

Hochschule Neubrandenburg
Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften
Studiengang Lebensmitteltechnologie
SS 2021

**Validierung von Allergen-Reinigungen der Firma Zamek Food Solutions
GmbH und Einführung von Allergen-Schnelltests im Rahmen des Allergen-
Monitorings gemäß IFS Food Standard**

Bachelorarbeit

Verfasser: Tim Oertel

Betreuer: Prof. Dr. Marco Ebert

Dipl. Ing. Peter Basche

URN: urn:nbn:de:gbv:519-thesis2021-0028-7

Neubrandenburg, den 19.05.2021

Abstract

The hazard control of food allergens in food manufacturer is critical. Food manufactures have to direct the hazard by using different measures like cleaning. The aim of this study was to validate different cleaning procedures to remove food allergens from food contact surfaces. Furthermore, the effectiveness of different dry- and wet-cleaning methods was investigated. It was shown that 99,9% of the sesame were removed after thirty minutes of flushing with a following-up product. Additionally, it was shown that wet cleaning and disinfection have a higher efficiency to remove whole egg powder than dry-cleaning. When gluten was removed from a stainless-steel surface it was detected, that dry-, wet-cleaning and disinfection were successful to lowering the concentration below 20ppm.

Danksagung

Ich bedanke mich bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Zamek Food Solutions GmbH für die gute und konstruktive Zusammenarbeit. Besonderes bedanken möchte ich mich bei meinem Unternehmensbetreuer Herrn Dipl.-Ing. Peter Basche, Leiter des Qualitätsmanagements und bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Bereiche Qualitätssicherung, der Endverpackungsanlage L51, den Mitarbeitern der PG4 sowie den akkreditierten Laboren.

Weiterhin möchte ich mich bei meinem Hochschulbetreuer Herrn Prof. Dr. Marco Ebert für die Unterstützung der Erarbeitung des Themenkomplexes und für die konstruktive Betreuung dieser Arbeit bedanken.

Inhaltsverzeichnis

Verzeichnis der verwendeten Formelzeichen, Symbole und Abkürzungen	7
1. Einleitung	8
2. Stand der Wissenschaft und Technik	9
2.1 Allergie und Allergene	9
2.1.1 Definition Allergie und Nahrungsmittelallergie	9
2.1.2 Allergene	10
2.1.2.1 Definition und rechtliche Grundlagen	10
2.1.2.2 Hühnerei	11
2.1.2.3 Gluten	11
2.1.2.4 Sesamsamen	12
2.1.3 VITAL-Konzept	12
2.1.5 Analytische Methoden zur Bestimmung der Allergenkonzentration	14
2.1.5.1 ELISA	14
2.1.5.2 PCR	15
2.1.6 Inhalte eines Allergenmanagementsystems	16
2.1.6.1 Präventionsteam und Präventionsplan	16
2.1.6.2 Produktion	17
2.1.6.3 Logistik	19
2.1.6.4 Allergenschulungen	19
2.2 Validierung und Verifizierung von Allergenreinigungen	20
2.2.1 Definition Validierung und Verifizierung	20
2.2.2 Reinigungsarten	20
2.2.2.1 Nassreinigung	20
2.2.2.2 Trockenreinigung	21
2.2.2.2.1 Trockenreinigungsmethoden	21
2.2.2.2.2 Effektivität unterschiedlicher Trockenreinigungsmethoden	21
2.2.3 Qualitative Reinigungsvalidierung von verschiedenen Reinigungsmethoden	22
2.2.4 Quantitative Reinigungsvalidierung von verschiedenen Reinigungsmethoden	25
3. Material und Methoden	28
3.1 Versuchsplanung	28
3.1.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen	28

3.1.2 Entfernen von Hühnervolleipulverrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	29
3.1.3 Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	30
3.1.4 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes	31
3.1.5 Validierung eines Gluten-Allergenschnelltestes	31
3.2 Materialien, Chemikalien und Geräte	32
3.2.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen	32
3.2.2 Entfernen von Hühnervolleipulverrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	33
3.2.3 Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	34
3.2.4 Validierung von Gluten-Allergenschnelltests	35
3.2.5 Proteinbestimmung nach Kjeldahl	36
3.2.6 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes	37
3.3 Methodik	38
3.3.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen	38
3.3.2 Entfernen von Hühnervolleipulverrückständen durch Trockenreinigung	39
3.3.3 Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	40
3.3.4 Validierung eines Gluten-Allergenschnelltestes	41
3.3.5 Bestimmung des Proteingehaltes von Weizenkleber	41
3.3.6 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes	42
4. Versuchsergebnisse	43
4.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen	43
4.2 Entfernen von Hühnervolleipulver durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	44
4.3 Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	47
4.4 Validierung eines Gluten-Allergenschnelltestes	48
4.5 Bestimmung des Proteingehaltes von Weizenkleber	48
4.6 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes	49
4.7 IST-Zustandsanalyse des Allergenmanagements der Zamek Food Solutions GmbH	50
4.7.1 Allergenpolitik und Präventionsteam	50
4.7.2 Allergenmonitoring	50
4.7.3 Personalhygiene	51
4.7.4 Produktion	51

4.7.5 Logistik	53
4.7.6 Allergenschulungen	53
5. Diskussion	54
5.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen	54
5.2 Entfernen von Hühnervolleipulver durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	58
5.3 Entfernen von Gluten durch Trocken-, Nassreinigung und Desinfektion	63
5. 4 Validierung eines Gluten-Allergenschnelltestes	66
5. 5 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes	68
5.6 IST-Zustandsanalyse Allergenmanagement der Zamek Food Solutions GmbH	70
5.6.1 Allergenpolitik und Präventionsteam	70
5.6.2 Produktion	71
5.6.3 Logistik	73
5.6.4 Allergenschulungen	74
6. Zukünftiges Allergenmonitoring	75
7. Zusammenfassung	77
8. Literaturverzeichnis	79
9. Verzeichnis der Abbildungen	84
10. Verzeichnis der Tabellen	84
11. Verzeichnis der Anlagen	85
Erklärung über die selbstständige Anfertigung der Arbeit	87

Verzeichnis der verwendeten Formelzeichen, Symbole und Abkürzungen

Symbol	Bezeichnung	Einheit
a	Verbrauch	ml
E	Einwaage	g
N _{ges}	Gesamtstickstoffgehalt	%
P _{ges}	Gesamtproteingehalt	%
-	Allergenkonzentration	$\frac{mg}{kg}$; $\frac{\mu g}{25cm^2}$; $\frac{\mu g}{100cm^2}$; ppm

Abkürzungen

ATP	Adenosintriphosphat
cDNA	complementary Desoxyribonukleinsäure
CIP	Cleaning-In-Place
COP	Cleaning-Out-Place
dATP	Desoxyadenosintriphosphat
dCTP	Desoxycytidintriphosphat
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
ED	Auslösedosis (electing dosis)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
HVP	Hydrolysed Vegetable Protein
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
L	Linie
LFD	Lateral Flow Devices
M	Messung
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PG	Produktionsgebäude
RNA	Ribonukleinsäure
RT-PCR	Reverse Transkriptase Polymerase Kettenreaktion
SO ₂	Schwefeldioxid
VITAL	Voluntary Incidental Trace Allergen Labelling
qPCR	Real-time quantitative Polymerase Kettenreaktion
ELISA-ICP-MS	Enzyme-linked Immunosorbent Assay-Inductively Coupled Plasma- Mass Spectrometry

1. Einleitung

Die Zamek Food Solutions GmbH wurde 1932 unter dem Namen Firma Bernhard Zamek gegründet. Seit Beginn konzentriert sich das Unternehmen auf die Herstellung von Würzen, Suppen und Brühen. 1991 wurde in Dresden der Hauptproduktionsstandort für HVP-Produkte etabliert (Zamek Nahrungsmittel GmbH & Co. KG). Seit 2019 wird unter dem Namen Zamek Food Solutions GmbH in Dresden produziert. Das Produktsortiment umfasst neben HVP-Produkten auch Salatfixe, Instantsoßen und Instantbrühen.

Nahrungsmittelallergien stellen ein Hauptproblem bei der Herstellung von Lebensmitteln dar. Durch Allergene können unterschiedliche und zum Teil schwerwiegende Symptome verursacht werden, die den Verbraucher schädigen. Aufgrund dessen muss ein Lebensmittelhersteller Präventionsmaßnahmen ergreifen, um die Gefahr von Allergenen zu steuern (Deibel et al., 1997).

In dieser Arbeit sollen die Reinigungen in der Endverpackung und Mischabteilung der Zamek Food Solutions GmbH hinsichtlich des Entfernens von Allergenrückständen validiert werden. Weiterhin soll die Reinigungseffektivität unterschiedlicher Reinigungsmethoden zum Entfernen von Allergenen analysiert werden. Zusätzlich werden Allergen-Schnelltests zur betrieblichen Reinigungskontrolle untersucht.

Gegenstand der Arbeit sind die Nahrungsmittelallergene Ei, Gluten und Sesamsamen.

2. Stand der Wissenschaft und Technik

2.1 Allergie und Allergene

2.1.1 Definition Allergie und Nahrungsmittelallergie

Unter einer Allergie versteht man eine verstärkte Reaktion des Immunsystems auf ein Allergen. Die Auswirkungen einer solchen Immunreaktion sind unterschiedlich. Die Symptome werden als Anaphylaxie zusammengefasst. Symptomatisch können Beschwerden wie tränende Augen, Niesen oder Hautausschläge auftreten. Aber auch gefährlichere Symptome, wie ein anaphylaktischer Schock können durch Allergene ausgelöst werden. Zu den Allergenen gehören neben Pollen oder Tiere auch Nahrungsmittel (Food Drink Europe, 2013; gesund.bund.de, 2020).

Bei einer Nahrungsmittelallergie reagiert das menschliche Immunsystem auf bestimmte Eiweiße in Lebensmitteln. Dabei kommt es im menschlichen Körper zu einer IgE-Antikörper-Reaktion. Auch bei der Nahrungsmittelallergie treten die Symptome unterschiedlich stark auf. Häufige Symptome sind geschwollene Mundschleimhäute, Hautausschläge, Juckreiz und Magen-Darm-Beschwerden (Food Drink Europe, 2013; gesund.bund.de, 2020).

Im Jahr 2016 traten bei 4,7% der vom Robert-Koch-Institut untersuchten Erwachsenen im Alter zwischen 18 und 79 Jahren eine Nahrungsmittelallergie auf (Bergmann et al., 2016).

2.1.2 Allergene

2.1.2.1 Definition und rechtliche Grundlagen

Laut der Food Drink Europe (2013) sind Allergene „Antigene, die eine Allergie verursachen“. Allergene sind Proteine. Die Proteine werden als Allergene bezeichnet, wenn sie vom menschlichen Immunsystem als Gefahrenstoff identifiziert werden. Die Allergene gehen dabei eine Reaktion mit IgE- oder IgG-Antikörpern ein (Allergieinformationsdienst, 2019; Food Drink Europe, 2013).

