

## Sachbericht Teil I – Kurze Darstellung (Teilprojekt G)

Zuwendungsempfänger: Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV	Förderkennzeichen: 28DK126G20
Förderprogramm: Förderung der Künstlichen Intelligenz (KI) in der Landwirtschaft, der Lebensmittelkette, der gesundheitlichen Ernährung und den ländlichen Räumen im Rahmen von Forschungsvorhaben	
Titel des Vorhabens: Zukunftsszenarien für den Verbraucherschutz auf Basis von Qualitäts- und Sicherheitsinformationen von Lebensmitteln, innovativen Messmethoden und KI (Zukunftslabor2030) – Teilprojekt G	
Projektleiter/ Projektleiterin: Dr. Gina Zeh	Tel.: +49 (0) 8161 491-128 E- Mail: gina.zeh@ivv.fraunhofer.de
Laufzeit des Vorhabens von: 15.10.2021	bis: 14.05.2025
<b>1. Wissenschaftlich-technische Aufgabenstellung des Vorhabens</b>  Das Zukunftslabor Lebensmittelhaltbarkeit 2030 (ZL2030) verfolgte das Ziel, eine kontinuierliche Prognose von Lebensmittelhygiene, -qualität und -sicherheit entlang der Produktionskette von Herstellung bis zum Endverbraucher zu ermöglichen. Im Mittelpunkt stand der digitale Zwilling (DZ), eine digitale Ressource, die die wesentlichen Eigenschaften eines Lebensmittels, einschließlich der Mikrobiota, abbildet. Durch die Integration chemischer, physikalischer und biologischer Messdaten sollten die komplexen Prozesse zwischen Produkt und Mikrobiom digital modelliert werden, um die zeitliche Entwicklung von Qualität und Sicherheit vorherzusagen.  Im Rahmen des Projekts verfolgte das Fraunhofer IVV den Ansatz mittels Messung von flüchtigen organischen Substanzen (VOCs; volatile organic compounds), die vom Lebensmittel in die Verpackungsumgebung abgegeben werden, einen Zusammenhang zur Sicherheit und Qualität des Lebensmittels herzustellen. Hierfür sollte auch eine mobile Messmethode/ Prüfkammer auf Basis von Mikrogassensoren entwickelt werden. Alle erhaltenen Messdaten wurden den Projektpartnern zur Entwicklung von KI-Algorithmen und des digitalen Zwillings zur Verfügung gestellt.	
<b>2. Im Vorhaben durchgeführte Arbeiten</b>  Das Fraunhofer IVV hat neben drei initialen Pilotstudien zur Erprobung und Etablierung der Messmethoden 21 Messreihen mit unterschiedlichen Lagerungsbedingungen bzw. modifizierten Verpackungsatmosphären mittels Headspace-Gaschromatographie--Ionenmobilitätsspektrometrie (HS-GC-IMS) bzw. -Massenspektrometrie (HS-GC-MS) (ausgewählte Messreihen) untersucht.	

Dabei handelte es sich bis auf eine Messreihe mit Putengeschnetzelttem durchweg um Proben aus Schweinehackfleisch. Zudem wurden Mikrogassensoren zur schnellen Analyse der flüchtigen organischen Verbindungen validiert und ein Sensorarray für die Erfassung des Volatiloms auf Basis von Mikrogassensoren aufgebaut. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde auch eine Prüfkammer entwickelt, mit der eine MAP (modified atmosphere packaging) Verpackung simuliert werden kann. Alle Messdaten wurden den Projektpartnern mittels einer Datenplattform „OpenBis“ für die Entwicklung des digitalen Zwillings und KI-Algorithmen zur Verfügung gestellt.

### 3. Wesentliche Ergebnisse des Zuwendungsempfängers und im Gesamtverbund

Je nach Zusammensetzung der Verpackungsatmosphäre, der Lagerdauer und der Probenart (Schweinehackfleisch oder Putengeschnetzelttes) waren die detektierten VOCs bzw. deren Konzentration unterschiedlich. In Korrelationsstudien mit Resultaten aus Humansensorik-Untersuchungen und Bestimmung der mikrobiellen Gesamtkeimzahl der Projektpartner wurden verschiedene flüchtige Substanzen identifiziert, die eine erhebliche Relevanz für diese Qualitäts- und Sicherheitsparameter des verpackten Fleisches aufwiesen. Zudem konnte anhand einer Datenfusion unter Einbezug von Farbdaten die Gesamtkeimzahl und der sensorische Gesamteindruck von Schweinehackfleisch, das bei 70% Sauerstoffatmosphäre abgepackt wurde, mit einer signifikant höheren Genauigkeit vorhergesagt werden, als dies bei einer isolierten Betrachtung der einzelnen Datensätze möglich war. Insgesamt wurde so ein mittlerer quadratischer Fehler der Vorhersagemodelle auf der Entscheidungsebene von 0,82 log KBE/g (Koloniebildende Einheiten) für die Gesamtkeimzahl und 1,14 log KBE/g für den sensorischen Gesamteindruck erreicht. Die Evaluierung und Validierung verschiedener Mikrogassensoren auf Metalloxid-Halbleiter-Basis (MOS; *metal oxide semiconductor*) zeigte, dass sich diese Sensoren, besonders im temperaturzyklischen Betrieb, für eine schnelle, indikative Messmethode des aktuellen Probenalters eignet. Hierfür wurde für die Messstudien eine Prüfkammer entworfen und validiert, die die Erfassung des Volatiloms mittels Mikrogassensoren ermöglicht. Die Korrelation der Gesamtkeimzahl mit den Mikrogassensor-Daten zeigte, dass sich das sensorische Alter der Schweinehackfleischproben mit einem RMSE (*root mean squared error*, Bestimmtheitsmaß) von einem Tag bestimmen ließen.

Zusammenfassend kann aus den Ergebnissen geschlossen werden, dass sich das Volatilom, also die VOCs im Kopfraum einer Schweinehackfleisch- oder Putengeschnetzelttes-Probe, unter Anwendung geeigneter Korrelationsstrategien für die Vorhersage des mikrobiologischen sowie auch sensorischen Alters der Probe eignen. Die mit Laborgeräten erzielten Ergebnisse der VOC-Profilierung ließen sich auf Mikrogassensoren übertragen. Die entwickelte Prüfkammer mit Mikrogassensoren eignet sich als „messtechnisches“ Probenmuster, kann also parallel zur Charge selbst die komplette Lieferkette durchlaufen und so kontinuierlich Messdaten sammeln und bereitstellen. Für weiterführende Ergebnisse der Projektpartner wird auf die entsprechenden Berichte verwiesen.

