

Inaktivierung von unerwünschten Mikroorganismen durch Frequenzentkeimung

Im Vortrag wird über neue Möglichkeiten der Inaktivierung von pathogenen Mikroorganismen in Vitro- Versuchen berichtet. Zu Anwendungen des Verfahrens in der Medizin kann nachfolgend keine Aussage getroffen werden, da das Forschungsvorhaben ausschließlich technische Anwendungen untersucht.

0. Vorbemerkung

Die gegenwärtige Situation im Gesundheitswesen ist einerseits von Fortschritten in den diagnostischen und therapeutischen Methoden geprägt, andererseits werden zunehmend Probleme der Ausbreitung von resistenten Krankheitserregern registriert, die nur schwer zu kontrollieren sind und eine Herausforderung insbesondere für die Hygiene und Infektionsprophylaxe darstellen.

Die zunehmende Globalisierung bei der Lebensmittelproduktion und die daraus erwachsenen erhöhten Anforderungen an die Verlängerung der Haltbarkeit von Produkten und die Verminderung von Lagerungs- und Transportverlusten sind ebenso wie die gestiegenen Standards des Verbraucherschutzes Faktoren, welche eine Verbesserung der Lebensmittelhygiene erfordern.

Zur Keimverminderung und Haltbarkeitsverbesserung von Lebensmitteln werden Alternativen zum Einsatz von Pflanzenschutzmitteln und Konservierungsstoffen von wachsender Bedeutung sein. Insbesondere durch neue EU-Gesetze mit Grenzwertfestlegungen werden Produzenten und Handel vor erhöhte Anforderungen gestellt. So müssen Obst- und Gemüseproduzenten sowie landwirtschaftliche Erzeuger nach neuen Möglichkeiten suchen, um ihre Erträge weiterhin stabil zu halten und die Kosten für Lagerung und Transport zu senken.

Eine durch aktuelle Forschungsergebnisse verstärkt in Grundlagen- und Anwendungsforschung präsente Tendenz ist die Anwendung physikalischer Verfahren zur Einflussnahme auf Mikroorganismen. Damit werden alternative oder ergänzende Verfahren zur chemischen Bekämpfung von unerwünschten Mikroorganismen möglich.

Sowohl Erfahrungen mit der mikrobiologischen Qualitätskontrolle von Lebensmitteln als auch vorangegangene eigene Arbeiten zur Anwendungsforschung auf diesem Gebiet gaben den Anstoß für praktische Arbeiten zur Erforschung und Nutzbarmachung von neuen Techniken zur Bekämpfung von Krankheitserregern, Pflanzenschädlingen und Lebensmittelverderbern.

1. Ziel des Forschungsvorhabens

1.1 Allgemeine Zielvorgaben

Ziel des Forschungsvorhabens ist es, neue Möglichkeiten der Bekämpfung von pathogenen Mikroorganismen und parasitischen Schädlingen aufzufinden und zu erproben. Es sollen Beiträge zur Keimverminderung und zur Schädlingsbekämpfung entwickelt werden, die den geltenden nationalen und internationalen Gesetzen entsprechen, den Einsatz von chemischen Konservierungsstoffen oder Schädlingsbekämpfungsmitteln sowie Bestrahlungstechnologien vermindern oder vermeiden und zu einer Verbesserung der Haltbarkeit oder des Pflanzenwachstums beitragen. Dabei soll ausdrücklich nicht auf gentechnische Veränderung der Lebensmittel oder der Pflanzen zurückgegriffen werden. Die neuen Verfahren sollen umweltfreundlich in der Anwendung und preiswert in den Anlagenkosten und im Betrieb sein und sich technologisch in bestehende Produktionsprozesse gut integrieren lassen.

Im Besonderen ist es das Ziel des Forschungsvorhabens, mit einer neuen Form bzw. einer Kombination von physikalischen Feldwirkungen Wachstum, Vitalität und Virulenzeigenschaften von Mikroorganismen zu beeinflussen.

Die gezielte Anwendung von Feldern bestimmter Frequenzbereiche soll auf spezifische molekulare und zelluläre Eigenschaften bestimmter Organismengruppen wirken. Damit wird die Möglichkeit einer selektiven Inhibierung oder Inaktivierung angestrebt.