Nach dem Anhang II der VO (EU) 1169/2011 wird zwischen 14 Nahrungsmittelallergenen unterschieden. Zu ihnen gehören:

- Eier und Eierzeugnisse
- Erdnüsse und Erdnusserzeugnisse
- Fische und Fischerzeugnisse
- Glutenthaltiges Getreide und daraus hergestellte Erzeugnisse
- Krebstiere und Krebstiererzeugnisse
- Lupinen und Lupinenerzeugnisse
- Milch und Milcherzeugnisse
- Schalenfrüchte (z.B. Mandeln) und daraus hergestellte Erzeugnisse
- Schwefeldioxid und Sulfite (wenn Konzentration größer als 10ppm)
- Sellerie und Sellerieerzeugnisse
- Senf und Senferzeugnisse
- Sesamsamen und Sesamsamenerzeugnisse
- Sojabohnen und Sojaerzeugnisse
- Weichtiere und Weichtiererzeugnisse

Lebensmittelhersteller sind nach Kapitel IV Artikel 21 der VO (EU) 1169/2011 (2011) dazu verpflichtet die verarbeiteten allergenhaltigen Zutaten in einem Zutatenverzeichnis aufzulisten, diese nach der Bezeichnung im Anhang II zu benennen und diese deutlich visuell hervorzuheben.

2.1.2.2 Hühnerei

Eine Eiallergie wird durch verschiedene im Hühnerei enthaltene Proteine verursacht. Die Hauptallergene sind Ovomukoid (Gal d 1) und Ovalbumin (Gal d 2). Beide kommen im Eiweiß vor. Weiterhin gehören Ovotransferrin (Gal d 3), Lysozym (Gal d 4), Phovitine und Lipovitellin zu den Hühnerei-Allergenen. Das Eiweiß weist eine höhere Allergenität auf als das Eidotter. Im Eidotter kommen die Allergene α -Livetin (Gal d 5) und YGP42 (Gal d 6) vor. Es sind nur geringe Massen (μg bis mg) an allergieauslösenden Proteinen notwendig, um eine Allergie zu verursachen. Durch ELISA oder qPCR können Eiallergene detektiert werden. (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008; Metcalfe, 1985; Alvarez, Boyle, 2012).

2.1.2.3 Gluten

Gluten bildet neben den Albuminen und Globulinen den Hauptbestandteil des Weizenproteins. Etwa 85 bis 90% des Weizenproteins besteht aus Gluten. Gluten besteht aus vielen verschiedenen Proteinen. Hauptsächlich kann es in Gliadin und Glutenin unterteilt werden. Bei Gliadin wird zwischen α -, β -, γ - und ω -Gliadin differenziert. Die in Gliadin enthaltenen Aminosäuren Prolin und Glutamin können nicht enzymatisch gespalten werden. Dadurch können aufgrund der Prolinrückstände Immunreaktionen entstehen, die eine Zöliakie auslösen. Aber auch viele weitere Peptide des Glutens verursachen eine Immunreaktion im menschlichen Körper. Vor allem α -Gliadin wirkt besonders toxisch bei Zöliakieerkrankten (Biesiekierski, 2017; Metcalfe, 1985).

Durch Gluten können unterschiedliche Krankheiten auftreten. In der Literatur wird zwischen der Zöliakie, der Weizenallergie und der (Nicht-Zöliakie-Nicht-Weizenallergie-) Weizensensitivität unterschieden (Biesiekierski, 2017).

Bei Lebensmitteln, welche speziell für Menschen hergestellt werden, die eine Glutenunverträglichkeit aufweisen, wird zwischen glutenfreien und Lebensmitteln mit einem reduzierten Glutengehalt unterschieden. Dabei ist in der Verordnung (EG) Nr. 41/2009 zur Zusammensetzung und Kennzeichnung von Lebensmitteln, die für Menschen mit einer Glutenunverträglichkeit geeignet sind, definiert, dass Lebensmittel mit geringem Glutengehalt maximal $100 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ Gluten enthalten. Bei glutenfreien Lebensmitteln liegt der Grenzwert bei $20 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$ (VO (EG) 41/2009).

2.1.2.4 Sesamsamen

In Sesam wurden bis zum Zeitpunkt der Arbeit sieben allergieauslösende Proteine identifiziert. Bei diesen Allergenen handelt es sich um die Proteine Ses i 1 bis Ses i 7. Das Allergen Ses i 1 gehört zu der Proteinklasse der 2S Albumine. Ses i 2 ist eine Untereinheit von 2S Albumin. Das Protein Ses i 3 ist eine Untereinheit eines 7S Vicilin ähnlichen Globulins. Die beiden Sesamallergene Ses i 4 und Ses i 5 gehören zu den Oleosinen. Ses i 6 und Ses i 7 gehören zu den 11S Globulinen (Beyer et al., 2002; Beyer et al., 2007; Leduc et al., 2006).

2.1.3 VITAL-Konzept

Im VITAL-Konzept 3.0 wurden durch das VSEP Schwellenwerte für bestimmte Allergene, welche als Spur z.B. durch Kreuzkontakt in ein Lebensmittel gelangt sind, festgelegt. Ursprünglich stammt dieses Konzept aus Australien und Neuseeland, wo es von den Lebensmittelherstellern freiwillig umgesetzt werden kann. In der VO 1169/2011 wird beschrieben, dass Allergene auf den Verpackungen deklariert werden müssen. Für Allergenspuren gilt diese Regelung nicht. Eine Allergenspurenkennzeichnung erfolgt vor allem aus juristischen Gründen. Aufgrund dessen sollen Schwellenwerte für Allergene eingeführt werden. Das VSEP entwickelte dazu unter der Verwendung von klinischen Daten aus Doppelblindstudien sogenannte Auslösedosen (ED-levels). Dabei wird zwischen ED₀₁ und ED₀₅ differenziert. ED₀₁ bedeutet, dass bei 99% der Konsumenten, die an einer bestimmten Nahrungsmittelallergie leiden, keine allergische Reaktion ausgelöst werden. Bei den restlichen 1% können z.T. auch schwere allergische Reaktionen ausgelöst werden. Wenn der ED₀₅-Wert nicht überschritten wird, erleiden 97-98% der an einer Nahrungsmittelallergie leidenden Personen keine allergischen Reaktionen. In Abbildung 1 sind die Referenzdosen für ED₀₁ und ED₀₅ dargestellt (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020).

Allergen	Referenzdosen VITAL 2.0 , 2011 "ED ₀₁ " (mg Protein)	Referenzdosen VITAL 3.0, 2019 "ED ₀₁ " (mg Protein)	Referenzdosen VITAL 3.0, 2019 "ED ₀₅ " (mg Protein)
Ei	0,03	0,2	2,3
Haselnüsse	0,1	0,1	3,5
Lupinen	4,0	2,6	15,3
Milch	0,1	0,2	2,4
Senf	0,05	0,05	0,4
Erdnüsse	0,2	0,2	2,1
Sesam	0,2	0,1	2,7
Shrimps	10,0	25	280
Soja (Soja-"Milch", Mehl)	1,0 (Sojamehl)	0,5	10
Weizen	1,0	0,7	6,1
Cashewnüsse		0,05	0,8
Sellerie		0,05	1,3
Fisch		1,3	12,1
Walnüsse		0,03	0,8

Abb. 1: Auslösedosis ED₀₁ und ED₀₅ laut dem VITAL-Konzept (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020)

Ein weiteres Modell des VITAL-Konzeptes sind die sogenannten Action-levels, welche vorgeben, wie und ob eine Allergenspür gekennzeichnet werden muss. Dies wurde für die neun Hauptallergene, die in der Australia New Zealand Food Authority geregelt sind, erstellt. Abgebildet sind die Action-levels für Gluten, Ei, Soja, Fisch, Erdnüsse, Haselnüsse, Sesamsamen, Krebstiere und Gluten in Abbildung 2 (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008).

Aktions- ebene	Milch	Ei	Soja	Fisch	Erdnüsse	Hasel- nüsse	Sesam- samen	Krebstiere	Gluten
1	<5	<2	<10	<20	<2	<2	<2	<2	<20
2	5-50	2-20	10-100	20-200	2-20	2-20	2-20	2-20	2-100
3	>50	>20	>100	>200	>20	>20	>20	>20	>100

Abb. 2: Actionlevels für ausgewählte Allergene laut VITAL-Konzept (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008)

Wenn in einem Lebensmittel eine Allergenspür nachgewiesen wurde, dessen Konzentration in das Action-level 1 fällt, dann ist keine Kennzeichnung erforderlich. Liegt die nachgewiesene Allergenkonzentration im Action-level 2, dann erfolgt durch den Hersteller eine Spurenkennzeichnung auf der Verpackung. Bei Action-level 3 ist die Allergenkonzentration so hoch, dass das Allergen im Zutatenverzeichnis als Zutat deklariert werden soll (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008).

2.1.5 Analytische Methoden zur Bestimmung der Allergenkonzentration

2.1.5.1 ELISA

ELISA ist eine häufig verwendete proteinbasierte Methode, um Nahrungsmittelallergene zu analysieren. Um allergieauslösende Proteine zu detektieren, werden bei dem ELISA-Verfahren IgG-Antikörper (bei klinischen Untersuchungen IgE-Antikörper) verwendet, welche aus Hasen oder Mäusen isoliert werden (Hahn, 2009; Kirsch, et al. 2009).

Bei dem ELISA-Verfahren kann zwischen mehreren Methoden unterschieden werden: Sandwich-ELISA, Kompetitiver-ELISA und ELISA-ICP-MS (Hahn, 2009; Kirsch, et al. 2009).

Der Sandwich-ELISA ist eine sehr spezifische Methode, da mehr als ein Epitop zum Nachweis verwendet wird. Auf einer Mikrotiterplatte sind die sogenannten Capture-Antikörper immobilisiert. An diese binden die Allergene in der Probe. Anschließend wird eine Antikörper-Lösung zugegeben. Diese beinhaltet Antikörper, an denen Enzyme gebunden sind. Diese enzymgebundenen Antikörper werden als Detektionsantikörper bezeichnet. Sie binden an die Allergene, welche an die Capture-Antikörper gebunden sind. Die Quantifizierung dieser Methode wird durch die Zugabe eines sekundären Antikörpers, an dem ein Farbstoff gebunden ist, erreicht. Durch die Zugabe des sekundären Antikörpers kommt es zu einer enzymatischen Reaktion, die eine Farbveränderung verursacht. Diese Farbveränderung wird spektroskopisch bestimmt. Dabei ist die Farbintensität direkt proportional zur Allergenkonzentration (Hahn, 2009; Kirsch, et al. 2009).

