

Schlussbericht zu Nr. 3.2

Zuwendungsempfänger: Leibniz Institut für Plasmaforschung und Technologie e. V. (INP Greifswald e.V.)	Förderkennzeichen: 2816300707
Vorhabensbezeichnung: Anwendung von Plasmaverfahren zur schonenden Haltbarmachung am Beispiel leichtverderblicher Lebensmittelprodukte in der Nachernte (Akronym: FriPlas) <i>Teilvorhaben A: Verfahrenskonzeption und technische Umsetzung</i>	
Laufzeit des Vorhabens:	15.10.2009 – 28.02.2013
Berichtszeitraum:	15.10.2009 – 28.02.2013

I. Kurzdarstellung

1. Aufgabenstellung

Aufgabe des INP war die Ausgestaltung des Plasmaverfahrens unter Berücksichtigung der antimikrobiellen Wirkung und der Qualitätsparameter der Prüfkörper. Weitere Aufgaben waren die Testung von neuen mechanischen Komponenten und der Einsatz der Plasmadiagnostik.

2. Vorhabensvoraussetzungen

Die antimikrobielle Wirkung von nicht-thermischen Atmosphärendruckplasmen war bekannt. Allerdings nicht im Zusammenhang mit Lebensmitteln, sondern aus dem Bereich der Medizinprodukte und der Plasmamedizin. Das INP verfügt über eine umfassende Expertise auf dem Gebiet der Atmosphärendruckplasmen und der Konzeption, Konstruktion und dem Bau von derartigen Labormustern (Demonstratoren). Im Rahmen verschiedener Projekte gab es zu Projektbeginn verschiedene Plasmaquellen zum direkten und indirekten Einsatz für Medizinprodukte. Diese Quellen sollten hinsichtlich ihrer Eignung für die Lebensmittelindustrie, vornehmlich ihrem Einsatz am Lebensmittel direkt (aus der Nachernte), untersucht werden. Zu dieser Thematik lagen am INP kaum Kenntnisse vor und auch in der Literatur war nur wenig zu finden.

3. Vorhabensplanung und –ablauf

Die Arbeiten im Projekt wurden in fünf Arbeitspakete (AP) unterteilt, wobei jedes Arbeitspaket wiederum in bis zu sechs Unterpunkte gegliedert wurde. Im ersten AP ging es um den Aufbau der zu untersuchenden Plasmaanlagen, deren Peripherie und Diagnostik. Grundsätzlich sollten zwei jetartige Plasmaquellen untersucht werden, zu einen der kINPen09 und zum anderen der PLeXc, beides Plasmaquellen, die am INP entwickelt wurden. Zu den Aufgaben im AP1 gehörten der Aufbau und die

Einrichtung der Steuerung der Plasmaquellen, die Adaption der Zusatzeinrichtungen für die Plasmadiagnostik, die Variation der Betriebsparameter für die Diagnostik, die plasmadiagnostischen Untersuchungen selbst und für die Produktanwendungen. Die ersten beiden Aufgaben im AP1 erfolgten zu Beginn bis ungefähr zur Mitte des Projektes, mit der Variation für die Produktanwendung wurde frühzeitig begonnen und bis zum Projektende fortgeföhren.

Die plasmadiagnostischen Experimente fanden je nach Stand der Arbeiten und bei Bedarf statt. Im zweiten AP zur antimikrobiellen Wirkung von nichtthermischen Plasmen gab es 5 Unterpunkte, die sich mit dem Design der Probenkörper, der Etablierung von Diagnostikmethoden, Untersuchungen zu Bioindikatoren und lebensmittelrelevanten Testorganismen und der Eingrenzung bzw. Beschreibung von möglichen Wirkmechanismen beschäftigten. Das Probenkörperdesign wurde zu Projektbeginn durchgeführt und im ersten Quartal abgeschlossen. Die Etablierung eines geeigneten Nachweisverfahrens wurde zur Projektmitte hin abgeschlossen. Die mikrobiologischen Untersuchungen zur antimikrobiellen Wirkung der Plasmen auf Bioindikatoren und lebensmittelrelevante Testorganismen fand jeweils nach der Fertigstellung der Quellen und deren Optimierung sowie Adaption statt. Auf Grund der gewonnenen experimentellen Erkenntnisse wurden anschließend Wirkmechanismen postuliert und ggf. nachgewiesen. Der Einfluss der Plasmabehandlungen auf die Qualität der Lebensmittel wurde im AP3 untersucht. An diesem AP war das INP indirekt, durch zur Verfügungstellung der Plasmaquellen und –behandlung, beteiligt. Diese Versuche fanden in Absprache mit den Projektpartnern statt und waren eher auf die zweite Projekthälfte lokalisiert. Das AP4 beschäftigte sich mit den Monitoringsystemen zur Prozess- und Qualitätsüberwachung. Es war in sechs Unterpunkte gegliedert, die die Inaktivierung der Mikroorganismen zeigen, das elektro-optische Monitoring einbinden, produktspezifische Behandlungsintensitäten quantifizieren, das spektral-optische Qualitätsmonitoring erarbeiten und die Prozessauslegung und –steuerung konzipieren sollten. Auch Untersuchungen zur Haltbarkeit und zu den Verpackungssystemen waren Bestandteil des AP4, hierbei gab es keine Beteiligung des INP. Die ersten beiden Arbeitspunkte zur Inaktivierung der Mikroorganismen und zum elektro-optischen Monitoring fanden parallel zu den entsprechenden Arbeiten im AP1 und AP2 statt. Die Quantifizierung produktspezifischer Behandlungsparameter wurde in der Mitte des Projektes begonnen und kurz vor Projektende abgeschlossen. Das spektral-optische Qualitätsmonitoring und die Prozessauslegung sowie –steuerung wurden in der zweiten Projekthälfte durchgeführt. Im AP5 ging es um die Berichts- und Veröffentlichungsarbeit. Die Zwischenberichte wurden fristgerecht angefertigt und dem Projektträger übermittelt. Die eingereichten und erschienenen wissenschaftlichen Publikationen, Vorlesungen und Konferenzbeiträge werden unter II. 4. in der Verwertung aufgeführt.

