

## Sachbericht zum Verwendungsnachweis

### Zukunftslabor2030:

**Verbundprojekt: Zukunftsszenarien für den Verbraucherschutz auf Basis von Qualitäts- und Sicherheitsinformationen von Lebensmitteln, innovativen Messmethoden und KI - Teilprojekt F**

Projektträger: Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung  
Ressort: Bundesministerium für Landwirtschaft, Ernährung und Heimat  
Zuwendungsempfänger: Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR)  
Förderkennzeichen: 28DK126F20  
BfR Geschäftszeichen: BfR-BIOS-08-60-0103-06.P213  
Laufzeit: 15.10.2021 - 14.05.2025  
BfR Projektleiter: Dr. Petra Ganas

### Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Landwirtschaft, Ernährung  
und Heimat

### Projektträger



Bundesanstalt für  
Landwirtschaft und Ernährung

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages

## 1. Kurzbericht

### 1.1. Aufgabenstellung sowie wissenschaftlicher und technischer Stand

Die Bewertung der Lebensmittelhaltbarkeit ist ein komplexes Themenfeld. Frische Produkte unterliegen dynamischen physikochemischen Veränderungen und einer kontinuierlichen Veränderung der vorhandenen Mikroflora. Die Gewährleistung einer optimalen Produktqualität und -sicherheit stellt daher hohe Anforderungen an die Lebensmittelproduktion und die Einhaltung der Kühlketten. Da die bisher verfügbaren Techniken der Überwachung und Überprüfung des Status von Lebensmitteln zeitaufwändig sind und zum Teil spezialisierte Analysen im Labor erfordern, ist ein lückenloses Monitoring der biologischen und chemischen Veränderungen des Lebensmittels im Rahmen der Herstellung und Lagerung bis zum Verzehr nicht möglich. Aus diesem Grund war das Ziel des Verbundprojekts Zukunftslabor2030 (ZL2030) die Grundlagen zu entwickeln, dass 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 möglich wird. Ein höherer Informationsgrad bzgl. der verbliebenen Haltbarkeit von Produkten könnte zu einer Verbesserung des Verbraucherschutzes, einer höheren Effizienz der Lieferketten und gleichzeitig zu einer verminderten Lebensmittelverschwendung führen.

Im Verbundprojekt arbeiteten die folgende Projektpartner zusammen: tsenso GmbH (TSN), benelog GmbH & Co. KG (BENE), Max-Rubner-Institut Sicherheit und Qualität bei Fleisch (MRI), Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Universität Bayreuth Lehrstuhl für Bioanalytik und Lebensmittelanalytik (UBT) und Forschungsstelle für europäisches Lebensmittelrecht (FLMR), Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung (IVV), Technische Hochschule Deggendorf Technologiecampus Grafenau (TCG) und Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR).

Das Projekt baute dabei auf frühere Forschungsarbeiten der Verbundpartner auf. Diese umfassten unter anderem Arbeiten zur Entwicklung innovativer Analysemethoden für einen praxisnahen Einsatz zur schnellen Bewertung der mikrobiologischen Qualität und Haltbarkeit z. B. von Fleischprodukten bzw. zur Authentizitätsprüfung z. B. von Getreide (Food-Scanner – IVV, TCG, StMELF; FriMo – UBT, BMEL/BLE 2816 IP003; AgrOr – UBT, BMEL/BLE 281650414; Minimal Processing – UBT, DFG Schm2724-1; Minimal Processing – MRI, UBT, AiF 16692 N; MARINEFOOD – LGL, BMEL/BLE 2816504014; NextMilQ – LGL). Ferner wurde auf Arbeiten aufgebaut, die sich mit der Entwicklung und Nutzung von Standards wie FSKX (FAIR Scientific Knowledge eXchange) und EPCIS (Electronic Product Code Information Services) sowie Plattformen zum Austausch von Daten und Modellen wie z. B. RAKIP (Risk Assessment Knowledge Integration Platform) befassen (FreshIndex – TSN, BMBF: 03VNE2107; FreshAnalytics – TSN, BMWI: 01MD19009; FoodAuthent – BfR, BENE, BMEL/BLE: 2816502914; EFSA-BfR-FPA WA2 – BfR, EFSA: GP/EFSA/AMU/2016/01). Auch Arbeiten zu rechtswissenschaftlichen Fragestellungen bezüglich Lebensmittel, Lebensmittelhygiene sowie unternehmerische Verantwortlichkeiten und Haftung in Hinblick auf die Entwicklung von intelligenten Verpackungslösungen flossen in das Projekt ein (Intelli-Pack – FLMR, BMEL: 281A101416).

### 1.2. Ablauf des Vorhabens

Das Vorhaben wurde in drei Arbeitspakete (AP) strukturiert, zu denen jeder der Projektpartner beitrug: (AP1) Innovative Messmethoden, (AP2) Digitale Lebensmittel und (AP3) Zukunftslabor

Lebensmittelhaltbarkeit. In AP1 wurden neuere Messmethoden auf ihre Verwendungsmöglichkeit und ihren Informationsgehalt für ein digitales Monitoring und Prognosesystem mittels KI und digitaler Zwillinge untersucht und bewertet und mit den derzeitig anerkannten amtlichen Untersuchungsverfahren verglichen. In AP2 wurde eine Plattform für die Aggregation der in AP1 erhobenen Daten entwickelt, die mittels digitaler Zwillinge integriert und prozessiert wurden. In AP3 konnte das Potential der in AP1 und AP2 entwickelten Verfahren in einem Praxistest demonstriert und bewertet werden, die Ergebnisse des Projekts werden in einem Whitepaper veröffentlicht.

Das Projekt verfolgte fünf primäre Projektziele (PZ): (PZ1) Entwicklung von Zukunftsszenarien, (PZ2) Konzeptstudie zur Anwendbarkeit und Machbarkeitsnachweis, (PZ3) Entwicklung einer Plattform zum Austausch von Produkt- und Produktionsdaten sowie von KI-Modellen, (PZ4) Erstellung prognosefähiger digitaler Zwillinge für die Lebensmittel und (PZ5) Demonstration der Funktionalität mittels Praxistests und Veröffentlichung der Ergebnisse in einem Whitepaper.