Bei Allergenen bzw. Proteinen mit nur einem Epitop wird der Kompetitive-ELISA verwendet. Bei dieser Methode sind Antigene auf einer Platte immobilisiert. Das Testprinzip beruht auf der Konkurrenz zwischen den Antigenen in der Probe und den immobilisierten Antigenen um einen Antikörper. Wenn die Antikörper an den immobilisierten Antigenen binden, kommt es zu einer enzymatischen Farbreaktion. Durch die Zugabe der Antigene in der Probenlösung binden mit steigender Antigenkonzentration in der Probe immer weniger Antikörper mit den immobilisierten Antigenen. Dadurch kommt es zur Schwächung der Farbintensität, welche indirekt proportional zur Antigenkonzentration in der Probenlösung ist (Hahn, 2009).

Bei der ELISA-ICP-MS wird ein sekundärer Antikörper, an dem ein Isotop gebunden ist, verwendet. Dadurch kann die Allergenkonzentration durch die Verwendung eines Massenspektrometers quantifiziert werden (Kirsch, et al. 2009).

2.1.5.2 PCR

Die PCR ist eine Standardmethode, bei welcher durch das Enzym Polymerase DNA repliziert wird (Heinrich et al., 2014).

Um die PCR zu starten, wird als erstes ein DNA-Strang in Einzelstränge durch das Erhöhen der Temperatur auf 90°C überführt. Dieser Schritt wird als Denaturierung bezeichnet. Anschließend wird die DNA-haltige Lösung auf ca. 50°C abgekühlt. Gleichzeitig werden Oligonucleotid-primer zugegeben, welche sich an dem 3'-Ende der einsträngigen DNA anlagern. Danach wird DNA-Polymerase sowie dATP, dTTP, dCTP und dGTP zugegeben. Dadurch werden die DNA-Einzelstränge zu Doppelsträngen umgewandelt. Durch die mehrfache Wiederholung der Denaturierung, der primer-Bindung und der Polymerasereaktion wird die DNA exponentiell repliziert (Heinrich et al., 2014; Müller et al., 2016).

Eine PCR-Analyse mit mehrfachen Zyklen dauert bis zu zwei Stunden. Hauptsächlich werden 25 bis 30 Zyklen durchgeführt mit Ausnahme der real time PCR, wo erst ab einer Zyklenzahl von 50 die geeignete Sensitivität gegeben ist. Bei einer höheren Zyklenzahl steigt die Gefahr von fehlerhaften Analysenergebnissen durch z.B. den Einbau von falschen Nucleotiden (Heinrich et al., 2014; Müller et al., 2016).

Bei der Analyse wird aufgrund der erhöhten Analysentemperatur thermostabile Polymerasen, wie taq-Polymerase verwendet. Die PCR-Analyse ist anfällig für Kontaminationen durch Fremd-DNA, welche z.B. durch Hautschuppen in das Analysengerät gelangen. Als Analysengerät werden vor allem Thermocycler verwendet (Heinrich, et al., 2014; Müller et al., 2016).

Mit Hilfe der RT-PCR ist es möglich RNA zu replizieren. Dabei wird mRNA durch die reverse Transkriptase in cDNA umgewandelt und diese anschließend amplifiziert (Heinrich, et al., 2014).

Die PCR-Analyse kann in vielen Bereichen eingesetzt werden. Durch die PCR können beispielsweise Gene identifiziert oder Krankheitserreger detektiert werden (Heinrich, et al., 2014). Weiterhin kann die PCR zum quantitativen Nachweis von Nahrungsmittelallergenen verwendet werden, wie die Untersuchungen von Stephan et al. (2004) aufzeigten.

2.1.6 Inhalte eines Allergenmanagementsystems

2.1.6.1 Präventionsteam und Präventionsplan

Um ein Allergenmanagement aufzubauen, sollte ein Präventionsteam gebildet werden. Das Team wird aus den Bereichen Produktion, Technik, Qualitätsmanagement und Produktentwicklung zusammengestellt werden. Es ist essenziell, dass das Team Kenntnisse über alle Produktionsanlagen verfügt und in welchen Bereichen des Unternehmens allergenhaltige Rohstoffe oder Produkte verarbeitet werden. Dafür sollten alle allergenhaltigen Rohstoffe und deren physikalischen Eigenschaften identifiziert werden. Das Allergenmanagement umfasst alle Bereiche des Unternehmens von der Anlieferung der Rohstoffe bis zur Auslieferung der Produkte (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

Ein weiterer Aufgabenbereich des Allergenpräventionsteams ist die Erstellung eines Allergenpräventionsplanes. Dieser muss in allen Bereichen des Unternehmens geführt werden, bei denen es zu Allergenkontakten kommt. Durch die Erstellung eines Präventionsplans wird die Gefahr von Allergenen durch das Erstellen von Risikoanalysen gesteuert. Dieser Plan sollte regelmäßig durch das Präventionsteam überprüft und bei Veränderungen aktualisiert werden. Eine Darstellung des Produktionsflusses in Form eines Fließdiagramms ist hilfreich, um Stellen identifizieren zu können, an denen es zu möglichen Kreuzkontaminationen kommen kann. Dafür sollte dieses Fließdiagramm möglichst detailliert erstellt werden. In diesem Diagramm werden Anlagen bzw. Anlagenteile veranschaulicht, welche für allergenhaltige und nichtallergenhaltige Produkte verwendet werden. Kritische Stellen sollten deutlich hervorgehoben und dokumentiert werden. Für diese Stellen werden Präventionsmaßnahmen erarbeitet, um die Wahrscheinlichkeit einer Allergenkontamination zu reduzieren. Dabei definiert das Allergenteam, ab z.B. welchem Grenzwert eine Anlage als allergenfrei bezeichnet werden kann. In der Risikoanalyse sollten auch der Kontaminationsweg von Allergenen durch Aerosole und der Non-Food-Bereich, wie Schmier- und Trennmittel berücksichtigt werden. Der Präventionsplan eignet sich auch, um neue Produkte einzuführen, ohne neue kritische Stellen zu erzeugen (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

Das Allergenrisikomanagement und die Risikoanalyse werden dokumentiert und archiviert. Beide sollten durch einen internen Auditor verifiziert werden. Der Präventionsplan muss allen Mitarbeitern des Unternehmens dargelegt werden (Food Drink Europe, 2013).

2.1.6.2 Produktion

Allergene können durch verschiedene Wege in ein Lebensmittel gelangen. Sie können selbst Zutat sein oder durch z.B. eine fehlerhafte Rezeptur oder Zubereitung sowie in Form von Kreuzkontaminationen auftreten. Ein häufiger Grund von Allergenkontaminationen ist menschliches Versagen. Aufgrund dessen sollten geeignete Maßnahmen erstellt werden, diese Fehler auf ein Minimum zu reduzieren, wie separate Produktionshilfsmittel für allergenhaltige Rohstoffe oder Produkte. Grundsätzlich gilt, dass eine gute Personalhygiene Allergenkreuzkontaminationen vermeidet. Diese kann durch eine gute Herstellungspraxis umgesetzt werden (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

Kreuzkontaminationen bilden ein großes Problem bei der Herstellung von Lebensmitteln. Diese Form der Allergenübertragung kann durch unterschiedliche Parameter, wie Rework, mangelhafte Reinigung und durch den Transport von allergenhaltigen Produkten verursacht werden. Um Kreuzkontaminationen zu verhindern, sollten allergenhaltige Rohstoffe in getrennten Gebäuden bzw. Anlagen verarbeitet werden. Bei Maschinen muss vor allem darauf geachtet werden, dass sie so konzipiert werden, dass Allergenkontaminationsmöglichkeiten reduziert werden. Eine einfache Reinigbarkeit ist essenziell. Dieser Leitsatz gilt auch bei dem Etablieren von neuen Anlagenbauteilen. Rohrleitungen und Fließbänder sollten sich nicht überkreuzen, um die Gefahr einer Kreuzkontamination zu reduzieren. Außerdem sollten um den jeweiligen Produktionsanlagen ausreichend Freiräume vorhanden sein, um die einfache Reinigbarkeit zu gewährleisten. Weiterhin sollten allergenhaltige Rohstoffe nur einen zeitlich geringen Kontakt mit der Maschine haben (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

Allergene müssen auf der Verpackung oder auf dem Etikett deklariert werden. Während der Endverpackung muss, überprüft werden, ob die korrekte Verpackung bzw. das korrekte Etikett verwendet und ob die Allergene im Zutatenverzeichnis gekennzeichnet wurden. Die Überprüfung, ob das korrekte Etikett verwendet wurde, kann durch den Einsatz eines Barcode-Scanners oder durch einen Farbscanner ermöglicht werden. Dabei ist darauf zu achten, dass die Scanner ordnungsgemäß eingestellt sind. Weiterhin ist eine regelmäßige Verifizierung durchzuführen. Alte Etiketten sollten umgehend entsorgt werden. Auch bei der Herstellung muss überprüft werden, dass die korrekten Zutaten verarbeitet werden. Dies kann ebenfalls durch den Einsatz von z.B. Barcode-Scannern überprüft werden (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2007).

Bei Rework gilt das Prinzip, dass dieses nur in das gleiche Produkt oder in ein Produkt mit denselben Allergenen verarbeitet wird. Rework muss genaustens dokumentiert werden. Die Dokumentation beinhaltet in welches Produkt das Rework beigemischt wurde, an welcher Anlage und zu welchem Zeitpunkt (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

Auch die Produktionsplanung besitzt einen Einfluss auf die Allergen-Präventionspolitik. Wenn allergenhaltige Lebensmittel hergestellt werden, dann sollte die Herstellung dieser allergenhaltigen Produkte erst nach der Produktion allergenfreier Lebensmittel durchgeführt werden. Nach der Verarbeitung allergenhaltiger Lebensmittel sollte direkt die Herstellungsanlage und die Herstellungshilfsmittel gereinigt werden (Deibel, et al., 1997).

