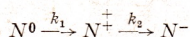


Sektion Nahrungsgüterwirtschaft und Lebensmitteltechnologie  
(Direktor: Prof. Dr. habil. C. P. KROMM) der Humboldt-Universität zu Berlin, DDR

## Zur Kinetik der Temperaturabhängigkeit der Hitzeaktivierung und -inaktivierung von Bakterienendosporen als Folgereaktion

J. HERRMANN, M. AL-KHAYAT und H. SCHLEUSENER

Die Hitzeaktivierung und -abtötung der Bakterienendosporen werden durch die Theorie der Reaktionskinetik als Folgereaktion mit der Aktivierungsgeschwindigkeitskonstanten  $k_1$  der ruhenden Sporen  $N^0$  und der Abtötungsgeschwindigkeitskonstanten  $k_2$  der hitzeaktivierten Sporen  $N^+$  erklärt:



Berücksichtigt man auch die in einer Sporensuspension schon vorhandenen aktivierten Sporen, so erhält man bei konstanter Temperatur Abtötungskurven, die sowohl in halblogarithmischer Darstellung eine Gerade als auch die in der Literatur bereits mehrfach beschriebenen konvexen und konkaven Kurven ergeben.

Die Größe des  $D$ -Wertes der Abtötung muß aus dem  $k$ -Wert der langsamsten Reaktion berechnet werden.

Experimentelle Untersuchungen mit Endosporen von *Bac. subtilis* zeigten, daß unter 100 °C bzw. oberhalb 135 °C  $k_1 \gg k_2$  bzw.  $k_2 \gg k_1$  ist.

Bei weiterer experimenteller Bestätigung dieser Theorie ergeben sich weitreichende Schlußfolgerungen für die Berechnung des Sterilisations- bzw.  $F$ -Wertes.

### Einleitung

Die bisherigen Forschungen auf dem Gebiet der Keimabtötung durch Hitze führten zu vielen Deutungen des exponentiellen Verlaufs der Abtötungskurven sowie der davon auftretenden Abweichungen. Die gerade für die letzteren vom Standpunkt der biologischen Statistik bzw. Reaktionskinetik abgeleiteten Modellvorstellungen, wie statistische normal- oder logarithmische Verteilung der Hitzeresistenz, Mehrtreffertheorie, Schädigungsvorgänge durch Reaktionen o., 1., 2., und 3. Ordnung, haben, wie auch die folgende, hypothetischen Charakter.

Die Modellvorstellung des Vorliegens einer Folgereaktion entstand unter Verwendung wissenschaftlicher Erkenntnisse, die in den früheren Hypothesen nicht bzw. nur teilweise berücksichtigt wurden.

Bisher hat man nicht versucht, aus den direkt experimentell bestimmten  $k_1$ - und  $k_2$ -Werten die Abtötungskurven zu konstruieren. So wurden  $k_1$ -Werte u. a. von BUSTA u. a. [2], LEVINSON u. a. [9] und  $k_2$ -Werte von LICCIARDELLO u. a. [11], EDWARDS u. a. [3] sowie LEVINSON u. a. [10] bestimmt.

SHULL u. a. [12] berechneten experimentelle Abtötungskurven im Sinne einer Folgereaktion. Dabei wurden jedoch die  $k_1$ - und  $k_2$ -Werte lediglich durch Rückrechnung aus der Absterbekurve gewonnen, ohne ihre Temperaturabhängigkeit zu beachten. Durch eine konsequente Anwendung der Gesetzmäßigkeiten der Folgereaktion auf den Vorgang der Hitzeaktivierung und -abtötung von Bakterienendosporen kann man eine umfassende Begründung von experimentell gewonnenen Abtötungskurven geben, wenn man als Nebenreaktion die Abtötung der zu Beginn des Prozesses aktiviert vorliegenden Keime berücksichtigt.

Zum Verständnis der angewandten Lösungswege und Rechnungsarten soll auch auf die Theorie der Folgereaktion und ihre Differential- und Integralgleichungen eingegangen werden.

*1. Die Anwendung der Folgereaktion auf die Hitzeaktivierung und -abtötung von Bakterienendosporen*

Unter einer irreversiblen 2-stufigen Folgereaktion 1. Ordnung versteht man in der chemischen Reaktionskinetik den Vorgang der Umwandlung der Substanz  $A$  in das Endprodukt  $C$  über die Zwischenstufe  $B$ .