### 1.3. Ergebnisse

Im Teilprojekt des BfR lag der Schwerpunkt der Arbeiten im Bereich der innovativen Messmethoden auf der Analyse der Zusammensetzung des Mikrobioms in der Lebensmittelmatrix sowie deren lagerungsbedingten Veränderungen mittels kultivierungsunabhängiger Methodiken. Die vom BfR dazu durchgeführte Metagenomanalyse erwies sich als eine geeignete Methode, um Änderungen des Mikrobiomprofils in der Lebensmittelmatrix Schweinehackfleisch zu detektieren. So konnte der Einfluss durch die getesteten Lagertemperaturen (2 °C, 10 °C und 14 °C), der verschiedenen Verpackungsatmosphären (MAP 70 % O<sub>2</sub> + 30 % CO<sub>2</sub> und MAP 70 % N<sub>2</sub> + 30 % CO<sub>2</sub>) sowie der Fleischreifung (7 Tage bei 2 °C) und der Produktionsbedingungen (Projekt-interne Herstellung durch MRI, externe Herstellung durch industrielle Schlachtbetriebe) nachgewiesen werden. Allerdings zeigte sich auch, dass die Metagenomanalyse nur bedingt geeignet ist, um Kühlkettenunterbrechungen (z. B. am 2. Lagerungstag für 6 bzw. 12 Stunden bei 14 °C, sonst 2 °C) zu detektieren, da hier die Änderungen im Mikrobiomprofil zu gering ausfielen. Ferner erlaubte die Metagenomanalytik die Untersuchung der Genausstattung der Mikrobiome in der Lebensmittelmatrix, wobei die Qualität der Analyse von der Sequenzierungstiefe, d. h. vom Anteil detektierter bakterieller Reads, abhing.

Des Weiteren hat das BfR wesentlich an der Konzeption und Etablierung einer Softwarearchitektur für die Zukunftslabor2030-Plattform mitgewirkt. Diese umfasst die folgenden Bestandteile: die Datenmanagementplattform openBIS, digitale Zwillinge (Prognosemodelle) im FSKX Format, eine Web-Anwendung für Nutzer und das EPCIS Event-Hub für eine standard-basierte Kommunikation zwischen den verschiedenen Modulen der ZL2030-Plattform. Im Projekt konnte gezeigt werden, dass das vom BfR entwickelte FSKX Format geeignet ist, verschiedenste Prognosemodelle standardisiert zu beschreiben, wodurch die Ausführung der Modelle in einer Cloud-basierten Laufzeitumgebung ermöglicht wurde. Diese Ausführungsumgebungen können als Container-basierte Systeme auf unterschiedlichen Cloud-Infrastrukturen betrieben und via APIs vernetzt werden, so dass für die heterogenen FSKX-Modelle der digitalen Zwillinge jeweils passende, isolierte und maßgeschneiderte Umgebungen genutzt werden können. Die Funktionalität der ZL2030-Plattform konnte in einem Proof-of-Concept demonstriert werden. Ferner hat das BfR in Zusammenarbeit mit BENE ein Whitepaper veröffentlicht, welches die im Projekt genutzte FSKX-Cloud-Plattform für die Ausführung wissenschaftlicher Modelle beschreibt (10.5281/zenodo.15835206). Das Projekt ZL2030 wird darin als beispielhafter Anwendungsfall erwähnt.

## **2. Eingehende Darstellung**

### **2.1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse**

Die Zuwendung für das Projekt Zukunftslabor2030 (ZL2030) wurde für die Entwicklung von Grundlagen verwendet, die innovativen Technologien der Lieferkettenüberwachung sowie nicht-zielgerichteter analytischer Verfahren mit Methoden der Künstlichen Intelligenz (KI) kombiniert, um zukünftig eine verbesserte Prognose der Lebensmittelhygiene, -qualität und -sicherheit zu ermöglichen. Damit wurde sowohl ein Beitrag zur Verbesserung des Verbraucherschutzes geleistet als auch Lebensmittelunternehmern die Möglichkeit gegeben, ihre HACCP-Konzepte zur Sicherung der hygienischen Lebensmittelproduktion auf eine neue Ebene zu heben. Eine bessere Datengrundlage und Informationsintegration zu Aspekten der realen Haltbarkeit von Produkten kann zu einer höheren Effizienz der Lieferketten und zu einer verminderten Lebensmittelverschwendung beitragen.

Im Verbundprojekt arbeiteten die folgende Projektpartner zusammen: tsenso GmbH (TSN), benelog GmbH & Co. KG (BENE), Max-Rubner-Institut Sicherheit und Qualität bei Fleisch (MRI), Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Universität Bayreuth Lehrstuhl für Bioanalytik und Lebensmittelanalytik (UBT) und Forschungsstelle für europäisches Lebensmittelrecht (FLMR), Fraunhofer Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung (IVV), Technische Hochschule Deggendorf Technocampus Grafenau (TCG) und Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR).

Die Zuwendung ans BfR waren zum einen für Personalkosten für zwei wissenschaftliche Mitarbeitende und einen technischen Mitarbeitenden und zum anderen für Kosten zur Deckung sonstiger sächlicher Verwaltungsausgaben wie die Verbrauchsmaterialien für die Laborarbeiten. Weitere Mittel wurden durch das BfR für Dienstreisen zu den Projekttreffen verwendet.

Die erzielten Ergebnisse sehen entsprechend der Aufgaben in den einzelnen Arbeitspaketen (AP) wie folgt aus:

#### **AP1: Innovative Messmethoden**

##### **Aufgabe 1.5: Next-Generation Sequencing/NGS**

Im AP1 wurden innovative Messmethoden auf ihre Verwendungsmöglichkeit und ihren Informationsgehalt für ein digitales Monitoring und Prognosesystem mittels KI und digitaler Zwillinge (DZ) untersucht und bewertet, um sie dann mit den derzeitigen anerkannten amtlichen Untersuchungsverfahren zu vergleichen.

