

Elektrochemische Prozessanalytik

Redoxpotentialmessungen als Kontrollparameter in Sauerteigfermentationen

A. Capuani, J. Behr und R. F. Vogel

Das Monitoring von Lebensmittelfermentationen, insbesondere für Sauerteigfermentationen, ist eine große Herausforderung für die Lebensmittelindustrie. Zwar kann durch pH-Wert-Messungen die Säuerungsaktivität bestimmt werden, doch es fehlen einfache Kontrollmethoden für weitere Parameter. In diesem Artikel wird die Anwendung von Redoxpotentialmessungen als Alternative diskutiert.

Die Mehle, die für die Sauerteigerstellung verwendet werden, sind normalerweise nicht steril und deswegen ist der Einsatz einer geeigneten Starterkultur für eine erfolgreiche und sichere Fermentation sehr wichtig. In der Backindustrie oder in den Bäckereien ist jedoch eine stetige Überprüfung der Durchsetzung der angewendeten Starterkulturen sehr anspruchsvoll. Die dafür nötigen mikrobiologischen Analysen sind wegen der Kosten und Wartezeit nicht möglich. Deswegen ist pH-Messung die am meisten verwendete Methode für eine objektive Feststellung des Wachstums der Starterkultur [1]. Allerdings kann mittels der pH-Messung nur die Säuerungsaktivität der Mikroorganismen überprüft werden. Es kann jedoch nicht bestimmt werden, ob sich die verwendete Starterkultur durchgesetzt hat oder ob eine

Kontamination aufgetreten ist. Daher ist die Entwicklung von günstigen und einfachen Kontrollmethoden von großer Bedeutung.

Redoxpotentialmessungen in Bioprozessen

In den letzten 20 Jahren haben Redoxpotentialmessungen sich in Bioprozessen immer mehr etabliert. Dieser Kontrollparameter wird häufig für Prozesssteuerungen verwendet, um die Bildung der mikrobiellen Metaboliten zu erhöhen, z. B. Ethanol, Butanol, Methan und Wasserstoff [2]. Das Redoxpotential beschreibt den Oxidationsstatus eines Systems und dessen Fähigkeit andere Stoffe zu oxidieren bzw. zu reduzieren. Außer von der Konzentration an reduzierten/oxidierten Stoffen wird es sowohl von der Temperatur als auch vom pH-Wert beeinflusst. Während den Fermentationen senken die Mikroorganismen durch enzymatische Aktivitäten das extrazelluläre Redoxpotential des Fermentationsmediums. Dieser Redoxverlauf einer Fermentation besteht aus drei Phasen: die mit der exponentiellen Phase korrelierte Reduktionsphase; die Transitionsphase, in der das Redoxpotential am niedrigsten ist; und die stationäre Phase, die mit der Zunahme

des Redoxpotentials verbunden ist [3]. Dabei spiegelt der Redoxverlauf das Wachstum einer Starterkultur wieder und kann zum Monitoring des mikrobiellen Wachstums während des Fermentationsprozesses ohne weitere Berechnungen eingesetzt werden. Darüber hinaus ist dieser Redoxverlauf speziesspezifisch und teilweise sogar stammesspezifisch [4]. Daher ist die Detektion mikrobieller Kontaminationen in Lebensmittelfermentationen möglich, wie bereits in Gurkenfermentationen gezeigt wurde [5].

Redoxpotentialmessungen wurden bereits in Lebensmittelfermentationen (in Forschungsstudien) für Prozessüberwachung oder Prozesssteuerung eingesetzt [3,5–10]. Im Jahr 2012 wurden Redoxpotentialmessungen in Sauerteig (Buchweizensauerteig) zum ersten Mal am Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie (Technische Universität München) durchgeführt [11]. Es konnte gezeigt werden, dass Redoxpotentialmessungen in Sauerteig möglich und reproduzierbar sind. Bei diesen Messungen geht die Reduktionsphase normalerweise mit dem Sauerstoffverbrauch einher und die maximale Bildungsrate von Metaboliten folgt im Anschluss. Es zeigte sich, dass unterschiedliche Milchsäurebakterienstämme in Sauerteigfermentationen unterschiedliche Redoxverläufe aufweisen können [11], was

in diesem Fall selbst ein stammspezifisches Monitoring der Fermentation erlaubt.