Dabei sollte als Erstes eine visuelle Reinigungsüberprüfung erfolgen. Allergenhaltige Flüssigkeiten, wie Waschwasser sollten nicht wiederverwendet werden. Bei der Verarbeitung von trockenen Produkten muss untersucht werden, an welchen Stellen der Anlage sich dieses ansammelt. Toträume sollten durch bauliche Maßnahmen verhindert werden. Wenn dies technisch nicht umsetzbar ist, dann muss gewährleistet sein, dass diese Stellen auch bei der visuellen Untersuchung ersichtlich sind. Durch Luftströme, die beim Abblasen von Anlagen entstehen, können sich die Allergene in der gesamten Produktion verteilen. Daher bildet Allergenstaub einen kritischen Punkt. Vor allem auch, da er sich an Arbeitskleidung und Arbeitsgeräten anlagern kann. Eine Verifizierung der Reinigung ist weiterhin durch analytische Maßnahmen durchzuführen. Die Reinigungen müssen des Weiteren dokumentiert werden (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

Auch bei Wartungsarbeiten können Allergenkreuzkontaminationen durch z.B. Werkzeuge verursacht werden. Diese sollten nur für vorher definierte Produktionsanlagen verwendet werden oder nach den jeweiligen Wartungsarbeiten gereinigt werden (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

2.1.6.3 Logistik

Um Allergenkontaminationen im Bereich der Logistik zu minimieren, muss auch in diesem Bereich Präventionsmaßnahmen ergriffen werden, welche im Allergenmanagement dokumentiert sind. Eine essenzielle Maßnahme ist die separate Lagerung von allergenhaltigen Rohstoffen. Dabei müssen die allergenhaltigen Rohstoffe als solche deutlich gekennzeichnet sein. Wenn Rohstoffe angeliefert werden, muss durch die Mitarbeiter der Logistik überprüft werden, ob die Ware dicht verschlossen ist und keine äußerlichen Beschädigungen aufweist. Weiterhin ist es empfehlenswert separate Behälter für allergenhaltige Rohstoffe und Produkte zu verwenden (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

Nicht nur das Lebensmittelunternehmen, welches die angelieferte Ware verarbeitet muss ein Allergenmanagement aufweisen, sondern auch das Lieferunternehmen. Dies sollte durch eine Auditierung des Lieferanten überprüft werden. Während der Auditierung sollten die Verifizierungsmaßnahmen überprüft werden, mit denen der Lieferant die Gefahr einer Allergenkontamination minimiert. Das Schulen der Lieferanten hinsichtlich der Allergenpräventionspolitik ist eine weitere essenzielle Maßnahme (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

2.1.6.4 Allergenschulungen

Eine wirksame Methode zur Vermeidung von Allergenkontaminationen sind Schulungsprogramme für die Mitarbeiter. Schulungen erhöhen die Glaubwürdigkeit der Mitarbeiter gegenüber dem Präventionsplan. Die Mitarbeiter müssen spezifisch für ihren Arbeitsbereich geschult werden. In der Schulung sollten Allergene definiert werden und welche Symptome eine Nahrungsmittelallergie auslösen kann. Dies muss den Mitarbeitern möglichst anschaulich z.B. in Form von Videos dargestellt werden. Ein weiterer inhaltlicher Aspekt von Allergenschulungen ist das Darlegen der Präventionsmaßnahmen. Es muss erläutert werden, wie z.B. eine Reinigung durchzuführen und zu dokumentieren ist oder wie Etiketten ordnungsgemäß gewechselt werden. Die Mitarbeiter müssen in der Lage sein, Sofortmaßnahmen zu ergreifen, wenn eine Kontaminationsgefahr besteht (Deibel, et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al., 2008).

Die Schulung der Mitarbeiter muss regelmäßig wiederholt werden (Food Drink Europe, 2013).

2.2 Validierung und Verifizierung von Allergenreinigungen

2.2.1 Definition Validierung und Verifizierung

Laut dem IFS Food (2020) ist eine Validierung der „Erhalt von Nachweisen dafür, dass eine Kontrollmaßnahme oder eine Kombination von Kontrollmaßnahmen in der Lage ist/sind, eine Gefahr auf ein bestimmtes Ergebnis zu steuern.“

Eine Validierung beinhaltet eine visuelle und eine analytische Untersuchung. Dabei anzumerken ist, dass eine visuelle Untersuchung limitiert ist. Allergenrückstände sind möglicherweise bei gegebenen Lichtverhältnissen und durch die Farbe von Materialoberflächen nicht oder kaum identifizierbar. Somit ersetzt eine visuelle Validierung keine analytische Validierung. Weiterhin sollte eine Validierung regelmäßig wiederholt werden (Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al. 2008).

Nach dem IFS Food (2020) wird eine Verifizierung als „die Anwendung von Methoden, Verfahren, Tests und anderen Bewertungen zusätzlich zur Überwachung, um festzustellen, ob eine Kontrollmaßnahme wie beabsichtigt funktioniert oder funktioniert hat“ definiert.

2.2.2 Reinigungsarten

2.2.2.1 Nassreinigung

Die Nassreinigung ist sehr effektive Form der Reinigung. Eine Nassreinigung kann durch unterschiedliche Varianten durchgeführt werden. Generell kann zwischen Cleaning In Place, Cleaning Out Place, Reinigen mit Spülmitteln oder manuelles Reinigen differenziert werden. Bei der CIP-Reinigung werden keine Anlagenbauteile ausgebaut, sondern die Reinigung erfolgt direkt in der Anlage. Im Gegensatz dazu werden bei der COP-Reinigung zu reinigende Anlagenbauteile demontiert. Wenn manuell gereinigt wird, werden wie bei der COP-Reinigung zunächst alle zu reinigenden Bauteile demontiert und folgend manuell unter der Verwendung von Reinigungshilfsmittel gereinigt (Courtney, 2016; Food Drink Europe, 2013; Jackson et al., 2008).

Die Reinigungseffektivität ist u.a. abhängig von der Reinigungszeit und dem Reinigungsmittel. Das Entfernen von Proteinrückständen ist am schwersten. Das Verwenden von alkalischen Reinigungsmitteln wird deswegen empfohlen (Jackson, et al. 2008).

2.2.2.2 Trockenreinigung

2.2.2.2.1 Trockenreinigungsmethoden

Bei der Trockenreinigung wird zwischen Reinigen mit Vakuum, Reinigen mit Wischtüchern oder Bürsten, Reinigen mit Druckluft und Reinigen durch Spülen unterschieden. Bei der Reinigung mit Druckluft muss beachtet werden, dass eine Kreuzkontamination umliegender Bereiche verursacht werden kann. Aufgrund dessen sollte Druckluft nur in Ausnahmefällen verwendet werden (Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al. 2008).

Bei der Verwendung von Bürsten muss darauf geachtet werden, dass keine Aerosole entstehen. Durch Aerosole kann es zur Allergenkreuzkontamination kommen. Weiterhin sollten Reinigungshilfsmittel zum Reinigen allergenhaltiger Oberflächen farblich codiert sein, um Kreuzkontaminationen zu verhindern. Die verwendeten Reinigungshilfsmittel müssen nach der Reinigung ebenfalls gereinigt werden (Food Drink Europe, 2013; Jackson, et al. 2008).

Eine weitere Form des Trockenreinigens ist das Spülen. Dabei werden die Allergenrückstände anstatt mit Reinigungshilfsmitteln mit einem Lebensmittel entfernt. Als Spülmittel können verschiedene Salze und Zucker verwendet werden. Auch das Spülen mit nachfolgendem Produkt ist möglich (Food Drink Europe, 2013; Jackson et al., 2008).

2.2.2.2.2 Effektivität unterschiedlicher Trockenreinigungsmethoden

Im Jahr 2010 untersuchten Jackson und Al-Taher die Effektivität von Trockenreinigungsmethoden, um Allergenrückstände auf unterschiedlichen Materialoberflächen zu entfernen (Jackson, Al-Taher, 2010).

Die Studie verglich eine Trockenreinigung mit einem Desinfektionstuch und eine Vakuumtrockenreinigung. Die Untersuchungen konzentrierten sich auf die Allergene Milch, Soja, Erdnuss und Ei. Die Allergenkonzentrationen nach der Trockenreinigung wurden durch einen qualitativen ELISA, einen ATP-Test und einem Gesamtproteintest untersucht (Jackson, Al-Taher, 2010).

Um die Reinigungseffektivität der Trockenreinigung mit einem Desinfektionstuch zu untersuchen, wurden Magermilchpulver, Sojamehl, Sojamilch, Säuglingsnahrungspulver auf Sojabasis, Erdnussmehl und Volleipulver in Wasser gelöst. Die Konzentration der allergenhaltigen Produkte betrug 1mg/ml. Auf eine Edelstahl-, eine Urethan- und eine Teflonplatte wurden anschließend ein Milliliter der allergenhaltigen Lösungen überführt. Anschließend erfolgte eine Trocknung bei

80°C für eine Stunde in einem Ofen, um feste allergenhaltige Rückstände zu erzeugen. Folgend wurden die Allergenrückstände mit einem Desinfektionstuch so lange trockengereinigt, bis die jeweiligen Testoberflächen optisch sauber waren. Danach wurden Proben durch Abstriche der Testoberflächen für die unterschiedlichen analytischen Allergenbestimmungsmethoden gezogen (Jackson, Al-Taher, 2010).

Um die Reinigungseffektivität der Vakuumtrockenreinigung zu untersuchen, wurden die gleichen allergenhaltigen Lebensmittel, wie bei dem Versuch zuvor verwendet. Jedoch wurden die Rückstände der allergenhaltigen Lebensmittel auf den Testoberflächen nicht getrocknet. Die Allergenrückstände wurden mit einem Vakuumsauger entfernt. Durch Abstriche wurden Proben für die analytischen Bestimmungsmethoden gezogen (Jackson, Al-Taher, 2010).

Bei der Trockenreinigung mit einem Desinfektionstuch konnten keine Allergenrückstände durch den ELISA und durch die Gesamtproteintest auf allen Oberflächen identifiziert werden. Bei den sojahaltigen Allergenrückständen wurden auf allen Oberflächen positive ATP-Tests festgestellt (Jackson, Al-Taher, 2010).

Bei der Trockenreinigung mit einem Vakuumsauger konnte festgestellt werden, dass alle sichtbaren Allergenspuren entfernt wurden, konnten. Jedoch wurden positive ELISA, ATP- und Gesamtproteintests bei allen Allergenen auf allen Oberflächen identifiziert (Jackson, Al-Taher, 2010).

Zusammenfassend zeigten die Versuche auf, dass sich die Trockenreinigung mit dem Desinfektionstuch als effektiver erwies. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass auf optisch sauberen Oberflächen trotzdem Allergenrückstände identifiziert werden konnten (Jackson, Al-Taher, 2010).

2.2.3 Qualitative Reinigungsvalidierung von verschiedenen Reinigungsmethoden

2020 untersuchten Bedford et al. in der Studie „Allergen Removal and Transfer with Wiping and Cleaning Methods Used in Retail and Food Service Establishments“ unterschiedliche Reinigungsvarianten, um Allergenrückstände zu reduzieren. Ziel der Studie war es erstens unterschiedliche Reinigungsmethoden zum Entfernen von Allergenen auf unterschiedlichen Materialoberflächen zu vergleichen. Zweitens wurde die Effizienz einer kombinierten Nassreinigungsmethode zum Entfernen von Allergenrückständen erforscht. Das dritte Ziel der Studie war das Analysieren von Allergenübertragungen auf Materialoberflächen durch Reinigungshilfsmittel. Die Studie konzentrierte sich auf die drei Nahrungsmittelallergene Eier,

Erdnüsse und Milch. Gegenstand der Untersuchungen waren drei unterschiedliche ebene Modelloberflächen bestehend aus Edelstahl, Polyethen und Hartahornholz (Bedford et al., 2020).