Zur Sicherstellung der Vergleichbarkeit aller im Projekt verwendeten Methoden erfolgte die Datenerhebung von allen Partnern am gleichen Probenmaterial. Die Bereitstellung des benötigten Probenmaterials erfolgte durch das MRI. Entsprechend den geplanten Produktionsbedingungen wurde am MRI Schweinehackfleisch hergestellt, verpackt und eingelagert, um dann allen Projektpartnern für die Anwendung der jeweiligen Messmethoden zur Verfügung gestellt zu werden.

Im Rahmen des Projekts wurde der Einfluss verschiedener Faktoren auf die Frische der Lebensmittelmatrix Schweinehackfleisch untersucht. Dazu wurden Messreihen mit genau definierten Bedingungen durchgeführt, wobei die Untersuchung nachstehender Einflussfaktoren erfolgte:

- Lagertemperatur (2 °C für 17 Tage, 10 °C und 14 °C für 10 Tage)
- Verpackungsatmosphäre (MAP 70 % O<sub>2</sub> + 30 % CO<sub>2</sub> und MAP 70 % N<sub>2</sub> + 30 % CO<sub>2</sub>)
- Kühlkettenunterbrechung am 2. Lagerungstag für 6 bzw. 12 Stunden bei 14 °C (sonst Lagerung bei der rechtlich vorgeschriebenen Lagertemperatur von 2 °C)
- Fleischreifung für 7 Tage bei 2 °C vor der Verarbeitung des Rohmaterials zu Schweinehackfleisch
- Produktionsbedingungen (Projekt-interne Herstellung durch MRI, externe Herstellung durch industrielle Schlachtbetriebe)

Ziel der Arbeiten in Aufgabe 1.5 war die Analyse der Zusammensetzung des Mikrobioms in der Lebensmittelmatrix sowie seine lagerungsbedingten Veränderungen über kultivierungsunabhängige Methodiken. Dabei wurde mit drei verschiedenen NGS-Anwendungen das Mikrobiom untersucht: die Amplikonsequenzierung zur Analyse der relativen Zusammensetzung des Mikrobioms, die Transkriptomanalyse zur Untersuchung der aktiven mikrobiellen Stoffwechselwege (vom LGL durchgeführt) sowie die Metagenomanalyse, welche Aussagen sowohl zur relativen Mikrobiomzusammensetzung als auch zur vorhandenen Genausstattung des Mikrobioms ermöglichte. Die für die Amplikonsequenzierung und Metagenomanalysen notwendige DNA-Extraktion wurde vom LGL durchgeführt, so dass beide NGS-Methoden mit dem gleichen DNA-Probenmaterial erfolgten. Hierbei ist zu beachten, dass bedingt durch die Lebensmittelmatrix Schweinehackfleisch und die damit verbundene Präparationsmethode die DNA-Konzentrationen für einen Teil der Proben recht gering ausgefallen waren, was sich auf die Qualität der Sequenzierungen auswirkte.

Für die Durchführung der Metagenomanalyse wurde am BfR ein auf die Proben aus dem Projekt zugeschnittenes Protokoll für die Hochdurchsatz-Sequenzierung mit dem NextSeq 550-System unter Verwendung des Illumina NextSeq 500/550 Mid Output Kits und des TruSeq™ Nano DNA High Throughput Library Prep Kits erarbeitet. Dabei wurde der Sequenzierungsansatz so gewählt, dass sofern möglich pro Probe die Anzahl an gewonnenen Reads im Bereich von 3.500.000 bis 6.000.000 lag. Bei zu niedriger DNA-Konzentration konnte die Anzahl an Reads für die betroffenen Proben auch unterhalb dieses Bereichs ausfallen.

Um die NGS-Daten bioinformatisch aufzubereiten und auszuwerten, wurde auf die am BfR entwickelten Datenanalyse-Pipelines aufgebaut und diese an die konkreten Anforderungen aus dem ZL2030-Projekt angepasst und weiterentwickelt. Hierbei kam für die taxonomische Differenzierung der Mikroorganismen das Klassifizierung-Tool „Kraken2“ mit der NCBI (National Library of Medicine) Referenzdatenbank RefSeq207\_complete zur Anwendung. Die anschließende Schätzung der Abundanz innerhalb der einzelnen Proben für ausgewählte taxonomische Ebenen wie Art und Gattung erfolgte mittels des Tools „Bracken“. Für die weitere statistische Analyse wurden R Anwendungen wie Pavian, Vegan, Compositions und Phyloseq verwendet.

Die Analyse der Daten aus den Messreihen zeigte, dass die taxonomische Klassifizierung der Reads bei ca. 80 % bis 99 % lag. Neben den Reads zur Detektion der Bakterien konnten auch Reads der Lebensmittelmatrix, d. h. dem Schwein, zugeordnet werden. Die Anteile an Reads für das

Mikrobiom und die Lebensmittelmatrix standen in einer direkten Korrelation zueinander. Über die Lagerdauer hinweg nahm der Anteil der Reads für die Lebensmittelmatrix unabhängig von den Lagerungsbedingungen ab, wobei der Anteil an bakteriellen Reads zunahm. Dieser Effekt war bei höheren Lagertemperaturen (10 °C und 14 °C) im Vergleich zu einer Lagerung bei 2 °C verstärkt. Der Anteil an Reads für die Bakterien lag zu Beginn der Lagerung bei allen untersuchten Lagertemperaturen bei ca. 3 % bis 6 % und stieg mit der Zeit bis zu ca. 35 % bei 2 °C (nach 17 Tagen Lagerung), 80 % bei 10 °C und 95 % bei 14 °C (jeweils nach 10 Tagen Lagerung) an. Dabei sank der Anteil der Reads für die Lebensmittelmatrix von ca. 90 % bis 95 % auf bis zu ca. 55 % bei 2 °C, 20 % bei 10 °C und 5 % bei 14 °C. Der Anstieg an bakteriellen Reads war unter sauerstoffreicher Schutzatmosphäre (MAP 70 % O<sub>2</sub> + 30 % CO<sub>2</sub>) stärker ausgeprägt als unter stickstoffreicher Schutzatmosphäre (MAP 70 % N<sub>2</sub> + 30 % CO<sub>2</sub>), d. h. es konnte hier ein größerer Gehalt an bakterieller DNA in den Proben nachgewiesen werden. Unter sauerstoffreicher Schutzatmosphäre stieg der Anteil der Reads für die Bakterien bei 2 °C Lagerung auf ca. 35 %, bei 10 °C auf ca. 80 % und bei 14 °C auf ca. 95 %. Demgegenüber wurde unter stickstoffreicher Schutzatmosphäre nur ein Anteil an bakteriellen Reads von ca. 15 % bei 2 °C Lagerung, 30 % bei 10 °C und 70 % bei 14 °C gemessen.