4. wissenschaftlicher und technischer Stand

Der Einsatz von nicht-thermischen Atmosphärendruckplasmen in der Medizin sowie Lebensmittelindustrie stellt einen hoch innovativen Ansatz dar. Aus ersten Forschungsaktivitäten in Richtung Plasmamedizin [1-5] war die Inaktivierung von Mikroorganismen, der Abtrag organischen Materials und die Möglichkeit einer Gewebebehandlung bekannt. Insbesondere das Sterrad[®]-Verfahren (Advanced Sterilization Products, Irvine, USA) auf Basis von Wasserstoffperoxid etablierte sich gerade zu Projektbeginn in der Wiederaufbereitung von Krankenhäusern. Bei diesem Verfahren wird ein Plasma im Initiierungsprozess eingesetzt. Auch das plasmabasierte Wiederaufbereitungsverfahren von Pipettenspitzen im TipCharger[®] (<http://www.ionfieldsystems.com/>) war kommerziell erhältlich. Verschiedenste Publikationen [1-4, 6-8] zeigten aber ein antimikrobielles Potenzial im Bereich einiger Minuten. Zur antimikrobiellen Wirkweise der Plasmen war die Plasmazusammensetzung aus Wärme- und UV-Strahlung, elektrischem und magnetischem Feld, Radikalen, Ionen und Molekülen bekannt, welche unter anderem zur Erosion von Mikroorganismen führen, bekannt. [1,4,5,7] Durch verschiedenste Projekte konnten am INP zwei nicht-thermische Atmosphärendruckplasmaquellen auf Basis von Plasmajets bzw. –torches konzipiert und konstruiert werden, die sich direkt und indirekt auf das Produkt anwenden lassen. Die antimikrobielle Wirkung dieser Quellen war nur für thermostabile und thermolabile Materialien aus der Pharmazie und Medizin untersucht. Darüber hinaus wurde im Projekt auf zwei Patente (Plasmaquelle: EP06793298.8, Steri-Verfahren: WO002011138463A1) zurückgegriffen.

5. Zusammenarbeit mit anderen

Im Projekt sollte eng mit dem Anlagenbauer CZIOTEC GmbH zusammengearbeitet werden. Dies erfolgte insbesondere bei der Konzeption, Konstruktion und dem Bau eines Labormusters auf Basis des Plasmatorches PLexc in Kombination mit einer Behandlungskammer für größere Stückzahlen der Probenkörper. In Kooperation mit dem ATB und der TUB wurden der Plasmajet kINPen09 hinsichtlich seiner antimikrobiellen Wirkung und der Einfluss der nicht-thermischen Atmosphärendruckplasmaquellen auf die Produktqualität nach der Plasmabehandlung untersucht. In Zusammenarbeit mit der Firma WILD GmbH sollten pflanzliche Prüfkörper für die Weiterverarbeitung nach einer Plasmabehandlung untersucht werden. Hierzu wurden große Produktmengen in der mit der CZIOTEC GmbH gebauten Reaktionskammer indirekt mit Plasma behandelt.

II. Eingehende Darstellung

1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse

API Plasmaverfahren zur Haltbarkeitsverlängerung

In diesem Arbeitspaket wurden zwei Verfahrensansätze verfolgt. Zum einen ein direktes Plasmaverfahren, der sogenannte kINPen09, in Form eines Plasmajets und ein indirektes Plasmaverfahren, der sogenannte PLexc, in Form eines mikrowellenangeregten Plasmatorches.

Der kINPen09 wurde am INP entwickelt und an die Fragestellungen im Projekt angepasst. Dazu wurde der Jet in einen computergesteuerten Probenstisch integriert, inklusive einem Gaszuführungssystem mit Massflow-Controlern. Die experimentelle Anlage wurde am ATB aufgebaut, so dass alle Versuche zur direkten Plasmabehandlung plangemäß am ATB oder der TUB stattfanden.

Am INP wurde die vor Ort entwickelte Plasmaquelle PLexc hinsichtlich ihrer Prozessparameter und erforderlichen Verfahrensschritte zur Anwendung auf frische Lebensmittel betrachtet. Dazu wurde der 2010 aufgebaute Versuchsstand angepasst und optimiert, so dass 2012/2013 nicht nur Einzelversuche, sondern auch große Stückzahlen untersucht werden konnten. Zu Beginn wurde der Versuchsstand für Einzelbehandlungen aufgebaut, um die erforderliche Software zur reproduzierbaren Steuerung zu integrieren und genaue Prozessparameter und Verfahrensschritte festzulegen. 2011 wurden die Erfahrungen aus dem stationären Aufbau für Einzelexperimente auf den Aufbau eines mobilen Labormusters mit großer Prozesskammer (45 Liter Fassungsvermögen) übertragen. Für das Labormuster waren die Transportfähigkeit im Kleinlaster, inklusive robustem Aufbau und Ein- und Auslademöglichkeiten mit Auffahrampen oder Gabelstapler, sowie weitestgehende Autarkie von den Einrichtungen der Partner hinsichtlich dem Betrieb des Labormusters vor Ort besonders wichtig. Daher wurde für den Aufbau ein stabiler, leichtgewichtiger Aluminiumrahmen aus Boschprofilen gewählt.