Auf diese Oberflächen wurden im ersten Versuch Magermilchpulver, Frischkäse, Vollmilch, Eikristalle, Mayonnaise, Erdnusspulver und Erdnussbutter aufgetragen, um eine Allergenkontamination zu verursachen. Anschließend wurden diese Lebensmittel durch Wischen mit einem trockenem Papiertuch, mit einem trockenem Textilwischtuch, mit einem nassem Textilwischtuch, mit einem nassen Textilwischtuch mit 50ppm chlorhaltiger Desinfektionslösung und einem mit Alkohol getränktem Einwegwischtuch gereinigt. Mittels eines LFD-Testkits wurde die Allergenkontamination qualitativ ermittelt. Dazu wurden die Testoberflächen mit einem Probenutpfer beprobt und anschließend analysiert (Bedford et al., 2020).

Nach der LFD-Analyse konnte festgestellt werden, dass bei der Reinigung mit trockenen Reinigungshilfsmitteln nur eine geringe Allergenentfernung stattgefunden hat. Dieses Ergebnis konnte unabhängig von der Testoberfläche und dem physikalischen Zustand (Pulver oder Paste) des Allergens beobachtet werden. Im Vergleich dazu konnte bei der Reinigung mit einem nassen Reinigungshilfsmittel eine Abhängigkeit zwischen der Allergenkonzentration, dem physikalischen Zustand des Allergens, der Testoberfläche und der Reinigungseffektivität festgestellt werden. Bei geringeren Allergenkonzentrationen wurde auf der Holz- und Kunststoffoberfläche eine höhere Reinigungseffizienz beobachtet und somit auch eine geringere Allergenkontamination. Wenn eine höhere Allergenkonzentration auf die Testoberflächen aufgetragen wurde, konnte eine geringere Allergenreduzierung festgestellt werden, obwohl die Testoberflächen optisch sauber waren. Wenn die Testoberflächen durch das mit Alkohol getränkte Einwegwischtuch gereinigt wurden, konnte eine hohe Reinigungseffizienz hinsichtlich des Entfernens von Allergenrückständen auf allen Oberflächen erfasst werden. Dabei wurde weiterhin festgestellt, dass wiederholte Wischvorgänge die Effektivität steigern. Es wurde beobachtet, dass die Kunststofftestoberfläche am schwersten zu reinigen war. Weiterhin konnte allgemein festgestellt werden, dass die Reinigungseffektivität abhängig von u.a. der Materialoberfläche, dem physikalischen Zustand des Allergens und von der Reinigungsmethode abhängig war. Eine visuelle Verifizierung ist abhängig von dem Lichteinfluss und der Farbe der Oberfläche. Trotz optisch sauberer Oberflächen kann eine Allergenkontamination vorliegen (Bedford et al., 2020).

Um die Effektivität einer kombinierten Nassreinigungsmethode zum Entfernen von Allergenrückständen zu untersuchen, wurden zunächst, wie in Versuch 1, die drei Testoberflächen mit den unterschiedlichen allergenhaltigen Lebensmitteln kontaminiert. Anschließend erfolge ein dreistufiger Nassreinigungsvorgang. Im ersten Schritt wurde die Testoberfläche mit einem nassen

Wischtuch gereinigt. Das Wischtuch wurde zuvor in warmen Wasser ($T=43^{\circ}\text{C}$), versetzt mit Spülmittel, benässt. Im zweiten Schritt wurde mit einem nassen Wischtuch gereinigt, welches zuvor in warmen Wasser benässt wurde. Im letztem Reinigungsschritt wurde das Wischtuch in einer chlorhaltigen Desinfektionslösung benässt und anschließend die Testoberflächen gereinigt. Die Reinigungszeit pro Reinigungsschritt betrug 30 Sekunden. Nach der dreistufigen Reinigung erfolgte ein dreißigminütiger Trocknungsschritt. Anschließend wurden die Testoberflächen mit einem Tupfer abgestrichen und ein LFD-Test durchgeführt (Bedford et al., 2020).

Die kombinierte Nassreinigungsmethode wies eine hohe Effektivität für alle allergenhaltigen Lebensmittel (mit Ausnahme der Erdnussbutter) auf. Der Grund für die verringerte Effektivität bei der Erdnussbutter begründete sich darin, dass Erdnussbutter das Waschwasser durch erneutes Benässen des Textilwischttuches mit Allergenen kontaminierte, weil bei allen untersuchten Testoberflächen dasselbe Waschwasser verwendet wurde (Bedford et al., 2020).

Weiterhin wurde festgestellt, dass der Reinigungserfolg u.a. abhängig von der Masse des allergenhaltigen Lebensmittels, der Reinigungszeit und der Spülmittelkonzentration war. Außerdem wurde empfohlen einen Vorreinigungsschritt durchzuführen, um einen Großteil des allergenhaltigen Lebensmittels zu entfernen (Bedford et al., 2020).

Im dritten Versuch der Studie wurde die Übertragung von Allergenen von allergenkontaminierten Reinigungshilfsmitteln auf Materialoberflächen erforscht. Dazu wurde ein mit Allergenen kontaminiertes Papiertuch für fünf Sekunden auf den drei verschiedenen Testoberflächen gewischt. Das Papiertuch enthielt dabei unterschiedliche Konzentrationen der allergenhaltigen Lebensmittel aus Versuch 1 und 2. Nach dem die Oberflächen mit den drei verschiedenen Allergenen kontaminiert wurden, erfolgte ein Abstrich der Oberflächen und eine anschließende qualitative LFD-Analyse (Bedford et al., 2020).

Festgestellt werden konnte eine sichtbare Allergenübertragung bei pulverförmigen und pastösen allergenhaltigen Lebensmitteln. Bei den Eikristallen wurde beobachtet, dass eine erhöhte Allergenkonzentration bei allen Testoberflächen positive LFD-Tests resultierte. Bei niedrigeren Ei-Allergenkonzentrationen konnten auch negative Testergebnisse festgestellt werden. Wenn ein Wischtuch in einer Desinfektionslösung gelagert wurde, wurde festgestellt, dass die Allergenübertragung bei Vollmilch verringert war (Bedford et al., 2020).

Zusammenfassend zeigte die Studie auf, dass Nassreinigungsmethoden vor allem in einer kombinierten Variante eine höhere Reinigungseffektivität hervorrufen als das Reinigen mit trockenen Reinigungshilfsmitteln. Weiterhin wurde gezeigt, dass Reinigungshilfsmittel und

Reinigungslösungen frei von Allergenen sein müssen, damit eine Allergenübertragung von einem Reinigungshilfsmittel auf z.B. ein Maschinenbauteil verhindert wird (Bedford et al., 2020).

2.2.4 Quantitative Reinigungsvalidierung von verschiedenen Reinigungsmethoden

2010 untersuchten Wang et al. in der Studie “Evaluation of Cleaning Procedures for Allergen Control in a Food Industry Environment” die Effektivität unterschiedlicher Reinigungsmethoden zur Minimierung von Allergenkontaminationen. Die Untersuchungen wurden in einem hühnerfleischverarbeitenden Unternehmen durchgeführt. Ein Großteil der produzierten Produkte enthält Weizen in Form von Weizenmehl oder -stärke. Als Indikatorprotein für die Untersuchungen verwendeten die Forscher Gliadin. Weiterhin wurde der Gesamtproteingehalt bestimmt (Wang et al., 2010).

Zur Untersuchung des Allergengehaltes wurde die ATP-Biolumineszenz, der Gesamtproteingehalt sowie das ELISA-Verfahren verwendet. Der Gesamtproteingehalt wurde mit dem Coomassie Plus Kit ermittelt (Wang et al., 2010).

Durch Abstreichen einer 10cm * 10cm großen Fläche mit einem Tupfer wurden die Proben für die ATP-Biolumineszenz, den ELISA und die Gesamtproteinanalyse gezogen. Dabei erfolgte der Abstrich in einem konstanten Muster. Untersucht wurden 15 unterschiedliche Produktionsdurchläufe über einen Zeitraum von sechs Monaten. Die Untersuchungen konzentrierten sich dabei auf drei Produktionsanlagen. Untersucht wurde die Effektivität unterschiedlicher Nassreinigungsarten. Als Referenzmittel diente die Beprobung der ungereinigten Produktionsanlage. Dafür wurde 20 Minuten nach Produktionsende die Oberfläche der Maschine an sechs Stellen des Förderbandes abgestrichen. Anschließend reinigten die Produktionsmitarbeiter die Anlage. Dabei wurde zunächst das Förderband mit Wasser (Temperatur zwischen 40 und 50°C) gespült, um alle Feststoffe zu entfernen. Danach folgte erneut ein Spülgang, bei welchem zusätzlich 1% alkalisches Spülmittel zugesetzt wurde. Der letzte Reinigungsprozess beinhaltete eine Desinfektion mit anschließender Spülung mit Wasser. Nach jedem Reinigungsschritt wurde nach 20 Minuten die gleichen sechs Stellen abgestrichen, wie bei dem Referenzmittel (Wang et al., 2010).

Bei dem ungereinigten und mit warmen Wasser gespülten Förderband waren noch sichtbare Verunreinigungen zu erkennen, was auf die Reinigungen mit Spülmittel bzw. mit Desinfektionsmittel nicht zutraf. Um die einzelnen Reinigungsschritte hinsichtlich ihrer Allergenkontamination und ATP-Biolumineszenz besser vergleichen zu können, wurden die Messergebnisse standardisiert, in dem die Allergenkonzentration bei dem nicht gereinigten

Förderband auf den Wert 100.000 festgelegt wurde. Die Messergebnisse der Nassreinigungsschritte wurden in Relation zu 100.000 gesetzt (Wang et al., 2010).

Festgestellt werden konnte, dass die Reinigungsmethode „Spülen mit Wasser“ bei Gliadin im Vergleich zu ATP weniger effektiv war. 20 Minuten nach der Produktion betrug die mittlere Gliadin-Konzentration $40,3 \pm 18,6$ ppm. Nach dem Spülen mit Wasser konnte eine geringere mittlere Gliadin-Konzentration von 2,37 ppm beobachtet werden. Bei der Reinigungsvariante „Spülen mit Wasser und 1% alkalischem Spülmittel“ war der Unterschied zwischen der Gliadin-Konzentration und der ATP-Biolumineszenz im Vergleich zur Referenzprobe geringfügig unterschiedlich. Nach diesem Reinigungsschritt konnten nur noch 0,013 ppm Gliadin nachgewiesen werden. Der Reinigungsschritt „Desinfizieren und Spülen mit Wasser“ wies eine höhere Effektivität bei der Gliadin-Konzentration auf als bei der ATP-Biolumineszenz. Nach diesem Reinigungsschritt wurden 0 ppm Gliadin nachgewiesen (Wang et al., 2010).