Die Sequenzdaten zeigten, dass das Mikrobiomprofil von der Lagertemperatur (2 °C, 10 °C und 14 °C) und der Verpackungsatmosphäre (MAP 70 % O<sub>2</sub> + 30 % CO<sub>2</sub> bzw. MAP 70 % N<sub>2</sub> + 30 % CO<sub>2</sub>) beeinflusst wird. Das Mikrobiomprofil setzte sich anfänglich für die Projekt-intern hergestellten Proben hauptsächlich aus den Gattungen *Clostridioides* und *Escherichia* zusammen. Dieses Profil änderte sich im Verlauf der Lagerung. Unter sauerstoffreicher Schutzatmosphäre dominierten am Ende der Lagerzeit bei 2 °C *Brochothrix* und Milchsäurebakterien wie *Lactococcus* und *Leuconostoc*, bei 10 °C und 14 °C dominierten *Pseudomonas*, *Brochothrix*, *Acinetobacter* und *Serratia*. Unter stickstoffreicher Schutzatmosphäre waren am Ende der Lagerung bei 2 °C und 10 °C Milchsäurebakterien und Enterobakterien vorherrschend und bei 14 °C *Hafnia* und Enterobakterien. Die Diversitätsanalyse zeigte, dass eine niedrige Lagertemperatur (2 °C) die Vielfältigkeit des Mikrobioms und damit stabilere mikrobielle Gemeinschaften begünstigt. Höhere Lagertemperaturen (10 °C und 14 °C) begünstigen das Wachstum dominanter Mikroorganismen.

Die statistische Auswertung der Mikrobiomprofile mittels kompositioneller Hauptkoordinatennanalyse (PCoA = Principal Coordinates Analysis) zeigte, dass die Metagenomanalyse eine geeignete Methode ist, um Entwicklungen in der Zusammensetzung des Mikrobioms zu detektieren, sofern die relativen Häufigkeiten der einzelnen Taxa sich ausreichend in den Proben unterscheiden. Dieses traf für den Einfluss durch die getesteten Lagertemperaturen und Verpackungsatmosphären sowie die Fleischreifung und Produktionsbedingungen zu. Bei den Messreihen zur Kühlkettenunterbrechung konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontroll- und den Testproben detektiert werden, da die Änderungen der relativen Häufigkeiten für die einzelnen Taxa zu gering ausfielen. Somit ist die Metagenomanalyse nur bedingt geeignet, um Kühlkettenunterbrechungen zu detektieren, wobei ein schnellerer Anstieg des Anteils an bakteriellen Reads und eine beschleunigte Mikrobiomverschiebung bei einer Kühlkettenunterbrechung von 12 Stunden zu erkennen waren.

Die Fleischreifung als auch die industrielle Produktion führten zu deutlich veränderten Mikrobiomprofilen, was sich zum einen im Anteil der detektierten bakteriellen Reads als auch in der Zusammensetzung der Mikrobiome zeigte. Durch die Fleischreifung für 7 Tage bei 2 °C stieg der Anteil bakterieller Reads im Schweinehackfleisch von ca. 5 % (Kontrolle) auf ca. 65 %. Dies führte dazu, dass am Ende der Lagerung dieser Anteil ca. 85 % ausmachte (ca. 30 % bei der

Kontrolle). Der Reifungsprozess hatte das Wachstum von *Pseudomonas* begünstigt, so dass diese Gattung vom Lagerungsbeginn an das Mikrobiomprofil dominierte.

Die Produktflora des Lebensmittels (eine Kombination aus Ausgangsflora des Rohmaterial Schweinefleisch und Hausflora des Herstellers) hat einen deutlichen Einfluss auf die Mikrobiomzusammensetzung und deren Veränderung während der Lagerung. Dies wurde durch die Untersuchung industriell hergestellten Schweinehackfleisches bestätigt. Die dazu im Projekt analysierten Proben zeigten eindeutige Unterschiede für die Herstellerbetriebe am Ende der Lagerzeit bezüglich des Anteils an bakteriellen Reads (ca. 85 % für Hersteller 1 bzw. 15 % für Hersteller 2) und der das Mikrobiom dominierenden Gattung (*Pseudomonas* für Hersteller 1 bzw. *Leuconostoc* für Hersteller 2).