Die Reaktionsgeschwindigkeiten der jeweiligen Umwandlungen sind  $k_1$  und  $k_2$ . Wendet man diese Reaktion auf die Hitzeaktivierung und -abtötung von Bakterienendosporen an, so gelangt man zu:



Dabei bedeuten hier und in den folgenden Formeln:

$N$  = Gesamtheit der lebenden Sporen (aktiviert und nicht aktiviert)

$N^0$  = Anzahl der nichtaktivierten Sporen

$N^{\ddagger}$  = Anzahl der aus  $N^0$  entstehenden aktivierten Sporen

$N^-$  = Anzahl der aus  $N^{\ddagger}$  abgetöteten Sporen

$\bar{N}^{\ddagger}$  = Anzahl der aktiviert vorliegenden Sporen

$\bar{N}^-$  = Anzahl der aus  $\bar{N}^{\ddagger}$  abgetöteten Sporen

Zusätzlich wird ein Index  $_0$  zur Kennzeichnung der Reaktionszeit Null verwendet. Zum Zeitpunkt Null können vorliegen:

$N_0$ ,  $N^0_0$  und  $\bar{N}^{\ddagger}_0$  ( $N^-_0$  bleibt in den Rechnungen unberücksichtigt) und zum Zeitpunkt  $t$ :  $N$ ,  $N^0$ ,  $N^{\ddagger}$ ,  $\bar{N}^{\ddagger}$ ,  $N^-$  und  $\bar{N}^-$ .

Für die zur Zeit  $t = 0$  bereits aktivierten Sporen läuft folgende Reaktion ab:



Die in der irreversiblen Folgereaktion (2) enthaltenen Einzelreaktionen, die ebenso wie (3) nach einer Reaktion 1. Ordnung ablaufen, können mathematisch folgendermaßen dargestellt werden (HERRMANN [6]):

$$\frac{dN^0}{dt} = -k_1 \cdot N^0 \quad (4)$$

$$\frac{dN^{\ddagger}}{dt} = k_1 \cdot N^0 - k_2 \cdot N^{\ddagger} \quad (5)$$

$$\frac{dN^-}{dt} = 2k_2 \cdot N^{\ddagger} \quad (6)$$

Die Differentialgleichung (4) beschreibt die Abnahme der Zahl der nichtaktivierten Sporen  $N^0$ , Differentialgleichung (5) die Bildungsgeschwindigkeit der aus  $N^0$  aktivierten  $N^{\ddagger}$  und (6) die Zunahme der abgetöteten Sporen  $N^-$  aus  $N^{\ddagger}$ .

Die Integration der Gleichung (4) ergibt:

$$N^0 = N^0_0 \cdot e^{-k_1 \cdot t} \quad (7)$$

In Gleichung (5) eingesetzt, folgt die inhomogene Differentialgleichung:

$$\frac{dN^{\ddagger}}{dt} = k_1 \cdot N_0^0 \cdot e^{-k_1 \cdot t} - k_2 \cdot N^{\ddagger} \quad (8)$$

Die Lösung der Differentialgleichung (8) ergibt für den Fall  $\bar{N}^{\ddagger} = 0$ , d. h.  $N_0 = N_0^0$ , sowie für  $k_1 = k_2$ :

$$N^{\ddagger} = \frac{N_0^0 \cdot k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 \cdot t} - e^{-k_2 \cdot t}) \quad (9)$$

Damit ergibt sich für die Zahl der zum Zeitpunkt  $t$  abgetöteten Sporen wegen

$$N^- = N_0^0 - N^0 - N^{\ddagger} \quad (10)$$

die Gleichung

$$N^- = N_0^0 \left[ 1 - \frac{1}{k_2 - k_1} (k_2 \cdot e^{-k_1 \cdot t} - k_1 \cdot e^{-k_2 \cdot t}) \right] \quad (11)$$

Für den Fall  $N_0^{\ddagger} = \bar{N}_0^{\ddagger} = 0$

zeigen die Abb. 1 und 2 den Verlauf von  $N$ ,  $N^{\ddagger}$  und  $N^-$  (HERRMANN u. a. [8]). Sie gelten auch wie die späteren Abb. 4 und 5 für eine konstante Temperatur und ein konstantes Reaktionsmilieu. Die Kurve für  $N^{\ddagger}$  besitzt bei  $t_{\max}$  ein Maximum und bei  $t_w$  einen Wendepunkt. Die Kurve für  $N^-$  hat an der Stelle  $t_{\max}$  einen Wendepunkt (vgl. Abb. 2).