## Sachbericht Teil II – Eingehende Darstellung (Teilprojekt G)

Zuwendungsempfänger: Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV	Förderkennzeichen: 28DK126G20
Förderprogramm: Förderung der Künstlichen Intelligenz (KI) in der Landwirtschaft, der Lebensmittelkette, der gesunden Ernährung und den Ländlichen Räumen im Rahmen von Forschungsvorhaben	
Titel des Vorhabens: Zukunftsszenarien für den Verbraucherschutz auf Basis von Qualitäts- und Sicherheitsinformationen von Lebensmitteln, innovativen Messmethoden und KI (Zukunftslabor2030) – Teilprojekt G	
Projektleiter/ Projektleiterin: Dr. Gina Zeh	Tel.: +49 (0) 8161 491-128 E- Mail: gina.zeh@ivv.fraunhofer.de
Laufzeit des Vorhabens von: 15.10.2021	bis: 14.05.2025
<b>1. Wissenschaftlich-technische Aufgabenstellung des Vorhabens</b>  Das Zukunftslabor Lebensmittelhaltbarkeit 2030 (ZL2030) sollte die Grundlagen entwickeln, um unter Einbeziehung von Methoden der Künstlichen Intelligenz (KI), innovativen Technologien der Lieferkettenüberwachung sowie nicht-zielgerichteter analytischer Verfahren eine kontinuierliche Prognose der Lebensmittelhygiene, -qualität und –sicherheit zu ermöglichen. Das zentrale Element des ZL2030 stellt der digitale Zwilling (DZ) dar. Ein DZ eines Lebensmittelproduktes stellt eine digitale Ressource dar, welche die wesentlichen Eigenschaften des Produktes inkl. der Mikrobiota beschreibt. Durch Integration verschiedenster Messdaten sollten im ZL2030 die wichtigsten chemischen, physikalischen und biologischen Prozesse von Lebensmitteln - und damit das gesamte komplexe System Produkt-Mikrobiom - durch Computermodelle digital beschrieben werden. Somit wird eine Vorhersage der zeitlichen Änderung der Qualität und der Sicherheit eines Lebensmittels ermöglicht. Der DZ ist spezifisch für jedes Lebensmittel. Da es sich bei Lebensmitteln um natürliche Produkte handelt, gibt es Variationen zwischen den individuellen Produkten, Herstellern und auch den Produktionschargen. Um dies und auch Messungenauigkeiten bei der Erstellung des DZ aufzufangen, werden statistische Wahrscheinlichkeitsaussagen mittels des DZ über den Zustand eines individuellen Lebensmittels getroffen.  Die Unterziele des Projekts für Fraunhofer IVV umfassten laut GVB:  1. Konzept zur Erfassung der Haltbarkeit von Fleisch unter realen oder realitätsnahen Bedingungen in der Fleischproduktion durch den Einsatz von Sensoren und Sensorarrays	

2. Charakterisierung und Korrelation des Volatiloms mit Qualität und Sicherheit
3. Validierung der Mikrogassensoren in Bezug auf Qualität und Sicherheit von Fleisch
4. Aufbau eines Sensorarrays für die Erfassung des Volatiloms auf Basis von Mikrogassensoren

### 2. Durchgeführte Arbeiten und erzielte Ergebnisse

Im Rahmen des Projekts ZL2030 wurden insgesamt 21+3 Schweine-Hackfleisch-Chargen analytisch untersucht (3 Pilotstudien zur Methodvalidierung, 21 Vollstudien). Von diesen Hackfleischchargen wurden 19+3 bei dem Konsortialpartner Max-Rubner-Institut (MRI) in Kulmbach hergestellt, indem Schweinefleisch-Hälften bei einem Schlachtunternehmen vor Ort bezogen und diese am MRI gewolft und unter Schutzgasatmosphäre verpackt wurden (MAP – *modified atmosphere packaging*). Die so erzeugten Chargen wurden an die Konsortialpartner gekühlt verteilt und zeitgleich analytisch mit verschiedenen Methoden untersucht. Neben den vom MRI produzierten Schweinehackfleischproben wurden vom Fraunhofer IVV auch zwei unabhängige Schweinehackfleisch-Chargen, die von einem industriellen Unternehmen gemäß den konzerninternen üblichen Prozessen für den Lebensmitteleinzelhandel hergestellt wurden, nach Verteilung der Proben durch das MRI untersucht. Für einen Vergleich des Einflusses von verschiedenen Tierarten auf die Gaszusammensetzung im verpackten Produkt wurde außerdem noch eine Charge Putengeschnetzeltes analysiert. Hierfür wurde von einem gewerblichen Schlachtbetrieb Putenfleisch bezogen und vom MRI verarbeitet, verpackt und an die Konsortialpartner verteilt wurde.

Am Fraunhofer IVV wurden die Chargen hinsichtlich des Gasraums über der eigentlichen Fleischprobe untersucht. Die Arbeitshypothese für diese Untersuchungen war, dass sowohl mikrobiologische Prozesse wie auch chemische Abbauprozesse die Zu- oder Abnahme bestimmter Gase bzw. flüchtiger organischer Verbindungen (VOC – *volatile organic compounds*) bedingt. Diese können eventuell schneller und effizienter als die gängigen Methoden der Qualitätsüberwachung wie sensorische Untersuchung oder mikrobiologische Analytik Informationen über Qualitätsänderungen des Hackfleisches liefern. Zusätzlich handelt es sich bei den Gas-Analytik-Methoden um zerstörungsfreie Methoden, das heißt, für die Messmethoden muss keine Hackfleisch-Probe entnommen werden.

Die Untersuchung der Änderungen im Gasraum wurde mittels zwei wesentlicher Methoden durchgeführt: Die Gaschromatographie (GC), insbesondere die Headspace-GC (HS-GC), gilt im Bereich der Aromaanalytik als Goldstandard der Untersuchungsmethoden. Gekoppelt mit einem sehr empfindlichen Ionenmobilitätsspektrometer (IMS) lassen sich geringfügige Veränderungen in der Zusammensetzung der VOC im Gasraum über der Hackfleischprobe mit einem mobilen Messsystem analog zu einem Fingerabdruck untersuchen. Zusätzlich wurde ein HS-GC-Massenspektrometer (HS-GC-MS) für die eindeutige Identifizierung relevanter VOC bzw. Qualitäts-Markerverbindungen genutzt. Zweitens wurde ein Messsystem auf Basis von Mikrogassensoren entwickelt, um eine schnelle, kostengünstige Vor-Ort-Analytik zur Verfügung zu stellen. Hierfür

wurden Gassensoren auf Metalloxid-Halbleiter-Basis gewählt (MOS – *metal oxide semiconductors*). Auch sie geben einen Fingerprint aus, welcher manuell einem Qualitätszustand zugeordnet werden muss. Nach diesem Anlernen der Sensoren sind sie in der Lage, unbekannte Proben hinsichtlich der Qualität einzuordnen.

Sowohl für die GC-IMS- als auch für die MOS-Sensor-Messungen wurde im erheblichen Maße neue Methoden entwickelt, da es sich für diese Anwendung um neue Verfahren handelt. Besonders für die MOS-Sensoren fand auch der Aufbau einer speziellen Prüfkammer statt, mit der Untersuchungen unter realistischen Bedingungen einer MAP-Verpackung ermöglicht wurden.

### 1. Konzept zur Erfassung der Haltbarkeit von Fleisch unter realen oder realitätsnahen Bedingungen in der Fleischproduktion durch den Einsatz von Sensoren und Sensorarrays

Das überwiegend vom MRI Institut hergestellte und an die Projektpartner verteilte Hackfleisch wurde je nach Experimental-Design (z. B. mit simulierter Kühlkettenunterbrechung oder Lagerung bei bestimmten Temperaturen) direkt an die messenden Konsortialpartner geliefert bzw. auch vor Ort am Fraunhofer IVV unter kontrollierten Bedingungen (ab der zweiten Jahreshälfte 2023) gelagert und an verschiedenen Messtagen untersucht (für weitere Details siehe Abschlussbericht des MRI). Die analytische Bestimmung der VOCs, die von den Fleischproben in den Gasraum emittiert werden, wurde während der Projektlaufzeit mittels zwei verschiedenen Probenvorbereitungsmethoden untersucht. Die Analyse der VOCs, die von der Fleischprobe direkt in den Gasraum der Verpackung emittiert wurden, wurde bedingt durch die höhere Sensitivität mit dem HS-GC-IMS untersucht, wozu Gas aus dem Kopfraum des MAP-verpackten Hackfleisches mittels einer Gaspritze entnommen, in Headspace-Vials überführt und direkt gemessen wurde. Aufgrund der deutlich höheren Sensitivität des HS-GC-IMS im Vergleich zum ebenfalls verwendeten HS-GC-MS eignete sich diese Vorgehensweise zur Detektion von VOCs im GC-IMS, wohingegen für eine Analyse im HS-GC-MS aus den MAP-Verpackungen (aus dem Fleisch freigesetzte Verbindungen nach Entnahme aus dem MAP) eine definierte Menge Hackfleisch entnommen und direkt in Headspace-Vials überführt wurde. Nach Verschluss mit Septum-Kappen wurden diese Proben im Autosampler konditioniert und für vergleichende Analysen sowohl im GC-MS, als auch im GC-IMS untersucht. Diese zweigliedrige Analyse mit beiden GCs erlaubt die Kombination der Vorteile beider Mess- und Trenntechniken, wodurch die Identifizierung der im GC-IMS detektierten Verbindungen durch die Resultate des GC-MS wesentlich erleichtert werden sollte. Aufgrund der messtechnischen Unterschiede in beiden Systemen, v. a. einer niedrigeren Empfindlichkeit des verwendeten GC-MS, war eine Identifizierung am GC-MS nicht für alle VOCs möglich. Daher wurde die Identifizierung der VOCs am GC-IMS mittels Referenzsubstanzen als zusätzliche Arbeit durchgeführt.