Auf Grund von Gewicht und Größe mussten zwei Rahmen errichtet werden. Einer für die Plasmaquelle selbst und ihre Ansteuerung. Der zweite Aluminiumrahmen beherbergt die Prozesskammer für die indirekte Behandlung. Alle Steuerungskomponenten befinden sich in einem 19“ Gehäuse. Der verwendete Steuerrechner ist ein Industrierechner, der ebenfalls in einem 19“ Gehäuse untergebracht wurde und über eine als Schublade ausgeführte Bedienkonsole, bestehend aus Monitor, Tastatur und Mauspad, bedient werden kann. Die erforderlichen Medien wie Pressluft und Kühlwasser werden durch einen Kompressor und ein Kühlaggregat in der Anlage selbst erzeugt, so dass lediglich ein externer Stromanschluss erforderlich ist. So wurde sichergestellt, dass die Anlage überall mit den gleichen Parametern gefahren werden konnte. Das Konzept der Prozesskammer wurde gemeinsam mit dem Partner CZIOTEC ausgearbeitet und erste Skizzen lagen 2011 vor. Anfang 2012 wurde die Kammer fertig gestellt. Die mobile Versuchsanlage war im Dezember 2011 realisiert. Die an der stationären Anlage erarbeiteten Parameter wurden auf die mobile Anlage übertragen und

optimiert. Die von CZIOTEC gefertigte Prozesskammer wurde prozesstechnisch in den Aufbau integriert. Hierbei traten verschiedene Probleme (Korrosion, Dichtungsprobleme und Schichtenbildung in/ an der Kammer) auf. Diese wurden durch CZIOTEC durch Neufertigung in Edelstahl und Überarbeitung einzelner Komponenten gelöst. Die mobile Anlage wurde 2012 am INP und ATB (Transport der Anlage zum ATB für mehrere Tage) getestet und durch den Partner WILD GmbH genutzt.

Im Rahmen der Plasmadiagnostik wurden zur Messung verschiedener Plasmaparameter Messvorrichtungen an die stationäre Anlage adaptiert. Da sich die Messungen als sehr komplex abzeichneten, wurde das AP 1.2 verlängert. Zur Diagnostik wurden Massenspektrometrie, FTIR und optische Spektrometrie eingesetzt. Es ergab sich kein kausaler Zusammenhang zwischen den gemessenen Spezies und der antimikrobiellen Wirkung. Daher wurden alle weiteren Parametervariationen und –optimierung auf Basis der Mikrobiologie durchgeführt. Dies führte zum einen dazu, dass das Spektrum der wirksamen Agenzien nicht vollständig bestimmbar war und zum anderen zu einer erheblich aufwendigeren Mikrobiologie. Darüber hinaus gehörte ein Großteil der detektierbaren Spezies zu den reaktiven Stickstoffverbindungen (RNS), so konnten NO und NO₂ nachgewiesen werden. Daher wurde für die Diagnostik der NO₂-Konzentrationen ein spezieller NO₂-Sensor am INP entwickelt und in die mobile Plasmaanlage als auch in die Prozesskammer integriert.

Für die Diagnostik wurden ferner Parametervariationen in einem breiten Spektrum durchgeführt. So wurden zum Beispiel Konzentrationen von NO und NO₂ variiert, aber auch die Luftfeuchtigkeit, Behandlungszeit, der Gasfluss und die Anzahl der Zündungen betrachtet. Da wie bereits oben beschrieben die Diagnostik mittels Mikrobiologie stattfand, sind die Ergebnisse den AP2 und AP4 zu entnehmen.

Plasmadiagnostisch wurde nur das PLexc-Plasma direkt untersucht. Dazu wurden mittels optischer Emissionsspektroskopie (OES) angeregte Spezies vermessen. Diese Technik wurde ebenfalls zur Bestimmung der Rotationstemperatur im Plasma genutzt. MW-Interferometrie wurde zur Bestimmung der Elektronendichte eingesetzt. Massenspektrometrie und Fourier Transform Infrarotspektroskopie (FTIR) wurde zur Bestimmung der Zusammensetzung des Prozessgases verwendet.

Für die Anwendung des indirekten Plasmaverfahrens auf das frische Lebensmittel wurden im ersten Schritt Prozessfenster mittels artifiziellen Probekörpern erarbeitet. Anschließend wurde dieses Fenster auf Probekörper von Agarplatten bis hin zu ganzen Brokkolipaletten angewendet. Darüber hinaus waren auch die Fragestellungen sehr unterschiedlich, von der Inaktivierung von EHEC-Stämmen in S3-Laboren bis zur Verlängerung der Lagerzeiten. Die dabei untersuchte Produktpalette umfasste zahlreiche Obst- und Gemüsesorten (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: alle bisher untersuchten Kombinationen für die Plasmabehandlung mit PLe^{xc}[®], jeweils verschiedene Behandlungszeiten getestet