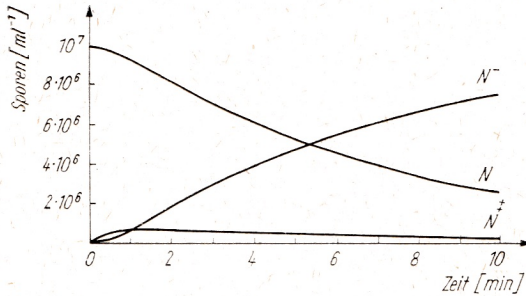


Abb. 1. Verlauf von  $N$ ,  $N^{\ddagger}$  und  $N^-$  bei  $\bar{N}_0^{\ddagger} = 0$ ,  $k_1 = 0,0025 \text{ s}^{-1}$  und  $k_2 = 0,025 \text{ s}^{-1}$  in Abhängigkeit von der Zeit

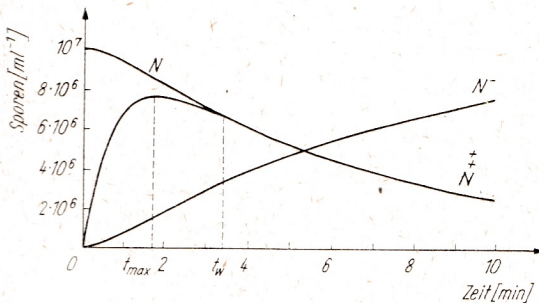


Abb. 2. Verlauf von  $N$ ,  $N^{\ddagger}$  und  $N^-$  bei  $\bar{N}_0^{\ddagger} = 0$ ,  $k_1 = 0,025 \text{ s}^{-1}$  und  $k_2 = 0,0025 \text{ s}^{-1}$  in Abhängigkeit von der Zeit

Setzt man den ersten bzw. zweiten Differentialquotienten von (9) gleich Null, so erhält man

$$t_{\max} = \frac{1}{k_2 - k_1} \ln \frac{k_2}{k_1} \quad (12)$$

bzw.  $t_w = 2t_{\max}$

Aus (12) und (9) folgt dann

$$N_{t_{\max}}^{\ddagger} = N_0^0 \cdot \left( \frac{k_1}{k_2} \right)^{\frac{k_2}{k_2 - k_1}} \quad (14)$$

Für den Fall, daß  $k_1 = k$ , gilt Gleichung (15):

$$N^{\ddagger} = N_0^0 \cdot k \cdot t \cdot e^{-kt} \quad (15)$$

Hieraus folgt  $t_{\max} = \frac{1}{k}$  (16)

mit  $N_{t_{\max}}^{\ddagger} = \frac{N_0^0}{e}$  (17)

Neben den durch die Gleichungen (4)–(17) mathematisch modellierten Vorgängen einer Folgereaktion ist zusätzlich noch die Möglichkeit des Vorliegens zum Zeitpunkt  $t = 0$  bereits aktivierter Sporen zu erfassen.

Es sei also  $\bar{N}^{\ddagger} > 0$

Dann gilt wegen (vgl. auch Gleichung (3))

$$\frac{d\bar{N}^{\ddagger}}{dt} = -k_2 \cdot \bar{N}^{\ddagger} \quad (18)$$

für die Abnahme der Sporen  $\bar{N}^{\ddagger}$ :

$$\bar{N}^{\ddagger} = \bar{N}^{\ddagger} \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (19)$$

Die Gesamtzahl der aktivierten Sporen ist dann die Summe:

$$\bar{N}^{\ddagger} + N^{\ddagger} = \frac{N_0^0 \cdot k_1}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 \cdot t} - e^{-k_2 \cdot t}) + \bar{N}_0^{\ddagger} \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (20)$$

Die Anzahl der zum Zeitpunkt  $t$  nicht abgetöteten Sporen  $N$ , die im halblogarithmischen Maßstab als Abtötungskurven in Abb. 3 dargestellt ist, errechnet sich aus

$$N = N^0 + \bar{N}^{\ddagger} + N^{\ddagger} \quad (21)$$

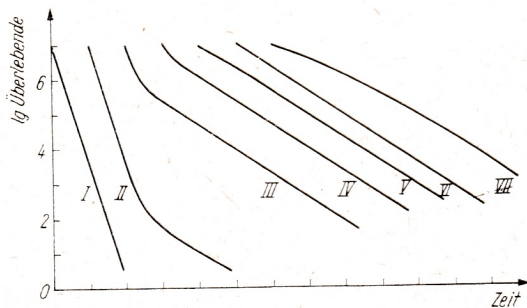


Abb. 3. Abtötungskurven von *Bacillus subtilis* HU 1 (Erklärung der Kurven in Tab. 1)

Die in Abb. 3 dargestellten Abtötungskurven entstehen durch Variation des Verhältnisses  $a = \bar{N}^{\dagger}/N_0^0$  sowie der Erhitzungstemperatur, wodurch sich das Verhältnis  $k_1/k_2$  ändert.

In Tab. 1 sind die Angaben zu den Kurven dieser Abbildung aufgeführt. Die Berechnung der Kurvenwerte erfolgte mit Hilfe eines EDV-Programms.