Parallel wurde an der Umsetzung einer indikativen, mobilen Messmethode der VOCs entlang der Verwertungskette gearbeitet. Schon früh im Projekt stellte sich heraus, dass eine Integration von elektronischen Komponenten in die Fleischverpackung nicht zielführend sein würde, da diese bei

der Entsorgung und Verpackungstrennung schwerwiegende Herausforderungen darstellen. Entsprechend wurde ein Messsystem („Prüfkammer“) realisiert, welches von der Verarbeitung und Verpackung des Fleisches über die gesamte Lieferkette hinweg bis zum Endverkäufer genutzt werden kann. Dafür wurden kostengünstige, kleine Breitband-Mikrogassensoren für die Detektion von Fleischverderb-VOCs etabliert. In einem ersten Ansatz wurde hierfür eine Messzelle (siehe Abbildung 1) mit geringem Gasvolumen aufgebaut, in welcher die Mikrogassensoren direkt über der eingelegten Hackfleischprobe angebracht waren. Mit diesem System wurden die Pilotstudien und ersten Messreihen (1-15) des Projekts begleitet. Zeitgleich wurde eine Prüfkammer (36 cm x 16 cm x 10 cm) aufgebaut, in welche MAP-Verpackungen eingelegt werden können. So konnte ein Eingriff in die bzw. eine mögliche zusätzliche Kontamination der Probe durch Abtrennen eines Aliquots und Transfer dessen in die Messzelle vermieden werden.

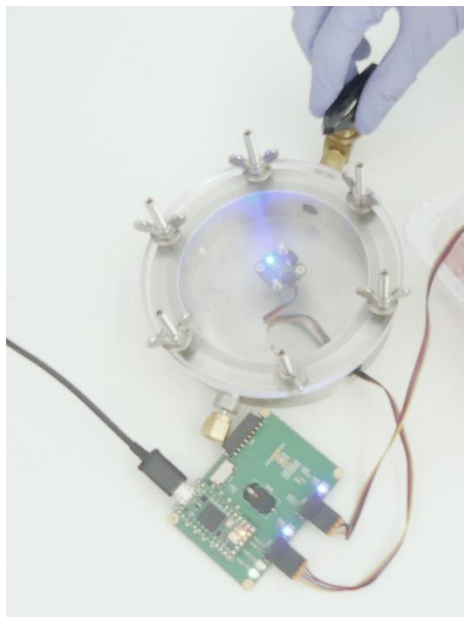


Abbildung 1: Sensormesszelle mit Mikrogassensor und Platine.

Die Prüfkammer wird anschließend mit der regulären Charge mitgeführt und nimmt kontinuierlich Messdaten auf, die an Checkpunkten (beispielsweise beim Ab- und Umladen) einmal ausgelesen und in eine Datenbank hochgeladen werden können.

Nach Fertigstellung und Optimierung der Prüfkammer wurden zwei Prüfkammern des gleichen Typs angefertigt. Eine verblieb am Fraunhofer IVV, um die Messstudien zu begleiten; die zweite Prüfkammer wurde dem MRI für die Begleitung der Industrieproben-Studien zur Verfügung gestellt und unterlief damit der ersten Erprobung einer Realanwendung, indem die Prüfkammer vom Zeitpunkt der MAP-Einlage an im Kühlraum des MRI zusammen mit den anderen Chargenproben Messdaten aufnahm, welche nach Beendigung der Messreihe einmal ausgelesen und ausgewertet wurden.

Insgesamt wurden am Fraunhofer IVV über die Projektlaufzeit hinweg, neben drei initialen Pilotstudien zur Erprobung und Etablierung der Messmethoden, 21 Messreihen mit unterschiedlichen Lagerungsbedingungen bzw. modifizierten Verpackungsatmosphären mittels HS-GC-MS und HS-GC-IMS untersucht. Dabei handelte es sich bis auf eine Messreihe mit

Putengeschnetzeltem durchweg um Proben aus Schweinehackfleisch. Pro Messreihe wurden in der Regel zwei Chargen untersucht, wobei die Lagerung ab der Herstellung bis zu drei Wochen dauern konnte.

### 2. Charakterisierung und Korrelation des Volatiloms mit Qualität und Sicherheit

Trotz der, bis auf eine Messreihe mit Putengeschnetzeltem, jeweils gleichen Probenmatrix (Schweinehackfleisch), die bis auf zwei Ausnahmen (Realproben aus der Industrie) vom MRI hergestellt wurde, zeigte sich bei den detektierten VOCs eine unerwartet hohe Streuung in ihrer Zusammensetzung. Aus diesem Grunde wurden einige Messreihen mehrfach wiederholt und der Fokus im Projekt auf Schweinehackfleisch belassen, um eine statistische Aussagefähigkeit der erhaltenen Daten zu gewährleisten. Es konnte gezeigt werden, dass zwischen den beiden Probenarten Schweinehackfleisch und Putengeschnetzeltes deutliche Unterschiede der Gaszusammensetzung vorhanden waren (siehe Abbildung 2 als Beispieldarstellung).

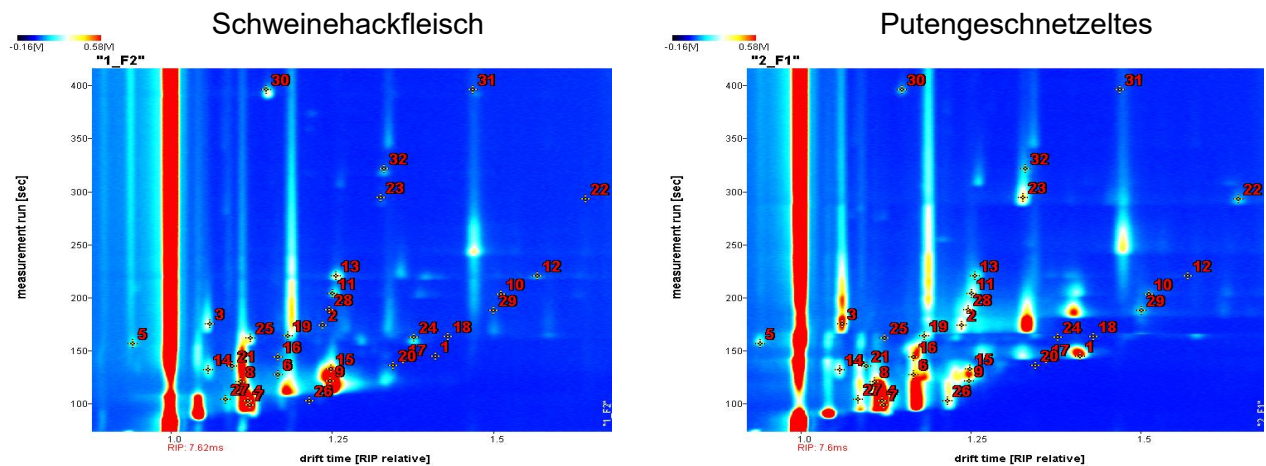


Abbildung 2: Ergebnisse aus den GC-IMS-Messungen in Versuchsreihen mit jeweils 15 Tage bei 2 °C gelagerten Schweinehackfleisch, sowie Putengeschnetzeltem. Einzelne Verbindungen sind im Bild durch jeweils einen oder auch mehrere (Dimere) farbige Bereiche charakterisiert: blau – niedrige Intensität/Konzentration; rot – hohe Intensität/Konzentration.

