



Gemeinnützige
Lebensmittelinitiative
für Österreich

Produce Safety

Verfahren zur Erhöhung der Lebensmittelsicherheit von Obst- & Gemüseprodukten

DISSEMINATIONSPAPIER

gefördertes Projekt der



in Zusammenarbeit mit



Staudinger
& Partner

Disseminationspapier

1. Einleitung

Im Allgemeinen werden die mikrobiologischen Gefahren, die von pflanzlichen Produkten ausgehen, als eher gering eingeschätzt. In der Realität kann jedoch diese Einschätzung nicht bestätigt werden, was zahlreiche Meldungen des Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) in Bezug auf pathogene Keime in Obst und Gemüse verdeutlichen. In weiterer Folge sind nicht nur Obst und Gemüse selbst vom Auftreten pathogener Keime betroffen, sondern stellen insbesondere daraus hergestellte Produkte auf pflanzlicher Basis in hohem Maße Risikoprodukte dar. Druckverstärkend auf die Lebensmittelerzeuger wirkt der Wunsch des Handels nach ausreichenden Restlaufzeiten im Regal, was zu unternehmerisch und gesundheitlich höchst riskanten Situationen führt. Gleichzeitig ist eine Verlängerung des Mindesthaltbarkeitsdatums, im Sinne der Nachhaltigkeit, zeitgemäß.

Ein weiteres kritisches Thema in diesem Bereich sind die momentan zur Anwendung gelangenden Warnwerte für *Bacillus cereus* bei geschnittenen Salaten und Obstbechern. Diese Werte sind vor allem in Bioware nicht zu erreichen, da bei der derzeitigen Analytik auf präsumtive *B. cereus* untersucht wird. Dabei werden auch nicht pathogene *B. cereus* sowie artverwandte *Bacillus* Stämme erfasst. Darunter befindet sich auch *B. thuringiensis*, der als mit der derzeitigen Labortechnik nicht von *B. cereus* unterschieden wird und als biologisches Agens zur Schädlingsbekämpfung eingesetzt wird. Dieser Umstand führt bei der Beprobung von biologischen Produkten zu Beanstandungen und ungerechtfertigten Rückrufen.

Im vorliegenden Projekt wurden alternative Methoden zur Entkeimung von pflanzlichen Lebensmitteln und deren Folgeprodukten entwickelt bestehende ISO-Referenzmethoden modifiziert und alternative Schnellmethoden evaluiert, um die Produktqualität und -sicherheit zu verbessern. Dazu wurden je Produktkategorie aufgabenspezifische und technologische Subziele definiert.

Übersicht Produktkategorien:

- Salate sowie Obst- und Gemüsemischungen in Verbraucherpackungen (Beutel, Schalen)
- TK-Beerenobst und Fruchtzubereitungen
- Aufstriche und vegane Gemüseverarbeitungsprodukte
- Gewürze und Gewürzzubereitungen

2. Projektstruktur

Die Projektziele in dem von der FFG geförderten Projekt „Produce Safety“ wurden in 3 Phasen bearbeitet (Tabelle 1).

Die 5 teilnehmenden österreichischen Hersteller von Obst- & Gemüseprodukten wurden dabei von den Projektdienstleistern Hygienicum GmbH, August Staudinger & Partner GmbH und FFoQSI GmbH durchgängig betreut.

Tabelle 1 Übersicht Projektstruktur

Phase 1	Phase2	/Phase3
Auswahl passender Dekontaminationsverfahren für die jeweiligen definierten Subziele	Überprüfung der ausgewählten Verfahren im betrieblichen Umfeld in Kleinversuchen und in Versuchsanlagen	Optimierung der evaluierten Verfahren und Entwicklung von Umsetzungskonzept zur Übersetzung in den Industriemaßstab

3. Subziele

3.1. Salat sowie Obst- und Gemüsemischungen in Verbraucherpackungen (Beutel, Schalen)

Aufgabenstellung: Reduktion des Listerieneintrages über Wasch- und Vorbereitungsprozesse

Babyleaf- und Schnittsalate werden gewaschen, getrocknet und verpackt. In den fertigen Produkten kommt es innerhalb der Haltbarkeitsdauer zu mikrobiellem Wachstum. Ziel war es, eine sichere und gleichbleibende Produktqualität trotz unterschiedlicher Qualität der Rohware auch während der Lagerung zu ermöglichen. Dazu sollte der Eintrag der zumeist vegetativen Keime über die Rohware möglichst reduziert werden.

Folgende getestet Ansätze erfüllten die Zielsetzung nicht:

- Versuche mittels Kurzzeitbedampfung zeigten eine starke Qualitätsbeeinflussung (Strukturverlust, Erweichung des Gewebes, Farbveränderung), bei gleichzeitig nicht zufriedenstellender mikrobieller Inaktivierung.
- Versuche mittels H₂O₂-Begasung bei unterschiedlichen Konzentrationen führte zu keiner ausreichenden Inaktivierung von *E. faecium*, sowie negative Beeinflussung der Salatqualität bei höheren Konzentrationen (insbes. Verfärbung der Blätter).
- Der Einsatz von Ozon (0,1 ppm) bei der Lagerung (69,5h; 2-4°C) der Rohware vor Verarbeitung führte bei den vier getesteten Produkten (Endivie-, Frisée-, Rucola und Vogerlsalat) zu keiner Keimreduktionen, während sich die optische Produktqualität unakzeptabel verschlechterte (Bräunung).
- Versuche zur Pulsed Light Behandlung bis zu 20 J/cm² zeigten eine 1,5-2 log Reduktion von *E. faecium* bei mit 10⁷ KBE/g *Enterococcus faecium* inokulierten Salatproben. Allerdings führte die Behandlung zu einer deutlichen Temperatursteigerung, die sich negativ auf die Qualität der Salatblätter auswirkte.

Als vielversprechendster Ansatz zeigte sich der Einsatz von Waschwasserzusätzen, deren Effizienz zur Keimreduktion in Produkten wurde direkt nach dem Waschvorgang und nach Lagerung am erweiterten Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD) evaluiert. Im Rahmen dieser Effizienztestung wurde unter anderem Ethyl Lauroyl Arginate (LAE) und eine Mischung aus organischen Säuren und Polyphenolen für Mischsalat und Blattspinat verwendet. Die Produkte wurden im 1. Schritt mit einem produktspezifischen mikrobiellen Keimcocktail (*Listeria innocua*, *Rahnella aquatilis*, 10^7 KBE/g) beimpft und die Keimreduktion bewertet. Die Untersuchung erfolgte bei Wirkstoff-Konzentrationen von bis zu 5 % und Haltezeiten von 3 min mit und ohne Nachwaschen mit Trinkwasser. Neben der mikrobiologischen Analyse wurden die Proben optisch und sensorisch bewertet.

LAE sowie die Polyphenol-Säure Mischungen zeigten sich in diesen Vorversuchen als wirksam gegen den mikrobiellen Keimcocktail (bis zu 3.5 log Inaktivierung).

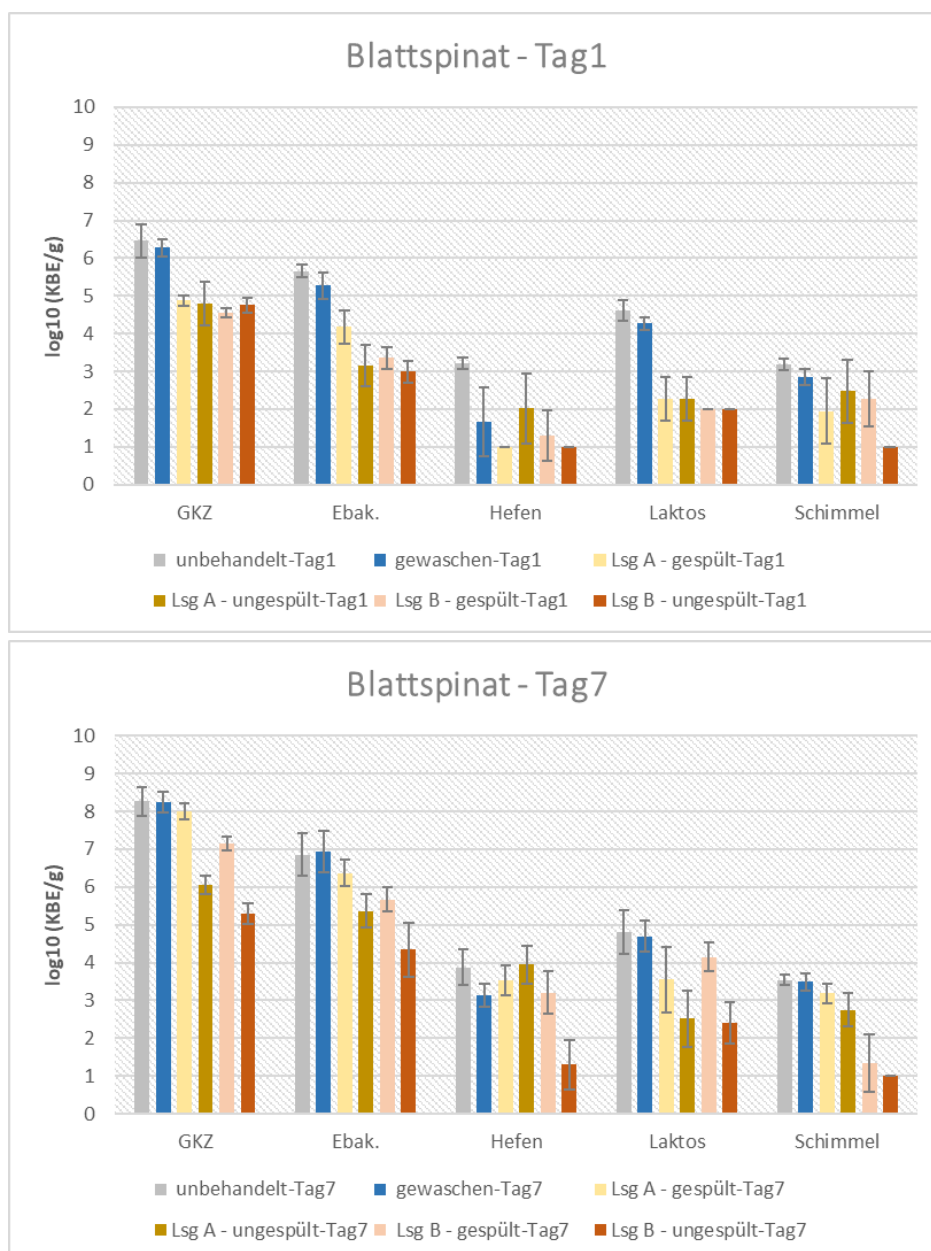


Abbildung 1 Vergleich Waschwasserbehandlung an Blattspinat an Tag 1 und 7

Die Waschwasserzusätze wurden in analogen folgenden Versuchen mit natürlicher Mikroflora der Produkte getestet, um die Einsetzbarkeit in der Lebensmittelindustrie zu evaluieren.

Im Vergleich mit den Proben, welche lediglich mit Trinkwasser gewaschen wurden, zeigte sich eine deutliche Reduktion der natürlichen Mikroflora (siehe Abbildung 1). Zudem wurde untersucht, wie sich ein Abwaschen der antimikrobiellen Zusätze auf die Keiminaktivierung auswirkt. Wie zuvor bereits angenommen, war die Keimreduktion bei den nicht nachgewaschenen Proben höher (bis zu 2.5 log), da hier eine längere Kontaktzeit der antimikrobiell wirksamen Agenzien vorlag.

Zudem wurden die gewaschenen und ungewaschenen Salatproben erneut am Ende des MHD untersucht (1 Woche Lagerdauer, 4 °C). Im Anschluss wurde der mikrobiologische Status erneut evaluiert, um zu untersuchen, ob es eine Verschiebung der Keimflora gibt und ob die antimikrobiellen Effekte auch bis zum Ende der Mindesthaltbarkeitsdauer zu beobachten sind. Es zeigte sich hierbei, dass insbesondere das Polyphenol-Wasser Gemisch eine effektive Langzeitwirkung auf die mikrobiologische Flora (Gesamtkeimzahl, *Enterobacteriaceae*, Hefen, Laktobazillen und Schimmel) ausübte. Die Proben, welche nicht mit Trinkwasser nachgewaschen wurden, zeigten bis zum Ende des MHD eine geringere Keimbelastung als die nachgewaschenen Proben.

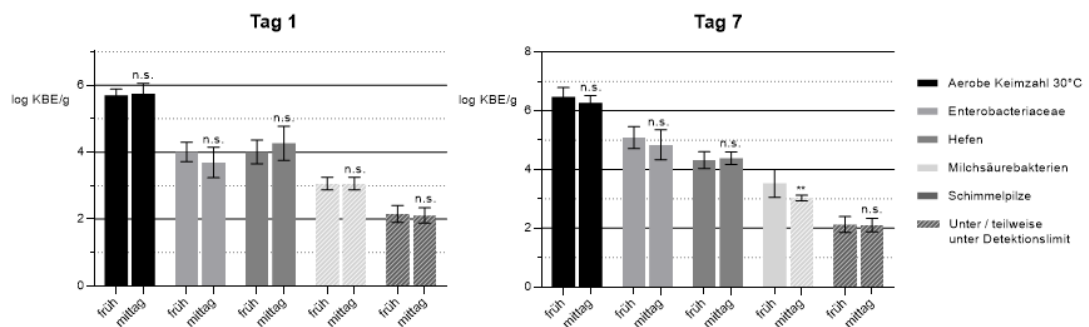


Abbildung 2 Diagramm Vergleich frisches/gebrauchtes Prozesswasser.