Neben dem Mikrobiomprofiling hat das BfR eine Machbarkeitsstudie durchgeführt, um eine Analysepipeline für die Untersuchung zur Genausstattung des Mikrobioms zu erstellen. Für die Analyse wurden folgende Tools verwendet. Mit metaSpades erfolgte die Assemblierung der Reads zu Contigs. Das Tool Prodigal Gene Prediction wurde für die Vorhersage proteinkodierender Gene für prokaryotische Genome genutzt. Die so detektierten Gene wurden mit dem eggNOG Mapper annotiert. Der eggNOG-Mapper ist ein Tool zur funktionellen Annotation neuer Sequenzen. Er verwendet dazu vorberechnete orthologe Gruppen (OGs) und Phylogenien aus der EggNOG-Datenbank. Die Cluster der orthologen Gruppen (COGs) von Proteinen wurden durch den Vergleich der Proteinsequenzen vollständiger Genome erstellt. Die aktuelle COG-Datenbank enthält sowohl prokaryotische Cluster (COGs) als auch eukaryotische Cluster (KOGs). Die Untersuchung zur Genausstattung des Mikrobioms zeigte, dass in einigen Proben der Anteil an Reads zur Detektion von Bakterien so gering ausfiel, dass es die Auswertung der Daten erschwerte. Durch den geringen Anteil an Bakterien in den Proben, besonders zu den frühen Zeitpunkten bei der Probennahme, war hier die Sequenzierungstiefe nicht ausreichend, um eine aussagekräftige Analyse zur Genausstattung des Mikrobioms durchzuführen und nur vereinzelte Gene ließen sich annotieren. Bei Proben mit höherem Anteil an Bakterien konnte ein umfangreicheres Profil an den vorkommenden prokaryotischen Genen bestimmt werden, die Rückschlüsse auf die zellulären Stoffwechsel- und Transportfunktionen erlauben. Die Metagenomdaten sollen mit den im Projekt gewonnenen Transkriptomdaten zusammengeführt werden, um bestimmen zu können, welche Gene aus dem Metagenom zum Zeitpunkt der Analyse in den Bakterien aktiv waren. Die Transkriptomanalyse wurde vom LGL an einen externen Dienstleister vergeben. Der Dienstleister hatte angeboten, neben dem Transkriptom auch das Metagenom ausgewählter Proben zu analysieren und auszuwerten. Dabei kam ein anderes Metagenomsequenzierungsprotokoll zur Anwendung als das Projekt-intern genutzte. Dieses liefert gegebenenfalls umfassendere Daten zur Genausstattung, die dann mit den Projekt-internen Ergebnissen verglichen werden können. Die Zusammenführung der Metagenomdaten des BfR und der Transkriptomdaten des LGL steht noch aus.

### **Aufgabe 1.6: Multi-Experiment/Korrelations-Analyse mittels KI**

Der Beitrag des BfR in dieser Aufgabe fokussierte sich auf die Unterstützung der Nutzung des vom BfR entwickelten FSKX (FAIR Scientific Knowledge eXchange) Formats, welches eine harmonisierte Beschreibung und den Austausch verschiedenster Datenanalyse- und Prognosemodelle ermöglicht. Die Anwendbarkeit von FSKX wurde erfolgreich an einem im Projekt als DZ-Prototyp erstellten Fusionsmodell getestet. Für die Ausführung des DZ-Prototyps kam eine vom BfR zuvor entwickelte, prototypische Softwareplattform zum Einsatz. Diese Cloud-basierte Plattform beruht

auf einer Container-basierten Infrastruktur, die es erlaubt, die vielfältigen, inhaltlich diversen FSKX-Modelle, wie z.B. Fusionsmodelle des digitalen Zwilling, in isolierten und maßgeschneiderte Laufzeitumgebungen auszuführen. Dazu wurde ein im Projekt entwickeltes Fusionsmodell vom BfR in das FSKX-Format überführt, ein passendes Container-Image erstellt und in einem Container Repository auf der Cloud-Plattform für den digitalen Zwilling bereitgestellt.

## **AP2: Digitale Lebensmittel**

### **Aufgabe 2.1: Schnittstellen und Infrastruktur des Datenaustauschs**

Das BfR hat zusammen mit dem Projektpartner BENE maßgeblich an der Infrastruktur zur strukturierten Erfassung von Labordaten inklusive der Angabe von Probenhandling, Gerätekonfiguration und Messdaten gearbeitet. In diesem Zusammenhang wurde die open-source Online-Plattform openBIS (open Biology Information System <https://openbis.ch/>) als elektronisches Laborbuch / Laborinformations-Management-Systems (LIMS) im Projekt eingeführt. Mit openBIS konnten sämtliche projektrelevanten Informationen aller Projektpartner (Labordaten, KI-Modelle, Protokolle und Sensordaten) über eine einheitliche Plattform online bereitgestellt und genutzt werden. Das BfR leistete die Konfiguration der openBIS-Instanz zur strukturierten Erfassung von Probenmetadaten, Messdaten sowie Laborprotokollen. Dafür erarbeitet das BfR in Kooperation mit dem Konsortium eine Nomenklatur zur einheitlichen Dokumentation von Proben und Messungen auf der Datenplattform. In Absprache mit den Laborpartner wurden vom BfR Eingabemasken für die Erfassung der laborspezifischen Metadaten und Daten sowie die Dokumentation der verschiedenen Messmethoden erarbeitet und in die Datenmanagementplattform implementiert.

Anhand der erarbeiteten Anforderungen konnte das BfR in Zusammenarbeit mit BENE die nötigen Schnittstellen zur Bereitstellung der analytischen Messdaten auf der Datenplattform umsetzen. Es wurden Schulungen durch das BfR und BENE mit den Laborpartnern durchgeführt, um die Funktionen und Anpassungsmöglichkeiten der openBIS Plattform zu demonstrieren und Fragen zu klären. Das BfR leistete in Zusammenarbeit mit BENE den primären Support für alle ZL2030 Projektpartner bezüglich Fragen und Wünsche zur Datenplattform.

### **Aufgabe 2.2: Plattform für Lebensmitteldaten**

Im Rahmen dieser Aufgabe hat das BfR eine Softwarearchitektur für die Zukunftslabor2030-Plattform etabliert. Diese umfasst vier wesentliche Bestandteile: openBIS als Datenmanagementsystem, die digitalen Zwillinge im FSKX Format, eine Web-Anwendung, welche es einem Nutzer erlaubt, mit der Plattform zu interagieren sowie als Kommunikationsschnittstelle das EPCIS Event-Hub (Electronic Product Code Information Services), welches Event-Informationen im standardisierten EPCIS-Format speichert und zur Verfügung stellt. Dieser EPCIS-Dienst basiert auf einem international abgestimmten Datenstandard der Firma GS1 (EPCIS 2.0) und wird vom Projektpartner BENE als Webdienst bereitgestellt. Durch die Nutzung des EPCIS 2.0 Standards ist es möglich, eine standard-basierte Kommunikation zwischen den verschiedenen Modulen der ZL2030-Plattform unter Wahrung der Datenhoheit der Dateneigner zu etablieren. Als digitaler Zwilling wird hier ein Modell verstanden, welches im vom BfR entwickelten FSKX Format vorliegt und auf einer entsprechenden Laufzeitumgebung ausgeführt werden kann. Im Rahmen des Projekts konnte das BfR demonstrieren, dass digitale Zwillinge des ZL2030 Projekts sowohl lokal als auch in Cloud-basierten Ausführungsumgebungen genutzt werden können. Für die Cloud-