Die Gaszusammensetzung der MAP-Verpackung wies ebenfalls einen erheblichen Einfluss auf die vom abgepackten Produkt emittierten und analytisch gemessenen volatilen Substanzen auf. So zeigten sich bei Schweinehackfleisch, das mit 70% O<sub>2</sub> oder 70% N<sub>2</sub> abgepackt wurde, Unterschiede in den detektierten (geruchsaktiven) VOCs (siehe Tabelle 1).

## Sachbericht Teil II – Eingehende Darstellung (Teilprojekt G)

Tabelle 1: Geruchseindrücke der detektieren flüchtigen Verbindungen bei Schweinehackfleisch (MAP mit 70 % O<sub>2</sub> oder 70 % N<sub>2</sub>) und Putengeschnetzeltem

Nr.	Verbindung	CAS Nr.	Geruchseindruck	GC – IMS		GC – MS	
				N <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	N <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
				Schwein	Pute	Schwein	Pute
1	2-Propanon	67-64-1	Süßer, fruchtiger Geruch bei niedrigen Konzentrationen	x	x	x	x
2	3-Methylbutanal	590-86-3	Malzig		x	x	x
3	2-Methylpropanol	78-83-1	Süßer, alkoholähnlicher Geruch		x	x	
4	Pentanal	110-62-3	Starker, fetter Geruch	x	x	x	x
5	1-Pentanol	71-41-0	Angenehmer, leicht blumiger Geruch		x	x	
6	Hexanal	66-25-1	Grasiger, grüner Geruch	x	x	x	x
7	2-Butanon	78-93-3	Süßer, scharfer Geruch	x	x	x	x
8	1-Hexanol	111-27-3	Fetter, wachsartiger Geruch			x	
9	Acetoin	513-86-0	Buttriger Duft	x	x	x	x
10	Ethylacetat	141-78-6	Fruchtiger, süßer Geruch, birnenähnlich	x	(x)	x	
11	2-Pentanon	107-87-9	Fruchtig, bananenähnlich		x		
12	3-Methyl-1-butanol	123-51-3	Malzig			x	x
13	2-Propanol	67-63-0	Geruch ähnlich Reinigungsalkohol		(x)	x	
14	2-Methylpropanal	78-84-2	Stechender, süßlicher Geruch	(x)	x	x	
15	Benzaldehyd	100-52-7	Mandelähnlicher Duft	x	x	x	
16	1-Penten-3-ol	616-25-1	Stechender, milchähnlicher Geruch		x	x	
17	Heptanal	111-71-7	Fetter, wachsartiger Geruch	x	x	x	
18	2,3-Butanedion	431-03-8	Butterähnlich	x	x	x	x
19	1-Propanol	71-23-8	Stechend, fruchtig	(x)	x		
20	Ethanol	64-17-5	Ethanolisch			x	x
21	Essigsäure	64-19-7	Essigähnlich				x
22	2-Methylpentanal	123-15-9	Bittermandelähnlich, blumig				x
23	2-Methyl-1,3-pentandiol	149-31-5	Süßer, fruchtiger Geruch				x
24	1-Methoxy 2-propanon	5878-19-3	---				x
25	4-penten-2-ol	625-31-0	Fruchtig				x
26	Dimethylsulfid	75-18-3	Spargelähnlicher (gekocht), fauliger Geruch				x
27	s-IsopropylLactat	616-09-1	Weinartig				x

Die analysierten Daten der verschiedenen Messreihen zeigten, dass einzelne Substanzsignale eine Zunahme über die Lagerzeit aufwiesen, während andere VOCs über den Zeitverlauf hinweg mit einer Abnahme der Signalintensität aufwarteten (Abbildung 3).

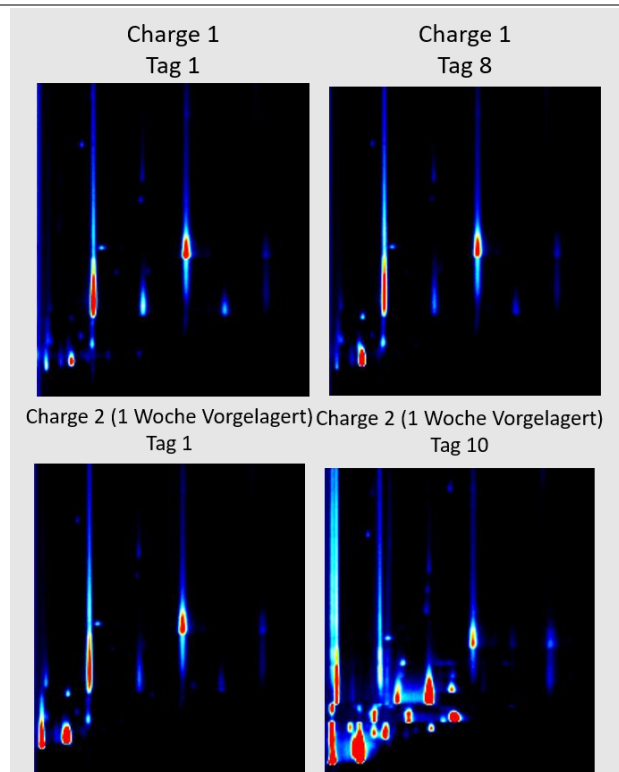


Abbildung 3: Messdaten einer beispielhaften GC-IMS-Analyse von Schweinehackfleisch in einer Versuchsreihe mit einer einwöchigen Vorlagerung (Abhängen des Fleisches). Einzelne Verbindungen sind im Bild durch jeweils einen oder auch mehrere (Dimere) farbige Bereiche charakterisiert: blau – niedrige Intensität/Konzentration, rot – hohe Intensität/Konzentration.

Zur Verknüpfung der gemessenen Gaszusammensetzungen mit der Produktqualität und -sicherheit wurden die Daten aus den begleitenden Humansensorik-Untersuchungen des MRI und die mikrobielle Gesamtkeimzahl in die Analysen einbezogen. Eine Korrelationsanalyse mittels PLSR (*Partial least squares regression*) unter Einbezug der GC-IMS-Messungen identifizierte die Substanzen Acetoin, 2-Methylpropanol, 3-Methylbutanal, Benzaldehyd, Heptanal und 2-Propanol als besonders relevant für die Gesamtkeimzahl. Zusammen mit Hexanal, 2-Propanon, 2-Methylpropanal, und 1-Propanol wiesen jene eine ebenfalls hohe Relevanz für den sensorischen Gesamteindruck der Hackfleischproben auf (Abbildung 4). Zusätzlich dazu wurden durch die Korrelationsanalyse auch drei weitere unbestimmte Substanzen als relevant für den sensorischen Gesamteindruck und ein zusätzliches Signal als bedeutend für die Gesamtkeimzahl klassifiziert.