Ergebnisse

Im Zuge der Forschungsarbeiten wurde die Reproduzierbarkeit weiter untersucht. Dazu wurden die Messungen innerhalb eines längeren Zeitraums wiederholt, um den Einfluss von Oxidationsprozessen im Mehl auf das Redoxpotential des Teiges zu bestimmen. In Abbildung 1a ist die hohe Reproduzierbarkeit der Messungen bei unterschiedlichen zeitlich voneinander getrennten Fermentationen dargestellt. Die vorhandenen Unterschiede in den Verläufen des Redoxpotentials der gleichen Sauerteigansätze sind minimal. Die initialen Differenzen des Redoxpotentials in den Teigen mit *Lactobacillus plantarum* (blau) könnten von der Sauerstoffmenge, die beim Kneten eingetragen wird, abhängig sein. Darüber hinaus zeigten die Fermentationen mit *Weissella cibaria*, die 6 Monate später durchgeführt wurden, keine relevanten Unterschiede (Abb. 1a).

Da in der Praxis oft gemischte Starterkulturen eingesetzt werden, was zu komplexeren Redoxpotentialverläufen führen kann, wurde dieses ebenfalls untersucht. In Abbildung 1b sind die Redoxverläufe von Sauerteigfermentationen mit Mischkulturen dargestellt. Wie für Fermentationen mit einzelnen Milchsäurebakterienstämmen zeigen die gemischten Starterkulturen unterschiedliche Verläufe und weisen niedrige Standardabweichungswerte auf. Normalerweise ist die Abweichung von Redoxpotentialmessungen deutlich höher als die von pH-Messungen, da die Bestimmung des Redoxpotentials sehr sensitiv ist. Im Vergleich zur aktuellen Literatur bezogen auf Lebensmittelfermentationen, sind die dargestellten Abweichungswerte sehr gering. Die Anwendung reduzierender Starterkulturen ist meist korreliert mit einem hohen Inhalt an freien Thiolgruppen der Natriumdodecylsulfat-löslichen Fraktion [12].

In Abbildung 2 wird dargestellt, wie sich der Redoxverlauf ändert, wenn sich die eingesetzte Starterkultur nicht durchsetzt, abstirbt und eine Kontamination auftritt (rote Linie). Es wird deutlich, dass sich der Redoxverlauf der kontaminierten Fermentation im Vergleich mit der Fermentation der gewünschten Starterkultur (schwarze Linie) komplett verändert. Demnach kann man Redoxpotentialmessungen als Werkzeug für Detektion von Kontaminationen einsetzen.

Weitere Einsatzgebiete

Des Weiteren können solche Messungen nicht nur für Kontaminationsdetektion eingesetzt werden, sondern auch für mikrobielles Scree-

ning oder als Qualitätsparameter für Batch-Feeding und Reifungskontrolle. Für die Herstellung von Sauerteigen mit einem hohen Gehalt an freien Thiolgruppen, können Starterkulturen über Redoxpotentialmessungen einfach gescreent und ausgewählt werden. Dies hängt damit zusammen, dass das Redoxpotential mit der Menge an freien Thiolgruppen korreliert [12], d. h. niedrigere Potentialwerte entsprechen einer hohen Konzentration an reduzierten Stoffen. Da der Redoxverlauf die mikrobielle Aktivität widerspiegelt, kann hiermit beispielsweise der Zeitpunkt für das Batch-Feeding bestimmt werden. Der optimale Zeitpunkt hierfür würde mit dem Redoxpotentialanstieg nach der Reduktionsphase zusammenfallen, in der die Mikroorganismen in die stationäre Phase übergehen. Außerdem, kann auch die Beobachtung des Redoxpotentials dabei helfen, Teige mit höheren oder niedrigeren Werten an freien Thiolgruppen herzustellen. Insbesondere in Weizenteigen können freie Thiolgruppen die Teigeigenschaften beeinflussen und dementsprechend auf die Brotstruktur wirken. Deshalb ist es wichtig den Thiolgehalt zu beobachten.