Der Gesamtproteingehalt wurde ausschließlich in einem Versuch analysiert. Im Vergleich zur ATP-Biolumineszenz waren die verschiedenen Nassreinigungsschritte bei der Gesamtproteinkonzentration hinsichtlich der Verringerung des ATP bzw. des Gesamtproteins effektiver (Wang et al., 2010).

Auf einer Produktionsanlage wurde fünfmal das gleiche Produkt hergestellt. Aufgrund dessen verwendeten die Forscher die Messergebnisse für einen Fünffachversuch. Hier konnte festgestellt werden, dass die verschiedenen zusammenschalteten Reinigungsmethoden hinsichtlich der Verringerung der Gliadin-Konzentration effektiver waren als für die Reduzierung des ATPs (Wang et al., 2010).

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass der Reinigungsschritt „Spülen mit Wasser“ bei der Reduzierung von ATP eine höhere Effektivität aufwies als bei der Verringerung der Gliadin-Konzentration. Aber nach dem Spülen mit alkalischem Spülmittel und der Desinfektion konnte festgestellt werden, dass die Reinigungsmethoden hinsichtlich dem Entfernen von Gliadin-Rückständen effektiver waren als für das Entfernen von ATP und Gesamtprotein (Wang et al., 2010).

In der Studie „Protein Quantification, Sandwich ELISA, and Real-Time PCR Used to Monitor Industrial Cleaning Procedures for Contamination with Peanut and Celery Allergens“ von Stephan et al. (2004), wurde die Effektivität eines Nassreinigungsprozesses zum Entfernen von Erdnuss- und Sellerierückständen untersucht (Stephan et al., 2004).

Die Reinigungsuntersuchungen wurden in einem Rührkessel durchgeführt. In diesem werden Aromazwischenprodukte durch Aufschlammung hergestellt. Als allergenhaltige Untersuchungsproben wurden Produkte mit einem hohen Erdnuss- bzw. Selleriegehalt gewählt. Um den Reinigungsprozess zu validieren, wurden im Rührkessel, im Auslassventil und im Probenahmeventil Spülwasserproben nach jedem Reinigungsschritt gezogen (Stephan et al., 2004).

Der Reinigungsprozess startete mit einer fünfminütigen Dispersion des allergenhaltigen Produkts. Anschließend wurde ein Vorreinigungsschritt mit 50l Wasser durchgeführt und Spülwasserproben entnommen. Als nächstes erfolgte ein Reinigungsschritt mit einem alkalischen Spülmittel (elektrische Leitfähigkeit 22mS/cm) und ein folgender Spülvorgang mit Wasser, bis die Leitfähigkeit des Spülmittels kleiner als 0,5mS/cm betrug. Nach dem alkalischen Reinigungsschritt wurden erneut Spülwasserproben gezogen. Anschließend erfolgte ein Reinigungsschritt mit einem sauren Reinigungsmittel (elektrische Leitfähigkeit 5,5 mS/cm). Nachfolgend wurde mit Wasser gespült bis die elektrische Leitfähigkeit des Reinigungsmittels kleiner als 0,5mS/cm betrug. Danach wurden erneut Spülwasserproben gezogen. Nach dem Reinigungsprozess wurde ein Produkt bestehend auf 50kg Wasser und 50kg Maltodextrin im Rührkessel verarbeitet, um mögliche Allergenrückstände in einem nachfolgenden Produkt zu untersuchen (Stephan et al., 2004).

Um die Allergenrückstände in den Spülwasserproben zu analysieren, wurde für Erdnuss und für das nachfolgende Produkt Sandwich-ELISAs durchgeführt. Eine real-time PCR wurde durchgeführt, um Sellerierückstände im Spülwasser zu detektieren. Weiterhin wurde ein Bradford-Test durchgeführt, um den Gesamtproteingehalt zu analysieren (Stephan et al., 2004).

In den Spülwasserproben des Vorreinigungsschrittes wurden Erdnuss- und Proteinrückstände detektiert. Nach dem Durchführen des alkalischen und sauren Reinigungsschrittes konnten keine Erdnussproteinrückstände festgestellt werden. Auch bei dem nachfolgenden Produkt konnten keine Erdnussallergene durch den Sandwich-ELISA detektiert werden. Davon ausgenommen sind die Analysenergebnisse des nachfolgenden Produkts beim Versuchsdurchgang 2. Bei diesem Versuch konnten Erdnussallergene analysiert werden. Grund dafür war eine fehlerhafte Einstellung während der Produktion (Stephan et al., 2004).

Auch in den Spülwasserproben des Vorreinigungsschrittes des selleriehaltigen Produkts wurden Sellerieallergene durch die real-time PCR festgestellt. Dabei anzumerken ist, dass nicht bei allen Versuchswiederholungen Sellerieallergene durch die PCR detektiert wurden. Dies wurde damit begründet, dass bei dem Zerkleinern des Selleries ein erhöhter Anteil an DNA abgebaut wurde.

Generell konnte eine höhere Sensitivität des Bradford-Tests im Vergleich zu der real-time PCR identifiziert werden. Nach dem alkalischen und sauren Reinigungsschritt sowie bei dem nachfolgenden Produkt konnten keine Sellerieallergene festgestellt werden (Stephan et al., 2004).

Allgemein zeigte die Studie auf, dass eine Nassreinigung mit einem Spülmittel eine sehr effektive Methode zur Allergenrückstands Entfernung ist (Stephan et al., 2004).

3. Material und Methoden

3.1 Versuchsplanung

3.1.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen

Ziel des Versuches ist eine Allergenkontamination ausgehend von Sesamsamen durch die Trockenreinigungsmethode Spülen zu verhindern.

In einer Salatkräutermischung sind Sesamsamen enthalten. Laut der Allergenpolitik der Zamek Food Solutions GmbH wird das Allergen Sesamsamen ausgeschlossen. Davon ausgenommen sind die anderen Sorten der Salatkräutermischung, wo eine Spurenkennzeichnung von Sesamsamen erfolgt (Basche, 2020). Wenn von den Salatkräutermischungen auf Instantsoßen umgestellt wird, dürfen keine Sesamsamen im Produkt enthalten sein. Um dies sicherzustellen wird die sesamhaltige Salatkräutermischung als erstes von den Salatkräutermischungen produziert und anschließend die sesamfreien Salatkräutermischungen, um das Allergen herauszuspülen.

In diesem Versuch soll untersucht werden, ob durch eine Produktpülung eine Allergenkontamination von Sesamsamen verhindert wird. Dazu wird nach der Produktion der sesamhaltigen Salatkräutermischung eine Tupferprobe gezogen, um die Ausgangssesamallergenkonzentration durch ELISA quantitativ zu ermitteln. Um zu verhindern, dass im nachfolgenden Produkt andere sensorische Faktoren durch Übertragung von u.a. Gewürzen entstehen, wird vor der Produktumstellung eine Trockenreinigung (in abgeschwächter Form) durchgeführt. Da durch diese Maßnahme auch Allergenrückstände reduziert werden, wird nochmals an gleicher Stelle eine Tupferprobe genommen. Um die Reduzierung der Allergenkonzentration zu ermitteln, wird zu verschiedenen Zeitpunkten der Produktion Endproduktproben gezogen und anschließend mittels ELISA auf Sesamsamen quantitativ untersucht.

3.1.2 Entfernen von Hühnervolleipulverrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

In diesem Versuch soll die Effektivität verschiedener Reinigungsarten hinsichtlich des Entfernens von Hühnereiallergenen untersucht werden.

Bei der Zamek Food Solutions GmbH wird derzeit nur ein eihaltiges Produkt hergestellt. Da bei drei Instantsoßen vom Kunden eine reduzierte Allergenspurenkennzeichnung (Ei darf nicht als Zutat und Allergenspur vorkommen) gefordert wird, muss die Reinigung nach dem eihaltigen Produkt die Allergene vollständig entfernen (Basche, 2020). Um Kosten und Aufwand zu reduzieren, soll künftig eine Trockenreinigung durchgeführt werden. Der Laborversuch soll dabei zeigen, ob eine Trockenreinigung ausreicht, um Hühnereiallergene zu entfernen bzw. auf ein Minimum zu reduzieren.

Im Laborversuch wird vom Worst-Case-Szenario ausgegangen (Food Drink Europe, 2013). Dazu wird reines Hühnervolleipulver verwendet. Die Untersuchungsparameter wurden an die tatsächliche Produktion angepasst. Die Trockenreinigung wird mit einer Kunststoffbürste durchgeführt. Die Nassreinigung des Mixers erfolgt in der Produktion mit einem heißen Wasserstrahl und Spülmittel, was ebenfalls im Laborversuch übernommen wird. Des Weiteren wird die gleiche Mischzeit von 2,5min angewendet. Auch das Desinfektionsmittel ist identisch. Im Gegensatz zur Produktion wurden die Reinigungsparameter genau definiert (z.B. 3ml Spülmittel und 61°C warmes Waschwasser).

Die Hühnereiallergenkonzentration wird quantitativ mittels ELISA durch ein akkreditiertes Labor untersucht. Gleichzeitig wird eine qualitative Allergenuntersuchung mit einem Schnelltest durchgeführt, um dessen Funktionalität zu überprüfen.

Gleichzeitig soll dieser Versuch Ei-Allergenschnelltests validieren, in dem die Hühnereiallergenkonzentrationen, welche vom akkreditierten Labor ermittelt worden sind mit den qualitativen Ergebnissen des AgraStrip Egg Test Kit verglichen wird.

3.1.3 Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

In diesem Versuch soll die Effektivität unterschiedlicher Reinigungsarten hinsichtlich des Entferns von Glutenrückständen untersucht werden.

Die Untersuchungen werden in der Mischabteilung durchgeführt. Als Untersuchungsprodukt wird eine glutenhaltige Instantcurrysoßenmischung verwendet. Diese enthält in einer Zutat Weizenmehl. Die Gesamtmischung enthält zwar weniger als 20ppm, jedoch soll untersucht werden, ob dennoch Rückstände von Gluten auf der Mischerinnenwand nach der Reinigung nachweisbar sind. Grund für diese Untersuchungen ist, dass bei einer Instantkräutersoße keine glutenhaltigen Rohstoffe verarbeitet sind und keine Gluten-Spurenkennzeichnung deklariert werden (Basche, 2020). Wenn zuvor die glutenhaltige Instantcurrysoße gemischt wird, besteht die Gefahr einer Kreuzkontamination in die Instantkräutersoße.