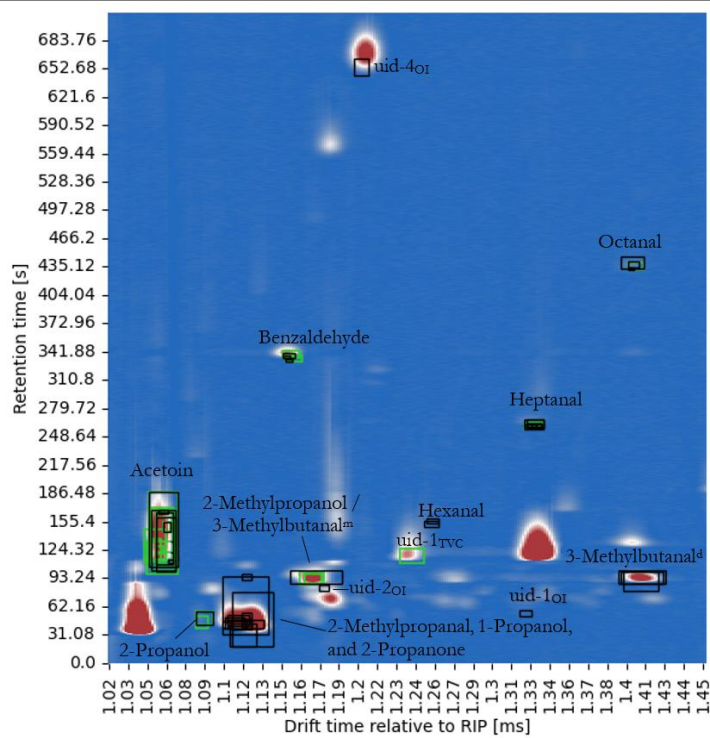


Abbildung 4: Ergebnisse der Korrelationsanalyse zwischen den GC-IMS-Messungen aus allen Versuchsreihen mit unter 70 % O<sub>2</sub> verpacktem Schweinehackfleisch, exklusive Realproben, und den beiden Referenzparametern Gesamtkeimzahl (Grün) und Gesamteindruck (Schwarz) des MRI. Einzelne Verbindungen sind im Bild durch jeweils einen oder auch mehrere (Dimere) farbige Bereiche charakterisiert: blau – niedrige Intensität/Konzentration; rot – hohe Intensität/Konzentration. Vier Signale benannt mit ‚uid‘ konnten in der Projektlaufzeit, bedingt durch die für das GC-MS zu niedrige Konzentration, nicht sicher identifiziert werden.

Die Möglichkeit einer Vorhersage der kritischen Qualitätsparameter mikrobielle Gesamtkeimzahl und des sensorischen Gesamteindrucks mittels einer Kombination aus Daten zu den detektierten flüchtigen Substanzen und Farbdaten wurde anhand einer weiteren PLSR untersucht. Hierzu wurden alle Versuchsdaten mit Schweinehackfleisch, das mit 70 % O<sub>2</sub> abgepackt wurde, in das Modell einbezogen. Im Rahmen der Untersuchung wurden zwei differenzierte Ansätze zur Datenfusion entwickelt und analysiert, wobei der Schwerpunkt auf den Merkmal- und Entscheidungsebenen lag. Die Ergebnisse zeigen, dass die Fusion der Datensätze zu einer signifikanten Verbesserung der Vorhersagegenauigkeit führte, verglichen mit der isolierten Betrachtung einzelner Datensätze. Konkret konnte bei der Prognose der Gesamtkeimzahl (KBE – keimbildende Einheiten) der mittlere quadratische Fehler im Vergleich zu den Einzelvorhersagen auf Basis der Volatil- bzw. Farbdatsätze um 6,7 % bzw. 21 % reduziert werden. Ähnliche Verbesserungen wurden bei der Vorhersage des sensorischen Gesamteindrucks beobachtet. Dabei zeigte das Vorhersagemodell auf der Entscheidungsebene eine zusätzliche Reduktion des mittleren quadratischen Fehlers um 10 % im Vergleich zum Modell auf der Merkmalsebene. Die mittleren quadratischen Fehler der Vorhersagemodelle auf der Entscheidungsebene betragen 0,82 log KBE/g für die Gesamtkeimzahl und 1,14 log KBE/g für den sensorischen Gesamteindruck.

### 3. Validierung der Mikrogassensoren in Bezug auf Qualität und Sicherheit von Fleisch

Der Einsatz von Mikrogassensoren für die Detektion VOCs im Kopfraum der Proben wurde untersucht. Hierfür wurden verschiedene MOS-Sensoren in der Pilotphase des Projekts charakterisiert, indem Schweinehackfleischproben in eine runde Messzelle (siehe Abbildung 1), bestückt mit bis zu drei verschiedenen MOS-Sensoren, eingelegt und analysiert wurden.

Auf der Basis von orientierenden Messungen (Pilotstudien) wurde ein MOS-Sensor-Array der Firma Sensirion AG (Schweiz) mit der Typenbezeichnung SGP40 ausgewählt. Das Array besteht aus vier verschiedenen Metalloxid-Schichten. Die einzelnen Schichten im Array können zyklisch temperaturmoduliert werden (Temperaturzyklus) wodurch man eine deutlich größere Zahl sog. virtueller Sensoren erhält (Schütze und Sauerwald 2020). So können Hochtemperatur- mit Niedertemperatur-Phasen abgewechselt werden, um eine höhere Sensitivität des Sensors gegenüber Spurengasen zu ermöglichen. Das gewählte Sensorarray liefert eine Fingerprint-Methode zur Identifikation von Gasen und Gasgemischen. Die Merkmalsauswahl erfolgte heuristisch, indem zwei Werte pro Tieftemperaturplateau sowie ein Wert im Hochtemperaturplateau gewählt wurde. Mit den Daten wurde eine PLSR durchgeführt. Um die Messergebnisse der Prüfkammer auszuwerten, wurden zunächst die Messreihen 16 bis 20 mittels einer multivariaten Datenauswertung analysiert. Da die finale Prüfkammer erst zu dem Zeitpunkt von Messreihe 16 zuverlässig einsatzfähig war, konnten keine früheren Messreihen einbezogen werden. Messreihe 21 wurde nicht betrachtet, da es sich hier um Proben handelt, die nicht vom MRI, sondern von der Industrie bereitgestellt wurden. Den verwendeten Proben wurde dabei zunächst 2 g für die parallel in der Messzelle laufenden Untersuchungen entnommen. Der Rest wurde mittels eines desinfizierten Spatels im Tray plattgedrückt und gleichmäßig verteilt. Das Tray wurde anschließend in die Prüfkammer gelegt und für 10 min mit Nullluft gespült, bevor für 45 min gemessen wurde.

Zur anschließenden Prognosemodellentwicklung wurde die frei verfügbare Software Dav<sup>3</sup>e verwendet (Bastuck et al. 2018). Es wurden alle Daten im Niedertemperaturplateau und ein Hochtemperaturplateau betrachtet und mit dem dekadischen Logarithmus ( $\log_{10}$ ) der Gesamtkeimzahl korreliert. Zur Modellerstellung wurde ein heuristischer Ansatz gewählt, mit dem verschiedene Merkmalsextraktionen getestet wurden. Merkmale sind in diesem Zusammenhang Aggregation von mehreren virtuellen Sensoren (z. B. Mittelwert), womit die Streuung verringert werden soll. Als gut geeignet für die Modellerstellung erwies sich dabei die Verwendung der jeweiligen Mittelwerte der Temperaturplateaus. Das Modell wurde mit Hilfe einer Partial Least Squares Regression (PLSR) erstellt. Untersucht wurden  $n = 1 - 20$  Hauptkomponenten, mit einer gruppenbasierte Kreuzvalidierung (10 Gruppen, zwei Iterationen) und einer Holdout-Analyse (20 % herausgehaltene Daten, eine Iteration) für den Test. Für die Datenauswertung wurden die Sensorschichten 0 und 1 des SGP40 wegen der deutlichsten Signalantwort gewählt.