Die hier gezeigten Fermentationen wurden aus technischen Gründen mit einer höheren Teigausbeute (350) durchgeführt, können aber auch mit niedrigeren Wassergehalten und somit festeren Teigen durchgeführt werden. Der Einsatzbereich industrieller Redoxelektroden erstreckt sich von Flüssigkeiten bis hin zu Feststoffen. Darüber hinaus können die Messungen problemlos in anderen Teigsystemen, wie z. B. Weizen und Roggen eingesetzt werden. Bei festeren Sauerteigen ist es wichtig, dass die Elektrode direkt in Kontakt mit dem Teig ist.

Kontinuierliche Messung

Da Redoxpotentialmessungen sehr sauerstoffempfindlich sind und eine gewisse Stabilisierungszeit benötigen sind Einzelmessungen nicht möglich. Vielmehr müssen kontinuierliche Aufzeichnungen während der gesamten Fermentation durchgeführt werden. Um die Redoxverläufe interpretieren zu können, müssen zunächst Kontrollverläufe mit der gewünschten Starterkultur aufgenommen werden, um eine Referenz zu schaffen. In der Folge können diese Kontrollverläufe mit den aktuellen Redoxwerte der Fermentation verglichen werden. Dadurch können mögliche Kontaminationen, die während der Fermentation auftreten erkannt oder auch der optimale Erntezeitpunkt zum Beispiel bei Erreichen der stationären Wachstumsphase der Starterkultur bestimmt werden. Mögliche Verzögerungen der Fermentation können somit ausgeglichen werden, was zu einer höheren Standardisierung des Fermentationsendprodukts führt.

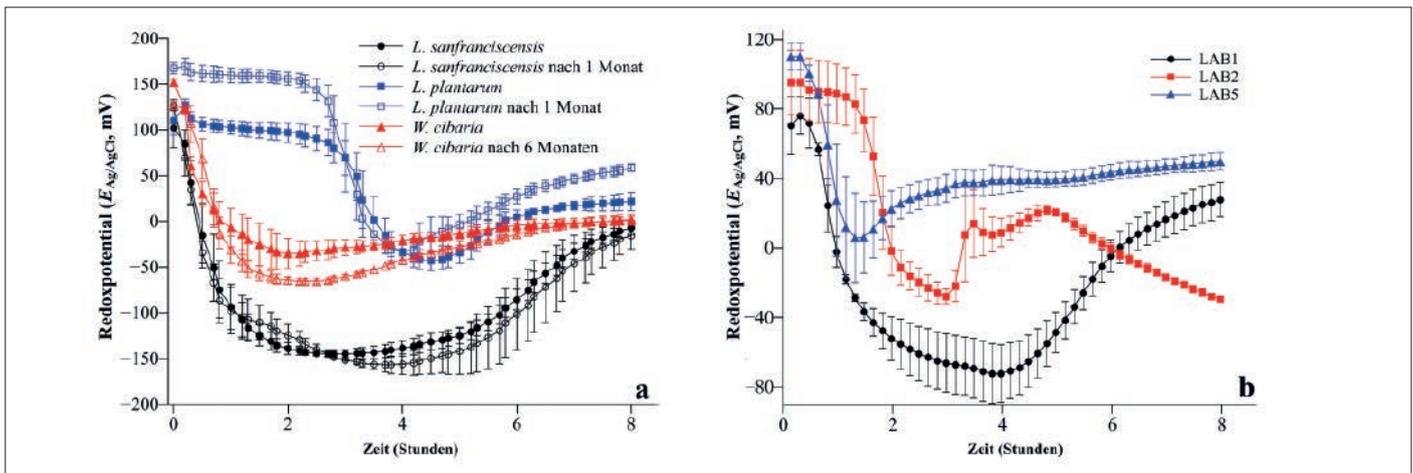


Abb. 1: Redoxpotentialverläufe ($n = 3$) in Buchweizensauerteigen (Teigausbeute 350) mit verschiedenen Laktobazillen und unterschiedlichen zeitlich voneinander getrennten Fermentationen (a): *Lactobacillus sanfranciscensis* TMW 1.1304, *Lactobacillus plantarum* TMW 1.460 und *Weissella cibaria* TMW 2.1333. Redoxpotentialverläufe ($n = 3$) in Buchweizensauerteigen (Teigausbeute 350) mit gemischten Starterkulturen (b): LAB1 (*Lactobacillus mindensis* TMW 1.1206 + *Lactobacillus brevis* TMW 1.305), LAB2 (*Lactobacillus plantarum* TMW 1.1723 + *Lactobacillus paracasei* 1.1724) und LAB5 (*Pediococcus pentosaceus* TMW 2.6 + *Lactobacillus mindensis* TMW 1.1206)

Für Redoxpotentialmessungen werden benötigt:

- Redoxelektroden für industrielle Anwendungen;
- Qualitative hochwertige gut geschirmte Elektrodenkabel;
- pH-Meter mit Aufnahme- oder Datalogger;
- Erfahrung / Vergleichsaufzeichnungen um die Verläufe zu interpretieren.