In diesem Versuch soll eine Trockenreinigung, eine Nassreinigung sowie eine Desinfektion untersucht werden. Um den Reinigungsaufwand zu minimieren ist dabei zu überprüfen, ob bereits nach einer Trockenreinigung die Produktsicherheit hinsichtlich von Gluten gegeben ist. Voraussetzung hierbei wäre, dass die Glutenkonzentration unter dem gesetzlichen Grenzwert und unter dem Actionlevel 1 für Gluten von 20ppm liegt (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008; VO (EU) 41/2009, 2009).

Anders als bei dem Hühnervolleiversuch wird eine qualitative Reinigungsuntersuchung durchgeführt. Hierfür werden Gluten-Schnelltests verwendet.

Die unterschiedlichen Reinigungen werden aufgrund der geringen Auftragsmenge nur in einer Doppelbestimmung untersucht. Die Reinigungsprozedur entspricht der regulären, im Reinigungsplan definierten Durchführung. Nach jedem Reinigungsschritt werden an zwei definierten Messstellen Tupferproben gezogen. Die Untersuchungsfläche beträgt 100cm² (quadratische Grundfläche) (Wang et al., 2010).

3.1.4 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes

Neben dem Ei-Allergenschnelltests sollen weiterhin zur betrieblichen Eigenkontrolle der Allergenreinigungen Sesam-Allergenschnelltest eingeführt und validiert werden.

Zur Validierung wird wie bei dem Gluten-Schnelltest untersucht, ob der Schnelltest bei bestimmten Allergenkonzentrationen das korrekte Ergebnis anzeigt. Zur Auswahl der einzelnen Allergenkonzentrationen wird der Detektionsbereich der Schnelltests von 5-10000ppm Sesamallergen herangezogen (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019). Für die Validierung wird eine Blindprobe (destilliertes Wasser), eine Probe unter dem Detektionsbereich (2ppm), eine Probe im Detektionsbereich (1000ppm) und eine Probe über dem Detektionsbereich (15000ppm) verwendet. Als Probenmaterial werden gemahlene Sesamsamen, welche in destilliertem Wasser suspendiert sind, verwendet. Anschließend wird nach Herstellerangaben der Schnelltest durchgeführt und ausgewertet.

3.1.5 Validierung eines Gluten-Allergenschnelltestes

Im Rahmen der betrieblichen Eigenkontrolle soll bei der Zamek Food Solutions GmbH zukünftig nach der Herstellung und Verarbeitung von glutenhaltigen Produkten Gluten-Schnelltests durchgeführt werden, um die Effektivität der nachfolgenden Reinigung zu überprüfen.

Um zu überprüfen, ob die verwendeten Schnelltests die erforderliche Funktionalität aufweisen, soll eine Validierung dieses Tests durchgeführt werden. Bei dem verwendeten Schnelltest kann auf drei verschiedene Glutenschwellenwerte bei Produktproben untersucht werden. Dabei handelt es sich um die Schwellenwerte 5, 10 und 20ppm. Wenn in einer Probe eine höhere Glutenkonzentration als der Schwellenwert vorhanden ist, dann zeigt der Schnelltest ein positives Ergebnis an (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

Da laut der VO (EG) 41/2009 ein Produkt dann als „glutenfrei“ deklariert werden kann, wenn dessen Glutengehalt den Grenzwert von 20ppm nicht überschreitet und da nach dem Actionlevel 1 des VITAL-Konzeptes für Gluten der Schwellenwert <20ppm angegeben ist, erfolgt die Validierung des Schnelltests auf den Schwellenwert 20ppm (VO (EG) 41/2009, 2009; Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008).

Zur Validierung des Schnelltests wird Weizenkleber verwendet. Aufgrund der mehrjährigen Lagerzeit wird zuvor eine Proteingehaltsbestimmung nach Kjeldahl durchgeführt, um den tatsächlichen Proteingehalt zu ermitteln.

Die Validierung des Schnelltests erfolgt durch eine Blindprobe (destilliertes Wasser), durch eine Probe mit einem Glutengehalt unter 20ppm (10ppm) sowie durch eine Probe, deren Glutengehalt größer als der Schwellenwert von 20ppm (30ppm) ist.

3.2 Materialien, Chemikalien und Geräte

3.2.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen

Tab. 1: Verwendete Materialien im Versuch Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen

Material	Bezeichnung	Firma	Identifikation
Edelstahlöffel	-	-	-
Edelstahlschüssel	-	Contacto Bander GmbH; 40699 Erkrath, Deutschland	-
Kunststoffbeutel	-	-	-
Schablone 10*10cm ²	-	-	-
Steriltupfer	09-511-5007	nerbe plus GmbH & Co. KG; 21423 Winsen/Luhe, Deutschland	LOT: 31807476

3.2.2 Entfernen von Hühnervolleipulverrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

Tab. 2: Verwendete Geräte im Versuch Entfernen von Hühnervolleipulverrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

Gerät	Bezeichnung	Firma
Stephan Universalmaschine	UM 5	A. Stephan u. Söhne GmbH & Co.; 31784 Hameln, Deutschland

Tab. 3: Verwendete Materialien im Versuch Entfernen von Hühnervolleipulverrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

Material	Bezeichnung	Firma	Identifikation
Desinfektionsmittel	P3-alcodes	Ecolab Deutschland GmbH, 40789 Monheim am Rhein, Deutschland	LOT: 20000060
Ei- Allergenschnelltest	AgraStrip Egg Test Kit	Romer Labs Deutschland GmbH; 35510 Butzbach, Deutschland	LOT: 1000005695 MHD: 31.10.2021
Schablone 5*5cm ²	-	-	-
Spülmittel	fit	fit GmbH; 02788 Zittau, Deutschland	-
Tupfer	Forensik- Abstrichtupfer L/XL	SARSTEDT AG & Co. KG; 51586 Nümbrecht, Deutschland	LOT: 0643321
Volleipulver Bodenhaltung	000000002035	OVOBEST Eiprodukte GmbH & Co. KG; 49434 Neuenkirchen- Vörden, Deutschland	LOT: 600000001509 MHD: 22.11.2021

3.2.3 Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

Tab. 4: Verwendete Materialien im Versuch Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

Material	Bezeichnung	Firma	Identifikation
Kunststoffbesen	-	-	-
Kunststoffbürste	-	-	-
Desinfektionsmittel	P3-alcodes	Ecolab Deutschland GmbH, 40789 Monheim am Rhein, Deutschland	-
Gluten-Allergenschnelltest	AgraStrip Gluten G12 Test Kit	Romer Labs Deutschland GmbH; 35510 Butzbach, Deutschland	LOT: 1000005618 MHD: 06.10.2021 + LOT: 1000006781 MHD: 15.3.2022
Spülmittel	fit	fit GmbH; 02788 Zittau, Deutschland	-

Tab. 5: Verwendete Geräte im Versuch Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

Gerät	Bezeichnung	Firma
Lödige Mischer	FKM 1200 DR	Gebrüder Lödige Maschinenbau GmbH, 33102 Paderborn, Deutschland

3.2.4 Validierung von Gluten-Allergenschnelltests

Material	Bezeichnung	Firma	Identifikation
Bechergläser	-		-
Edelstahlöffel	-	-	-
Gluten- Allergenschnelltest	AgraStrip Gluten G12 Test Kit	Romer Labs Deutschland GmbH; 35510 Butzbach, Deutschland	LOT: 1000005618 MHD: 06.10.2021
Weizenkleber	Bio Vital Wheat Gluten 75 Food	Agrana Stärke GmbH, 3435 Pischeldorf, Österreich	Charge: 17077

Gerät	Bezeichnung	Firma
Elektronische Waage	AC210S	Sartorius AG, 37079 Göttingen, Deutschland
Stabmixer	BOSCH ErgoMixx	Robert Bosch Hausgeräte GmbH, 81739 München, Deutschland

3.2.5 Proteinbestimmung nach Kjeldahl

Tab. 6: Verwendete Chemikalien im Versuch Proteinbestimmung nach Kjeldahl

Chemikalie	Firma	Identifikation
Tashiro-Indikator	Th. Geyer GmbH & Co. KG; 71272 Renningen, Deutschland	Batch: TASHI1901
Kjeldahl-Tabletten	Merck KGaA, 64293 Darmstadt, Deutschland	-
Natriumhydroxid 32%	Grüssing GmbH; 26849 Filsum, Deutschland	-
Borsäurelösung 3%	Grüssing GmbH; 26849 Filsum, Deutschland	Charge: 0183
Schwefelsäure $0,05 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$	Grüssing GmbH; 26849 Filsum, Deutschland	Charge: 0072
Schwefelsäure 98%	Grüssing GmbH; 26849 Filsum, Deutschland	Charge: 0302
Wasserstoffperoxid 30%	Grüssing GmbH; 26849 Filsum, Deutschland	Charge: 9233
Ortho-Phosphorsäure 85%	Carl Roth GmbH + Co. KG; 76185 Karlsruhe, Deutschland	Charge: 321174862

Tab. 7: Verwendete Geräte im Versuch Proteinbestimmung nach Kjeldahl

Gerät	Bezeichnung	Firma
Kjeldahltherm mit Turbosog	Typ TR	C. Gerhardt GmbH & Co. KG; 53639 Königswinter, Deutschland
Titrette	class A precision	Brand GmbH & Co KG; 97877 Wertheim, Deutschland
Vapodest	Typ VAP10	C. Gerhardt GmbH & Co. KG; 53639 Königswinter, Deutschland

3.2.6 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes

Tab. 8: Verwendete Materialien im Versuch Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes

Material	Bezeichnung	Firma	Identifikation
Bechergläser	-		-
Edelstahlöffel	-	-	-
Sesam- Allergenschnelltest	AgraStrip Sesame Test Kit	Romer Labs Deutschland GmbH; 35510 Butzbach, Deutschland	LOT: 1000005092 MHD: 31.08.2021
Sesamsamen	Rewe Bio Sesam, ungeschält	Ceralia Getreideprodukte GmbH, 84453 Mühlendorf, Deutschland	MHD:17.02.2022

Tab. 9: Verwendete Geräte im Versuch Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes

Gerät	Bezeichnung	Firma
Elektronische Waage	AC210S	Sartorius AG, 37079 Göttingen, Deutschland
Mixer	KM13	Robert Bosch Hausgeräte GmbH, 81739 München, Deutschland

3.3 Methodik

3.3.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen

Nach der Produktion des letzten Silos der sesamhaltigen Salatkräutermischung wurde im Einlauftrichter der Linie 51 mittig (32,75cm vom linken Trichterrand) und in 26cm Tiefe eine Tupferprobe einer 100cm² (quadratische Grundfläche von 10cm) großen Fläche gezogen, um den Ausgangsallergengehalt zu bestimmen (Wang et al., 2010). Anschließend erfolgte eine Trockenreinigung in abgeschwächter Form, um sensorische Veränderungen des nachfolgenden Produkts durch z.B. andere Gewürze zu verhindern. Die Trockenreinigung wurde von einem Produktionsmitarbeiter durchgeführt. Als Reinigungshilfsmittel diente ein Vakuumsauger. Es wurde so lange gereinigt, bis der Trichter visuell sauber war. Anschließend wurde erneut eine Tupferprobe an gleicher Stelle gezogen. Folgend wurde das erste Silo der sesamfreien Salatkräutermischung durch einen Produktionsmitarbeiter aufgesetzt und anschließend die Salatkräutermischung endverpackt. Nach 0, 10, 20, 30, 60 und 120 Minuten (exklusive Maschinenstillstandszeiten) wurden jeweils drei Endprodukte als Probe entnommen. Weiterhin wurden die ersten drei Endprodukte des zweiten Silos der gleichen Salatkräutermischung als Probe genommen, sowie eine Probe eines nachfolgend produzierten Produktes (Produkt wurde erst nach Auftragsbeendigung einige Zeit nach dem Versuchsdatum gezogen).