Gemüse/ Obst	Mikroorganismen
Apfel außen	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>L. innocua</i> , <i>P. marginalis</i> , <i>P. carotovorum</i> , <i>C. albicans</i> , <i>B. atrophaeus</i> Sporen
Apfel innen	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>L. innocua</i> , <i>P. marginalis</i> , <i>P. carotovorum</i> , <i>C. albicans</i> , <i>B. atrophaeus</i> Sporen
Erdbeere	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>L. innocua</i> , <i>P. marginalis</i> , <i>P. carotovorum</i> , <i>C. albicans</i> , <i>B. atrophaeus</i> Sporen
Blaubeere	<i>S. aureus</i>
Melone	<i>S. aureus</i>
Feldsalat	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>L. innocua</i> , <i>P. marginalis</i> , <i>P. carotovorum</i> , <i>C. albicans</i> , <i>B. atrophaeus</i> Sporen
Möhre	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>L. innocua</i> , <i>P. marginalis</i> , <i>P. carotovorum</i> , <i>C. albicans</i> , <i>B. atrophaeus</i> Sporen
grüner Spargel	<i>E. coli</i>
Brokkoli	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> , <i>L. innocua</i> , <i>P. marginalis</i> , <i>P. carotovorum</i> , <i>C. albicans</i> , <i>B. atrophaeus</i> Sporen

Die Inaktivierungs-/ Dekontaminationsversuche fanden unter unterschiedlichsten Bedingungen statt. Dabei waren die Sicherheitsstufen 1 bis 3 vertreten, aber auch Versuche außerhalb jeder Laborausstattung und Technik, zum Beispiel auf einem Transporter in einer Werkhalle. Darüber hinaus wurden umfangreiche Versuche bei/ mit den Projektpartnern durchgeführt. Gemeinsam mit dem ATB wurden Feldsalat, Äpfel, Möhren und Brokkoli untersucht, mit der WILD GmbH wurden 20 kg Heidelbeeren und 60 kg Pflaumen getestet. Ergebnisse dieser Versuche können den Zwischenberichten und Abschlussberichten der Partner entnommen werden. Da sich im Verlauf des Projektes, besonders mit der Möglichkeit größere Produktmengen zu behandeln, weitere Fragestellungen, insbesondere zur Produktqualität ergaben, wurde das Thema der Sensorik aufgegriffen. Hierzu wurden kleine Vorversuche mit dem Zentrum für Lebensmitteltechnologie (neu.zlt Neubrandenburg) durchgeführt.

AP2 Untersuchung der antimikrobiellen Wirkung von Niedertemperaturplasmen (NTP)

In diesem AP sollten in enger Kooperation mit dem Teilvorhaben B die Untersuchungen an Mikroorganismen begleitet und die in AP1 angesprochenen Plasmaquellen hinsichtlich ihrer antimikrobiellen Wirkung optimiert werden. Grundsätzlich sollten die mikrobiologischen Untersuchungen die Plasmadiagnostik unterstützen. Insbesondere beim indirekten Verfahren mit der Plasmaquelle PLe^{xc} musste die Mikrobiologie aber, wie unter AP1 beschrieben, einen wesentlich umfangreicheren Arbeitsaufwand zur Bewertung der Plasmaparameter, –variationen und –optimierung übernehmen als vorgesehen. Zu Beginn der Arbeiten standen das Design relevanter Probekörper und die Etablierung einer geeigneten Diagnostikmethode im Vordergrund. Zur besseren Vergleichbarkeit der mikrobiologischen Ergebnisse und zur Identifizierung des Prozessfensters sowie zur Variation von Plasmaparametern, wurden 2010 artifizielle Probekörper wie Glaskugeln, Glasspiralen, Glasplättchen, PE-Plättchen und Molsiebe untersucht. Am ATB wurden anschließend noch Gelmatrizes verwendet, um den natürlichen Produkt näher zu kommen. 2010 war dieser erste Arbeitspunkt abgeschlossen.

Eine Etablierung und Standardisierung der mikrobiellen Diagnostik (Kontamination, Elution und Keimzahlbestimmung) erfolgte nach dem Europäischen Arzneibuch 6.8 und nach EN 14561 sowie TS/ ISO 15883-5. Standardverfahren, wie Verdünnungsreihen und Spatelplattenmethode, wurden an die Fragestellung angepasst. Die etablierten Diagnostiken lassen sich auf die natürlichen Produkte und an allen beteiligten wissenschaftlichen Forschungsstellen anwenden und über Versuchsreihen ergebnisorientiert standardisieren. Dieses Arbeitspaket wurde 2011 abgeschlossen.

Nach der Festlegung der Probekörper und der Etablierung der Methoden zur Kontamination, Elution und Keimzahlbestimmung erfolgten die Untersuchungen an Standard-Testorganismen, sogenannten Bioindikatoren. Alle Untersuchungen am INP fanden ausschließlich mit der Plasmaquelle PLexc statt. Am INP gab es zu Projektbeginn nur ein kleines Spektrum an Mikroorganismen, welches aber die gesamte Breite der mikrobiellen Flora abdeckte. Untersucht wurden *Bacillus atrophaeus* in sporulierter Form, *Escherichia coli* K-12, *Staphylococcus aureus* und in Kooperation mit der HygCen GmbH (Schwerin) mit *Aspergillus brasiliensis* ebenfalls in sporulierter Form. Im Projektverlauf wurde am INP das Spektrum an Mikroorganismen stark erweitert, so dass auch lebensmittelrelevantere Mikroorganismen betrachtet werden konnten. Die Bioindikatoren zeigten frühzeitig ein erwartetes Ergebnis. Je resistenter und komplexer der Mikroorganismus, desto längere Behandlungszeiten bzw. höhere Dosen an RNS waren zur Inaktivierung erforderlich. Ab 2011 wurden die Standard-Testorganismen auch auf pflanzlichen Probekörpern untersucht.