Versuche mit Natriumhydrogencarbonat in verschiedenen Konzentrationen führten zu keiner Verbesserung. Beispielhaft führen wir die Ergebnisse zu Wasserstoffperoxid sowie einem Gemisch aus Wasserstoffperoxid mit Peressigsäure und Natriumhypochlorid an. Die mikrobielle Keimbelastung (Aerobe Keimzahl, 30°C) wurde anfänglich durch das Gemisch um 1 log reduziert, am Ende des erweiterten MHD (Tag 7) war die Keimbelastung allerdings wieder auf dem Niveau der unbehandelten Referenzproben. Mit Wasserstoffperoxid konnte eine anfängliche Reduktion um 2 log-Stufen erreicht werden, allerdings ist die Behandlung kostenintensiv und daher nicht praxistauglich.

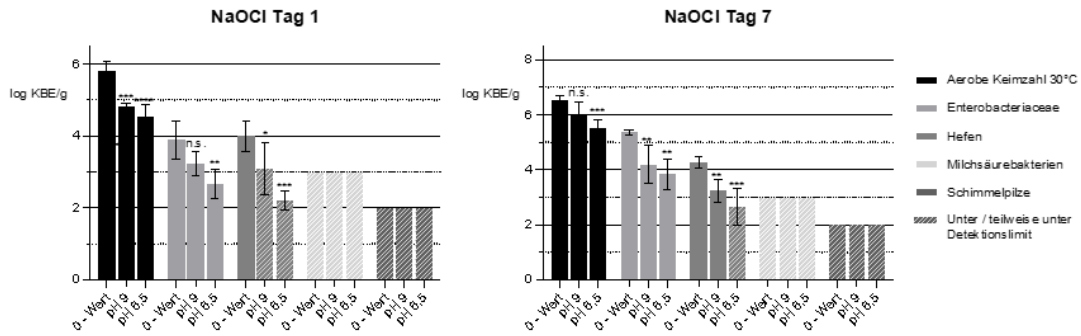


Abbildung 3 Diagramm Zusatz von Natriumhypochlorid

Waschversuche mit einem Zusatz von Natriumhypochlorid führen zu einer Reduktion der Aeroben Keimzahl um eine log-Stufe, diese Reduktion bleibt bis zum Tag 7 erhalten. Die Versuche zeigen, dass eine dauerhafte Reduzierung des Keimgehalts möglich ist, allerdings wird von einem Zusatz von chlor-haltigen Mitteln abgesehen. Versuche die Waschleistung durch Zusatz von oberflächenaktiven Substanzen (SDS) bei denen zusätzlich Entschäumer notwendig ist, führten zu keiner Verbesserung. Beim herkömmlichen Waschvorgang werden locker anhaftende Partikel rasch entfernt, die verbleibende Keimlast rührt offenbar von fest ansitzenden Biofilmen, beziehungsweise von, in den Pflanzenporen verankerter, pflanzenassoziierter Nativflora, welche sich nicht abwaschen lässt. Die mit diversen Zusätzen anfänglich erzielte Keimreduktion wird am Ende der Haltbarkeit in den meisten Fällen ausgeglichen. Von den getesteten Mitteln erzielte das Polyphenol-Wasser Gemisches die besten Resultate und eine effektive Langzeitwirkung auf die mikrobiologische Flora.

Zusätzlich zu der Effizientzestung von Waschwasserzusätzen wurden Versuche zum Vorwaschen und zum Einfluss der Waschwasserqualität durchgeführt. Wie in Abbildung 2 ersichtlich, hat wiederholtes Waschen zu keiner messbaren Reduktion der Keimbelastung geführt. Abbildung 2 zeigt keine messbare Verschlechterung durch Verwendung von bereits gebrauchtem Wasser.

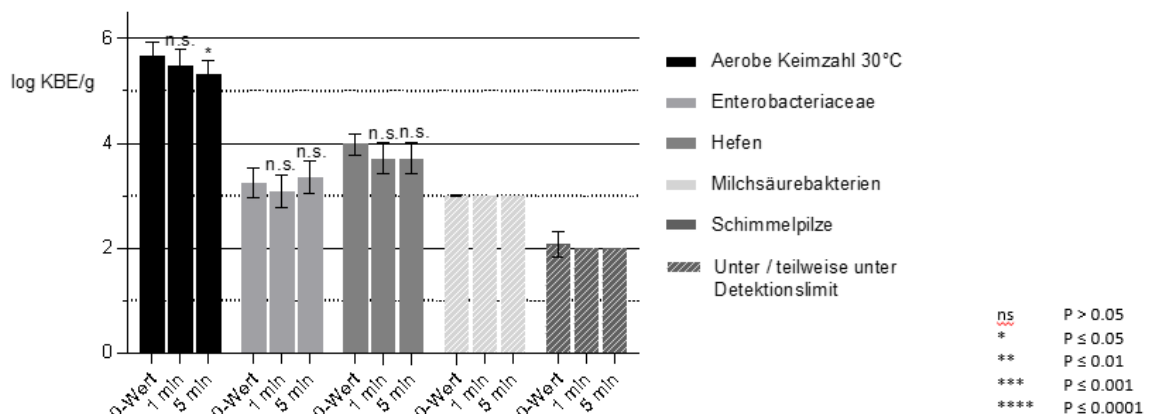


Abbildung 4 Diagramm Vergleich Waschdauer

Aufgabenstellung: Challengetest zur Einschätzung des Wachstumspotentials von *Listeria monocytogenes* (LMO) in Produkten für die der Grenzwert <100 KBE/g bis zum Ende der Haltbarkeit gilt.

Eine Verlängerung der Mindesthaltbarkeit hilft der Verschwendung von Lebensmitteln entgegenzuwirken. Die Produktsicherheit und -qualität muss aber mithilfe von Challengetests und Lagerversuchen evaluiert werden, um die Mindesthaltbarkeit zu verlängern.

Mittels Challengetests soll sichergestellt werden, dass sich möglicherweise ins Produkt eingetragene *Listeria monocytogenes* (LMO) im Produkt bis zum Ende der Haltbarkeit nicht >100 kolonienbildende Einheiten (KBE)/g vermehren können. Salate und Salatmischprodukte sind aufgrund ihrer kurzen Mindesthaltbarkeit (weniger als 5 Tage) Produkte die der Kategorie LM-Kriterium Nr. 1.3 „Verzehrferne Lebensmittel, die die Vermehrung von *Listeria monocytogenes* nicht begünstigen können“ zuzuordnen (EG VO 2073/2005). Per definitionem ist hier der Grenzwert <100 LMO KBE/g bis zum Ende der Haltbarkeit anzuwenden.

Der Challengetest dient dazu das Wachstumspotential *L. monocytogenes* zu eruieren, mit dem Ziel einen Nachweis zu erbringen, dass das Wachstumspotential von *L. monocytogenes* unter Kontrolle gehalten wird (DELTA $\delta < 0,5 \log$ KBE/g).

Für eine realistisch Beurteilung des Wachstumspotentials sollte ein LMO-Stammcocktail zum Einsatz kommen, der Referenzstämme sowie Feldstämme aus dem jeweiligen Produktumfeld inkludiert. Die LMO-Feldstämme wurden während des *Listeria* Monitoring im Rahmen der betrieblichen Eigenkontrolle isoliert. Im Rahmen des Projekts wurden diese LMO-Feldisolate typisiert und ihre Eigenschaften zur Persistenz im Betriebsumfeld evaluiert.

Die LMO-Stammcocktails für die Challengeversuche wurden für die unterschiedlichen Hersteller individuell zusammengestellt und enthielten neben ausgewählten produktionsinternen Feldstämmen, relevante hypervirulente Stämme, sowie einen Referenzstamm (ATCC 19115). Der LMO-Stammcocktail wurde vor jedem Versuch bei 10 °C kälteadaptiert, um möglichst produktionsrealistische Temperaturbedingungen zu erzeugen.

In einer ersten Versuchsreihe wurden Salatprodukte ohne Zusatz von Schutzgasen, bei 6 und 8°C Lagerung, untersucht. Die Salate wurden am Tag 0 mit einem betriebsspezifischen LMO-Stammcocktail (Genotyp ST2-genetische Linie I, ST21, ST121-beide genetische Linie II) und einem Referenzstamm ATCC 19115 beimpft (ca. 100 KBE/g).

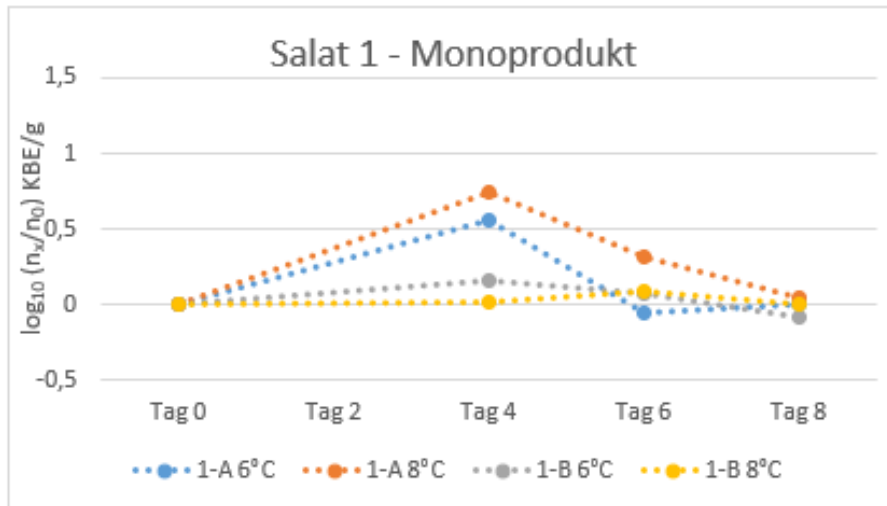


Abbildung 5 Wachstumspotential LMO - Salat 1

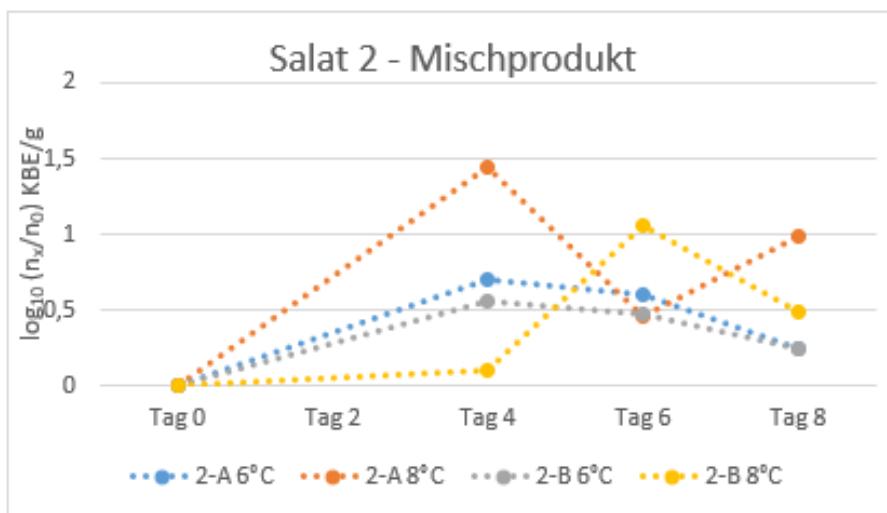


Abbildung 6 Wachstumspotential LMO - Salat 2

Dargestellt ist jeweils die Differenz der Medianwerte aus 3 Messungen zum Median der Messwerte der 3 Referenzproben. Die Referenzproben sind in gleicher Weise behandelte und inokulierte Proben, wie die gelagerten Proben, sie wurden aber nicht gelagert, sondern unmittelbar nach der Beimpfung untersucht (=Tag 0). Jeder Versuch wurde unabhängig vom ersten Versuch wiederholt. Die Bezeichnungen A und B bezeichnen die getrennten Ansätze. Bei Salat 1 fällt auf, dass sich die Entwicklung von LMO im Produkt zwischen den Ansätzen, und damit den verwendeten Produktchargen, viel stärker unterscheidet, als zwischen den Lagertemperaturen.

Möglicherweise ist bei diesem Produkt die Ausgangsqualität der Ware wichtiger für das Wachstumspotential von LMO, als die Lagertemperatur (6°C und 8°C), wobei

nicht geklärt wurde welche Faktoren entscheidend sind. In jedem Fall unterstreichen die Ergebnisse die Notwendigkeit Challengetests mehrfach unabhängig voneinander durchzuführen, um zu einer vertrauenswürdigen Aussage über das Wachstumspotential von LMO in einem Produkt zu gelangen.

Für die Beurteilung des Wachstumspotentials ist der maximal erreichte Wert entscheidend, wie aus den Versuchsergebnissen klar ersichtlich, führen Auswertungen nur am MHD eines Produkts zu falschen Beurteilungen des Wachstumspotentials.

Bei beiden untersuchten Produkten wurde bei beiden getesteten Lagertemperaturen ein Delta von 0,5 log₁₀ KBE/g überschritten, somit sind sie als Produkte, welche das Wachstum von LMO fördern, zu beurteilen. Die Haltbarkeit dieser Produkte kann mit den gegebenen Produktcharakteristika nicht verlängert werden.