Anhand der Betrachtung einer einzelnen Messreihe aus den im Jahr 2023 durchgeführten Messreihen mit Schweinehackfleisch konnte geschlossen werden, dass eine grobe Vorhersage des

mikrobiologischen Alters der Fleischprobe mit einem RMSE von 3 Tagen realisierbar ist. Es wurde davon ausgegangen, dass die Hinzunahme weiterer Messreihen den RMSE verringern und somit die Vorhersagegenauigkeit verbessern sollte. Obwohl sich nach den ersten Studien bereits im gesamten analytischen Konsortium herausstellte, dass die Schweinehackfleischproben von Charge zu Charge stark variieren, konnte die Vorhersagegenauigkeit mit einer verbesserten Sensor-Messkammer geschärft werden. Die Korrelation der Gesamtkeimzahl, vom MRI ermittelt, mit den Sensormessdaten zeigte eine gute Korrelation sowohl in Validierung wie auch Test. Einbezogen wurden verschiedene Messreihen inklusive Industrieproben. Der RMSE für diese indikative Messmethode lag bei 1 Tag.

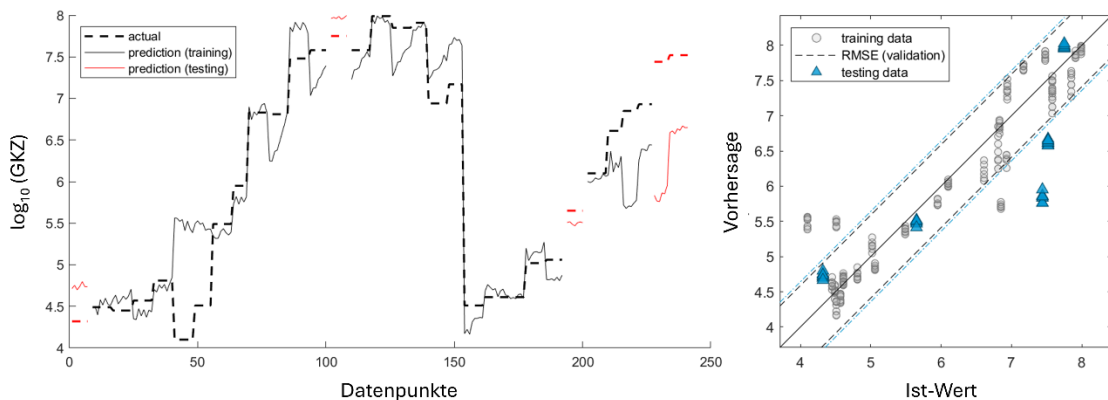


Abbildung 5: Prognosemodell anhand der Mittelwerte als Sensormerkmal für die Messreihen 18-20, erstellt mittels der Messdaten aus der Prüfkammer mit Mikrogassensoren ausgewertet mit der freien Software Dav<sup>3</sup>e. Für die PLSR wurden  $n = 4$  Hauptkomponenten gewählt; links: Prognose des Modells; rechts: Regressionsanalyse der Gesamtkeimzahl, ermittelt am MRI, und der auf Basis der temperaturzyklischen Sensordaten vorhergesagten Keimzahlen (Prädiktion).

#### 4. Aufbau eines Sensorarrays für die Erfassung des Volatiloms auf Basis von Mikrogassensoren

In einem ersten und reduzierten Aufbau wurde ein Sensorarray, bestehend aus verschiedenen MOS-Sensoren verschiedener Hersteller, aufgebaut („Messzelle“ bzw. „Prüfkammer“). Die Messzelle beinhaltet ein SGP-40-Sensorarray (Sensirion AG, Schweiz) mit insgesamt vier verschiedenen MOS-Sensoren sowie einen BHT1680 (Feuchtigkeit, Temperatur, Druck; Bosch AG, Deutschland). Da diese Messzelle jedoch in erster Linie zur Überwachung der Gasphase im Labor dient und nicht für den Einsatz als Schnellmethode unter wechselnden Bedingungen und bei den Projektpartnern vorgesehen ist, wurde im Rahmen des Projektes zusätzlich eine Prüfkammer entwickelt, die mit mehreren verschiedenen Sensoren bestückt werden kann.

Aufgrund der Corona-Pandemie und der damit verbundenen Einschränkung der Produktion und Bereitstellung von Halbleitern und Halbleiter-Gassensoren musste der Aufbau der eigentlichen Prüfkammer für das Sensorarray auf unbestimmte Zeit verschoben werden. Insbesondere die Bereitstellung der bestellten Massenfluss-Regler und -Messler verzögerte den Aufbau der Prüfkammer, sodass die eigentliche Prüfkammer erst im Winter 2023 zur Verfügung stand. Mit einigen Anpassungen, insbesondere in der Dichtung, konnte diese im August 2024 dem

## Sachbericht Teil II – Eingehende Darstellung (Teilprojekt G)

Konsortialpartner MRI für die Praxistests zur Verfügung gestellt werden und wurde erfolgreich ab Messreihe 16 eingesetzt.

Der erste Entwurf der Prüfkammer beinhaltete eine sterilisierbare Kammer aus Aluminium mit einem Deckel aus Plexiglas, durch den optische Messungen, wie sich vom Projektpartner Universität Bayreuth durchgeführt werden, ermöglicht werden sollten. Es war wichtig, alle elektronischen Teile wie Sensoren und Lüfter an dem Deckel zu verbauen, um eine Sterilisation der eigentlichen Kammer mit Alkohol oder unter Umständen im Autoklaven zu ermöglichen. Alle Anschlüsse waren aus Edelstahl geplant, als Dichtung wurde eine Flachdichtung aus inertem Teflon angefertigt. Von einem Lüfter zur Umwälzung der Gasatmosphäre in der Prüfkammer wurde abgesehen. Der erste Kammerentwurf bot Platz für zwei Sensoren. Das gewählte Kammermaterial – Aluminium – bot die Möglichkeit, die Prüfkammer auch in gekühlten Räumen isotherm zu betreiben.

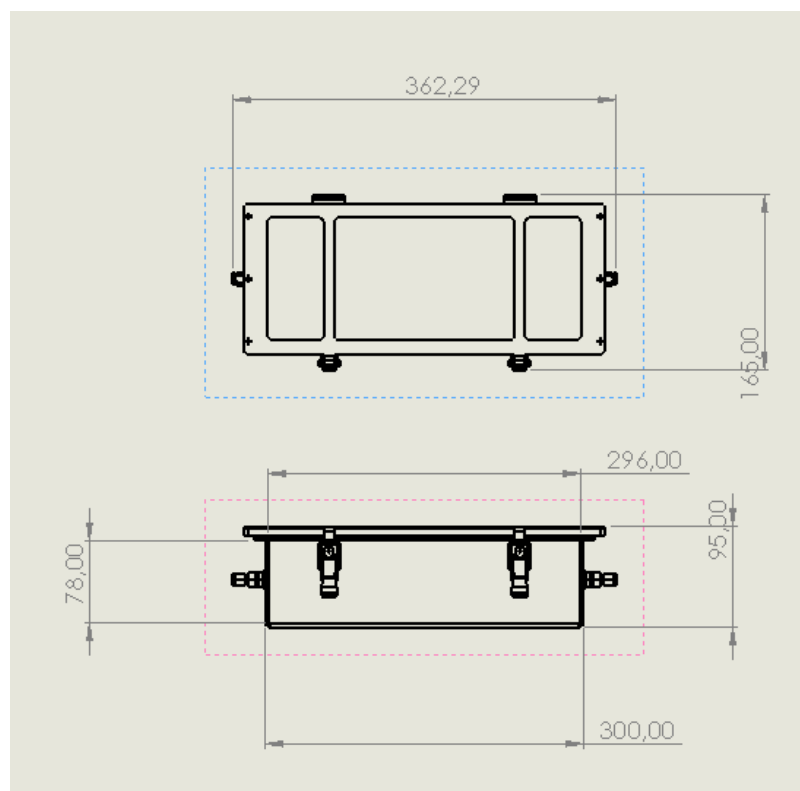


Abbildung 6: Entwurf der ersten Prüfkammer mit Plexiglas-Deckel und Aluminiumwanne.