2011 wurde am INP das Spektrum der Mikroorganismen um *Listeria innocua*, *Pseudomonas marginalis* und *Pectobacterium carotovorum* erweitert. Des Weiteren fanden in Zusammenarbeit mit mikrobiologischen Laboren der Sicherheitsstufe 3 Untersuchungen an den EHEC-Stämmen O157:H- und O104:H4 statt. In allen Untersuchungen konnte das entsprechende Bakterium signifikant reduziert werden. Hierbei war ein deutlicher Einfluss der Prüfmatrix, der Zeit und des Stammes zu beobachten.

2013 wurde zum Abschluss des Projektes das Spektrum nochmals um *Pseudomonas fluorescens*, *Listeria monocytogenes* und *Salmonella* sp. erweitert.

Eine Eingrenzung und Beschreibung relevanter Wirkmechanismen war während der Projektlaufzeit nur bedingt möglich. In der Gasphase des Mikrowellenplasmas PLexc konnte ein hoher Anteil an metastabilen und stabilen RNS und ROS nachgewiesen werden. Diese haben eine antimikrobielle Wirkung. Hingegen sind antimikrobielle Effekte durch VUV/UV-Strahlung, Temperatur und sehr kurzlebige Ionen/ Radikale auf Grund der Versuchsanordnung auszuschließen. So konnte das Prozessgas auch ohne Wirkungsverlust über eine 2 m lange Schlauchleitung den Proben zugeführt werden. Durch diese Eigenschaft wird die Anwendbarkeit des Verfahrens in industriellen Prozessen deutlich erhöht. Auf Grund der komplexen Plasma/ Gas-Flüssigkeitswechselwirkungen und -reaktionswege sowie einer beschränkten Möglichkeit zur Identifikation, können über ein Ausschlussprinzip neue Erkenntnisse gewonnen werden. Ein Großteil der antimikrobiellen Wirkung des untersuchten Mikrowellenplasmas wird den Radikalen NO* und NO₂* in Kombination mit einer Ansäuerung zugeschrieben. Auf Grund von Untersuchungen mit HNO₂ und HNO₃ in vergleichbaren

Konzentrationen kann eine Ansäuerung als ausschließlich wirkender Mechanismus ausgeschlossen werden. Weiterführende Untersuchungen mittels FTIR Spektroskopie haben als zusätzliche Komponente N_2O_4 identifiziert.

AP3 Einfluss auf Qualitätsparameter pflanzlicher Lebensmittelsysteme

In Kooperation mit Teilprojekt C wurde die pflanzliche Reaktion auf die Plasmaeinwirkung untersucht. Hierbei standen die Optimierung der Plasmaquellen und der Plasmadiagnostik im Vordergrund.

Am INP wurden hierzu nur einfachste Untersuchungen durchgeführt. Zum einen wurde die Auskeimungsfähigkeit von Rapssamen nach einer Plasmabehandlung im mikrobiologisch relevanten Prozessfenster mit der von unbehandelten Rapssamen verglichen. Dabei wurde keine Beeinträchtigung der Auskeimfähigkeit festgestellt. Zum anderen wurden die frischen Lebensmittel nach einer Plasmabehandlung optisch mit unbehandelten Produkten verglichen. Für Apfel, Gurke und Tomate konnte kein Einfluss festgestellt werden, für Brokkoli, Salat und Möhre hingegen schon. Erste Versuche mit dem Zentrum für Lebensmitteltechnologie in Neubrandenburg zeigen eine starke Abhängigkeit zwischen dem Einfluss auf die Produktmatrix und der Behandlungszeit. Diese Einflüsse sind sowohl optisch als auch olfaktorisch vorhanden und sind produktspezifisch. Hier bedarf es einer weiteren Prozessoptimierung.

AP4 Monitoringsysteme zur Prozess- und Qualitätsüberwachung

Inaktivierungskinetiken wurden für alle untersuchten pflanzlichen Probenkörper mit den genannten Mikroorganismen aufgezeichnet. Die Tabelle 1 zeigt alle untersuchten Kombinationen. Die Ergebnisse wurden teilweise 2013 zur Publikation in referierten wissenschaftlichen Journalen eingereicht. Die erhaltenen Ergebnisse der artifiziellen Prüfkörper Glaskugel, Glasspirale und Molsieb, sowie Saatgut als Zwischenstufe zwischen artifiziellen Probenkörpern und komplexer biologischer Matrix wurden in den Publikationen 2012 (siehe unten) zusammengefasst.

Ein wichtiger Prozessparameter ist die Feuchtigkeit, insbesondere im Prozessraum verursacht z.B. durch Restfeuchte infolge eines vorgeschalteten Waschprozesses. Durch die typischerweise gepulste Betriebsart des verwendeten MW-Torchplasmas führen kommerzielle Messfühler zu Fehlmessungen und können durch die Kondensation am Messfühler den Prozessablauf stören. Daher wurde ein an diese Messbedingungen angepasster Fühler aufgebaut und getestet.

Ein weiterer wichtiger Verfahrensparameter für die Sicherstellung des korrekten Verfahrensablaufes ist der NO_2 -Gehalt. Kommerzielle Messfühler orientieren sich an dem für MAK-Untersuchungen relevanten Messbereich. Daher musste für die Prozessanforderungen ein eigener Detektor auf Basis einer Absorptionsstrecke aufgebaut werden. Der Sensor wurde fertig gestellt und getestet.

2. wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Wichtigste Positionen des zahlenmäßigen Nachweises waren im Projektzeitraum die Kosten für Personal (143.000,00 €) und bei den Sachkosten optische Geräte für ca. 3000,00 € sowie für Reisen (Projekttreffen, Konferenzen, Versuche mit Projektpartnern).

3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die innerhalb des Projektes geleisteten Arbeiten waren notwendig, um die grundsätzliche Anwendbarkeit der verschiedenen Plasmatechnologien auf frische Lebensmittel zu untersuchen. Hierzu lagen keine Erkenntnisse vor. Um ein möglichst breites Parameterspektrum abdecken zu können, wurden zwei völlig unterschiedliche Plasmaverfahren eingesetzt. Die Ergebnisse wurden und werden in wissenschaftlichen Journalen publiziert, um nicht nur den beteiligten Projektpartnern sondern der breiten wissenschaftlichen Öffentlichkeit als Orientierung für weitere Arbeiten und Projekte zu dienen. Die Arbeiten wurden innerhalb des Projektbudgets durchgeführt. Hierzu wurden intensiv synergistische Effekte durch die enge Zusammenarbeit insbesondere mit dem ATB sowie die räumliche Nähe zur CZIOTEC GmbH ausgenutzt, um Projektarbeiten kosten- und zeiteffizient umzusetzen. Dazu wurde auch die Infrastruktur der Institute intensiv genutzt.

4. Verwertbarkeit

Ziel des Projektes war es, die zu Projektbeginn vorliegenden Erkenntnisse zur antimikrobiellen Wirkung der Plasmabehandlung um spezifische Erkenntnisse bei der Behandlung von Frischeprodukten zu erweitern und damit einer industriellen Anwendung näher zu kommen. Durch die erwarteten und erzielten wissenschaftlichen und technischen Projektergebnisse zur Erzeugung, Optimierung und Steuerung der untersuchten Plasmaprozesse sollten sich eine ganze Reihe neuer innovativer Anwendungen ergeben, die weit über den Einsatz an den angeführten Lebensmitteln hinausgehen. Dies wurde mit der Beantragung und Förderung thematisch fortführender Projekte (SafeFresh 13N12428, Ei-Schale 17717 BR/2, LeguAN: UAN des ATB (FKZ 2815407510)) und dem Beitritt zum Netzwerk Plasma4Food (FKZ 16KN017402) erreicht. Da einer industriellen Verwertung der Ergebnisse aus dem Projekt u. U. Sicherheitsbedenken bzw. rechtliche Gründe entgegenstehen könnten und dies von interessierten Firmen vermehrt angefragt wurde, wurde zum einen in Zusammenarbeit mit der DFG Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln eine Stellungnahme erarbeitet [9]. In Zusammenarbeit mit dem Netzwerk Plasma4Food und juristischer Unterstützung wurden ebenfalls Gespräche mit dem BMELV sowie Vertretern der Bundesinstitute BfR und MRI hinsichtlich der Zulassungsfragen geführt. Ferner wurden, wie angestrebt, Veröffentlichungen in referierten wissenschaftlichen Journalen und Publikationen in allgemeinverständlichen Medien veröffentlicht (siehe unten). Darüber hinaus wurden die Forschungsergebnisse, unter Berücksichtigung der Interessen der beteiligten Industriepartner, in

Vorlesungen an den Hochschulen in Greifswald und Rostock sowie der Fachhochschule in Stralsund integriert.

5. wissenschaftlicher und technischer Fortschritt während des Vorhabens

Durch die Untersuchungen sind diverse Erkenntnisse über die Wechselwirkung zwischen den verschiedenen plasmagenerierten Wirkkomponenten und der pflanzlichen Matrix erzielt worden. Aufgrund der Komplexität der Interaktionen sind diese Ergebnisse nicht abschließend zu betrachten, sondern definieren den zukünftigen Forschungsbedarf. Diesen zu leisten erscheint auf Basis der ersten praktischen Erfolge auf der einen Seite sowie den zunehmenden hygienischen Herausforderungen in der Ernährungsindustrie auf der anderen Seite dringend geboten. International werden die Thematik und Ansätze auch von anderen wissenschaftlichen Gruppen aufgenommen. So wurden inzwischen zwei Patente offen gelegt, US2010/0254853 A1 und US 2010/0166603 A1, die ähnlich unserem Remote Plasmaverfahren Wirkgase verwenden, die Stickoxide enthalten. Keines der beiden Patente beschreibt Verfahrensschritte, die zu der schnellen Dekontamination führen, die wir mit unserem Verfahren gezeigt haben.

Darüber hinaus sind derzeit keine F&E-Ergebnisse Dritter bekannt geworden, die für die Durchführung des Vorhabens relevant sind.

6. Veröffentlichungen

2009 Gremien

Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM), Beratung, Berlin, 18.12.2009

2010 Tagungen

Ehlbeck, J.; Schlüter O.: Projektpräsentation „FriPlas“. Auf dem parlamentarischen Abend, Berlin/Germany 2010 als Vortrag.