Tabelle 1  
Abtötungskurven von *Bacillus subtilis* HU 1  
( $N_0 = 10^7$  Sporen, vgl. Abb. 3)

Kurve	Temperatur [°C]	$k_1:k_2$	$a = \bar{N}_0^{\dagger}/N_0$
I	137	1:5	1
II	"	"	0,9999
III	"	"	0,9
IV	"	"	0,5
V	"	"	0
VI	86	5:1	0
VII	122	1:1	0

Die in den graphischen Darstellungen enthaltenen Ergebnisse der Berechnungen sind für die praktische Anwendung von großer Bedeutung, insbesondere ergeben sich neue Gesichtspunkte für die Festlegung der D-Werte.

Im wesentlichen sind bei der Anwendung des Modells der Folgereaktion auf die Hitzeaktivierung und -abtötung von Bakterienendosporen zwei Fälle zu unterscheiden: Fall I (s. Abb. 1):  $k_1 \ll k_2$  und Fall II (s. Abb. 2):  $k_1 \gg k_2$ . Auf beide Fälle soll nun näher eingegangen werden.

Fall I:

Für  $k_1 \ll k_2$  und  $\bar{N}_0^{\dagger} = 0$  geht für  $t \rightarrow \infty$  die Gleichung (9) unter Berücksichtigung von Gl. (7) in Gl. (22) über:

$$N^{\dagger} = \frac{k_1}{k_2} \cdot N_0^0 e^{-k_1 \cdot t} = \frac{k_1}{k_2} \cdot N_0^0 \quad (22)$$

Sie besagt — gemäß dem „Stationärprinzip“ nach BODENSTEIN aus der chemischen Reaktionskinetik (HERRMANN [6]) — daß über einen längeren Zeitraum  $N^{\dagger}$  annähernd konstant bleibt (s. Abb. 1), da die Bildungsgeschwindigkeit von  $N^{\dagger}$  als kurzlebige Zwischenprodukte gleich ihrer Zerfallsgeschwindigkeit wird.

Gleichung (22) stellt die Abtötung von  $N^{\dagger}$  nach einer Reaktion 1. Ordnung mit der Konstanten  $k_1$  und der fiktiven aktivierten Anfangskeimzahl  $N_0^{*\dagger}$  dar, wobei

$$N_0^{*\dagger} = \frac{k_1}{k_2} \cdot N_0^0 \quad \text{ist.} \quad (23)$$

Für die bei Abtötungskurven interessierende Anzahl der überlebenden Keime  $N$  gilt zum Ende der Abtötung nach Gleichung (22) wegen

$$N = N_0^0 + N^{\dagger} = N_0^0 \cdot e^{-k_1 \cdot t} + \frac{k_1}{k_2} \cdot N_0^0 \cdot e^{-k_1 \cdot t} \quad (24)$$

Gleichung (25):

$$N = \left(1 + \frac{k_1}{k_2}\right) N_0^* \cdot e^{-k_1 t} = N_0^* \cdot e^{-k_1 t} \quad (25)$$

Hierbei stellt  $N_0^* = (1 + k_1/k_2) \cdot N_0^0$  die fiktive Anfangskeimzahl für die fiktive Abtötungsgerade dar, deren Endast ( $N=100$ ) mit der realen Abtötungskurve deckungsgleich wird.

Durch Abb. 4 werden diese Schlußfolgerungen veranschaulicht. Wegen  $k_1 = 0,0795 \text{ s}^{-1}$ ,  $k_2 = 0,398 \text{ s}^{-1}$ , sowie  $N_0 = 10^6$  und  $N_0^0 = 10^7$  ergeben sich hier als fiktive Anfangskeimzahlen zunächst

$$N_0^{\pm} = \frac{k_1}{k_2} N_0^0 = 2,0 \cdot 10^5 \quad \text{und}$$

$$N_0^* = (1 + k_1/k_2) \cdot MN_0^0 = 1,2 \cdot 10^6$$

Da aber in diesem Beispiel das Verhältnis von  $k_1$  zu  $k_2$  nur 1:5 ist, sollte Gl. (9) berücksichtigt werden, so daß

$$N_0^{\pm} = \frac{k_1}{k_2 - k_1} \cdot N_0^0 = 2,5 \cdot 10^5 \quad \text{und damit}$$

$$N_0^* = \left(1 + \frac{k_1}{k_2 - k_1}\right) \cdot N_0^0 = 1,25 \cdot 10^6 \quad \text{wird.}$$

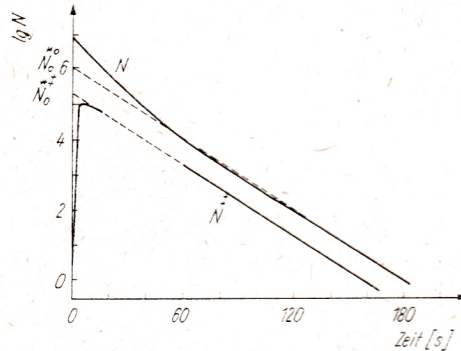


Abb. 4. Kurvenverlauf bei Vorliegen des Falles I ( $a = 0,9$ ;  $k_1 = 0,0795 \text{ s}^{-1}$ ;  $k_2 = 0,398 \text{ s}^{-1}$ ) und Darstellung der fiktiven Anfangskeimzahlen.