Die weiteren Versuche wurden mit Lebensmitteln (Mono- und Mischsalate, Melonenstücke, Ananas) in Schutzgasatmosphäre unterschiedlicher Zusammensetzung (9-15% O₂ / 6-10% CO₂) bei 4°C Lagerung durchgeführt. Die Schutzgasatmosphäre zeigte keine inhibierende Wirkung auf das Wachstum von LMO in Salaten und Melonen. Der LMO-Cocktail war in Ananas bei 4 °C Lagerung nicht vermehrungsfähig.

Da für die Challengetests die betriebsspezifischen LMO-Stämme gemeinsam mit einem Referenzstamm herangezogen wurden, stellte sich die Frage, ob sich die unterschiedlichen Stämme in gleicher Weis in den Produkten vermehren konnten. Um dies zu prüfen wurde die Verteilung der Stämme zu den unterschiedlichen Beprobungszeitpunkten in den Produkten untersucht.

Die Hypothese war, dass sich persistente LMOs besonders gut an die Lebensmittelmatrices adaptieren. LMO-Einzelkolonien, die auf den einzelnen Verdünnungsstufen der untersuchen Produkte wuchsen, wurden mittels Multi-Lokus Sequenztypisierung untersucht. Die persistenten LMOs (Sequenztyp - ST21) und auch andere Feldstämme (ST121, ST2) zeigten einen klaren Wachstumsvorteil gegenüber dem Referenzstamm ST145, besonders in Produkten des Herstellers A (Abbildung 7).

Hersteller A	Blattsalat 1	MIXPRODUKT				
	Lagerung 6°C	Tag	VD 1:300	Lagerung 8°C	VD 1:300	
		4	121 21		121 21	
		6	121 0		121 0	
		8	121 21		121 0	
		Blattsalat 2	MONOPRODUKT			
	Lagerung 6°C	Tag	VD 1:300	Lagerung 8°C	VD 1:300	
		4	121 0		121 21	
		6	121 0		121 21	
		8	121 0		121	
	Blattsalat 3	MONOPRODUKT				
Lagerung 6°C	Tag	VD 1:300	Lagerung 8°C	VD 1:300		
	4	0 0		0 0		
	6	0 0		0 0		
	8	121 21		21 2		

Abbildung 7 Wachstumspotential des LMO-Cocktails (ST21, ST121, ST2 und Referenz ST145) bei der höchsten Verdünnungsstufe (VD 1:300) in Produkten des Herstellers A. Legende: die einzelnen LMO-

Stämme sind farblich markiert, ST21-persistent, blau; ST121-grün; ST2-gelb

Die Referenz LMO ST145 war in der höchsten Verdünnung VD 1:300, die das Wachstumspotential anzeigt, nicht nachweisbar.

Der LMO Cocktail (ST1, ST631-CC4, hypervirulent, ST145 Referenz) zeigt ebenso Vermehrungspotential in den Salatprodukten des Herstellers B (Abbildung 8), wobei teilweise die Referenz in der VD 1:300 (Indikator für das Wachstumspotential) nachweisbar war. In Melonen war Wachstum ebenso gegeben, wobei die Referenz durch die Feldstämme verdrängt wurde.

Die Studie macht deutlich, dass die LMO-Stämme unterschiedliches Wachstumspotential in den einzelnen Lebensmittelmatrices zeigen. Die Auswahl der Stämme sollte durch Wachstums-Vorversuche charakterisiert werden.

Die Nativflora in den Blattporen und an der Oberfläche der Salatblätter ist nicht kompetitiv gegenüber LMO und inhibiert dadurch die Vermehrung nicht. In dieser Studie war der Hauptanteil der Mikroben in Blattsalaten durch Pseudomonaden, Erwinia, Lysobakterien und Sphingobakterien repräsentiert, die die Nativflora der Blätter repräsentieren (Abbildung 9).

Die nationale Challenge-Test Empfehlung (BMG, AGES) sieht eine Beimpfung der Lebensmittel-Matrix an der methodischen Nachweisgrenze von Referenzmethoden (ISO 11290-2), als auch Alternativmethoden (real-time PCR, Vidas) vor. Um eine richtige Prognose des Wachstumspotential von LMO in einzelnen Lebensmitteln zu gewährleisten, bedarf es einiger Replikate (mindestens Triplikate) im Testverlauf. Die Proben sollten nicht nur quantitativ untersucht werden (ISO11290-2), sondern auch qualitativ (ISO11290-1). Die qualitative Untersuchung ist die sensitivere Methode, da sie auf einer 2-stufigen Anreicherungsverfahren in Kombination mit Selektivnachweis auf chromogenen Nährmedien basiert.

Hersteller B	Blattsalat 4	MONOPRODUKT			
	Lagerung 4°C	Tag	VD 1:300		
		2	0	0	0
		4	0	631	0
		6	0	0	145
		7	1	631	0
	Blattsalat 5	MIXPRODUKT			
	Lagerung 4°C	Tag	VD 1:300		
		2	1	0	0
		4	1	631	0
		5	0	631	0
		6	0	631	145
	Melone				
	Lagerung 4°C	Tag	VD 1:300		
		2	0	0	0
		4	1	631	0
	Ananas				
	Lagerung 4°C	Tag	VD 1:300		
		2	0	0	0
		4	0	0	0
		6	0	0	0
		7	0	0	0
		9	0	0	0

Abbildung 8 Wachstumspotential des LMO-Cocktails (ST1, ST631-CC4 und Referenz ST145) bei der höchsten Verdünnungsstufe (VD 1:300) in Produkten des Herstellers B. Legende: die einzelnen LMO Stämme sind farblich markiert, ST1-, orange; ST631-rot; ST145 Referenz-violett; 0 heißt nicht nachweisbar

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen klar, dass in Gemüse und Obst bei Challengetesten unbedingt ISO11290-1 und -2 im Versuchssetting zu implementieren sind.

Den Herstellern ist zu empfehlen, die ISO11290-1 auch am Ende der Haltbarkeit von Gemüse und Obst und daraus hergestellten verzehrfertigen Erzeugnissen anzuwenden, da diese auch geringe Mengen von Listerien nachweist. Auf der Basis dieser Ergebnisse kann man dann in der Prozesslandkarte die Schwachstellen identifizieren, an denen es zu einer Kreuzkontamination mit LMO kommt. Dadurch ist die Sicherheit von wenig prozessierten und nicht lange haltbaren Produkten gewährleistet.

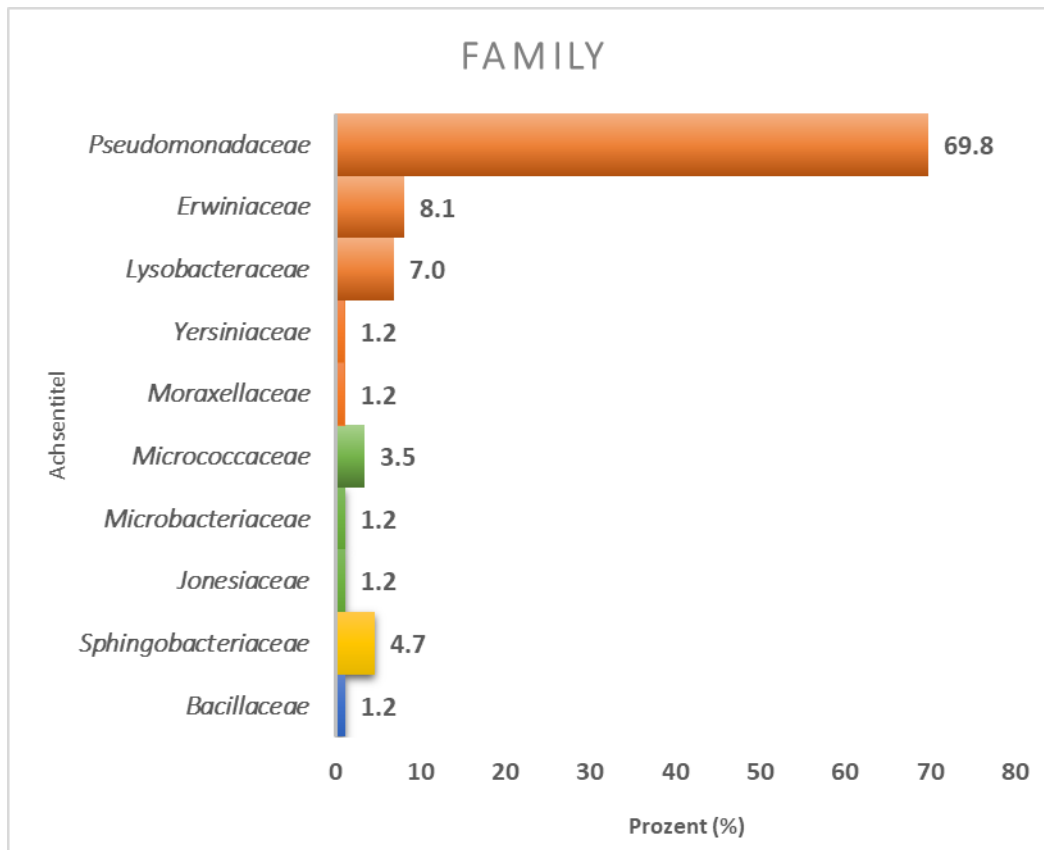


Abbildung 9 Nativflora in Blattsalaten.

Aufgabenstellung: Ausschluss von *Salmonella*- und STEC-Kontaminationen in Obstschalen durch Vorbehandlung der Rohware

Bei frisch geschnittenem Obst (z.B. Melonen), das teilweise mit und ohne Schale essfertig in versiegelten, nicht perforierten Verpackungen ohne Schutzatmosphäre angeboten wird, kommt es während der Lagerung aufgrund des hohen Zuckergehalts häufig zu unerwünscht starkem mikrobiellem Wachstum. Insbesondere Enterobacteriaceae können sich in diesen Produkten sehr rasch entwickeln. Abgesehen von den dadurch bedingten sehr kurzen Haltbarkeitszeiten der Produkte besteht die Gefahr einer potenziellen Kontamination mit Zoonose Erregern (Salmonellen, STEC), welche sich ebenso stark vermehren könnten.

Die Früchte werden meist im „Pre-harvest“ Level mit Enterobacteriaceaeen, wobei pathogene wie *Salmonella* und STEC nicht grundsätzlich auszuschließen sind, kontaminiert (Quelle Tier, Mensch, Umwelt-Erde). Ziel ist es daher den Eintrag der Kontaminationen in das Produkt zu verhindern, oder zumindest zu reduzieren.

Als erstes wurde im Labor überprüft, ob die gesuchten Keime nicht bereits vor der Verarbeitung in die Früchte gelangen und somit jeglicher Versuch den Keimeintrag über oberflächlich wirkende Maßnahmen zu reduzieren vergebens ist. Dazu wurde die Gesamtkeimzahl auf den Oberflächen und im Fruchttinneren von im Labor, unter sterilen Bedingungen aufgeschnittenen Melonen untersucht. Untersucht wurden mehrere Melonensorten (Galia, Piel de Sapo, Cantaloupe, Honigmelone), welche sich in ihrer Oberflächenstruktur deutlich unterscheiden. Die Keimlast der

Fruchtoberflächen schwankt sehr stark, wobei insbesondere die rauschaligen Sorten (Cantaloupe, Galia) hohe Keimzahlen (10^5 KBE/g) tragen. Die Keimzahlen im Fruchttinneren waren bei allen untersuchten Früchten kleiner der Bestimmungsgrenze (1000 KBE/g).

Methoden zur Oberflächendekontamination von Melonen stellen somit eine sinnvolle Möglichkeit zur Keimreduktion in Fruchtcocktails dar, wobei die Methoden vorrangig an rauschaligen Sorten getestet werden.

Melonen haben eine relativ stabile Schale, womit sich eine Behandlung der Oberfläche mit gespanntem Dampf zur Dekontamination anbietet. Um die Wirksamkeit der Dampfbehandlung unter kontrollierten Bedingungen zu testen wurden die Oberflächen mit einem Testkeim zur normkonformen Prüfung thermischer Dekontaminationsverfahren in Krankenhäusern (*Enterococcus faecium* ATCC6057) in definierter Konzentration beimpft. Die Tests wurden an Galiamelonen (Netzmelonen) durchgeführt, da diese eine sehr raue Oberfläche haben.

Zuerst wurde empirisch eine Bedampfungsintensität gewählt, bei der die Fruchtoberflächen keine sichtbare Veränderung durch die Behandlung erfahren. Danach wurde die Wirksamkeit der eingestellten Dampfintensität auf den Testkeim geprüft. Getestet wurde in jeweils drei Wiederholungen. Eine durchschnittliche Keimreduktion von 0,8 log KBE/g wurde erreicht. Auf Basis dieser Erkenntnisse wurde ein Versuch im betrieblichen Umfeld gestartet, bei welchem zusätzliche Parameter, wie beispielsweise die Schälbarkeit und weitere Verarbeitbarkeit im Produktionsprozess ermittelt wurden.

Auf Basis der Laborversuche wurden Bedampfungsversuche an Zuckermelonen im betrieblichen Umfeld durchgeführt. Ziel war es, die mikrobielle Zusammensetzung nach unterschiedlichen Bedampfungs-Intensitäten zu ermitteln. Dazu wurde die Behandlungszeit in 15 Sekundenschritten von 0 auf 60 Sekunden erhöht und die mikrobiologischen Parameter aerobe mesophile Gesamtkeimzahl, Enterobacteriaceae, Hefen, Schimmel ermittelt.

