na działanie pola elektrycznego pokazuje rysunek 4. Odsetek żywych komórek jest rzędu 99%. Na rysunku 5 widoczny jest skutek ekspozycji próbki w czasie 1 sekundy polem elektrycznym w postaci szeregu impulsów wykładniczych o stałej czasowej ok $100 \mu\text{s}$. Wartość szczytowa natężenia pola elektrycznego wynosiła ok. $14 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Nastąpiła redukcja żywych komórek o ok. 20%. Zwiększenie czasu ekspozycji do 10s spowodowało inaktywację wszystkich komórek (rys. 6). Rysunek 7 pokazuje skutki ekspozycji po zwiększeniu natężenia pola do ok. $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Czas ekspozycji wynosił 10s. Nastąpiło mechaniczne zniszczenie błony komórkowej w wyniku elektroporacji.

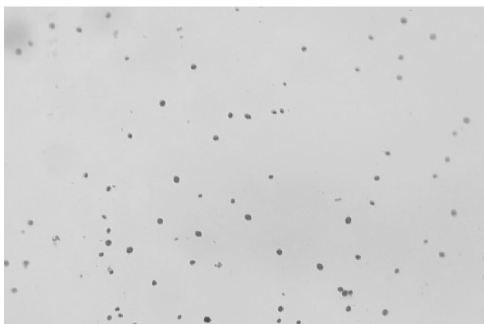


Rys. 4. Próbka drożdży przed ekspozycją
Fig. 4. The yeasts sample before the exposition

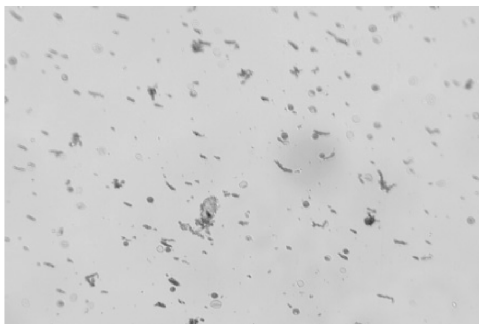


Rys. 5. Próbka drożdży po ekspozycji. Czas 1 s. Natężenie pola szczytowe $14 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$

Fig. 5. The yeasts sample after the exposition. Time of exposition 1 s. Maximum electric strenght $14 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$



Rys. 6. Próbka drożdży po ekspozycji. Czas 10 s. Natężenie pola szczytowe $14 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$
Fig. 6. Yeast sample after exposure. Time 10s. Peak field intensity $14 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$



Rys. 7. Próbka drożdży po ekspozycji. Czas 10 s. Natężenie pola szczytowe $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Długi czas trwania impulsu
Fig. 7. Yeast sample after exposure. Time 10 s. Peak field intensity $25 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$. Long time of pulse duration

Podsumowanie

Przeprowadzone badania pozwoliły wykazać, że można uzyskać skuteczną inaktywację przy stosunkowo niewielkich natężeniach pola elektrycznego rzędu $14 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$, pod warunkiem, że czas impulsów będzie odpowiednio długi. Przekłada się to na obniżenie kosztów zarówno źródła impulsów wysokiego napięcia, jak i układów izolacyjnych.

W układzie używanym przez Eshtiaghi i Kuldiloke [Eshtiaghi i in. 2008] celka włączona jest szeregowo z rezystancją i indukcyjnością co uniemożliwia uzyskanie zbyt dużego natężenia prądu w początkowej fazie impulsu. W innym spotykanym układzie [Gachovska i in. 2008] kondensator rozładowuje się tylko przez celkę, a więc impulsy można kształtować jedynie przez zmianę pojemności kondensatorów. Wielu innych autorów jako źródło PEM używa kosztownych, wysokonapięciowych generatorów prostokątnych impulsów bipolarnych, [Ngadi i in. 2004; Sampedr i in. 2006; Wouters i in. 1999]. W zaproponowanym przez autora układzie celka sterylizacyjna połączona równolegle z impedancją kształtującą impulsy komutowana jest przez iskiernik kulowy, dzięki czemu można w szerokich granicach kształtować parametry amplitudowo – czasowe impulsów oraz uzyskiwać bardzo dużą stromość ich narastania, co ma szczególne znaczenie na etapie doboru odpowiednich warunków ekspozycji.

Bibliografia

- Drożdż I., Makarewicz M.** 2008. Zakażenia mikrobiologiczne w przemyśle spożywczym. Laboratorium. Nr 5. Przegląd ogólnopolski. s. 24-28.
- Eshtiaghi M. N., Kuldiloke J.** 2008. Application of non-thermal processing for inactivation of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) in orange juice. 18th National Congress on Food Technology Masshad I. R. Iran 15-16 Oct. 2008. s.1-10.

- Flisowski Z.** 1995. Technika wysokich napięć. Wydawnictwa Naukowo Techniczne. Warszawa. ISBN 83-204-1800-3.
- Gachovska T.K., Kumar.S., Thippareddi H., Subbiah J., Williams F.** 2008. Ultraviolet and Pulsed Electric Field Treatments Have Additive Effect on Inactivation of E. coli in Apple Juice . Electrical Engineering, Journal of Food Science 73:9 (2008). s. 412-419.
- Molenda J.** 2007. Wybrane niekonwencjonalne metody utrwalania żywności. Medycyna Weterynaryjna. Nr 63(9). Lublin. s. 1016-1020.
- Ngadi M., Jun X., Smith J., Raghavan G.S.V.** 2004. Inactivation of Escherichia coli O157:H7 in Poultry Chiller Water Using Combined Ultraviolet Light, Pulsed Electric Field and Ozone. Treatments . International Journal of Poultry Science 3 (11). s. 733-737.
- Pietrzyk S.** 2008. Żywność minimalnie przetworzona. Laboratorium. Nr 11. Przegląd ogólnopolski. s.18-23.
- Sampedro F., Rivas A., Rodrigo D., Mart ężez A., Rodrigo M.** 2006. Effect of temperature and substrate on PEF Inactivation of Lactobacillus plantarum in an orange juice–milk beverage . Eur Food Res Technol (2006) 223: 30–34 . s. 30-34.
- Wouters P. C., Dutreux N., Smelt J. P. P. M., Lelieveld H. L. M.** 1999. Effects of Pulsed Electric Fields on Inactivation Kinetics of Listeria innocua . Applied and Environmental Microbiology. Vol. 65, No 12. s. 5364-5371.

THE IMPACT OF AMPLITUDE-TIME PARAMETERS OF IMPULSE ELECTRIC FIELD ON INACTIVATION OF MICROFLORA IN LIQUID FOOD PRODUCTS

Abstract. The article presents results of the research on the impact of amplitude-time parameters of impulse electric field on inactivation of microorganisms in liquid food products. A high ohmic high voltage generator with battery of condensers at output was used as the electric field source. The following were used to form the impulses: a sphere spark gap with adjustable gap, and a set of passive two-terminal networks with selected operator impedances, shunting sterilisation chamber electrodes.

Key words: inactivation of microorganisms, impulse electric field

Adres do korespondencji:

Piotr Makarski; e-mail: rzaruwa1@tlen.pl
Katedra Podstaw Techniki
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
ul. Doświadczalna 50A
20-280 Lublin