basierte Ausführung wurde eine Schnittstelle zur im Projekt KIDA prototypisch entwickelten Infrastruktur „FSKX-Cloud-Plattform“ implementiert. Getestet wurde das System mit einem im ZL2030-Projekt erstellten FSKX Modell, welches auf den im Rahmen des Projektes gewonnenen Messdaten trainiert wurde. Das Modell wurde vom BfR im FSKX-Format bereitgestellt, passende Container-Images für die FSKX-Cloud-Plattform erstellt und in dieses in einem Container Repository gespeichert. Damit konnte erfolgreich demonstriert werden, dass FSKX-formatierte Modelle, unabhängig davon, ob sie im ZL2030 Projekt trainiert oder aus anderen Experimenten, Publikationen oder Tools stammen, für Vorhersagen / Simulationen in die ZL2030 Plattform eingebunden werden können, z.B. zur Prognose des Einflusses einer Unterbrechung der Kühlkette auf den Verderb von Schweinehackfleischprodukten.

### **Aufgabe 2.3: Modellierung und quantitative Risikobewertung**

Mit der Etablierung einer Schnittstelle zur im KIDA-Projekt entwickelten „FSKX-Cloud-Plattform“ konnte eine wichtige technologische Synergie für das Projekt Zukunftslabor2030 generiert werden. Damit wurde es erstmals möglich, externe Modelle aus dem Bereich der prädiktiven Mikrobiologie in das Modellkonzept des digitalen Zwillinges zu integrieren und auch externe Modelle in der DZ-Modellsammlung der ZL2030-Plattform bereitzustellen. Kernelement dieser Entwicklung war die Verwendung von offenen Standards zum Austausch von Daten und Modellen. Als Proof-of-Concept wurde für das ZL2030-Projekt ein dezidiertes Repository mit DZ Wachstums- und Inaktivierungs-Modellen implementiert. Die darin enthaltenen Modelle stammen aus der GroPIN (Growth-Prediction-Inactivation <https://www.foodsctech.com/>) Datenbank und wurden im Rahmen des Projekts in das FSKX Format überführt. Auch der im Projekt weiterentwickelte DZ-Prototyp wurde ins FSKX Format überführt und könnte im Repository bereitgestellt werden. Dieses DZ-Repository ist aktuell unter dem Link <https://fskx-api-gateway-service.risk-ai-cloud.com> erreichbar.

Im Rahmen einer Machbarkeitsstudie (Proof-of-Concept) konnte das BfR zudem das Zusammenspiel der einzelnen ZL2030 Komponenten vorführen. Dieser Proof-of-Concept wurde als JAVA-Anwendung mit einem REST-Interface (Representational State Transfer) implementiert. Damit konnte demonstriert werden, wie durch Nutzung prädiktiver mikrobieller Modelle, die im harmonisierten Austauschformat FSKX vorliegen, EPCIS-Events generiert werden können. Diese Events wurden von einem unabhängigen System (hier BfR KNIME Server) empfangen und die enthaltenen Informationen zum Ausführen von Modell-Simulationen genutzt, was wiederum die Erzeugung neuer EPCIS-Events triggerte.

Der beispielhafte Anwendungsfall war das automatische Weitertrainieren eines vorhandenen FSKX-Modells mit eingehenden Daten in openBIS: Ein neuer Datensatz in openBIS triggerte das Senden („Capturing“) eines EPCIS-Events, welches von einem am BfR laufenden Web-Service über den EPCIS-Subscription Service empfangen wurde. Dies startete einen KNIME Workflow, der die openBIS Daten sowie das FSKX-Modell lud und entsprechend verarbeitete, so dass dann das weitertrainierte Modell wieder auf openBIS gespeichert wurde.

Des Weiteren wurde vom BfR zur Demonstration eine Web-Anwendung unter Nutzung der von der FSKX-Cloud-Plattform bereitgestellten Schnittstellen erstellt, die es dem Nutzer erlaubt, Temperaturlogger-Daten für ein Hackfleischprodukt einzugeben und eine Prädiktion zur Haltbarkeit durch die Ausführung des digitalen Zwillinges zu erhalten. Dieser Proof-of-Concept wurde dem Expertengremium vorgestellt.

### **AP3: Zukunftslabor Lebensmittelhaltbarkeit**

#### **Aufgabe 3.1: Entwicklung von Zukunftsszenarien**

Im Rahmen der Projektarbeit und zur Veranschaulichung wurden vom BfR für verschiedene Nutzungsszenarien der ZL2030-Plattform UML-Diagramme (UML = Unified Modeling Language) erarbeitet.

#### **Aufgabe 3.2: Bewertung der Szenarien im Realbetrieb**

Die ZL2030-Plattform wird am BfR im Rahmen von Forschungsarbeiten getestet und weiterentwickelt. Durch ihre offene Struktur zur Einbindung verschiedenster Daten, Modelle und Plattformen bietet sie ein großes Potential zur Nutzung für die behördliche Risikobewertung.

#### **Aufgabe 3.3: Vernetzung und Verbreitung der Ergebnisse**

Das BfR hat zur Vorstellung des Projekts und zur Verbreitung dessen Ergebnisse an der internationalen Konferenz „Relevanz globaler Warenketten aus der Perspektive der Risikobewertung“ 2024 teilgenommen. Es wurde dort ein Poster zum Projekt Zukunftslabor2030 hinsichtlich der Nutzung Künstlicher Intelligenz und neuartiger Technologien für eine fortschrittliche Frischeüberwachung und Verderbnisprognose von Lebensmitteln mit dem Fokus auf der entwickelten Plattformarchitektur unter Verwendung der Standards FSKX und open EPCIS 2.0 vorgestellt.