Dabei soll mit den Mitteln eines mikrobiologischen Labors eine strukturell oder physiologisch hemmende bzw. toxische Beeinflussung der unerwünschten Mikroflora auf Lebensmitteln, Pflanzen oder anderweitigen Trägermaterialien untersucht werden. Der Behandlungsprozess soll so optimiert werden, dass eine nachteilige Beeinflussung der verbraucherrelevanten Eigenschaften ausgeschlossen oder minimiert wird. Dazu werden in der Folge sensorische und gegebenenfalls lebensmittelchemische Prüfungen erforderlich.

Anhand von Versuchsreihen sollen die Parameter für die Behandlung der wichtigsten Zielorganismen ermittelt werden.

1.2 Methodische Grundlagen zur Wirksamkeit

An Reinkulturen von ausgewählten relevanten Mikroorganismen (Bakterien und Pilze) als Modelle wird die Wirksamkeit von oszillierenden Feldern verschiedenen Typs erprobt. Von bereits beschriebenen historischen Erfahrungen ausgehend, soll exemplarisch das Prinzip einer gezielten Beeinflussung zur Anwendung gebracht und eine reproduzierbare Datengrundlage erarbeitet werden.

Dazu werden in einem ersten Schritt die aus der Literatur bekannten unterschiedlichen Methoden zur Einbringung oszillierender Felder in biologische Materialien - wie z. B. oszillierende Magnetfelder, elektrostatische Felder und Ultraschallfelder - auf ihre Wirksamkeit hin untersucht. Ziel dieses ersten Abschnittes ist es, ein Verfahren zur Einflussnahme auf Mikroorganismen mittels oszillierender Felder zu finden.

1.3 Ermittlung spezifischer Parameter

In einer weiteren Etappe soll, unter Verwendung der optimierten Versuchsanordnung zur Einbringung oszillierender Felder in das Versuchsgut, ein breiteres Spektrum an Zielorganismen auf seine Sensitivität untersucht werden.

Ausgehend von den Ergebnissen der ersten Versuchsphase werden differenzierte Verfahren an die jeweiligen Zielgruppen angepasst. Im Ergebnis wird eine Zuordnung von anwendbaren Anlagen und Prozeduren für verschiedene relevante Gruppen angestrebt. Dabei werden die Dauer und die qualitativen Charakteristika der Beeinflussung, der Einfluss des Energieeintrags, der Wellenform, Amplituden- und Phasenmodulation untersucht und dokumentiert.

Soweit sich für unterschiedliche Populationen an Mikroorganismen unterschiedliche Anforderungen an das Verfahren ergeben haben, werden für diese Verfahren jeweils einzeln die vorgenannten Untersuchungen vorgenommen. Ergebnis dieser Etappe sollen anwendbare Vorgaben sein, mit welcher Vorrichtung und welchen Frequenzen sich Mikroorganismen am besten im Wachstum beeinflussen oder abtöten lassen.

1.4 Prüfung der Übertragbarkeit auf potentielle Anwendungsgebiete

Um die Möglichkeiten einer angestrebten Anwendung in den Bereichen Lebensmitteltechnologie, Desinfektion und Sterilisation zu erproben, sollen die erzielten Ergebnisse auf Gegebenheiten übertragen werden, die den praktischen Erfordernissen angenähert sind. Unter Laborbedingungen werden wesentliche Parameter vorgegeben, die zeigen sollen, dass sich das Verfahren technologisch umsetzen lässt. Dabei können sich für unterschiedliche Einsatzbereiche verschiedene Verfahren oder Kombinationen der untersuchten Verfahren ergeben.

1.5 Überprüfung von Auswirkungen auf die Produktqualität

In einem letzten Schritt in dieser Forschungsarbeit soll überprüft werden, inwieweit die entwickelte Methode ohne wesentliche Beeinträchtigung der Produkteigenschaften (z. B. Geruch und Geschmack von Lebensmitteln) wirksam angewandt werden kann.

in diesem Zusammenhang ist beispielsweise zu klären, inwieweit eine schädliche Beeinflussung der in Molkereiprodukten vorhandenen essentiellen Kulturen stattgefunden hat bzw. wie man eine solche verhindern kann. Damit soll sichergestellt werden, dass die prinzipiell wirksame Verfahrensform auf potentielle Anwendungsgebiete übertragbar wird. Grundsätzlich ließe sich dann die Anwendung und auch neue Gebiete ausdehnen.