2010 Vorlesungen

Vorlesung an der FH-Stralsund: Plasmatechnologie

2010 Gremien

Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM), Beratung, Wien, 01.03.2010

Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM), Beratung, Berlin, 9.12.2010

2011 Publikationen

Baier, M.; **Schnabel, U.**; Schlüter, O. (2011a): Mit angewandter Plasma-Physik zu mehr Sicherheit bei Obst und Gemüse. Rundschau für Fleischhygiene und Lebensmittelüberwachung 63, 332-333

Baier, M.; Görgen, M.; Fröhling, A.; Geyer, M.; Herppich, W.; **Ehlbeck, J.**; Knorr, D.; Schlüter, O. (2011b): Fresh produce decontamination by an atmospheric pressure plasma-jet. Proc. 11th ICEF 3, 1643-1644

Grzegorzewski, F.; **Ehlbeck, J.**; Schlüter, O.; Kroh, L.W.; Rohn, S. (2011): Treating lamb`s lettuce with a cold plasma - Influence of atmospheric pressure Ar plasma immanent species on the phenolic profile of Valerianella locusta. LWT Food Sci. Technol. 44, 2285-2289

2011 Tagungen

Schnabel, U.; **Ehlbeck, J.**; von Woedtke, Th.; Weltmann, K.-D.: Use of non-thermal plasma for decontamination. Auf der III. Zukunftskonferenz FOOD, Witten/Deutschland 2011 als Poster.

Schnabel, U.; Schlüter, O.; Weltmann, K.-D.; **Ehlbeck, J.**: FRIPLAS: Anwendung von Plasmaverfahren zur schonenden Haltbarmachung von Lebensmittelprodukten. Auf der III. Zukunftskonferenz FOOD, Witten/Deutschland 2011 als Poster.

2011 Vorlesungen

Vorlesung an der FH-Stralsund: Plasmatechnologie

2011 Gremien

Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM), Beratung, Berlin,
22.08.2011

Senatskommission zur gesundheitlichen Bewertung von Lebensmitteln (SKLM), Beratung, Hannover,
19.10.2011

2012 Publikationen

U. Schnabel, R. Niquet, U. Krohmann, M. Polak, O. Schlüter, K.-D. Weltmann, **J. Ehlbeck** (2012a)
Decontamination of microbiologically contaminated seeds by microwave
driven discharge processed gas. Journal of Agricultural Science and Application 1, 100-106

U. Schnabel, R. Niquet, U. Krohmann, J. Winter, O. Schlüter, K.-D. Weltmann, **J. Ehlbeck** (2012b)
Decontamination of Microbiologically Contaminated Specimen by Direct and Indirect Plasma
Treatment. Plasma Process. Polym. 9, 569–575

A. Fröhling, M. Baier, **J. Ehlbeck**, D. Knorr, O. Schlüter (2012) Atmospheric pressure plasma
treatment of *Listeria innocua* and *Escherichia coli* at polysaccharide surfaces: Inactivation kinetics and
flow cytometric characterization. Innovat. Food Sci. Emerg. Tech. 13, 142-150

2012 Tagungen

Ehlbeck, J.: Plasmatechnik in der Lebensmittelindustrie - eine kurze Einführung. Technologie-
Workshop "Plasma plus Lebensmittel". Duisburg/ Deutschland, Dezember 2012, Vortrag

Schnabel, U.; Theel, Ch.: Cooperation network Plasma4Food. Conference of Novel Technologies for
Surface Sterilization, Freising/ Deutschland, November 2012, Vortrag

Schnabel, U.; **Ehlbeck, J.:** Plasmatechnik zur Wasseraufbereitung und Produktdekontamination.
DLG-Fachtagung Bewässerung, Güstrow/ Deutschland, Juni 2012, Vortrag

Schnabel, U.; Oehmigen, K.; Krohmann, U.; Naujox, K.; Schmitt, O.; Steinmetz, I.; **Ehlbeck, J.;** von
Woedtko, Th.; Weltmann, K.-D.: Inactivation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) by non-
thermal atmospheric pressure plasmas. 4th ICPM, Orleans/France 2012, Poster

2012 Vorlesungen

Vorlesung an der FH-Stralsund: Plasmatechnologie

2013 Publikationen

Baier, M.; Foerster, J.; **Schnabel, U.**; Knorr, D.; **Ehlbeck, J.**; Herppich, W.B.; Schlüter, O.: Direct non-thermal plasma treatment for the sanitation of fresh corn salad leaves: Evaluation of physical and physiological effects and antimicrobial efficacy. *Postharvest Biology and Technology* 2013, 84: 81–87 (DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.03.022>)

O. Schlüter, **J. Ehlbeck**, C. Hertel, M. Habermeyer, A. Roth, K.-H. Engel, T. Holzhauser, D. Knorr, G. Eisenbrand: Opinion on the use of plasma processes for treatment of foods. *Molecular Nutrition & Food Research* 2013, 57: 920-927. (DOI: 10.1002/mnfr.201300039)

U. Schnabel, K. Oehmigen, K. Naujox, U. Krohmann, E. Kindel, O. Schmitt, O. Schlüter, K.-D. Weltmann, Th. von Woedtke, **J. Ehlbeck**: Inactivation of *Escherichia coli* K-12 and enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) by atmospheric pressure plasma. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 2013, eingereicht

U. Schnabel, U. Krohmann, K.-D. Weltmann, **J. Ehlbeck**: Inactivation of vegetative microorganisms and *Bacillus atrophaeus* spores by reactive nitrogen species (RNS). *Plasma Processes and Polymers* 2013, eingereicht

U. Schnabel, R. Niquet, O. Schlüter, H. Gniffke, **J. Ehlbeck**: Decontamination and sensory properties of microbiologically contaminated fresh fruits and vegetables by microwave plasma processed air (PPA). *Journal of Food Processing and Preservation* 2013, eingereicht