Bereits bei 15 Sekunden Bedampfungsdauer ist die Nachweisbare natürliche Enterobacteriaceae-Flora in allen fünf untersuchten Proben unter die Bestimmungsgrenze von 100 KBE/g gefallen. Im Versuch mit 60 Sekunden Bedampfung konnte bei einer von fünf Untersuchungen Enterobacteriaceae in der 2 Logstufe nachgewiesen werden. Der Wert stellt einen Ausreißer dar, kann aber auch bedeuten, dass unter ungünstigen Umständen kleine Keimnester die Behandlung überstehen. Die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl zeigt, dass eine Steigerung der Bedampfungsdauer über 30 Sekunden zu keiner weiteren erkennbaren Keimreduktion führt. Die nach 15 Sekunden Behandlung erkennbare deutliche Keimreduktion ist in erster Linie auf die Reduktion der Enterobacteriaceae zurückzuführen. Ab 30 Sekunden Behandlung sind offenbar nur mehr sehr hitzeresistente Keime (Sporenbildner) auf der Schale vorhanden. Diese können erst durch viel höhere, das Produkt zerstörende, Dampfintensitäten reduziert werden, eine Steigerung der Behandlungsdauer auf über 30 Sekunden hat somit keinen vorteilhaften Effekt. Die behandelten Früchte waren im Labor sensorisch unauffällig. Auch bei den innerbetrieblichen sensorischen Verkostungen wurden keine Abweichungen festgestellt. Die Prozessparameter zeigten, dass erst bei einer Behandlungsdauer von 60 Sekunden die Schälbarkeit stark erschwert war und sich die Schalenfarbe im Laufe der Lagerung änderte.

Mit den Versuchen konnte gezeigt werden, dass bei Melonen der Eintrag von Enterobacteriaceae über die Rohware durch einen technisch einfach durchführbaren Schritt deutlich reduzieren lässt, ohne dass die Produktqualität darunter leidet.

Aufgabenstellung: Entwicklung von verderbsminimierenden Verpackungsmethoden auf Basis von Mikroperforation für geschnittene Obst- und Gemüseprodukte

Bei frisch geschnittenem Obst (z.B. Melonen), das teilweise mit und ohne Schale essfertig angeboten wird, kommt es während der Lagerung aufgrund des hohen Zuckergehalts häufig zu unerwünscht starkem mikrobiellem Wachstum. Vor allem die intrinsischen Reifefaktoren, die als Gase aus der Frucht austreten (z.B. Ethylen), können sich bei den gegen mikrobiologischen Verderb angewendeten hermetischen Verpackungsformen mit oder ohne modifizierte Atmosphäre aufkonzentrieren und somit zu einer rapiden Verschlechterung der Haltbarkeit führen.

Aus diesem Grund wurden Versuche mit geschnittenen Früchten in Bechern mit perforierten Folien durchgeführt. Die Folie wird dabei im Zuge der Versiegelung durch eine Lochstanze mit unterschiedlicher Porengröße perforiert. Die durchgeführten Versuche wurden mit Erdbeeren, Melonen, Mango und einem Früchtemix durchgeführt. Dabei zeigte sich bei Anwendung der Perforierung in allen Fällen eine Verbesserung der Haltbarkeit um 1-2 Tage. Um Früchte, die aufgrund von Maillardreaktion anfällig für Verfärbungen sind sensorisch zu stabilisieren, wurden Versuche zur Absenkung des pH-Wertes durchgeführt. Messungen an Mischungen aus geschnittenem Obst haben unerwartet hohe pH-Werte (um 4,2) offenbart. Durch Absenken des pH-Wert (3,2) konnten die Obstmischungen bis zu 6 Tage stabilisiert werden.

3.2. TK-Beerenobst und Fruchtzubereitungen

Aufgabenstellung: Verminderung des Eintrages von Noroviren und Hepatitis A Viren durch hygienetechnische Maßnahmen bei der Ernte von Beerenobst (fokussiert auf Himbeere und Erdbeere)
Entwicklung einer Dekontaminationsmethode gegenüber LM-Viren im online Prozess der Sortierung und des Einfrierens von Beerenobst

Virale Gastroenteritis (Norovirus) und Hepatitis (Hepatitis A Virus) Erreger stellen sowohl in Frischware als auch in tiefgekühltem Beerenobst eine potenzielle Gefahr dar. In diesem Projekt konzentrierte man sich auf Tiefkühlware, da diese im Unterschied zu Frischware mit einer durchschnittlichen Haltbarkeit von zwei bis fünf Tagen, auch nach Abschluss der Untersuchung im Handel verfügbar sind. Um eine Dekontaminationsmethode erfolgreich in einen Produktionsprozess zu integrieren, muss es sich um ein Verfahren im Durchlaufbetrieb mit geringen Behandlungszeiten handeln. Es ist geplant die Dekontamination an den frischen Beeren unmittelbar vor dem Froster (z.B. Dampf) oder im Froster (z.B. UV-Licht) durchzuführen.

Dampfbehandlung

Versuche zur Oberflächendekontamination von Himbeeren mittels Kurzzeitbedampfung. Es wurde ein Versuchsaufbau konstruiert, der definierte Oberflächenbedampfung der Proben unter gleichzeitiger Messung von Umgebungs-

und Oberflächentemperatur der Himbeeren ermöglichte. Mit diesem Setup wurden Versuche zur Inaktivierung von *Enterococcus faecium* auf der Himbeerenoberfläche durchgeführt. *E. faecium* wurde hierbei als temperaturstabiler Testkeim verwendet, um erste Ergebnisse über die Inaktivierungseffizienz des Verfahrens zu erhalten.

Zudem wurden die Qualitätsveränderungen der Himbeeren durch das Verfahren bewertet. Es wurden entsprechende Kinetiken zur mikrobiellen Inaktivierung und zum Qualitätsabbau erstellt.

Ergebnisse: Qualitätsbeeinflussung (deutliche Gewebeerweichung, Saftaustritt;) deutlich stärker als mikrobielle Inaktivierung (Abb. 10). Mikrobielle Inaktivierung nicht zufriedenstellend. Ergebnisse der Vorversuche konnten nicht reproduziert werden. Daher keine weitere Untersuchung dieses Verfahrens. Die H₂O₂-Begasung wurde als alternatives Verfahren evaluiert.

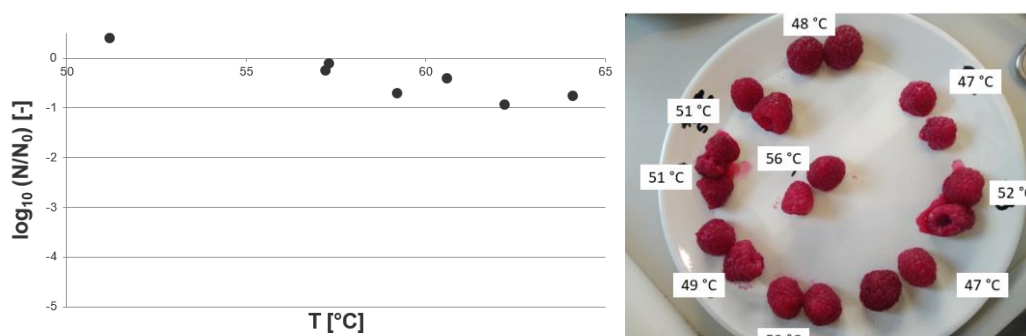


Abbildung 10 Inaktivierung von *E. faecium* an Beerenoberflächen durch Kurzzeit-Bedampfung und Beeinflussung der Qualität der Himbeeren

H₂O₂-Begasung

Versuche zur Oberflächendekontamination von Himbeeren mittels H₂O₂-Begasung bei unterschiedlichen Konzentrationen und Haltezeiten. Ermittlung der Inaktivierung von *Enterococcus faecium* als Modellkeim. Bewertung der Qualitätsveränderungen durch das Verfahren. Durchführung mehrerer Versuchsreihen und entsprechender Kinetiken zur mikrobiellen Inaktivierung und zum Qualitätsabbau.

Ergebnisse: Es konnte, abhängig von der H₂O₂-Konzentration, eine ausreichende Inaktivierung von *E. faecium* erzielt werden, bei gleichzeitig gutem Qualitätserhalt der Himbeeren. Hierbei wurde jeweils eine Kontaktzeit von 5 min gewählt.

Hinsichtlich der Inaktivierung konnten ab einer H₂O₂-Konzentration von 250 ppm Werte von >2 log₁₀ erzielt werden (Abb. 11). Hierbei war eine geringfügige Fluktuation der Werte beobachtbar, welche vermutlich durch die unregelmäßige Oberfläche der Himbeeren sowie Fluktuationen der mikrobiellen Analytik erklärbar sind.

Hinsichtlich der Produktqualität wurden beginnende lokale Farbänderung der Beeren ab einem Konzentrationsbereich von 400-500 ppm festgestellt (Abb. 12). Bei stark zellgeschädigten Himbeeren (eingefroren und wieder aufgetaut) traten diese bereits ab ca. 250 ppm auf. Grund hierfür ist insbesondere eine Entfärbung der Beeren, d.h. eine Zerstörung der Pigmente durch H₂O₂.

Exemplarisch wurden Himbeeren nach der H₂O₂- Behandlung (140 – 850 ppm) entsprechend dem späteren Anwendungsfall schockgefroren, und wieder aufgetaut. Die Qualität wurde anschließend evaluiert (optisch sowie mittels Farbmessung).

Nach dem Auftauen zeigten die Himbeeren ein etwas dunkleres, etwas weniger rotes Erscheinungsbild. Die lokalen Entfärbungen, welche bei hohen H₂O₂ Konzentrationen auftraten, verringerten sich nach dem Schockfrostern und anschließendem Auftauen jedoch deutlich (Abb. 13).

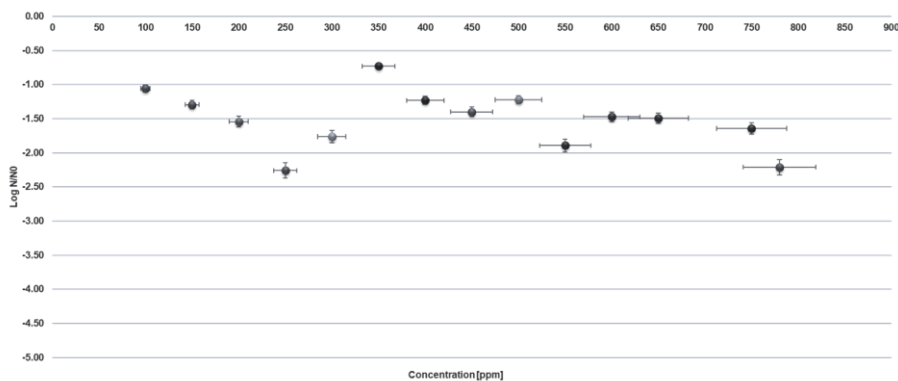


Abbildung 11 Inaktivierung von *E. faecium* durch H₂O₂ Begasung in Abhängigkeit der Konzentration.

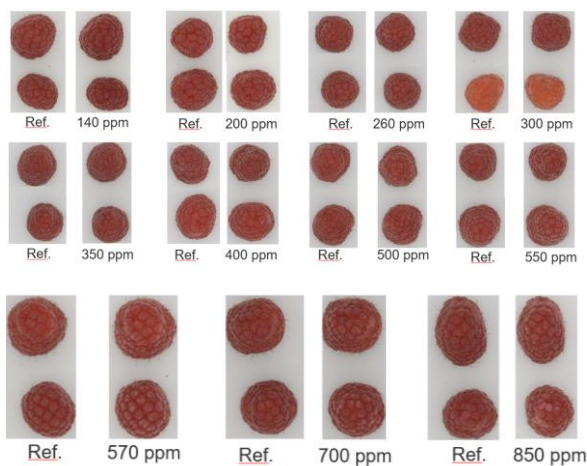


Abbildung 12 Qualitätsbeurteilung der Himbeeren vor (Ref.) bzw. nach der H₂O₂ Behandlung bei unterschiedlichen Konzentrationen.

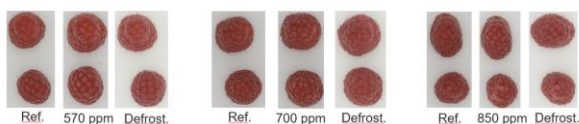


Abbildung 13 Erscheinungsbild der Himbeeren vor (Ref.) und nach der H₂O₂ Behandlung sowie nach dem anschließenden Einfrieren und Auftauen (Defrost.).

Basierend auf diesen Ergebnissen wurden Versuche zur Inaktivierung von Bakteriophagen (Coliphage MS-2) mittels H₂O₂-Begasung durchgeführt, als apathogenem Surrogat für Noroviren und Hepatitis A Viren. In Abstimmung mit den Industriepartnern wurde die Kontaktzeit für diese Versuche (in Anlehnung an industriell implementierbare Prozessparameter) auf 30 s festgesetzt. Der

Konzentrationsbereich zwischen 0 – 850 ppm wurde hierbei für die Phageninaktivierung ausgetestet. Die Versuche zeigten keine ausreichende Inaktivierung der Bakteriophagen (Abb. 14) sowie eine ausgeprägte Fluktuation der Werte, als kombinierte Folge des Verfahrens sowie der Analytik. Die Qualität der Beeren blieb weitestgehend unverändert. Zudem wurden H₂O₂ Rückstände an der Beerenoberfläche mittels Teststreifen ermittelt. Es wurde eine Restkonzentration von ca. 100 ppm direkt nach der Behandlung gemessen, nach dem Schockfrostern waren noch ca. 10 ppm hiervon erhalten.

Es wurde insbesondere aufgrund der geringen Inaktivierungsleistung des Verfahrens gegenüber Virensurrogaten entschieden, keine weitere Untersuchung dieses Verfahrens durchzuführen.