Die Schwachstellen des ersten Prüfkammer-Entwurfs waren die große Plexiglas-Oberfläche (hinsichtlich Temperaturabfall) sowie die Beschränkung der Kammer auf zwei Sensor-Steckplätze (z. B. VOC und Feuchtigkeit/Temperatur). Für eine schnellere Übertragbarkeit auf andere Anwendungsfälle wurde entsprechend eine Prüfkammer entworfen, die einerseits auf MAP-Verpackungen angepasst war und andererseits mehr Sensorsteckplätze bot.

Die finale Prüfkammer verfügt im Wesentlichen über fünf Sensor-Steckplätze und einen variabel gestalteten Aufbau. So können verschiedene Sensoren, je nach Anforderung der zu messenden Proben, während der Probenlagerung hinsichtlich ihrer Eignung zur Erfassung sich ändernder

## Sachbericht Teil II – Eingehende Darstellung (Teilprojekt G)

Qualitätsparameter miteinander verglichen werden. Die Sensor-Steckplätze sind für MOS- und Umweltsensoren sowie für einen CO<sub>2</sub>-Sensor vorgesehen. Die Prüfkammer wurde mit dem bereits erwähnten SGP40 (VOC; Sensirion AG, Schweiz), ZMOD4410 (VOC; Renesas Electronics Corporation, Japan) und BME688 (VOC; Bosch AG, Deutschland) sowie BHT1680 (Feuchtigkeit, Temperatur, Druck; Bosch AG, Deutschland) versehen. Eine optional schaltbare Ventilationseinheit kann in bestimmten Messphasen, oder in Messpausen für eine optimale Durchmischung (i. S. einer Verwirbelung) eingesetzt werden. Die Elektronik der Sensoren und der Ventilationseinheit ist vollständig in die abnehmbare Abdeckplatte integriert, wodurch die Gefahr von Kabelbrüchen vermieden wird. Als Material wurde Aluminium gewählt, es sich gut verarbeiten lässt. Zwei Ventile ermöglichen auch hier eine kontrollierte Atmosphäre, die je nach Lagerbedingungen (z. B. bei MAP-verpackten Produkten) auch von vornherein eingestellt werden kann. Als emissionsfreie Dichtung wird neben dem eingangs erwähnten PTFE auch FKM (Fluorkautschuk) verwendet. Ein zusätzliches Sichtfenster ermöglicht zudem eine visuelle Kontrolle bzw. eine spätere optische Vermessung der Fleischproben (bspw. mittels IR-Schnellmethoden).

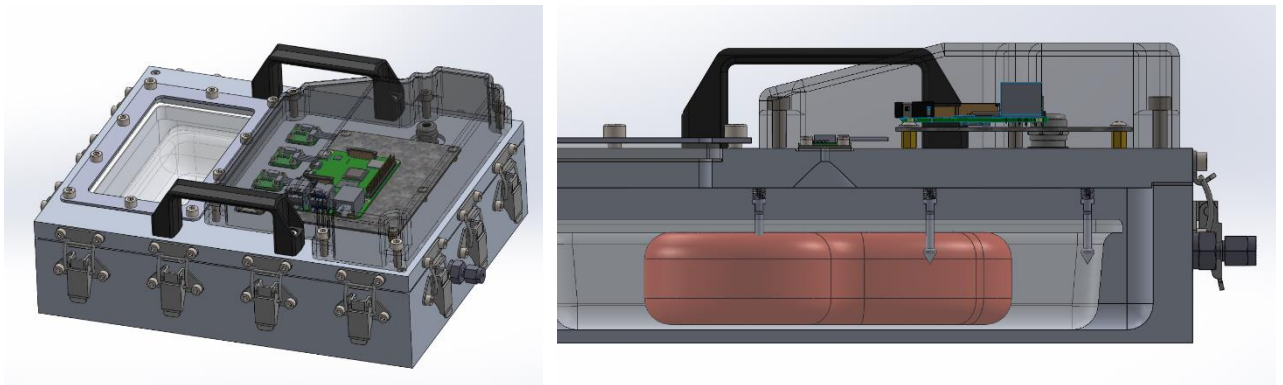


Abbildung 7: Prüfkammerdesign der finalen Prüfkammer mit Plexiglas-Fenster, vier MOS-Sensorplätzen und Kammer für MAP-verpackte Proben.

In den folgenden Versuchen stellte sich ebenfalls heraus, dass die Flachdichtung aus Teflon nicht optimal geeignet war bzw. nicht genug abdichtete. Entsprechend wurde in der Kammer eine Nut eingefräst und diese mit einer PTFE-Nutdichtung versehen.

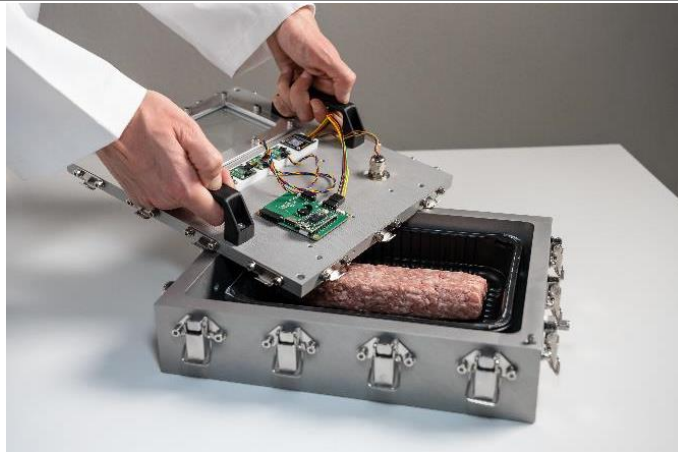


Abbildung 8: Messprobe (Schweinehackfleisch) in der Prüfkammer, ausgestattet mit verschiedenen MOS-Sensoren.

Ohne den erheblichen Personaleinsatz wäre die Bearbeitung der verschiedenen Arbeitspakete nicht möglich gewesen, weshalb der Großteil der Förderungssumme am Fraunhofer IVV zur Durchführung der Messungen der VOCs in den verschiedenen Messreihen, der dabei zugrundeliegenden Methodenentwicklung und –validierung, Entwurf und Konstruktion der Messkammern, Erarbeitung der Versuchsdesigns und Interpretation der Ergebnisse, für die interne Projektorganisation und –leitung, Kommunikation im Konsortium, zur Betreuung von studentischen und wissenschaftlichen Arbeiten und Praktika, sowie im Rahmen der Dissemination (Vorstellung auf Veranstaltungen des Begleitprojekts X-Kit und vor internationalem Fachpublikum) inklusive Vorbereitung der wissenschaftlichen Publikationen der Ergebnisse (siehe u. a. Punkt 5) aufgewendet wurde. Darüber hinaus wurden Korrelationsanalysen mit den Daten der Projektpartner, insbesondere mit den Daten des MRI (Mikrobiologie – Gesamtkeimzahl) vorgenommen, die zu zwei wissenschaftlichen Publikationen (aktuell in Vorbereitung) führten und damit maßgeblich zur wissenschaftlichen Dissemination des Projekts beitragen. Ebenfalls über den eigentlichen Projektplan hinaus übernahm Fraunhofer IVV die Kommunikation und Vernetzung mit anderen im gleichen Fördertool geförderten KI-Projekte im Rahmen des Querschnittsprojekts X-Kit, aus dem sich interessante und wegweisende Anschlussmöglichkeiten für die Projektergebnisse aufgezeigt haben. Diese Anschlussmöglichkeiten werden aktuell evaluiert und innerhalb der nächsten drei Jahre umgesetzt.

Bedingt durch den erheblichen und notwendigen Materialeinsatz, insbesondere zur Konstruktion und Ausstattung der Sensorkammern und für Verbrauchsmaterialien (inklusive Standards und Probengefäßen), entsprachen die Aufwendungen für eingesetztes Material ebenfalls einer größeren Kostenposition.