2. Internationaler Stand der Forschung und Technik

Die Untersuchung und Anwendung der Grundprinzipien wie der exemplarischen Verfahren befindet sich bisher im Bereich der Forschung. Daher kann im Weiteren nur auf den Stand der Forschung eingegangen werden. Eine allgemeine technische Anwendung ist zur Zeit nicht bekannt.

2.1 Wissenschaftliche Literatur

Die Beeinflussung von biologischen Strukturen mittels elektromagnetischer oder akustischer Felder ist ein aktuelles Forschungsgebiet, das bereits seit Jahren intensiv bearbeitet wird. (z. B. Panagopoulos et al. 2000).

Für das Vorhaben bedeutsame Arbeiten beziehen sich auf die Erforschung von Eigenschaften biologischer Molekülstrukturen, Zellen und kompletter (Mikro-)Organismen, die eine Wechselwirkung mit solchen Feldern ermöglichen. Aktuelle Grundlagenforschung wird derzeit beispielsweise von Otto F. Sankey, Arizona State Univ., veröffentlicht. Im Rahmen von Arbeiten, wie sich Schwingungen viraler Partikel zur Charakterisierung ihrer Eigenschaften heranziehen lassen, sind Versuche zur Beeinflussung von AIDS-Viren durch gepulste Laservibrationen vorgenommen worden. In der Zeitschrift *PM 01/2009* wurde bereits mitgeteilt, dass es den Forschern um Prof. Sankey gelungen sei, mittels Laservibrationen AIDS-Viren in Resonanz zu versetzen und sie somit zum "Zerplatzen" zu bringen. Im Moment werde daran gearbeitet, diese Krankheitserreger auch im menschlichen

S

Körper abtöten zu können. Allerdings könne das "gebündelte Licht bisher noch nicht tief genug in den menschlichen Körper eindringen".

In der Veröffentlichung der Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition vom Juni 2000 wird die "Kinetik der Inaktivierung von Mikroorganismen für alternative Methoden zur Nahrungsmittelkonservierung durch oszillierende Magnetfelder" untersucht. Dabei wurden sowohl statische als auch oszillierende magnetische Felder sowohl mit konstanten als auch mit modulierenden Amplituden in verschiedenen Wellenformen untersucht und Lebensmittel oszillierenden Magnetfeldern ausgesetzt (Barbosa-Canovas 1998).

Hoffmann (Deaktivierung von Mikroorganismen durch ein oszillierendes Magnetfeld, US Patent 4524079) berichtete über die Inaktivierung von Mikroorganismen mit oszillierenden Magnetfeldern in Milch, Joghurt, Orangensaft, Brötchen und Teig. Zur Erklärung der Mechanismen zur Inaktivierung von Mikroorganismen durch oszillierende Magnetfelder werden in der FDA-Studie mehrere Theorien angeführt.

Arbeiten von San-Martin et al. Washington State University, Biological Systems Engineering, 1999 zeigen, dass schwache elektromagnetische Frequenzen über Resonanzerscheinungen an Stoffwechselveränderungen in den Mikroben beteiligt sind.

Nach dem Bericht der FDA aus dem Jahr 2000 konnte die Wirkungsweise der Beeinflussung von Mikroorganismen durch oszillierende magnetische Felder noch nicht eindeutig geklärt werden. Es wird in der Studie noch ein erheblicher Forschungsbedarf reklamiert.

Die Analyse der Vielzahl von vorgeschlagenen Modellen für Wechselwirkungen in Sheppard et al 2008 ergab Hypothesen, jedoch noch keine schlüssigen Beweise für Mechanismen außer der lokalen Erhitzung.

Eine weitere Veröffentlichung der FDA befasst sich mit den Möglichkeiten der Inaktivierung von Mikroorganismen durch gepulste elektrische Felder. Sie vermeidet oder reduziert die nachteiligen Veränderungen der sensorischen und physikalischen Eigenschaften von Lebensmitteln (Quass,1997). Studien über den Energieverbrauch des PEF(pulsed electric fields)-Verfahrens zeigen auch, dass dieses Verfahren wesentlich effizienter im Vergleich zur thermischen Pasteurisierung ist. Bei mehreren amerikanischen Lebensmittelherstellern wurden bereits Tests über die Verbesserung der Haltbarkeit bei Brot, Milch, Orangensaft, Eiern, Getränken usw. mit Erfolg durchgeführt.