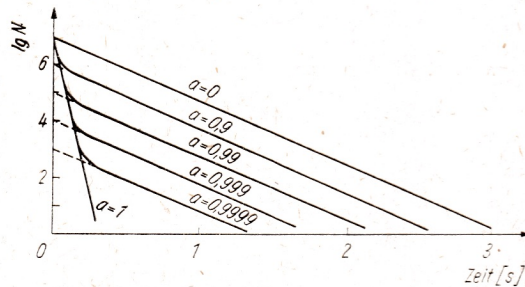


Abb. 5. Verlauf der Abtötungskurve bei verschiedenen  $a = N_0^{\pm}/N_0^0$  für *Bacillus subtilis* HU 1 bei  $145^\circ \text{C}$  ( $k_1 = 5,248 \text{ s}^{-1}$ ,  $k_2 = 52,48 \text{ s}^{-1}$ )

In Abb. 4 wurden diese fiktiven Anfangskeimzahlen eingezeichnet. Man erkennt, daß die Endäste der Aktivierungs- bzw. Abtötungskurve mit den fiktiven Geraden annähernd deckungsgleich sind. Wenn das Verhältnis  $k_1/k_2 = 0,1$  ausfällt, wird die Deckung noch besser. Das zeigt Abb. 5.

Bei 145 °C nehmen für *Bacillus subtilis* HU 1 die Reaktionskonstanten die Werte  $k_1 = 5,248 \text{ s}^{-1}$  und  $k_2 = 52,48 \text{ s}^{-1}$  an. Verändert wurde das Verhältnis  $a = \bar{N}_0^+ / N_0^0$  im Bereich von  $0 \leq a \leq 1$  bei Konstanz von  $k_1/k_2 = 1:10$ . Die jeweiligen fiktiven Anfangskeimzahlen sind ebenfalls eingezeichnet (Ordinatenschnittpunkt der gestrichelten Geraden.)

Für den Fall  $\bar{N}_0^+ > 0$  kann Gl. (25) mit guter Näherung verwendet werden, wenn  $N_0^0$  gegenüber  $\bar{N}_0^+$  hinreichend groß ist.

Fall II (s. Abb. 2):

Für  $k_1 \ll k_2$  und  $\bar{N}_0^+ = 0$  geht für  $t \rightarrow \infty$  die Gleichung (9) in Gleichung (26) über:

$$N^+ = N_0^0 \cdot e^{-k_2 \cdot t} \tag{26}$$

Gleichung (26), die den Fall  $k_1 \gg k_2$  beschreibt (für *Bacillus subtilis* HU 1 trifft das unterhalb 95 °C nach Abb. 6 zu), ergibt eine Abtötungskurve mit der Abtötungsgeschwindigkeitskonstanten  $k_2$  und dem fiktiven aktivierten  $N_0^{*+}$ -Wert von

$$N_0^{*+} = N_0^0. \tag{27}$$

Da in diesem Fall ( $N^0$  strebt mit  $t \rightarrow \infty$  gegen Null)

$$N = N^0 + N^+ = N^+, \tag{28}$$

gilt Gleichung (29):

$$N = N_0^0 \cdot e^{-k_2 \cdot t} \tag{29}$$

Es ist somit  $N = N^+$ .

Bei gleichen Voraussetzungen, jedoch  $\bar{N}_0^+ > 0$ , gilt

$$N = N^0 + N^+ + \bar{N}^+ \tag{21}$$

Da wiederum  $N^0$  zu vernachlässigen ist, folgt unter Berücksichtigung der Gln. (19) und (26) und aus der Tatsache, daß  $N_0^0 + \bar{N}_0^+ = N_0$  ist, die Gleichung (30):

$$N = N_0 \cdot e^{-k_2 \cdot t} \tag{30}$$

Unter der Voraussetzung eines hohen Anfangskeimgehalts  $N_0 = N_0^0$  bedeuten die zu den beiden Fällen gemachten Ausführungen, daß man im halblogarithmischen Netz eine fiktive Abtötungsgerade nach den Gleichungen (25) und (30) zeichnen kann, deren Verlauf sich zu kleineren Keimzahlen ( $N_t < 100$ ) mit der jeweiligen realen Abtötungskurve deckt.

Mit der häufig zur Bestimmung der Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten verwendeten Methode von HALVORSON u. a. (1932) wird der D-Wert meist im Endteil der Abtötungskurve ermittelt. Man erhält dann stets den kleineren der  $k$ -Werte.