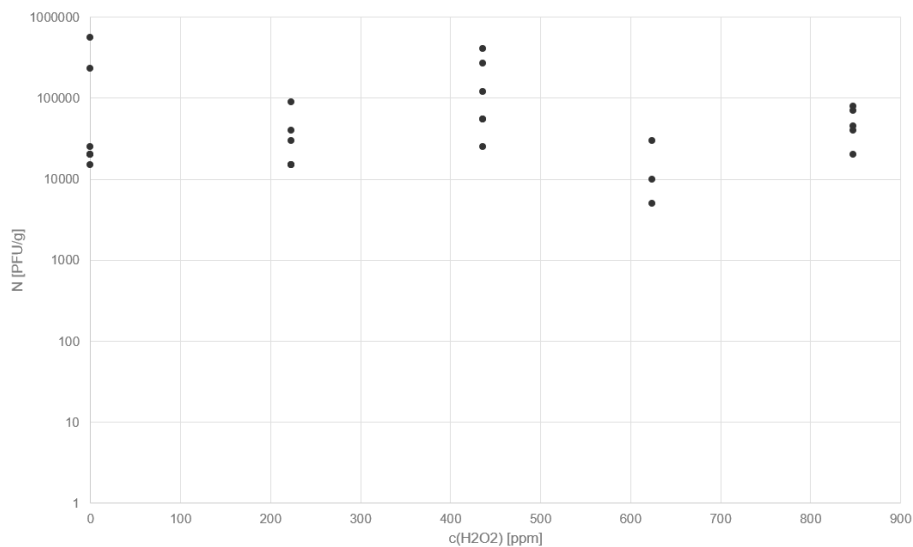


Abbildung 14 Inaktivierung von Coliphagen MS2 auf Himbeeren mittels H₂O₂-Begasung in Abhängigkeit der Konzentration.

Pulsed Light Behandlung

Für die Pulsed Light Behandlung von Beeren wurde die bereits für Salat verwendete Anlage verwendet (s.o.). Die Himbeeren wurden oberflächeninokuliert und im Anschluss bei unterschiedlichen Intensitäten behandelt. Der erste Versuch zeigte eine Inaktivierung von 1-1,5 log-Stufen bei bis zu 20 J/cm².

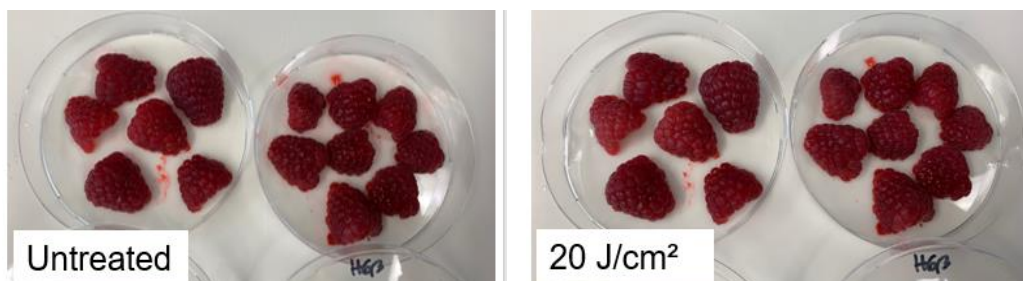


Abbildung 15 optische Veränderung der Himbeeren durch Pulsed Light Behandlung

Dabei wurde festgestellt, dass es oberflächlich lokal zu sehr hoher Temperatureinwirkungen kommt. Unter 40 s Behandlungsdauer bei 20J/cm² sahen die Himbeeren zwar frisch aus, aber ein leicht verbrannter Geruch war bemerkbar.

Beim den Folgeversuchen wurden die Himbeeren etappenweise behandelt und zwischengekühlt.

So konnte die Inaktivierung auf bis zu 2,4 log-Stufen gesteigert werden und der verbrannte Geruch wurde vermieden.

Die Versuche zeigten außerdem, dass die Ausgangsqualität der Beeren entscheidend ist für die Keimreduktion – je besser die Ausgangsqualität der Beeren, umso besser die Behandlung. Die Ursache liegt vermutlich daran, dass bei schlechterer Qualität die Schattenbildungen größer sind und daher die Keimreduktion vermindert wird.

Bei gefrorenen Früchten gibt es ebenfalls eine gute Inaktivierung.

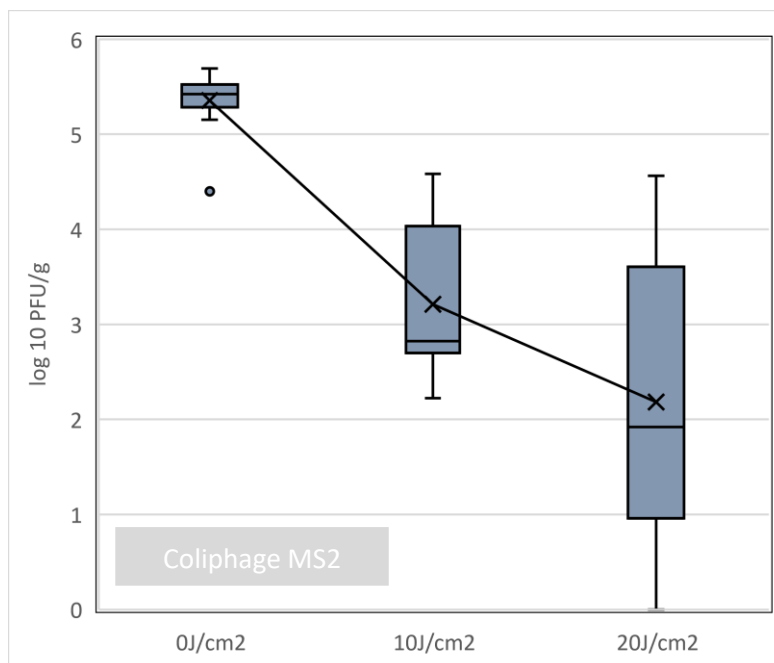


Abbildung 16 Phagen-Reduktion der Himbeeren durch Pulsed Light Behandlung.

Im letzten Versuchsaufbau wurde die Probenmenge gesteigert. Bei den 60 getesteten Proben von 2 verschiedenen Lieferanten mit Frisch- und TK-Ware konnte bei der Intensität von 10 J/cm² eine Phagen-Reduktion von 2 log erzielt werden. Die Intensitätssteigerung auf 20 J/cm² zeigte keinen wesentlichen Einfluss auf die Keimreduktion und ist daher nicht unbedingt notwendig (Unterschiede Keimreduktion und Intensitätssteigerung nicht linear).

Von allen getesteten Keimreduktionsverfahren konnte die Pulsed Light Behandlung für eine ausreichende Keimreduktion bei zufriedenstellender Produktqualität evaluiert werden.

Aufgabenstellung: Entwicklung von sporenstabilen Rezepturen ohne Verwendung von Konservierungsstoffen für Frucht- und Gemüsemischungen in Quetschbeutelverpackungen und Optimierung der Hochdruckpasteurisationsmethode in Hinblick auf Sporen- und Virenabtötung und Berücksichtigung der Vorprozesse.

Die Hochdruckpasteurisation wurde für Fruchtmuse in Quetschbeuteln getestet. Zu Beginn erfolgte die Untersuchung der Rohstoffe vor und nach der Pasteurisation auf die Gesamtkeimbelastung, Enterobacteriaceae, Hefen, Schimmel, präsumptiven *Bacillus cereus*. Sowie die Untersuchung der Belastung der Breie mit Sporen aerober Sporenbildner, mit Sporen anaerober Sporenbildner, mit präsumptiven *Bacillus cereus*, mit sulfid-reduzierenden Clostridien. Dabei stellt sich die Problematik, dass Bakteriensporen durch das HPP-Verfahren nicht abgetötet werden. Daher wurden die Produktrezepturen optimiert. Dabei wurde darauf geachtet die pH-Werte in einen für das Keimwachstum ungünstigen pH Bereich (4,2-4,4) zu verschieben. Zusätzlich wurde in den Herstellungsprozess eine Vorpasteurisation integriert.

Die Adaptierungen der Rezeptur und des Herstellungsprozesses von unterschiedlichen Frucht-/Gemüsebreien wurden mittels eines Challenge-Tests zur Prüfung der mikrobiellen Stabilität gegenüber *Bacillus cereus* bei zwei verschiedenen Lagertemperaturen überprüft. Zusätzlich wurde die Haltbarkeit von 12 unterschiedlichen Frucht/Gemüsebreien unter gestressten und ungestressten Lagerbedingungen getestet. Unter ungestressten Bedingungen (5°C Lagertemperatur) wurde innerhalb von 86 Tagen kein mikrobielles Wachstum festgestellt. Stresstests, die eine kurze Unterbrechung der Kühlkette simulieren (63 Tage Lagerung bei 5°C, 12h Lagerung bei 22°C), wurden erfolgreich durchgeführt, alle Produkte waren unter diesen Bedingungen stabil. Bei den Stresstests 15 Tage (30°C) konnte in zwei Produkten ein begrenztes mikrobielles Wachstum (+2log₁₀ KBE/g) nachgewiesen werden, der Großteil der Produkte war aber stabil.

Ein Challenge-test mit *Bacillus cereus* in Birnenpüree BIO - HPP pasteurisiert wurde durchgeführt. In der Matrix wurde bei 6°C und bei 30°C Lagertemperatur ein negatives Wachstumspotential für *B. cereus* von -2log₁₀ KBE/g bis zum Tag 9 festgestellt.

Die Ergebnisse zeigen, dass mit den angewandten Verfahren ein mikrobiologisch stabiles und sicheres Produkt hergestellt werden konnte, jede einzelne Rezeptur aber geprüft und angepasst werden muss.

3.3. Aufstriche und vegane Gemüseverarbeitungsprodukte

Aufgabenstellung: Entwicklung einer Dekontaminationsmethode gegenüber Clostridien und deren Sporen ohne Einsatz von Autoklavenmethoden bei Soja- und Kichererbsenbasis und Rezepturoptimierung in Hinblick auf ungekühlt haltbare Aufstriche und Tofuprodukte

Entsprechend der Natur der Produkte auf Soja- und Kichererbsenbasis sind anaerobe Sporenbildner (*C. botulinum*) das zentrale Thema für die mikrobiologische Sicherheit. Der aktuelle Prozess mit klaren Temperatur- und Zeitvorgaben ist geregelt und funktioniert, aber die Auswirkungen von Veränderungen einzelner Prozessparameter

auf die Produktsicherheit sind unklar. Prozessänderungen sind für beide Produktvarianten (pasteurisierte Produkte gekühlt gelagert und sterilisierte Produkte bei Raumtemperatur gelagert) zu beachten. Da die Produktqualität unter den hohen Temperaturen leidet ist eine Optimierung des Pasteurisations- und Sterilisationsprozesses in Richtung möglichst schonender Temperaturen bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung der Produktsicherheit angestrebt. Bevor Eingriffe in den Prozess vorgenommen wurden, wurde der aktuelle Prozess analysiert.

Im ersten Schritt wurde das Temperatur-/Zeitprofil, die Mengenflüsse im Prozess aufgenommen. Über den Prozessverlauf beginnend mit der Rohware, wurden Proben gezogen und die Veränderungen in der Keimbelastung (quantitativ) untersucht. An Schlüsselstellen, Rohware, Produkt vor der Pasteurisation, Produkt nach der Pasteurisation, sowie verdorbenen pasteurisierten Produkten wurde zusätzlich das Keimspektrum analysiert. Dazu wurden je fünf Packungen des nicht pasteurisierten sowie des bei 90°C / 105 °C pasteurisierten Produktes ungekühlt gelagert, bis Bombagen auftraten und das Keimspektrum erfasst.

Zusätzlich wurde der Produktionsprozess mittels eines Stufentests analysiert. Dabei wurde bei den wichtigsten Produktionsschritten das vorhandene Keimspektrum isoliert, identifiziert und in Folge sollen Temperaturreisistenzen und lag-Phasen ermittelt werden.

Trotz Erhitzung konnte im geschwemmten Tofu ein breites Spektrum an gramnegativen und grampositiven Keimen isoliert werden. Vereinzelt wurden auch Hefen identifiziert. Erst nach einem weiteren Erhitzungsschritt wurden die meisten Keime zuverlässig abgetötet. Milchsäurebakterien und Hefen waren nicht mehr nachweisbar. Aerobe Sporenbildner waren allerdings in der Lage, bei inadäquater Lagerung des Endprodukts wieder auszukeimen und die Verpackung zu blähen. Dabei dominierte die Spezies *Bacillus subtilis* in den untersuchten Produkten.

In der Stufenanalyse ist klar sichtbar, dass die vegetativen Keime der Rohware bereits im produktionsbedingten Erhitzungsschritt abgetötet werden. Allerdings kann mit den vorliegenden Prozessbedingungen keine ausreichende Sporeninaktivierung realisiert werden.

Im Anschluss an die Stufenprozessanalyse zur Ermittlung der möglichen Verbesserungspotentiale wurden verschiedene Methoden getestet. Die Ultrahoherhitzung (105 – 120 °C, 15 s) von Sojamilch führte zur mikrobiologischen Stabilität, aber durch das Gerinnen der Sojamilch war keine Weiterverarbeitung zu Tofu mehr möglich.