Des Weiteren ist das BfR an der Erarbeitung eines Whitepapers beteiligt, in dem das gesamte Verbundprojekt seine Ergebnisse und Erkenntnisse präsentiert. Hierbei ist vorgesehen, die einzelnen Aspekte des Projekts (Untersuchungsmethoden und Labordaten, IT-Infrastruktur und Digitaler Zwilling sowie Zukunftsszenarien und rechtliche Bewertung) als Artikelserie in einem Journal zu veröffentlichen. Die Veröffentlichung ist für 2025 geplant.

In Zusammenarbeit mit BENE hat das BfR zudem ein Whitepaper veröffentlicht, welches die im Projekt genutzte Plattform zur Ausführung wissenschaftlicher Modelle beschreibt (10.5281/zenodo.15835206). Das Projekt ZL2030 wird darin als beispielhafter Anwendungsfall erwähnt.

### **2.2. Gegenüberstellung der vorgegebenen Ziele**

Die erreichten Ziele decken sich generell gut mit den vorgegebenen Zielen im Projekt.

- Projektziel 1: Ermittlung von Zukunftsszenarien, wie KI-gestützte Prozesse der Qualitätssicherung in Zukunft ausgestaltet werden könnten. Dabei werden auch Szenarien berücksichtigt, für deren Umsetzung eine Anpassung der aktuell gültigen Akkreditierungen oder Gesetze erforderlich wäre.
- Projektziel 2: Konzeptstudie zur Anwendbarkeit verschiedener, innovativer Messmethoden zur Prognose der Haltbarkeit und Sicherheit von Lebensmitteln in der Fertigung und entlang der Lieferkette.
- Projektziel 3: Entwicklung einer offenen Plattform zum Austausch von Produkt- und Produktionsdaten und Modellen entlang der Lieferkette zur dynamischen Bewertung und

Prognose der Lebensmittelqualität und -sicherheit unter Verwendung der lernenden und selbstaktualisierenden digitalen Zwillinge.

- Projektziel 4: Erstellung prognosefähiger digitaler Zwillinge auf Einzelprodukt- bzw. Chargenebene mit der Möglichkeit zur Integration geeigneter spektroskopischer, chemischer und mikrobiologischer Messdaten, je nach Lebensmittel und vorhandenen Labor- und Realbedingungen.
- Projektziel 5: Demonstration der Funktionalität und des Nutzens der Plattform und der durch digitale Zwillinge gewonnenen dynamischen Qualitäts- und Haltbarkeitsinformationen mittels Praxistests. Bewertung der Szenarien auf Basis der Ergebnisse der Labor- und Praxistests und des Inputs eines Experten-Gremiums inklusive Ableitung möglicher bzw. notwendiger Anpassungen der heutigen betrieblichen Prozesse und des rechtlichen Rahmens. Die abgeleiteten Handlungsempfehlungen werden in Form eines Whitepapers aufbereitet und verbreitet.

Die Projektziele 1 bis 3 wurden innerhalb der Projektlaufzeit erreicht, die Arbeiten zu den Projektzielen 4 und 5 werden nach dem Projektende fortgeführt, um auch diese vollständig zu erreichen.

Die Grenzen des Projekts lagen bei der Erhebung der Messdaten. Während des Projekts zeigte sich, dass bedingt durch die Komplexität des Lebensmittelmatrix-Mikrobiom-Systems eine umfangreichere Beprobung erforderlich war, um ausreichend Daten für die Erstellung aussagekräftiger und zuverlässiger Modelle zu generieren. Aufgrund der hohen Varianz bei den Schweinehackfleischproben bedurfte es mehr Messwiederholungen als angedacht. Aus diesem Grund hat sich das Projektkonsortium dahingehend verständigt, sich auf eine umfassende Beschreibung des Lebensmittelprodukts Schweinehackfleisch zu fokussieren. Dadurch wurde die Übertragbarkeit des ZL2030 Ansatzes auf nur eine weitere Lebensmittelmatrix (Putenfleisch) getestet. In der Projektlaufzeit war es nicht möglich, alle 4 im Projektantrag erwähnten Lebensmittelprodukte zu analysieren. Des Weiteren machte die komplexe und vielschichtige Datenlage die Entwicklung aussagekräftiger und robuster Prognosemodelle für die digitalen Zwillinge aufwendiger und diffiziler als erwartet.

### **2.3. Wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises**

An der Umsetzung der Projektaufgaben waren im Projektverlauf am BfR zwei wissenschaftliche Mitarbeitende und ein technischer Mitarbeitender beteiligt. Folgende Punkte wurden von diesen Projektmitarbeitenden bearbeitet:

- Durchführung der Laborarbeiten für die Metagenom-Sequenzierung (Technischer Mitarbeitender)
- Etablierung von Datenanalyse-Pipelines für Metagenomdaten
- Bioinformatische Aufarbeitung und Auswertung der Metagenomdaten
- Bereitstellung der Datenmanagementplattform openBIS zur strukturierten Erfassung von Laboraten, Sensordaten, Protokollen und Modellen
- Erarbeiten und Implementieren von Eingabemasken und einer Nomenklatur für Proben und Messungen zur Konfiguration der openBIS-Instanz
- Schulungen und Support für Projektpartner bei der Nutzung der Datenmanagementplattform openBIS

- Mitwirkung an der Entwicklung der Zukunftslabor2030-Plattform mit den Bestandteilen Datenmanagementplattform openBIS, digitale Zwillinge im FSKX-Format, Web-Anwendung für Nutzer und EPCIS Event-Hub
- Etablierung einer Anbindung an die „FSKX Cloud Plattform“ des BfR zur Bereitstellung der Laufzeitumgebung für digitale Zwillinge (FSKX-Modelle)
- Implementierung eines Repositoriums mit prädiktiven Wachstums- und Inaktivierungsmodellen im Service Portal der „FSKX Cloud Plattform“
- Entwicklung eines Proof-of-Concepts zur Demonstration der ZL2030-Plattform

Es wurden mehrere Dienstreisen zur Koordination mit den Projektpartnern und zu themenspezifischen Workshops getätigt. Des Weiteren sind Kosten für die Verbrauchsmaterialien zur Durchführung der Metagenom-Sequenzierungen angefallen.