## 2. Die experimentelle Bestimmung der Temperaturabhängigkeit der $k_1$ - und $k_2$ -Werte von *Bac. subtilis* HU I

Da bisher in der Literatur keine Bestimmung der Temperaturabhängigkeit der  $k_1$ - und  $k_2$ -Werte an denselben Endosporen von Bakterien vorgenommen worden sind, mit der man die obigen Rechnungen beweisen konnte, wurde dieses von AL-KHAYAT [1] durchgeführt.

### Material und Methoden

In den Untersuchungen wurde der *B. subtilis*-Stamm HU I benutzt. Die nach BUSTA u. a. [2] auf verstärktem TGE-Agar gewachsenen Sporen wurden zur Ernte mit kaltem, sterilem Wasser abgeschüttelt, zur Trennung der zusammengeballten Sporen mit Glasperlen 24 h bei 4 °C geschüttelt, über Glasfritten G 3 filtriert, mehrmals gewaschen, in einer Kühlzentrifuge zur Abtrennung von vegetativen Zellen aus dem Überstand behandelt und abschließend nochmals über eine G 4-Fritte passiert. Darauf wurden sie lyophilisiert und bei -20 °C im Exsikkator über Silicagel aufbewahrt.

Die  $k_1$ -Werte wurden nach LEVINSON u. a. [9] aus turbidimetrischen Messungen im Spekol bei 30 °C berechnet, wobei durch den Verlust an optischer Dichte der erhitzten und anschließend mit Nährbouillon versetzten Sporensuspension die Keimgeschwindigkeit und das Ausmaß der Keimung (im Vergleich zu der nicht erhitzten Sporensuspension) ermittelt wurden. Zur Bestimmung der Hitzeaktivierung wurden je 10 Kapillaren ( $\varnothing 1,2-1,3$  mm), in die je 0,03 ml Sporensuspension vor dem Zuschmelzen eingefüllt worden waren, bei verschiedenen Erhitzungstemperaturen unterschiedlichen Zeiten ausgesetzt.

Nach der Gleichung von HALVORSON u. a. [5] wurden aus der Anzahl der sterilen Proben die höchstwahrscheinlich lebende Sporenzahl pro ml ausgerechnet, die zur graphischen Ermittlung der  $D$ -Werte dienen.

### Ergebnis

Als Resultat dieser Versuche ergibt sich die in Abb. 6 gezeigte Temperaturabhängigkeit der  $k_1$ - und  $k_2$ -Werte. Sie weist aus, daß der Schnittpunkt der  $k_1$ - und  $k_2$ -Geraden im ARRHENIUS-Diagramm bei 121 °C liegt. Aus dem Anstieg beider Geraden ermittelt

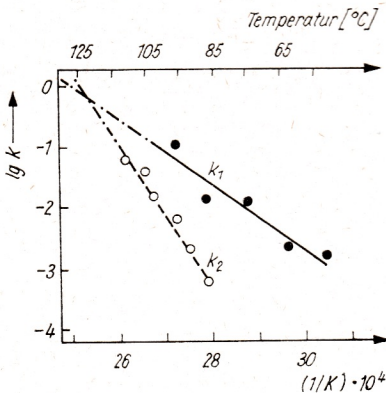


Abb. 6

Abb. 6. Abhängigkeit der  $k_1$ - und  $k_2$ -Werte der Endosporen von *Bac. subtilis* von der Temperatur (ARRHENIUS-Diagramm). Die beiden Geraden wurden oberhalb der experimentellen Werte verlängert

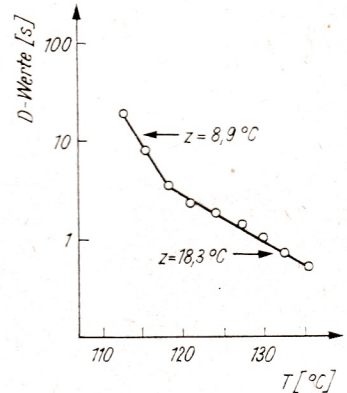


Abb. 7

Abb. 7. Temperaturabhängigkeit der  $D$ -Werte von *Bac. subtilis* A-Sporen in Magermilch (nach EDWARDS u. a. [3])

man über die Aktivierungsenergien bei 100 °C bzw. 135 °C die  $z$ -Werte 11,1 °C bzw. 29,3 °C (nach HERRMANN [6]). Danach sollte bei Temperaturen, die wesentlich unter bzw. über 121 °C liegen, gemäß dem Verhältnis von  $k_1$  zu  $k_2$  jeweils der oben geschilderte Fall II bzw. I zutreffen.

Die von EDWARDS u. a. [3] angegebene Temperaturabhängigkeit der  $D$ -Werte für *Bacillus subtilis* A (vgl. Abb. 7) bestätigt unsere Aussagen. Berücksichtigt man das Vorliegen eines anderen *Bac.-subtilis*-Stammes, eines anderen Erhitzungsmediums und eines anderen Nährmediums, so ist die Übereinstimmung beider Abbildungsinhalte als gut zu bezeichnen.