Eine einfache Ausstattung für Redoxmessungen mit zwei Kanälen liegt im vierstelligen Eurobereich. Dagegen ist ein komplexeres System mit ca. 20 Kanälen im unteren fünfstelligen Eurobereich anzusiedeln.

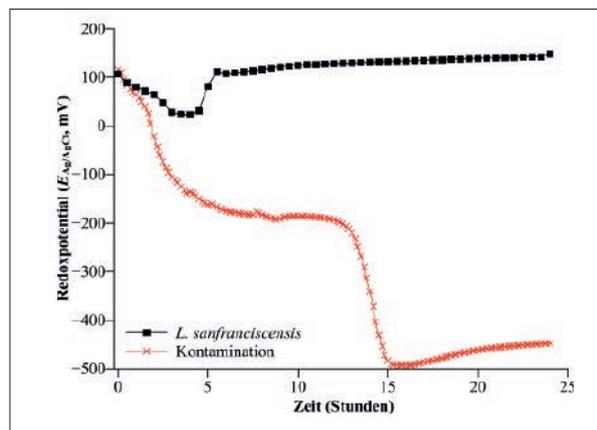


Abb. 2: Redoxpotentialverläufe in Buchweizensauerteigen (Teigausbeute 350) von einer Fermentation mit *Lactobacillus sanfranciscensis* (TMW 1.53) und mit der gleichen Starterkultur bei der eine Kontamination während der Fermentation auftrat.

Arbeitsprotokoll

Die Redoxelektroden sollten im Fermenter so positioniert werden, dass sie sich frei von möglichen Störungen (größere Luftblasen, Phasentrennung und stromführende Kabel) in einem möglichst homogen durchmischten Bereich befinden. Anschließend muss eine „Good Manufacturing Practice“ (GMP) während der Sauerteigfermentation eingehalten werden, damit die Messungen reproduzierbar und nachvollziehbar werden. Durch weiterführende Forschungen können produktspezifische Anwendungen in der Industrie eingeführt werden.

Das Forschungsvorhaben (AiF 16907 N) wurde im Programm zur Förderung der „Industriellen Gemeinschaftsforschung“ (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (via AiF) über den Forschungsbereich der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) gefördert.

Literatur

- [1] Brandt M.J.: Handbuch Sauerteig. Behr's Verlag, Hamburg, 2006
- [2] Liu C-G. et al.: Biotechnol. Adv. 31, 257-265 (2013)
- [3] Jeanson S. et al.: Int. J. Food. Microbiol. 131, 75-81 (2009)
- [4] Brasca M. et al.: J. Appl. Microbiol. 103, 1516-1524 (2007)
- [5] Olsen M.J. und Pérez-Díaz I.M.: J. Food Sci. 74, M149-153 (2009)
- [6] Martin F. et al.: Lact. Acid Bact. - R D Food, Heal. Livest. Purp. pp 73-94 (2013)
- [7] Martin F. et al.: J. Dairy. Sci. 94, 614-622 (2011)
- [8] van Dijk C. et al.: J. Agric. Food Chem. 48, 132-139 (2000)
- [9] Topcu A. et al.: J. Food. Sci. 73, C198-203 (2008)
- [10] Caldeo V. und McSweeney P.L.H.: Int. Dairy J. 25, 16-20 (2012)
- [11] Capuani A. et al.: Eur. Food Res. Technol. 235, 1063-1069 (2012)
- [12] Capuani A. et al.: Int. J. Food Microbiol. 165, 148-155 (2013)

KONTAKT |

Jürgen Behr
 Technische Mikrobiologie
 Technische Universität München
 Freising
 Tel.: 08161/71-5273
 Fax: 08161/71-3327
 juergen.behr@wzw.tum.de