Trotz der bislang ermutigenden Ergebnisse mit PEF kommt FDA zu dem Schluss, dass auch bei diesen Verfahren noch erheblicher Forschungsbedarf besteht. So kann z. B. die Zahl der Mikroorganismen in Lebensmitteln eine Auswirkung auf den Erfolg der Inaktivierung mit elektrischen Feldern haben. Außerdem sind grampositive Bakterien resistenter gegen PEF als gramnegative. Zudem verursacht die Anwendung der PEF zur Lebensmittelkonservierung einen Anstieg der Temperatur in den Lebensmitteln.

Nach Ansicht der FDA steht auch der Ultraschall-Technologie ein breites Spektrum von aktuellen und zukünftigen Anwendungen in der Lebensmittelindustrie offen. Bekannt ist, dass gramnegative Krankheitserreger in Lebensmitteln tierischen Ursprungs, wie z. B in Geflügel und Milch (Lillard 1994), abgetötet werden konnten. Lee et al. (1989) konnten zeigen, dass Populationen von Salmonellen in Milch und milchhaltigen Getränken durch Ultraschallbehandlung erheblich reduziert werden. Ordonez et al. (1984) kombinierten Ultraschall mit einer Impulsheizung und konnten somit Streptococcus in Lebensmitteln abtöten.

Nach Veröffentlichungen zum Einsatz von Ultraschall zur Lebensmittelkonservierung kann der Einsatz von Ultraschall die Wirksamkeit anderer Methoden erheblich verbessern.

In der Behandlung von Wasser und Abwasser ist Ultraschall ein diskutiertes Verfahren zur Entkeimung bzw. Keimreduzierung. Zur Reinigung und Entkeimung von Rohrleitungen und Siphonen wird z. B. in den Patenten DE 2747922A1 und US 3175567 Ultraschall verwendet. Aber auch in Kombination mit ultraviolettem Licht wird Ultraschall zur Reinigung und Entkeimung benutzt (DE 29509210 U1). In Schwimmbädern kann durch den Einsatz von Ultraschall das Chlor im Wasser um 80% reduziert werden (TU Hamburg Prof. Uwe Neis, Fa. U Itrawaves).

2.4 Auswahl von Patenten zum Thema Frequenzentkeimung

US-Patent 3368155:

Apparat zur Erzeugung zelldurchdringender Strahlen. Es werden Impulse zwischen 1 und 100 Tesla mit einer Frequenz zwischen 5 und 1000 KHz erzeugt. Das gepulste Magnetfeld inaktiviert gezielt maligne Zellen.

US-Patent 4524079:

Deactivation of microorganisms by an oscillating magnetic field. Deaktivierung von Mikroorganismen durch ein oszillierende Magnetfeld

US-Patent 4524079:

AbstractMaterial having relatively high electrical resistivity, such as food products and containers, is disposed within a magnetic coil and subjected to one or more pulses of an oscillating magnetic field having an intensity of between about 2 and about 100 Tesla and a frequency of between about 5 and about 500 kHz. A single pulse of the magnetic field generally decreases the microorganism population by at least about two orders of magnitude, and substantially complete sterility is more closely approached by subjecting the material to additional pulses.

Material mit relativ hohem elektrischen Widerstand, wie zum Beispiel Nahrungsmittel, wird in einer Magnetspule einem oder mehreren Impulsen eines oszillierenden Magnetfeldes mit einer Intensität von etwa 2 bis 100 Tesla und einer Frequenz von etwa 5 und etwa 500 kHz ausgesetzt. Durch diese Behandlung können die schädlichen Mikroorganismen um mindestens zwei Größenordnungen reduziert werden.

DE 19815916A1 vom 12.11.1998:

Verfahren zum Schutz von Pflanzen gegen Wachstumsstörungen und/oder Schädlingsbefall sowie Vorrichtungen zur Ausführung des Verfahrens.