EDWARDS u. a. [3] konnten jedoch den Knickpunkt sowie die sich daraus ergebenden unterschiedlichen  $z$ -Werte nicht erklären. Beides ergibt sich ohne weiteres aus unserer Theorie.

### 3. Anwendungen und Schlußfolgerungen

In der Sterilisationspraxis interessiert die bei einer bestimmten Temperatur notwendige Erhitzungszeit  $Z_m$ , welche zur Reduktion der Anfangskeimzahl auf den Wert  $N = 1$  führt (HERRMANN [6]). Gemäß dieser Definition ergibt sich dann (Gl. (31)):

$$Z_m = D (\lg N_0 - \lg N) \quad (31)$$

Für die zu unterscheidenden Fälle folgt damit:

Fall I: Aus den Gln. (25) und (31) erhält man

$$Z_m = \frac{2,303}{k_1} \lg (1 + k_1/k_2) N_0^0, \quad (32)$$

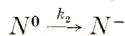
wobei  $(1 + k_1/k_2) N_0^0$  die fiktive Anfangskeimzahl darstellt.

Fall II: Aus den Gln. (30) und (31) ergibt sich

$$Z_m = \frac{2,303}{k_1} \lg N_0 \quad (33)$$

Mit den Gln. (32) und (33) ist erstmals die Möglichkeit vorhanden, hinreichend exakte  $Z_m$ -Werte auch für die Fälle zu berechnen, bei denen die logarithmische Absterbeordnung nicht zutrifft.

Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß bei sehr hohen Temperaturen eine direkte Abtötung der Endosporen ohne Hitzeaktivierung erfolgt, d. h., die Reaktion



setzt ein. Diese Reaktion, für die  $k_3 > k_2$  sein müßte, entspräche der Abtötung der trockenen Sporen (Fox u. a. [4]). Diese Vermutung müßte noch durch zukünftige Experimente verifiziert werden.

Beachtet man, daß es sich bei der Keimung sowie bei der Abtötung von Endosporen um biologisch sehr komplexe Prozesse handelt, so ist es klar, daß die obigen, aus der chemischen Reaktionskinetik abgeleiteten Gleichungen zunächst nur als ein verbessertes mathematisches Modell anzusehen sind. Die aus diesem Modell gezogenen Schlußfolgerungen erlauben jedoch die Erklärung verschiedener bisher unerklärlicher experimenteller Befunde und sind darüber hinaus sofort praktisch anwendbar.

Die obigen Ausführungen und Berechnungen bezogen sich immer auf schlagartige Erhitzungsprozesse. Bekanntlich muß man jedoch nach den bisherigen Prozeßberechnungen, z. B. bei Konservendosen mit wärmeleitenden Lebensmitteln, zur Berechnung des  $F_s$ -Wertes nach STUMBO [13] über alle durchlaufenden Erhitzungstemperaturen und -zeiten in allen Punkten der Dose integrieren. Dieser Wert stellt dann ein Maß für die Fähigkeit des Sterilisationsprozesses zur Keimreduktion der vorliegenden Mikroorganismen dar. Dieses bisherige Konzept reicht jedoch aus mehreren Gründen nicht mehr zur Berechnung aus, wenn man das Vorliegen der Folge-reaktion für die Abtötung von Endosporen zugrunde legt.

So ist einerseits die bisherige Definition des  $F$ -Wertes als äquivalente Erhitzungszeit bei 121,1 °C, welche für die Sporenabtötung nötig ist, nicht mehr aufrechtzuerhalten, da je nach dem vorliegenden Temperaturprogramm des Erhitzungsprozesses, dem Verhältnis von  $N^+/N^0$  und der Temperaturabhängigkeit der  $k_1$ - und  $k_2$ -Werte oft kein konstanter  $F$ -Wert vorliegen wird.

Hinzu kommt noch, daß die Sporenaktivierung und -keimung stark von dem jeweiligen Reaktionsmilieu, wie pH-Wert, Ionenart und -stärke sowie Begleit-substanzen, die wie Dipikolinsäure bzw.  $\beta$ -Alanin beschleunigende bzw. hemmende Einflüsse ausüben, abhängt.

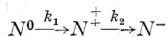
Diese Komplikationen dürften vermutlich in Zukunft nur über die von HERRMANN [7] vorgeschlagenen  $S_b$ -Werte zu bewältigen sein, die sowohl die im Prozeß durchlaufenden Erhitzungstemperaturen und -zeiten als auch Reaktionsmilieuänderungen berücksichtigen.