Eine Verbesserung des Erhitzungsprozesses des fertigen, verpackten Tofus konnte mit dem High-Temperature-Short-Time (HTST) Prinzip erzielt werden. Die Temperatur wurde hierbei vom 105 °C bis zu 135 °C erhöht. Der F-Wert (Kenngröße für die mikrobielle Inaktivierung) wurde hierbei bei allen Versuchen (inkl. dem industriellen Referenzprozess) konstant gehalten. Die Qualität (C-Wert) konnte durch den HTST-Prozess jedoch deutlich verringert werden, was durch eine sensorische Begutachtung ebenfalls bestätigt wurde. Das derzeit eingesetzte Verpackungsmaterial hält allerdings den höheren Temperaturen nicht stand

(aufbrechende Siegelnähte). Das Autoklavierverfahren kann auf den Industriellen Prozess skaliert werden, wenn eine entsprechende Optimierung der Verpackung erfolgt ist.

Aufgabenstellung: Stabilisierung von *B. cereus* Gehalten ohne Einsatz von Konservierungsmitteln (insbesondere vegane Fleischersatzprodukte, die ohne Nitrit Pökelsalz hergestellt werden).

Bei herkömmlichen Fleisch- und Wurstprodukten wird Nitrit Pökelsalz zur Haltbarmachung eingesetzt. Es hat antibakterielle und antioxidative Eigenschaften und dient der Umrötung des Fleisches. Insbesondere Sporenbildner werden durch Nitritpökelsalz gehemmt. Ziel der Versuche war es, die Abwesenheit von Nitritpökelsalz bei Fleischersatzprodukten aus sicherheitstechnischer Natur zu bewerten.

Dazu wurden Reihenuntersuchungen unter speziellen Lagerungsbedingungen durchgeführt.

In der ersten Versuchsreihe wurden 4 verschiedene Produkte (Vegane Extrawurst, Veganer Burger, Vegane Bratwurst und Vegane Streichwurst) mit 2 verschiedenen Varianten konserviert. Zum einen wurden Konservierungsmittel mit E-Nummern eingesetzt und zum anderen clean Label Konservierungsmittel. Parallel dazu wurden Kontrollen ohne Konservierungsmittel mitgeführt. Die Produkte wurden an Tag 2, 9, 17 und 31 nach Produktion auf die Parameter Aerobe GKZ, aerobe Sporenbildner, anaerobe GKZ, anaerobe Sporenbildner, sulfitreduzierende Clostridien, *Bacillus cereus*, Hefen/Schimmelpilze, Milchsäurebakterien, *Staphylococcus aureus* analysiert.

Die Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie definiert für hitzebehandelte, verzehrfertige Speisen, worunter auch vegane und vegetarische Produkte genannt werden, einen Richtwert für die aerobe Gesamtkeimzahl bei 1×10^6 KBE/g. In Ermangelung eines Grenzwertes wurden von den Gutachtern der Hygienicum GmbH interne Grenzwerte zur Beurteilung der mikrobiologischen Belastung der geprüften Produkte erarbeitet, diese sind als rote Linien in den nachfolgenden Diagrammen eingetragen. (siehe Abb. 17 und 18)

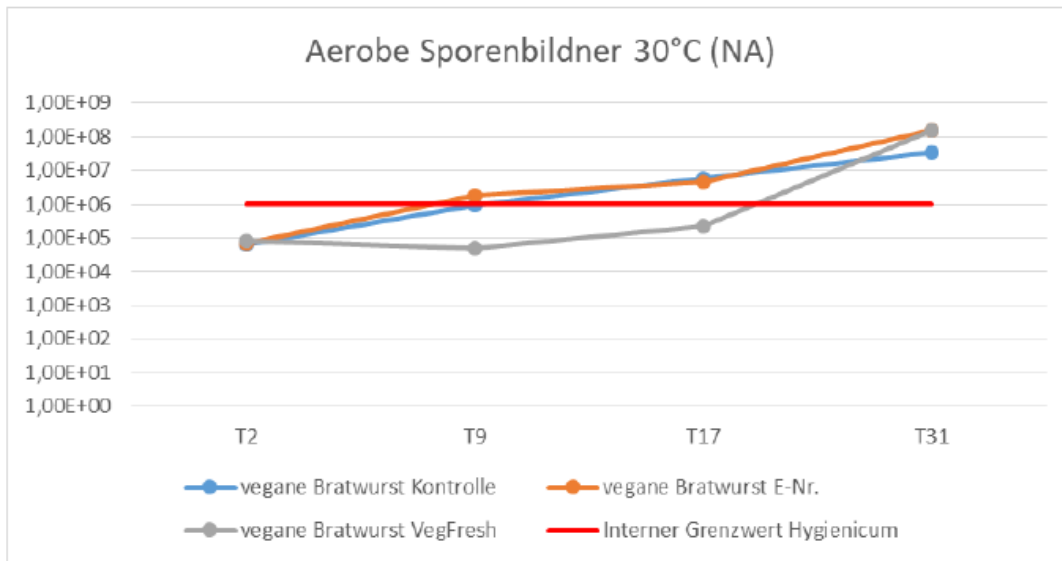


Abbildung 17 Stabilisierung von Fleischersatzprodukten ohne Nitritpöckelsalz am Beispiel "Vegane Bratwurst" – Parameter Aerobe Sporenbildner 30°C

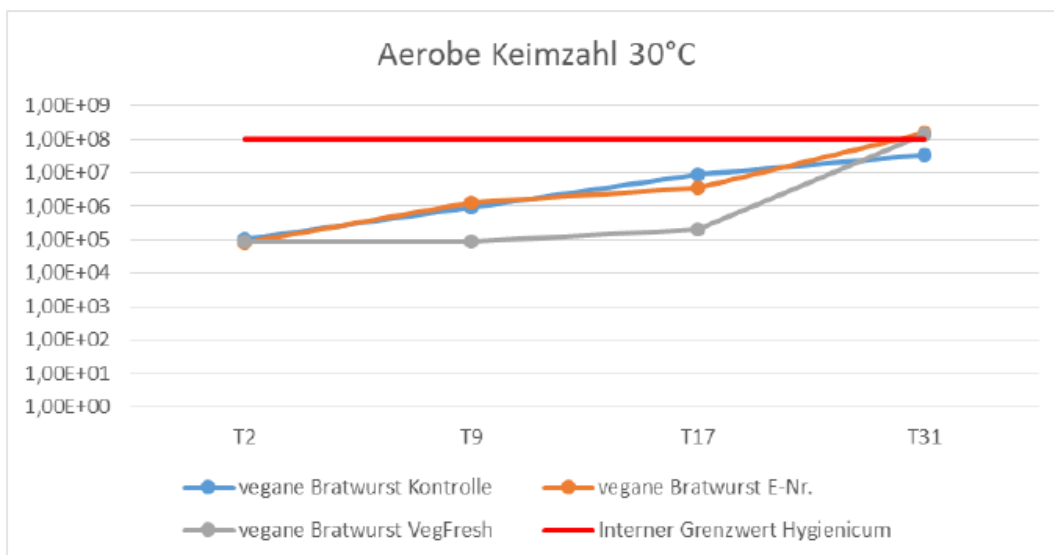


Abbildung 18 Stabilisierung von Fleischersatzprodukten ohne Nitritpöckelsalz am Beispiel "Vegane Bratwurst" – Parameter Aerobe Keimzahl 30°C

Das alternative Konservierungsmittel wirkt bis zum 17 Tag besser stabilisierend, als herkömmliche Konservierungsmittel. Nach dem 17 Tag lässt die konservierende Wirkung plötzlich nach.

Unter den getesteten Versuchsbedingungen kann eine Haltbarkeit für die Produkte entsprechend der nachfolgenden Tabelle gewährleistet werden. Diese Daten beziehen sich nur auf die getesteten Prozessbedingungen und Verpackungsparameter. Bei einer industriellen Produktion und Verpackung der Produkte unter strengen Hygienevorschriften kann die Haltbarkeit voraussichtlich noch deutlich gesteigert werden.

Tabelle 2 Ergebnisse zur Haltbarkeit "Vegane Bratwurst"

Produkt	Verpackung	Haltbarkeit (2-4°C) + 0,5% VegFresh (2052540)	Haltbarkeit (2-4°C) + E-Nr.
vegane Extrawurst	Aufschnittware, begast 80 N, 20 CO ₂	17 Tage	9 Tage
vegane Burger Patties	begast 80 N, 20 CO ₂	17 Tage	max. 9 Tage
vegane Bratwurst	in Darm, Vakuumverpackung	17 Tage	max. 9 Tage
Bio vegane Streichwurst	Kunststoffdarm; gekocht & geklippt	mind. 31 Tage	mind. 31 Tage

3.4. Gewürze und Gewürzzubereitungen

Aufgabenstellung: Entwicklung einer Dekontaminationsmethode, die die sensorischen Eigenschaften von Gewürzen (Farbe, Geruch, Geschmack) so wenig als möglich beeinflusst und den Ausschluss von Listerien, Salmonellen und STEC sowie das Erreichen der gegenüber EU-Anforderungen niedrigeren Grenzwerte für Schimmel und bakterielle Sporen in Auslandsmärkten (Russland, Asien) gewährleistet.

Unter der Kategorie Gewürze und Gewürzmischungen wird eine breite Produktpalette im Handel angeboten. Die benötigte Rohstoffvielfalt ist nur durch einen globalen Einkauf möglich. Die unterschiedlichen weltweiten Lieferanten und Rohstoffe führen zu unterschiedlichen Ausgangskeimspektren sowie –Konzentrationen der Eingangsware.

Auf Grund des hohen Exportanteils der Produkte werden von den Kunden diverse Grenzwertanforderungen gestellt.

Ziel ist es hier, entsprechend der Ausgangskeimspektren der unterschiedlichen Rohware passende Dekontaminationsprogramme zu entwickeln, um die für den jeweiligen Export notwendigen Grenzwerte zu erreichen, ohne dabei sensorische Eigenschaften zu beeinflussen.

Dazu wurden zu Projektbeginn Vorversuchen im Technikumsmaßstab durchgeführt. Es wurden insgesamt acht Versuche mit 2 Chargen je Produkt gestartet. In der Dampfentkeimungsanlage erfolgte nach der Aufheizphase auf 70°C Produkttemperatur eine Druckabsenkung im Rührbehälter auf 50 mbar. Durch die Zugabe von Sattedampf wurde ein Überdruck erzeugt (Haltezeit 1-2 Minuten). Die behandelte Ware wurde zusätzlich zur raschen Abkühlung für 6-8 Minuten vakuumgetrocknet. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** Tabelle in Abbildung 19 zeigt eine deutliche Reduktion der Aeroben Gesamtkeimzahl bei Thymian ganz, Petersilienblätter sortiert und Chillies-Pulver. Eine Keimreduktion von Knoblauch wurde nicht erreicht. Dieser wurde allerdings abweichend von den restlichen Produkten ohne Dampf und nur mit Hitze behandelt. Ein optischer Vergleich der untersuchten Produkte ist in ebenfalls Abbildung 19 ersichtlich. Die optische und

sensorische Produktqualität war überzeugend. Bei den folgenden Versuchen wurden neben Optimierungen der Prozessparameter die zu analysierenden Keimspektren erweitert, um die Qualität der Reduktion der Sporenbildner zu bewerten.

Artikelnr.	Bezeichnung	Versuch	Aerobe GKZ
1006577	Thymian ganz	Kontrolle	1.500.000
1006577	Thymian ganz	V1	< 1.000
1006577	Thymian ganz	V2	2.500
1051821	Petersilienblätter sortiert	Kontrolle	5.100.000
1051821	Petersilienblätter sortiert	V1	3.000
1051821	Petersilienblätter sortiert	V2	<1.000
1051657	Chillies-Pulver	Kontrolle	1.400.000
1051657	Chillies-Pulver	V1	170.000
1051657	Chillies-Pulver	V2	3.500
1006546	Knoblauchgranulat	Kontrolle	710.000
1006546	Knoblauchgranulat	V1	360.000
1006546	Knoblauchgranulat	V2	830.000



Abbildung 19 Dampfentkeimung diverser Gewürze – Gesamtkeimzahl und optischer Vergleich

Auf Grund der vielversprechenden Ergebnisse erfolgte das Upscaling der Dampfdekontamination in den Produktionsmaßstab. Basierend auf den Vorversuchen (T-t Bedingungen) wurde die neu installierte Anlage im Industriemaßstab ausgelegt. Es wurde hierbei deutlich, dass unterschiedliche Gewürze mit unterschiedlichen Parametern entkeimt werden müssen, um die Qualität der Gewürze möglichst gut zu erhalten. Mittlerweile sind die Bedingungen für die gängigsten Produkte bekannt und die Methode wird in der Routine-Produktion eingesetzt.

Vorbereitend für den späteren routinemäßigen Einsatz der Dampfentkeimungsanlage fand parallel die Validierung einer Schnellmethode (automatisiertes MPN-Verfahren) zur Überprüfung der mikrobiologischen Qualität der Rohware, sowie zur Sicherstellung der Einhaltung der Spezifikation der Fertigwaren statt. Es konnte die Eignung der Methode für definierte Untersuchungen mit klar definierten Zielen festgestellt werden. Gleichzeitig wurden Einschränkungen der Methode sichtbar gemacht und entsprechend in die firmeneigenen Prüfprotokolle eingearbeitet. Die Methode soll für die mikrobiologische Eigenkontrolle zur Überprüfung des Wareneingangs sowie der erfolgreichen Dekontamination mittels Dampfentkeimungsanlage dienen.