Baier, M.; Görgen, M.; **Ehlbeck, J.**; Knorr, D.; Herppich, W.B.; Schlüter, O.: Non-thermal atmospheric pressure plasma: Screening for gentle process conditions and antibacterial efficiency on perishable fresh produce. *Food and Bioprocess Technology* 2013, eingereicht

2013 Tagungen

Ehlbeck, J.: Atmosphärendruckplasmen - Neue Verfahren zur Oberflächendekontamination von Lebensmitteln und Verpackungen. InterLabTec, München/Germany, März 2013, eingeladener Vortrag

Ehlbeck, J.: Atmosphärendruckplasmen in der Lebensmittelindustrie - Stand und Herausforderungen.
ak-adp: 15. Workshop Aktuelle Trends in der Oberflächenfunktionalisierung mit
Atmosphärendruckplasmen, Jena/Germany, Februar 2013, eingeladener Vortrag

2013 Vorlesungen

Vorlesung an der FH-Stralsund: Plasmatechnologie

Referenzen

- 1) Lerouge, S.; Wertheimer, M. R.; Yahia L`H. (2001) Plasma Sterilization: A Review of Parameters, Mechanisms, and Limitations. *Plasma and Polymers*, 6, 175-188
- 2) Laroussi, M. (2005) Low Temperature Plasma-Based Sterilization: Overview and State-of-the Art. *Plasma Process Polym.*, 2, 391-400
- 3) Laroussi, M. (2002) Nonthermal decontamination of biological media by atmospheric pressure plasmas: review, analysis and prospects. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 30, 1409-1415
- 4) Moisan, M.; Barbeau, J.; Moreau, S.; Pelletier, J.; Tabrizian, M.; Yahia, L`H. (2001) Low-temperature sterilization using gas plasmas : a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. *Int. J. Pharm.*, 226, 1-21
- 5) Stoffels, E.; (2007) "Tissue Processing" with Atmospheric Plasmas. *Contrib. Plasma Phys.*, 47, 1-2, 40 – 48
- 6) Soloshenko, I. A. et al. (2000) Sterilization of medical products in low pressure glow discharges. *Plasma Physics Reports*, 26, 792-800
- 7) Moisan, M.; Barebau, J.; Crevier, M.-C.; Pelletier, J.; Philip, N.; Saoudi, B. (2002) Plasma sterilization: methods and mechanisms., *Pure Appl Chem*, 74, 349-358
- 8) Odic, E.; et al. (2002) Plasma sterilization technologies and processes. *High Temperature Material Processes*, 6, 385-396
- 9) Schlüter, O.; Ehlbeck, J.; Hertel, C.; Habermeyer, M.; Roth, A.; Engel, K.-H.; Holzhauser, T.; Knorr, D.; Eisenbrand, G. (2013) REPORT: Opinion on the use of plasma processes for treatment of foods. *Mol. Nutr. Food Res.*, 57, 920–927 (DOI 10.1002/mnfr.201300039)

Zusammenfassung zu Schlussbericht „Friplas“

Zuwendungsempfänger: Leibniz Institut für Plasmaforschung und Technologie e. V. (INP Greifswald e.V.)	Förderkennzeichen: 2816300707
Vorhabensbezeichnung: Anwendung von Plasmaverfahren zur schonenden Haltbarmachung am Beispiel leichtverderblicher Lebensmittelprodukte in der Nachernte (Akronym: FriPlas) <i>Teilvorhaben A: Verfahrenskonzeption und technische Umsetzung</i>	
Laufzeit des Vorhabens:	15.10.2009 – 28.02.2013
Berichtszeitraum:	15.10.2009 – 28.02.2013

Autoren: Uta Schnabel, Jörg Ehlbeck

Das INP hatte die Aufgabe, ein Atmosphärendruck-Plasmaverfahren bei niedrigen Temperaturen zur mikrobiologischen Dekontamination unter Berücksichtigung der Produktqualität zu erarbeiten, zu optimieren und plasmadiagnostisch zu charakterisieren.

Hierzu wurde eine mikrowellenbasierte-Plasmatechnologie zunächst auf kleine Produktmengen adaptiert, konnte dann durch Integration einer Reaktionskammer (45 l) für größere Produktmengen (z.B. 60 kg Pflaumen) erweitert werden. Dieses Labormuster wurde mobil und bis auf einen Stromanschluss autark gestaltet. Die wichtigsten Parameter wurden mittels eigener Sensoren überwacht. Die mikrobiologische Effektivität wurde an verschiedenen Prüfkörpern (Glas, Ton, Obst, Gemüse) für Bioindikatoren und lebensmittelrelevante Mikroorganismen nachgewiesen. Für die meisten Mikroorganismen wurden Reduktionsfaktoren > 5 log erzielt. Die Produktqualität hinsichtlich Inhaltsstoffen und Verarbeitungsfähigkeit wurden in Kooperation mit den Partnern WILD GmbH, ATB Potsdam-Bornim und der TU Berlin untersucht. Zusammen mit dem zlt Neubrandenburg wurde die Sensorik plasmabehandelter Produkte betrachtet.

Aufbauend auf Ergebnissen und Kontakten aus dem Projekt konnten weitere Projekte (SafeFresh 13N12428, LeguAN (UAN), Ei-Schale 17717 BR/2) generiert und die neoplas GmbH beim Aufbau des Netzwerks Plasma4Food maßgeblich unterstützen werden.

Die Ergebnisse wurden in Publikationen sowie in Vorträgen und Postern veröffentlicht und fließen in Vorlesungen ein.