Die im Projekt benötigten Reisemittel waren für die Teilnahme an richtungsweisenden Meilensteintreffen aller Projektpartner in Präsenz und der Teilnahme an Vernetzungstreffen im Rahmen von X-KIT notwendig. Zusätzlich dazu wurden die veranschlagten Reisemittel genutzt, um Teilergebnisse des Projektes der Fachöffentlichkeit auf dem Dresdner Sensor Symposium (2024)

und dem 22nd World Congress of Food Science and Technology (IUFoST 2024 Rimini, Italien) vorzustellen (siehe Punkte 3 und 5).

Zusammenfassend waren die geltend gemachten Aufwendungen von Seiten des Fraunhofer IVV zur Erreichung der gemeinschaftlichen Projektziele notwendig und standen auch in einem angemessenen Verhältnis zu den durchgeführten Arbeiten.

### 3. Wissenschaftliche und wirtschaftliche Verwertbarkeit der erzielten Ergebnisse

Die Verwertbarkeit der im Projekt erzielten Ergebnisse wird anhand einer Kurzübersicht zu wesentlichen Punkten des Verwertungsplans beschrieben:

- **Wirtschaftliche Erfolgsaussichten nach Projektende** (mit Zeithorizont)

Die im Projekt erzielten Ergebnisse, v. a. die GC-IMS-Methoden, die Sensorsysteme mit Methoden sowie die Prüfkammer werden im Rahmen industriell geförderte Forschungsprojekte und wissenschaftliche Dienstleistungen angeboten.

- **Wissenschaftliche und / oder technische Erfolgsaussichten nach Projektende** (mit Zeithorizont)

Zeithorizont: Projektende bis 1 Jahr nach Projektende

- Die Projektergebnisse werden auf nationalen und internationalen Konferenzen einem breiten wissenschaftlichen Publikum zur Verfügung gestellt. Im Rahmen des Projekts wurden zwei Doktorarbeiten angefertigt, deren Einreichung für Mitte bzw. Ende 2025 geplant ist.
- Durch den Wechsel der beiden Absolventen in die Wirtschaft ist ein Transfer des angeeigneten Wissens gegeben. Die Erkenntnisse aus dem Projekt werden für weitere Entwicklungen eingesetzt.
- Veröffentlichung wissenschaftlicher Publikationen (peer-reviewed): siehe Kapitel 5.
- Veröffentlichung populärwissenschaftlicher und Fachartikel, z. B. im Lebensmittelbrief

Zeithorizont: 2-5 Jahre nach Projektende

Es wird eine Übertragung der Kenntnisse auf andere Lebensmittelgruppen sowie weitere Fragestellungen in der Wertschöpfungskette angestrebt.

- **Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit** für eine mögliche notwendige nächste Phase bzw. die nächsten innovatorischen Schritte zur erfolgreichen Umsetzung der FE-Ergebnisse.

Aus den Ergebnissen dieses Projektes werden weitere Projektideen formuliert und entsprechende Fördermittel auf nationaler (z. B. BMFTR, BMLEH) und internationaler Ebene (z. B. EU) akquiriert, um eine Weiterentwicklung der Methoden (GC-IMS, Sensoren) sowie der entwickelten Prüfkammer umzusetzen. Dabei soll eine Übertragbarkeit der gewonnenen Erkenntnisse auf andere Anwendungsfelder oder Matrices (z. B. Fisch oder Convenience-Produkte) erforscht werden. Es ist ferner beabsichtigt, die erzielten Ergebnisse im Rahmen weiterer Forschungstätigkeiten zu verschiedenen Fragestellungen in der Lebensmittelwertschöpfungskette zu vertiefen/erweitern. Sowohl die in diesem Projekt entwickelten Messmethoden wie auch die Prüfkammer werden für Fragestellungen aus der Wirtschaft angeboten. Eine Vermarktung oder Lizenzierung der Prüfkammer wurde vorerst ausgeschlossen, da aktuell der Betrieb der Prüfkammer ein Gaslabor bedingt (inklusive

Massenflussregler, Gasflaschen und -anschlüsse) und in Unternehmen nur mit einem vergleichsweise hohen Aufwand umzusetzen ist.

#### 4. Technischer Fortschritt von Dritten auf dem thematischen Gebiet des Vorhabens

Es wurden keine neuen Entwicklungen Dritter gefunden, die sich mit der direkten Messung von flüchtigen Markern in Fleischlieferketten beschäftigen und einen direkten erheblichen Einfluss auf die Gestaltung oder Durchführung des Projektes gehabt hätten. Einige interessante Ansätze könnten die von der Firma Senoptica Technologies zur Entwicklung eines druckbaren Sauerstoff- sowie eines VOC-Sensors (Farbumschlagssensor) zur Verderbs- und Leckagebestimmung in MAP-Verpackungen gefunden werden.

#### 5. Im Vorhaben erfolgte und geplante Veröffentlichungen nach Nr. 5 der NKBF (2017)

Folgende Veröffentlichungen sind im Rahmen des Vorhabens erfolgt bzw. geplant:

- Presseinformation im Magazin „Lebensmittelchemie“ ((2022), Meldung: Zukunftslabor 2030 – Nachhaltiger Verbraucherschutz mithilfe künstlicher Intelligenz. Lebensmittelchemie, 76: 71-72. <https://doi.org/10.1002/lemi.202200208>).
- Vortrag: IVLV Zukunftstage Erhalt der Lebensmittelqualität 2023, „Volatilomics für die Lebensmittelqualität und -authentizität“, Freising, 16.-17.05.2023.
- Vortrag: IVLV Zukunftstage Erhalt der Lebensmittelqualität 2024, „Schnelle Quantifizierung der Keimbelastung basierend auf den flüchtigen Profilen der Lebensmittel“, Freising, 15.05.2024.
- Vortrag: IUFoST 2024, Djaw, Brüggemann, Mühling, Türkmen, Tybussek, Sauerwald. „New approach for rapid detection of spoilage in minced meat packed in a modified atmosphere.“ 08.-13.09.2024.
- Beitrag: Köhne, Djaw, Schröer, Böckelmann, Brunner, Wurm, Zeh (2024): Mettigel meets KI - Überwachung von Gerüchen als Qualitätsmarker am Beispiel Hackfleisch. Ernährung aktuell - Der Lebensmittelbrief 2024.
- Beitrag: Köhne, Djaw, Schröer, Böckelmann, Brunner, Wurm, Zeh (2024): Mettigel meets KI - Überwachung von Gerüchen als Qualitätsmarker am Beispiel Hackfleisch. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle 31(3).
- Poster: Koehne, Zeh, Sauerwald (2024): P33-Aufbau eines Sensorsystems für die Detektion von Fleischqualität. 17. Dresdner Sensor Symposium, Dresden, Deutschland, 25.11.-27.11.2024.
- Veröffentlichung: Djaw, Mühling, Brüggemann, Türkmen, Tybussek, Lick, Sauerwald (2025): Rapid spoilage monitoring of minced pork by gas chromatography – ion mobility spectrometer. *In preparation*.
- Veröffentlichung: Djaw, Mühling, Münch, Tybussek, Türkmen, Brüggemann, Lick, Sauerwald (2025): Freshness assessment of minced pork using data fusion of color and volatile organic compounds. *in preparation*.

### 6. Literatur

Bastuck, Manuel; Baur, Tobias; Schütze, Andreas (2018): DAV 3 E—a MATLAB toolbox for multivariate sensor data evaluation. In: *Journal of Sensors and Sensor Systems* 7 (2), S. 489–506.

Schütze, Andreas; Sauerwald, Tilman (2020): Dynamic operation of semiconductor sensors. In: *Semiconductor gas sensors*: Elsevier, S. 385–412.