#### **2.4. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit**

Die Bewertung der Lebensmittelhaltbarkeit ist ein komplexes Themenfeld. Frische Produkte unterliegen dynamischen physikochemischen Veränderungen und einer kontinuierlichen Veränderung der vorhandenen Mikroflora. Die Gewährleistung einer optimalen Produktqualität und -sicherheit stellt daher hohe Anforderungen an die Lebensmittelproduktion und die Einhaltung der Kühlketten. Da die bisher verfügbaren Techniken der Überwachung und Überprüfung des Status von Lebensmitteln zeitaufwändig sind und zum Teil spezialisierte Analysen im Labor erfordern, ist ein lückenloses Monitoring der lebensmitteltechnischen Veränderungen im Rahmen der Herstellung und Lagerung bis zum Verzehr nicht möglich. Aus diesem Grund war das Ziel des Verbundprojekts Zukunftslabor2030, die Voraussetzungen dafür zu schaffen, dass mithilfe Künstlicher Intelligenz, innovativer Technologien zur Überwachung von Lieferketten und nicht-zielgerichteter Analyseverfahren eine fortlaufende Vorhersage der Hygiene, Qualität und Sicherheit von Lebensmitteln möglich wird. Ein höherer Informationsgrad über die tatsächliche Haltbarkeit von Produkten trägt dazu bei, den Verbraucherschutz zu stärken, die Effizienz in den Lieferketten zu steigern und gleichzeitig Lebensmittelverluste zu reduzieren.

Im Rahmen des Projekts wurden entsprechende Konzepte und Lösungsansätze entwickelt. Das zentrale Element des ZL2030-Ansatzes ist der digitale Zwilling, eine digitale Ressource, welche die wesentlichen Eigenschaften des Produktes beschreibt. Durch die Integration von Daten innovativer Messverfahren (Spektroskopie, Massenspektrometrie, Mikrobiomanalyse) werden im ZL2030-Ansatz die wichtigsten chemischen, physikalischen und biologischen Prozesse von Lebensmitteln durch Prognosemodelle digital beschrieben. Dies bietet die Grundlage, um zukünftig eine Vorhersage der zeitlichen Änderung der Qualität und der Sicherheit eines Lebensmittels zu ermöglichen.

Das BfR hat zum einen zur Gewinnung von Messdaten (Mikrobiomdaten) beigetragen. Des Weiteren wurden vom BfR Softwarekomponenten für die ZL2030-Plattform etabliert, die eine Anbindung der Datenmanagementplattform für Mess- und Sensordaten (openBIS) sowie von Laufzeitumgebungen für die Ausführung der digitalen Zwillinge (im FSKX-Format) bereitstellt.

#### **2.5. Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans**

Die Nutzung von Standards wie FSKX und EPCIS 2.0 sowie die Entwicklung einer prototypischen ZL2030-Plattform zeigten auf, wie zukünftig i) ein effizienterer Datenaustausch, ii) eine bessere

Vollständigkeit und Qualität der Daten und Modelle sowie iii) eine bessere Nutzbarkeit und Kommunikation der Daten und Modelle zwischen verschiedenen wissenschaftlichen und technischen Disziplinen ermöglicht werden können.

Technologische Entwicklungen, wie die ZL2030-Plattform, werden vom BfR kontinuierlich fortgeführt, um sie in die zukünftige Bewertungsarbeit des BfR einzubinden und anderen Bewertungseinrichtungen (insbesondere EFSA) sowie Stakeholdern zur Verfügung zu stellen. Des Weiteren stellen sie die Grundlage für zukünftige und aufbauende technische Entwicklungen am BfR dar, um langfristig vielfältige wissenschaftliche und behördliche Fragestellungen der Risikobewertung zu beantworten.

Durch die Zusammenarbeit im Projekt kam es zu einer intensiveren Vernetzung und zu einem erweiterten Wissensaustausch zwischen den Konsortialpartnern, der zukünftig noch vertieft werden soll.

## **2.6. Während der Durchführung des Vorhabens bekannt gewordener Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen**

Bezogen auf die Arbeiten des BfR im Rahmen des Projekts (Metagenomanalyse, ZL2030-Plattform basierend auf den Standards FSKX und EPCIS 2.0) sind auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen keine relevanten Fortschritte bekannt geworden.

## **2.7. Veröffentlichungen der Ergebnisse**

Zusammen mit dem gesamten Konsortium arbeitet das BfR an einem Whitepaper zur Vorstellung der Ergebnisse und Erkenntnisse des Verbundprojekts. Es ist vorgesehen, die einzelnen Aspekte des Projekts (Untersuchungsmethoden und Labordaten, IT-Infrastruktur und Digitaler Zwilling sowie Zukunftsszenarien und rechtliche Bewertung) als Artikelserie in einem Journal zu veröffentlichen. Die Veröffentlichung ist für 2025 geplant.

Das BfR hat in Zusammenarbeit mit BENE zudem ein Whitepaper veröffentlicht, welches die im Projekt genutzte Mikroservice-basierte Lösung zur Ausführung wissenschaftlicher Modelle beschreibt (10.5281/zenodo.15835206). Das Projekt ZL2030 wird darin als beispielhafter Anwendungsfall erwähnt.

Des Weiteren hat das BfR das ZL2030 Projekt und dessen Ergebnisse auf der internationalen Konferenz „Relevanz globaler Warenketten aus der Perspektive der Risikobewertung“ (2024) vorgestellt. Es wurde ein Poster zur Nutzung Künstlicher Intelligenz und neuartiger Technologien im Projekt ZL2030 für eine fortschrittliche Frischeüberwachung und Verderbnisprognose von Lebensmitteln mit dem Fokus auf der entwickelten Plattformarchitektur unter Verwendung der Standards FSKX und open EPCIS 2.0 präsentiert.