Zur Prüfung der Eignung der Methode wurden mit dem Gerät gemessene Werte mit der mikrobiologischen Standardmethode verglichen. Anfangs wurde das Gerät nur mit Kümmel getestet und die Validierung dann auf weitere Produkte ausgedehnt.

Die Ergebnisse der Schnellmethode, bei der Bestimmung der „Aeroben Gesamtkeimzahl“ (GKZ) sehr gut mit den Ergebnissen der Referenzmethode korrelieren, liegen allerdings tendenziell etwas höher (siehe Diagramm). Weitere Vergleichsuntersuchungen der GKZ an zahlreichen Gewürzen (147 Wareneingangsprobe) konnten die ersten Ergebnisse bestätigen. Eine Abweichung der GKZ von +/- 1 log zur Referenzmethode wurde festgestellt, wobei die Referenzmethode bereits eine Messunsicherheit von +/- 0,5 log zum wahren Wert einbringt. Die Abweichungen sind für den definierten Zweck tolerabel, die Methode kann zur Überprüfung der Effizienz der Dampfentkeimung herangezogen werden.

Die ersten Ergebnisse der Untersuchungen auf präsumtiven *Bacillus cereus* zeigten eine gute Übereinstimmung. Bei der Ausweitung der Vergleichsuntersuchungen auf weitere Matrices sind allerdings vermehrt positive Ergebnisse aufgetreten, welche nicht mit der Referenzmethode bestätigt werden konnten. Die Ursache für die falsch positiven Ergebnisse konnte nicht hinreichend geklärt werden. Die Schnellmethode wurde daher nicht zur Prüfung auf *B. cereus* freigegeben.

Die Ergebnisse der Hefe/Schimmeluntersuchungen zeigten eine gute Übereinstimmung, allerdings waren die erhaltenen Messwerte entweder sehr hoch 10^4 - 10^5 KBE/g oder, abhängig von der Matrixverdünnung, unter der Nachweisgrenze der Methode (10^1 - 10^2 KBE/g).

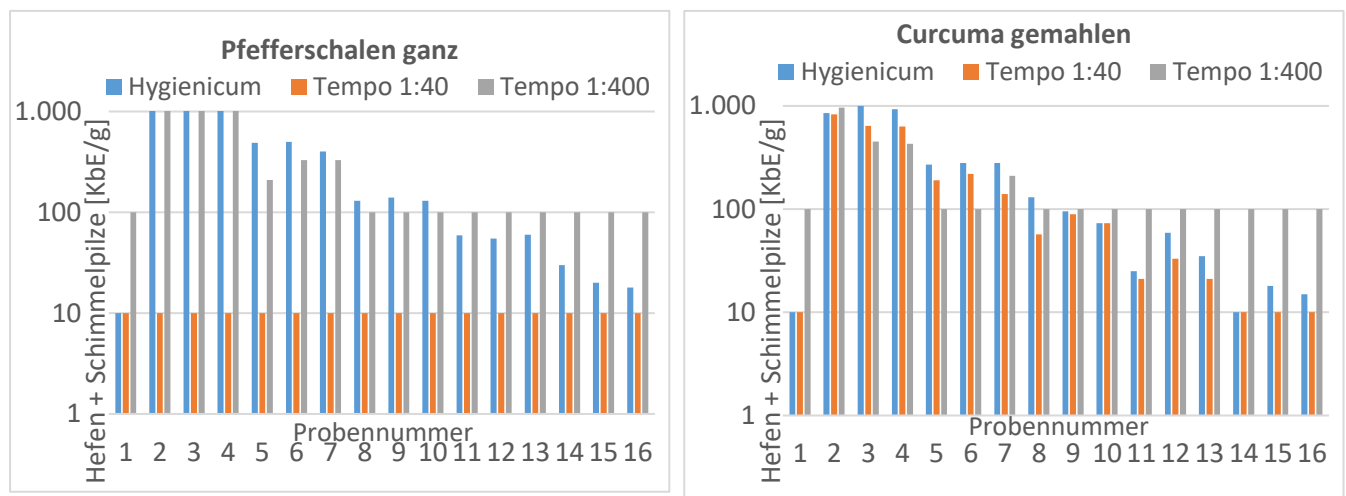


Abbildung 20 Vergleich Schnell- und Referenzmethode für Hefen und Schimmelpilze am Beispiel Pfefferschalen ganz und Curcuma gemahlen

Die firmeneigene Spezifikation für die Schimmelbelastung dampfentkeimter Gewürze liegt bei 100 KBE/g. Um die Eignung der Schnellmethode zur Qualitätskontrolle zu prüfen wurde mit mehreren zuvor entkeimten und künstlich inokulierten Gewürzmatrices die Nachweisgrenze, Richtigkeit und Präzession der Schnellmethode gegenüber der Referenzmethode im Bereich des Grenzwertes getestet. Als Testmatrices wurden exemplarisch 4 Gewürze (Oregano/Kümmel/Pfefferschalen/Curcuma) gewählt. Die Inokulationsstufen wurden so gewählt, dass der Grenzbereich von 10^2 KBE/g über- und unterschritten wird (10^3 , 3×10^2 , 10^2 , 3×10^1 und 10^1 KBE/g). Es hat sich gezeigt, dass die Ergebnisse sehr gut mit den Erwartungswerten und den Ergebnissen der Referenzmethode übereinstimmen. Einschränkend wurde erkannt, dass bei manchen Matrices (Oregano und Pfefferschalen - im Versuch) mit starker Wachstumshemmung zu rechnen ist. Der Hemmeffekt der Matrix wird bei höheren Verdünnungen aufgehoben, wodurch dann richtige Ergebnisse mit der Schnellmethode gewonnen werden. Falsch negative Proben können bei verdünnten Ansätzen nicht beobachtet werden. Die Verdünnung hebt allerdings die Nachweisgrenze der Methode in den Bereich des Grenzwertes von 100 KBE/g. Unabhängig von der Einschränkung wurde bei allen Proben eine erhöhte Belastung im Bereich von 3×10^2 richtig erkannt. Da die Hemmung für jede Matrix

unabhängig geprüft werden muss werden vorerst alle Proben verdünnt und unverdünnt untersucht.

Mithilfe der Schnellmethode wird eine effiziente betriebsinterne Prüfung der Keimreduktion, sowie der Grenzwerte zur Keimbelastung ermöglicht.

4. Methodenentwicklung Detektion

Entwicklung quantitativer Challengeverfahren mittels Surrogatviren für Norovirus und Hep A Virus.

Zur Etablierung des Nachweisverfahrens für Hepatitis A und Norovirus der Genogruppen G1 und G2 wurde ein geeignetes Verfahren zur Konzentrierung von Viruspartikeln aus Fruchtproben etabliert und im Zuge von Ringversuchen erfolgreich getestet. Der an die Konzentrierung anschließende Nachweis der Viren-RNA über Reverse-Transcription Real-Time PCR wurde im Labor ebenfalls erfolgreich etabliert und die Leistungsfähigkeit mit Ringversuchen bestätigt.

Im Zuge einer Literaturrecherche zu möglichen Surrogatviren für Noroviren, welche sich im Labor des Hygienicum untersuchen lassen und eine quantitative Beurteilung der aktiven Viruspartikel erlauben, wurde MS2-Phagen ausgewählt. MS2-Phagen sind ungefährliche RNA-Viren, welche sich leicht anzüchten lassen. Sehr viele Faktoren beeinflussen die Stabilität von Viren in der Umwelt (pH-Wert; Zuckergehalt, Proteinkonzentration,...). In zahlreichen Studien haben sich MS2-Phagen als sehr umweltstabile Viren herausgestellt und können daher als konservative Surrogate für unbehüllte Viren verwendet werden. Die Ergebnisse, welche mit MS2-Phagen experimentell erhalten werden, können somit auch sowohl zur Beurteilung der Wirksamkeit gegen Noroviren als auch Hepatitis-Viren herangezogen werden.

Die Konzentration aktiver Viren kann direkt über Plaquezählung bestimmt werden. Anzuchttests für MS2-Phagen, sowie Versuche zum quantitativen Nachweis aktiver Phagen mittels Plaque-Zählverfahren wurden erfolgreich abgeschlossen.

Im Anschluss an die ersten Anwendungen im Laufe der Versuche zur UV-Dekontamination von, mit MS2-Phagen beimpften, Erdbeeren wurde das entwickelte Verfahren sukzessive verbessert. Unter anderem wurde ein schonender Arbeitsschritt zur effektiven Entfernung der bakteriellen Kontaminationen aus den Virusextraktionen eingeführt. Das vereinfacht das Auszählen der Platten ohne die Zahl der aktiven Viren in den Extrakten zu beeinflussen. Durch weitere Optimierungsmaßnahmen ist es gelungen eine wesentlich gleichmäßigere Verteilung der Plaque Forming Units (PFU) auf den Platten zu erreichen. Als wesentliche zusätzliche Arbeitsschritte haben sich das vorsichtige Mischen der Extrakte vor der Inokulation der Wirtssuspension, eine gezielte Pause und ein neuerliches Mischen vor dem Plattenguss herausgestellt. Die zusätzlichen Arbeitsschritte führen zu einem leichter zählbaren Ergebnis, wodurch größere Probenzahlen abgearbeitet werden können.

Die Optimierung des Isolations-, Differenzierungs- und Subtypisierungsverfahrens von der *Bacillus cereus* Gruppe

Mitglieder der Gruppe *Bacillus cereus* sind häufige Verunreinigungen von Gemüse. Eine potenzielle Kontaminationsquelle ist die Anwendung von Biopestiziden auf der Basis von *Bacillus thuringiensis*. Hauptziel ist es, die von der EFSA als Insektizid zugelassenen Stämme von *Bacillus thuringiensis* (BT) von anderen Spezies der *B. cereus*-Gruppe zu unterscheiden. Die kommerziell als Bio-pestizide zugelassenen *Bacillus thuringiensis*-Stämme sind nachweislich harmlos für Menschen. Unabhängig davon ist die mögliche Humanpathogenität wilder *Bacillus thuringiensis*-Stämme derzeit in wissenschaftlicher Diskussion. In der klassischen Laborroutine werden die Arten der *Bacillus cereus*-Gruppe nicht unterschieden und als präsumptiver *B. cereus* gezählt und gewertet. Für die Beurteilung der Sicherheit eines Produkts ist es daher von entscheidender Wichtigkeit die zugelassenen, sicheren, *Bacillus thuringiensis*-Stämme eindeutig zu erkennen und von wilden *Bacillus thuringiensis*-Stämmen, sowie anderen Mitgliedern der *Bacillus cereus*-Gruppe zu unterscheiden.

Die momentane Beurteilung von pBc in Kombination mit der wenig treffsicheren Laboranalytik führt zu ungerechtfertigten Beanstandungen von Frischgemüsen und Salaten. Im Zuge des Projekts wurde zum einen an einer Real-Time-PCR Methode gearbeitet, mit welcher der Anteil an als bio-pestizid zugelassenen *B. thuringiensis* in den, über die klassische Methode nachgewiesenen, präsumptiven *Bacillus cereus* bestimmt werden kann; sowie eine alternative, praktikable Laborroutine erarbeitet, mit der eine differenziertere Gefahrenbeurteilung von in Lebensmitteln nachgewiesenen pBc-Stämmen ermöglicht wird. Vor allem mit der neu erarbeiteten Vorgehensweise lassen sich ungerechtfertigte Beanstandungen vermeiden, ohne die Sicherheit der Lebensmittel zu verringern.

- Real-Time-PCR Methode

Da die Methodenentwicklung und vor allem die Validierung einer stamm-spezifischen Methode sehr aufwendig ist, wurden als erstes die im Produktionsumfeld der Projektteilnehmer tatsächlich eingesetzten Präparate erhoben. Entsprechend der Angabe der Hersteller sind derzeit acht Präparate im Einsatz, bei Überprüfung der Formulierungen stellt sich heraus, dass nur fünf unterschiedliche *B. thuringiensis* und ein *B. subtilis*-Stamm verwendet werden. Der *B. subtilis* Stamm wird als Fungizid eingesetzt, da die Problematik der von *B. thuringiensis* entspricht, wird der Stamm auch bei weiteren Methodenentwicklung berücksichtigt-

Ziel ist es in weiterer Folge für eingesetzten *B. thuringiensis*-Stämme spezifische PCR-Nachweise zu etablieren. Da die Spezifität der Real-Time-PCR nur auf den Bindungsstellen der Primer und Nachweissonden beruht, bleibt immer eine gewisse Gefahr, dass andere Stämme genau diese Bereiche beinhalten und somit ein falsches Signal liefern. Wird die quantitative RT-PCR durch eine stichprobenartige (Kolonie picking) Überprüfung von Einzelkolonien mittels hoch-spezifischer Fingerprinttechniken ergänzt, lässt sich diese Unsicherheit reduzieren.

Mit der neu entwickelten Methode soll in Erweiterung des Parameters „Präsumptiver *B. cereus*“ der prozentuelle Anteil, der von der EFSA zugelassenen Stämme bestimmt werden.

Wenn der Parameter „Präsumptiver *B. cereus*“ den aktuell gültigen Grenzwert überschreitet, aber der prozentuelle Anteil der zugelassenen *B. thuringiensis* Stämme

das Ergebnis auf unterhalb des Grenzwertes korrigieren würde könnte in der Begutachtung folgende Argumentationslinie angewendet werden:

Der Parameter „Präsumptiver *Bacillus cereus*“ überschreitet den gültigen Grenzwert. Die in der Probe enthaltenen von der EFSA zugelassenen *Bacillus thuringiensis* Stämme machen folgenden Wert aus XY KBE/g. Daraus ergibt sich, dass die Probe abzüglich der gesetzlich zugelassenen Stämme gutachterlich als verkehrsfähig einzustufen ist.