Dabei ist auch die bisher übliche Berechnungsweise mit  $z$ - und  $Q_w$ -Werten wegen des großen überstrichenen Temperaturbereichs nicht mehr ausreichend, sondern man muß dann mit der *Arrhenius*-Gleichung bzw.  $Q_{\Delta T_A}$ -Werten rechnen.

#### Summary

J. HERRMANN, M. AL-KHAYAT and H. SCHLEUSENER: On the kinetics of the temperature dependence of the thermal activation and inactivation of bacterial endospores as a consequent reaction

Reaction kinetics explains the thermal activation and destruction of bacterial endospores as a consequent reaction with the activation rate constant  $k_1$  of the resting spores  $N^0$  and the destruction rate constant  $k_2$  of the heat-activated spores  $N^+$ :



If one takes also into account the activated spores already present in a suspension, one obtains, at constant temperature, destruction curves that become straight lines when plotted semi-logarithmically or correspond to the convex and concave curves often described in the literature.

The  $D$  value of destruction must be calculated from the  $k$  value of the slowest reaction.

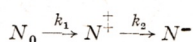
Experiments with endospores of *Bac. subtilis* showed that  $k_1 \gg k_2$  at temperatures  $< 100$  °C, and  $k_2 \gg k_1$  at temperatures  $> 135$  °C.

In case of further confirmation of this theory, far-reaching conclusions might be drawn as to the calculation of the sterilization or  $F$  value.

#### Резюме

И. Херрманн, М. Аль-Каят и Х. Шлейзенер: Кинетика температурной зависимости термической активации и инактивации бактериальных эндоспор как последовательная реакция

Термическая активация и инаktivация бактериальных эндоспор объясняются теорией реакционной кинетики как последовательная реакция с константой скорости активации  $k_1$  покоящихся спор  $N^0$  и константой скорости инаktivации  $k_2$  термоактивированных спор  $N^{+}$ :



Учитываются и уже имеющиеся в суспензии спор активированные споры, то при постоянной температуре получают кривые инаktivации, дающие при полулогарифмическом изображении прямую и описанные в литературе неоднократно вогнутые и выпуклые кривые.

Величина значения  $D$  инаktivации вычитывается на основе показателя  $k$  наиболее медленной реакции.

Экспериментальные исследования с эндоспорами *Bac. subtilis* показали, что ниже  $100^{\circ}\text{C}$  или выше  $135^{\circ}\text{C}$   $k_1 \gg k_2$  или  $k_2 \gg k_1$ .

При дальнейших подтверждениях теории этой вытекают далеко идущие последствия для расчета величины стерилизации или показателя  $F$ .

#### Literatur

- [1] AL-KHAYAT, M., Untersuchungen zur Kinetik der Hitzeaktivierung und Hitzeinaktivierung von Endosporen des Stammes *Bacillus subtilis*. Diss. Humboldt-Universität (1974).
- [2] BUSTA, F. F., Z. J. ORDAL, J. Food Sci. **29**, 345 (1964).
- [3] EDWARDS, Jr. J. L., F. F. BUSTA u. M. L. SPECK, Appl. Microbiol., **13**, 851 (1965).
- [4] FOX, K., u. B. EDER, J. Food Sci. **34**, 518 (1969).
- [5] HALORSON, H. O., N. R. ZIEGLER, J. Bacteriol. **25**, 101 (1932).
- [6] HERRMANN, J., Lebensmittel-Ind. **23**, 399, 469 (1976).
- [7] HERRMANN, J., Lebensmittel-Ind. **23**, 515, 537 (1976); **24**, 94 (1977).
- [8] HERRMANN, J., M. AL-KHAYAT u. H. SCHLEUSENER, in „Beiträge zur Sterilisation und Aseptik“ Herausgeber: R. Machmerth und A. Günther, S. 46—51. Verlag Johann Ambrosius Barth, Leipzig 1976.
- [9] LEVINSON, H. S., u. M. T. HYATT, Biochem. biophysic. Res. Commun. **37**, 909 (1969).
- [10] LEVINSON, H. S., u. M. T. HYATT, J. Bacteriol. **108**, 111 (1971).
- [11] LICCIARDELLO, J. J., u. J. T. R. NICKERSON, Appl. Microbiol. **11**, 476 (1963).
- [12] SHULL, J. J., G. T. CARGO u. R. G. ERNST Appl. Microbiol. **11**, 485 (1963).
- [13] STUMBO, C. R., Thermobacteriology in Food Processing. Academic Press, New York und London 1965.

Prof. Dr. sc. J. HERRMANN, Dr. M. AL-KHAYAT und Dr. H. SCHLEUSENER, Sektion Nahrungsgüterwirtschaft und Lebensmitteltechnologie der Humboldt-Universität zu Berlin, Bereich Mikrobiologie und Biochemie, DDR-104 Berlin, Invalidenstr. 42

Eingegangen 27. 6. 1977