Die zu schützenden Pflanzen, z. B. Obstkulturen, werden einem von einer Sendevorrichtung ausgesandten elektrischen bzw. elektromagnetischen Feld ausgesetzt. Dabei werden Frequenzen im Bereich 0,3 bis 800 KHz erzeugt und ausgesendet. Hierdurch soll Wachstumsstörungen entgegengewirkt werden und der Schädlingsbefall gesenkt werden.

3. Vorversuche

Mit einer von Health Care neu entwickelten Akusto- Magnetischen Resonanzmatte wurden im Frühjahr des Jahres die ersten Versuche an lebenden Kolonien im Brutschrank durchgeführt.

Es wurde eine zunächst eine Resonanzmatte aus einer einfachen Versuchsanlage mit einem Frequenzgenerator mit manueller Einstellung und einem Anpassungsgerät zur Verfügung gestellt. Mittels dieser einfachen Vorrichtung aus Laborbeständen konnten exemplarisch erste Kulturen mit mikrobiellen Erregern mit Frequenzen beaufschlagt werden.



Foto von der von Health Care zur Verfügung gestellten Frequenzanlage

Mit dieser Vorrichtung wurden in zwei Inkubatoren Parallelversuche mit Bakterienkulturen durchgeführt. Die ausgewählten Frequenzen entnahmen wir aus der Literatur (Clark, 1997). An mehreren Stämmen von *Staphylococcus aureus* konnte eine Reduktion der Wachstumsrate und eine teilweise deutliche Hemmung der Haemolyse beobachtet werden.

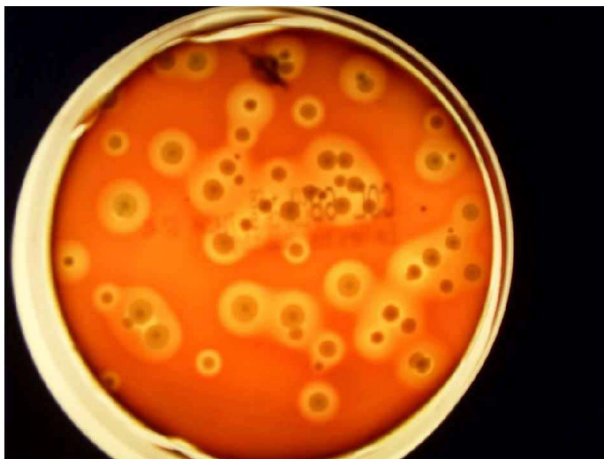


Foto von 2 bewachsenen Kuturschalen mit *S. aureus*

In der Abbildung sind Aufnahmen von Kulturen von *S. aureus* in vergleichbaren Wachstumsstadien dargestellt. Die Unterschiede in Wachstum und Haemolyse-Ausbildung sind sichtbar. Diese Versuchsergebnisse sind reproduzierbar und zeigen die prinzipielle Anwendbarkeit eines derartigen Verfahrens zur Modulation physiologischer Prozesse bei Bakterien. Zwischen den haemolisierenden Substanzen und den Virulenzeigenschaften besteht ein Zusammenhang, daher erscheinen die Wirkungen im Sinne der angestrebten Zielsetzung relevant. Eine Beeinflussung des Stoffwechsels mit variierten Parametern in analogen Anordnungen ist zu erwarten.

Für weitere Versuche wurde dann eine computergestützte Frequenzerzeugung eingesetzt, mit der auch Frequenzgemische und Impulsfolgen unterschiedlicher Impulsformen und Frequenzen sowie Versuchsabläufe vollautomatisch programmiert werden können. Die Abläufe werden aufgezeichnet und zur späteren Auswertung mit der optischen Versuchsüberwachung verwendet. Ziel ist es, bestimmte Frequenzen, Impulsformen und Stärken für relevante Erreger zu ermitteln. Erste Versuchsergebnisse sind vielversprechend.

Da die Arbeiten Bestandteil eines geförderten Forschungsprojektes sind, können aus schutzrechtlichen Erwägungen heraus zu einzelnen Ergebnissen noch keine Veröffentlichungen vorgenommen werden. Nach Abschluss der Arbeiten im Jahre 2011 ist eine umfassende Veröffentlichung geplant. Informationen über interessante Teilergebnisse finden Sie zwischenzeitlich auf www.healthcarejbs.de.