Tabelle 3 Liste der im Projekt verfügbaren von der EFSA als Pflanzenschutzmittel zugelassenen *B. thuringiensis* Stämme.

Zugelassene B.t Stämme
<i>B.t ssp. Kurstaki HD-1</i>
<i>B.t ssp. Kurstaki SA-11</i>
<i>B.t ssp. Aizawai ABTS1857</i>
<i>B.t ssp. Aizawai GC-91</i>
<i>B.t ssp. Israelensis AM65-52</i>
<i>Bacillus subtilis QST 713</i>

Für drei der zugelassenen *B. thuringiensis*-Stämme wurde eine (mit Einschränkungen) spezifische Real-Time-PCR etabliert. Diese lassen sich zusätzlich gegen eine weitere, für die *Bacillus cereus*-Gruppe spezifische PCR quantifizieren. Für die in Tabelle 4 grün markierten zugelassenen *B. t.* Stämme sind bereits quantitative Nachweise möglich. Die gelb markierten Stämme stehen derzeit für die Methodenentwicklung noch nicht zur Verfügung. Es wird daran gearbeitet die Abdeckung zu erweitern. Die PCR-Nachweise sind zwar hoch spezifisch, da sie aber auf Sequenzabschnitte der Plasmide zielen, kann eine Stammspezifität letztlich nicht erreicht werden. Die Identität/Diversität der identifizierten Isolate kann zusätzlich mit weiteren Methoden überprüft werden um die PCR-Ergebnisse z.B. mit Fingerprint-Methoden abzusichern.

- praktikable Laborroutine mit differenzierter Gefahrenbeurteilung

Der Anfang der Methodenoptimierung für präsumptive *B. cereus* stellt die Reflexion der ISO 7932 dar. Bei der Untersuchung von Gemüse und Obst und daraus hergestellten verzehrfertigen Produkten werden auf nationaler Ebene die Empfehlungen der DGHM für Richt- und Warnwerte in den einzelnen Produktkategorien angewendet. Diese ziehen bei der Beurteilung die Untersuchung der Produkte nach ISO 7932 heran, dabei werden auf einem Selektivagar die präsumptiven *Bacillus cereus* (pBc) Kolonien gezählt. Eine Bestätigungsreaktion für die Einzelkolonien erfolgt meist nur bis zum Ausstrich auf Blutagar, weder wird das emetische Toxin (*ces*-Gen PCR) untersucht, noch auf *cytK*-Gene abgezielt, noch *B. thuringiensis* (BT) durch Kristallfärbung differenziert (Abbildung 21). Die *B. cereus* Gruppe umfasst verschiedene Spezies u. A. *B. thuringiensis* (BT), *B. mycoides* (BM) die in der Diagnostik nicht leicht von *B. cereus* (BC) unterschieden werden können. Nur *B. cereus* besitzt ein emetisches Toxin, während fast alle Mitglieder der *B. cereus* Gruppe Enterotoxin-Gene besitzen, die ein unterschiedlich starkes cytotoxisches Potential besitzen. Dieses cytotoxische Potential kann nur in Zellkulturversuchen (Speziallabor) abgeschätzt werden. Darum braucht man einen Alternativen

Untersuchungsworkflow der eine schnellere Prognose der Präsenz von pathogenen *B. cereus* (emetisch, cytotoxisch) oder der Anwesenheit von BT oder BM (keine Lebensmittel-assoziierten Ausbrüche in Verbindung gebracht) in Produkten gewährleistet (Abbildung 22).

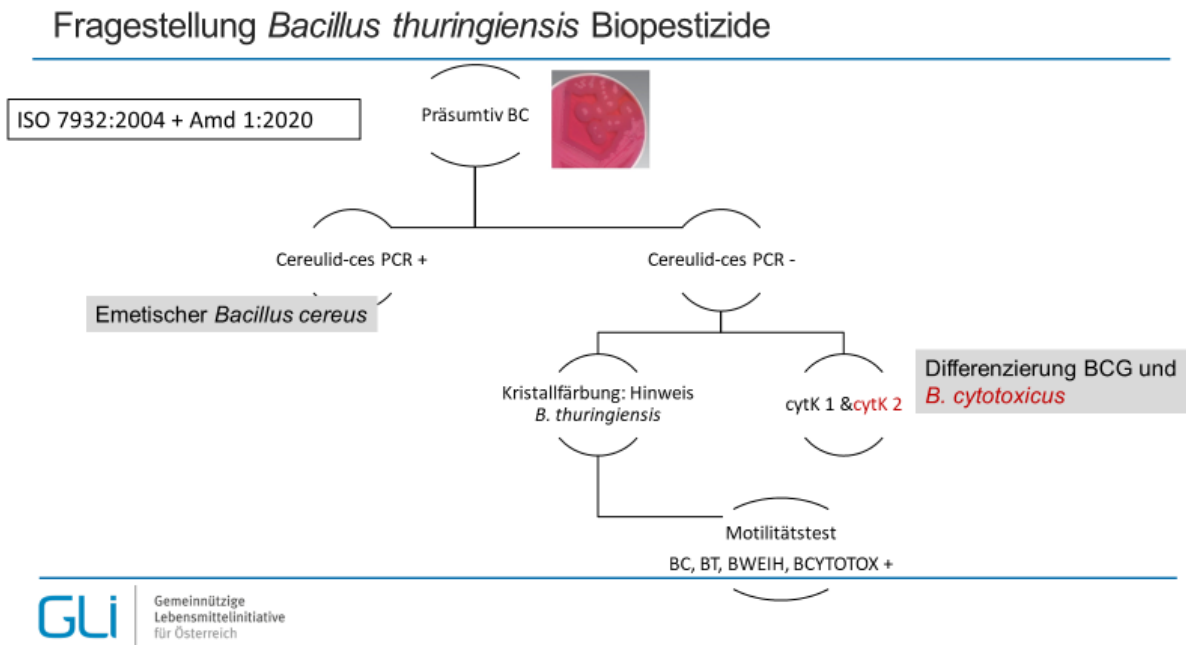


Abbildung 21 Referenzmethode ISO 7932 präsumptiver *Bacillus cereus* mit Amendment zur Isolatdifferenzierung.

In diesem Projekt wurde ein Alternativworkflow ausgearbeitet, der die Differenzierung von BT, BM und die Prognose von BC (emetisch, cytotoxisch) gewährleistet (Abbildung 22).

Der Workflow wurde in einer longitudinalen Feldstudie (Untersuchung von Salatproben zweier Hersteller und auch deren Rohstoffe) evaluiert und bestätigt. Die Salatproben enthalten vorwiegend Biopestizide der Gruppe BT Aizawei und BT Kurstaki und können durch quantitativen Nachweis auf dem Alternativen Nährmedium (modifiziert Chromoselect) gut identifiziert werden. Die Kolonien werden gepickt und die Diversität der pBC in der panC Sequenzierung festgestellt. In weiterer Folge sollte das emetische Toxin (ces-PCR) ausgeschlossen werden (stabil in panC Gruppe III detektiert). Bei den BT Biopestizid-Stämmen (Subspezies Aizawei und Kurstaki) stellt sich ein klares Bild dar: panC Gruppe IV, Toxin Gruppe A (Enterotoxin-Gene, nhe, hbl, cytk), MLST CC8-complex und Insektizid (cry Gen positiv).

Andere pBC werden durch BM (panC Gruppe VI) und BC (panC Gruppe II und V, ces-Gen negativ) repräsentiert. Wenn man als Industriepartner an einer epidemiologischen Ursachenklärung interessiert ist, kann man im Speziallabor (FFoQSI) methodisch in die Tiefe gehen (e.g. RAPD, WGS). Die Methode MALDI Biotypisierung ist noch in der Entwicklung, der Differenzierungserfolg von BC und BT wird geprüft.

Der Anfang stellt immer der Rohstoff dar, der mit BT Biopestizidstämmen im Feld behandelt wurde und in weiterer Folge eine Akkumulation von BT im Verarbeitungsbetrieb verursacht. Wenn anfänglich eine bestimmte Menge BT (e.g. 2-3 log KBE/g) akkumuliert kann diese in der Produktionskette nicht mehr durch

Waschwasserzusätze oder Hürdenkonzepte reduziert werden. Daher bedarf es einer Diskussion der Grenzwerte und Methodik die durch die Entwicklung des Alternativworkflows stipuliert werden soll.

Weitere Vorgehensweisen-Neuer BT Workflow Methode

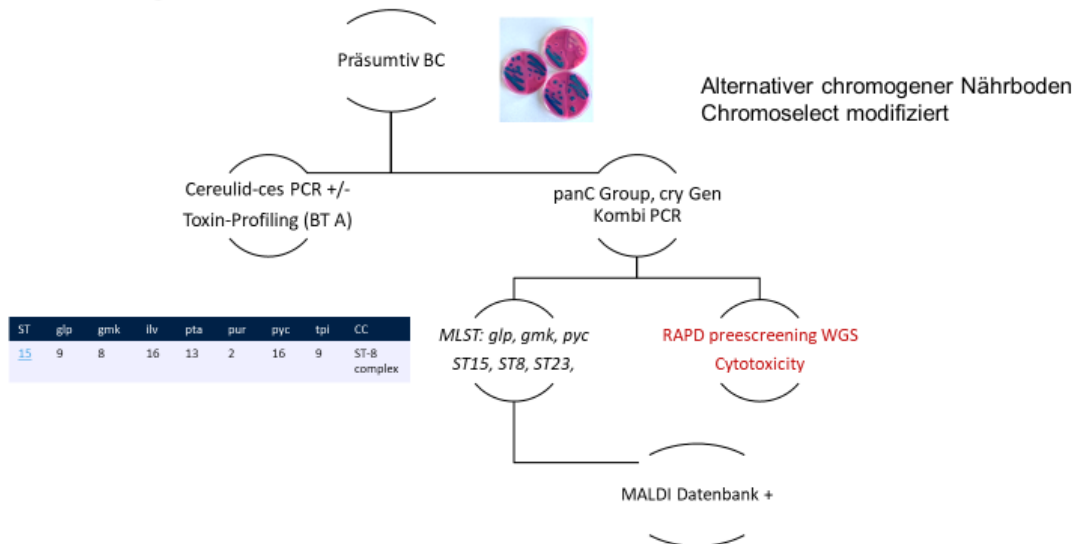


Abbildung 22 Workflow für BT-Differenzierung und Prognose von Biopestiziden.

5. Fazit

Das Ziel des vorliegenden Projektes war es alternative Methoden zur Entkeimung von pflanzlichen Lebensmitteln und deren Folgeprodukten zu entwickeln bzw. bestehende Methoden so zu verändern, dass diese unter der Prämisse der Akzeptanz des Handels und des Konsumenten, sowie unter Wahrung der gesetzlichen Anforderungen eingesetzt werden können.

Entsprechend der verschiedenen Produkt- und Aufgabekategorien wurden Subziele definiert. Die Zielsetzungen konnten erfolgreich erreicht werden.

Highlights:

- Erfolgreiche Implementierung und Validierung einer Dampfentkeimungsanlage für Gewürze (TRL 9).
- Validierung und Implementierung einer mikrobiologischen Schnellmethode (automatisiertes MPN-Verfahren) zur Überprüfung der mikrobiologischen Qualität der Rohware, sowie zur Sicherstellung der Einhaltung der Spezifikation der Fertigwaren für Gewürze (TRL5)
- Entwicklung einer Pilotanlage zur Dampfentkeimung im Labormaßstab an der BOKU (TRL 5), welche im Projekt bereits für mehrere Produkt- und Aufgabekategorien genutzt wurde.
- Ermittlung eines funktionellen Waschwasserzusatzes zur Reduktion der natürlichen Keimflora bei Gemüsemischungen in Verbraucherpackungen Die Versuche zum Waschen von Salat wurden im Labormaßstab mit einem selbstentwickelten Versuchsaufbau durchgeführt (TRL 5), jedoch wurden die

Versuche derart konzipiert, dass diese auch auf kommerziellen Anlagen für die Lebensmittelindustrie (TRL 9) umgelegt werden konnten.

- Inaktivierungen von Coliphage MS-2 und *Enterococcus faecium* auf Himbeeren durch eine definierte Pulsed Light Behandlung (TRL 9).
- Definition von Prozessparametern zur Verbesserung der mikrobiologischen Qualität der Tofuproduktion (TRL 9).
- Etablierung einer zuverlässigen Nachweismethode für MS2-Phagen im Labor Hygienicum (TRL5). Der Nachweis kann bei neuen Fragestellungen zur Virendekontamination angewandt werden.
- Etablierung von PCR-Nachweisen zur differenzierten Beurteilung der Belastung von frischen verzehrfertigen Lebensmitteln (TRL5). Die Nachweise helfen unbegründete Beanstandungen von Lebensmitteln und damit deren Verschwendung zu verhindern.
- Entwicklung eines alternativen Methoden- Workflows zur Verbesserung der Identifizierung und Differenzierung von BT und anderen Bacillus zusammengefasst unter dem Begriff präsumptive Bacillus cereus (TRL5). Die Methodenadaptierung hilft ebenfalls unbegründete Beanstandungen von Lebensmitteln und damit deren Verschwendung zu verhindern.

KONTAKT

Gemeinnützige Lebensmittelinitiative

Steyrtalstraße 8a. 4523 Neuzeug

Tel.: 0732/908 515

office@gli-austria.at