Im Labor wurden aus den Produktionsproben Mischproben erstellt und diese zusammen mit den beiden Tupferproben an ein externes Labor gesendet, um die Sesamkonzentration quantitativ bestimmen zu lassen.

Die Sesamallergenuntersuchung wurde durch ein ELISA-Test unter der Verwendung des Testkits RIDASCREEN® FAST Sesame durchgeführt. Dabei handelt es sich um ein Sandwich-ELISA. Das Testprinzip beruht auf der Ausbildung eines Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexes zu dem am Ende der Untersuchung neben dem Substrat ein Chromogen zugegeben wird. Am letzten Antikörper wurde das Enzym Peroxidase gebunden, welches das Chromogen in ein blaues Produkt umwandelt. Die Quantifizierung erfolgt photometrisch bei 450nm. Dabei ist die Extinktion proportional zur Antigenkonzentration (R-Biopharm AG, 2021).

3.3.2 Entfernen von Hühnervolleirückständen durch Trockenreinigung

Zu Beginn wurden 700g Hühnervolleipulver in eine Rührschüssel eingewogen. Anschließend wurde die Rührschüssel auf den Stephanmischer aufgesetzt und für 2,5min auf Stufe 2 gemischt. Nach dem Mischvorgang wurde das Hühnervolleipulver aus der Rührschüssel entfernt. Anschließend wurde eine Tupferprobe einer 25cm² großen quadratischen Fläche abgestrichen, um den Ausgangsallergengehalt analytisch durch ein akkreditiertes Labor zu bestimmen. Folgend wurde eine Trockenreinigung durchgeführt. Als Reinigungshilfsmittel wurde eine Kunststoffbürste verwendet. Es wurde so lange gereinigt, bis keine sichtbaren Hühnervolleipulverrückstände erkennbar waren.

Anschließend wurde erneut eine Tupferprobe an gleicher Stelle für die Untersuchungen im akkreditierten Labor gezogen. Des Weiteren wurde mit einem Tupfer für einen qualitativen Allergenschnelltest auf einer 25cm² großen quadratischen Fläche gezogen. Anschließend wurden die möglicherweise auf den Schnelltesttupfer befindlichen Eiallergene nach Herstellerangaben qualitativ bestimmt.

Für die Versuche der Nassreinigung und Desinfektion wurden als erstes 700g Hühnervolleipulver in eine Rührschüssel des Stephanmischers eingewogen. Anschließend wurde das Hühnervolleipulver für 2,5min im Stephanmischer auf Stufe 2 gemischt. Nach dem Mischen wurde das Hühnervolleipulver aus der Rührschüssel entfernt. Anschließend wurde eine Tupferprobe einer 25cm² großen quadratischen Fläche abgestrichen, um den Ausgangsallergengehalt zu bestimmen. Danach wurden 3ml Spülmittel (fit GmbH, 2021) in die Rührschüssel überführt und für 15s mit einem Wasserstrahl (T=61°C; V=10,8l/min) gereinigt. Folgend wurde nach einer Trocknungszeit erneut eine Tupferprobe an derselben Stelle gezogen. Des Weiteren wurde eine 25cm² große quadratischen Fläche mit dem Proben­tupfer des AgraStrip Egg Test Kit abgestrichen. Anschließend wurde nach Herstellerangaben der Schnelltest durchgeführt.

Nach der Nassreinigung wurde die Rührschüssel mit 5ml Desinfektionsmittel (Ecolab Deutschland GmbH, 2015) desinfiziert. Nachdem das Desinfektionsmittel vollständig verdunstet war, wurden erneut an denselben Messstellen Tupferproben für das akkreditierte Labor und für den Schnelltest abgestrichen. Der Schnelltest wurde anschließend nach Herstellerangaben durchgeführt und ausgewertet.

Die Ei­allergen­untersuchung im akkreditierten Labor wurde durch ein ELISA-Test unter der Verwendung des Testkits RIDASCREEN® FAST Ei durchgeführt. Dabei handelt es sich um ein

Sandwich-ELISA. Das Testprinzip beruht auf der Ausbildung eines Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexes zu dem am Ende der Untersuchung neben dem Substrat ein Chromogen zugegeben wird. Am letzten Antikörper wurde das Enzym Peroxidase gebunden, welches das Chromogen in ein blaues Produkt umwandelt. Die Quantifizierung erfolgt photometrisch bei 450nm. Dabei ist die Extinktion proportional zur Antigenkonzentration (R-Biopharm AG, 2021).

Der Schnelltest AgrarStrip Egg wurde in der Variante für Tupferproben durchgeführt. Das Testprinzip beruht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Antikörper sind in einem Inkubationsgefäß immobilisiert. Durch Zugabe der Sesamallergenproben (Antigene) kommt es zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion, die auf einem Teststreifen eine Farbreaktion in Form eines roten Farbstreifens auslöst (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

3.3.3 Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

Als erstes wurden die einzelnen Rohstoffe der Instantcurrysoße in den Mischer gegeben. Anschließend wurde für zwei Minuten gemischt. Folgend wurde die Mischung aus dem Mischer in ein BigBag überführt und mit der Reinigung begonnen.

Die Trockenreinigung wurde mit einem Kunststoffbesen und einer Kunststoffbürste durchgeführt. Hierfür wurden alle Bereiche des Mixers so lange gereinigt, bis keine Produktrückstände mehr visuell feststellbar waren. Anschließend wurde an zwei Messstellen eine 100cm² große quadratische Fläche mit dem Schnelltesttupfer abgestrichen (Wang et al., 2010). Die erste Messstelle war 21cm von der rechten Mischeröffnung in einer Tiefe von 21cm lokalisiert. Die zweite Messstelle befand sich 21cm von der linken Mischeröffnung in einer Tiefe von 21cm.

Die Trockenreinigung wurde einmal wiederholt.

Bei der Nassreinigung wurde der Mischer mit Wasser (Temperatur ca. 68°C) und Spülmittel gereinigt. Zuerst wurde der Mischerinnenraum nur mit Wasser gereinigt. Anschließend wurde das Spülmittel zugegeben. Das Waschwasser wurde danach aus dem Mischer entfernt. Die Mischerinnenraumfläche wurde folgend mit Druckluft getrocknet. Anschließend wurde an den beiden identischen Messstellen, wie bei der Trockenreinigung, Tupferproben abgestrichen.

Die Nassreinigung wurde ebenfalls einmal wiederholt.

Nach der Nassreinigung wurde der Mischerinnenraum mit Desinfektionsmittel gereinigt. Nach dem das ethanolhaltige Desinfektionsmittel vollständig verdunstet war, wurde erneut an den identischen Messstellen zwei Tupferproben abgestrichen.

Auch die Desinfektion wurde, wie die Trocken- und Nassreinigung, einmal wiederholt.

Die Glutenuntersuchungen wurden qualitativ mit dem AgraStrip Gluten G12 nach Herstellerangaben durchgeführt. Das Schnelltestprinzip beruht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Antikörper sind auf einem Teststreifen immobilisiert. Die antigenhaltige Probenlösung wird vom Teststreifen aufgenommen, wodurch es zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion kommt, die farblich in Form einer Linie dargestellt wird (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

3.3.4 Validierung eines Gluten-Allergenschnelltestes

Die Validierung des Gluten-Allergenschnelltestes erfolgte mit Weizenkleber mit einem Glutengehalt von rund 69% (zuvor analytisch ermittelt). Als erstes werden aus diesem Weizenkleber die Probenlösungen in den Glutenkonzentrationen 0, 10 und 30ppm hergestellt. Dazu werden die entsprechenden Weizenklebermassen mittels einer elektronischen Waage abgewogen und in 0,5kg destilliertem Wasser suspendiert. Das Suspendieren erfolgt mit einem Stabmixer, eingestellt auf höchster Stufenzahl (12). Die Suspensionszeit beträgt zwei Minuten. Anschließend wird nach Herstellerangaben der Schnelltest durchgeführt. Das Schnelltestprinzip beruht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Antikörper sind auf einem Teststreifen immobilisiert. Die antigenhaltige Probenlösung wird vom Teststreifen aufgenommen, wodurch es zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion kommt, die farblich in Form einer Linie dargestellt wird (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

3.3.5 Bestimmung des Proteingehaltes von Weizenkleber

Die quantitative Proteingehaltsbestimmung des Weizenklebers nach Kjeldahl erfolgt nach der entsprechenden Analysenvorschrift der Zamek Food Solutions GmbH.

Der erste Schritt der Proteinbestimmung ist der Aufschluss des Probenmaterials. Dazu werden ca. 0,5g Weizenkleber in einem Abwägeschiffchen mittels einer elektronischen Waage abgewogen. Dieses wird zusammen mit einer Kjeldahl-Tablette in ein Aufschlussröhre verlustfrei überführt. Anschließend werden 0,01l eines Gemisches aus 1l Schwefelsäure (98%) und 0,05l ortho-Phosphorsäure (85 %) sowie 0,01l Wasserstoffperoxid (30%) in den Glaskolben zugegeben. Danach erfolgt der Aufschluss bei einer Temperatur von 380°C. Der Aufschluss wird so lange durchgeführt, bis die Probe eine Grünverfärbung aufweist. Anzumerken ist, dass die maximale Aufschlusszeit vier Stunden beträgt (Basche, 2006).

Nach dem Aufschluss erfolgt die Wasserdampfdestillation. Dazu werden 0,03l 3%ige Borsäure mit zwei Tropfen Tashiro-Indikator in einem Erlenmeyerkolben verlustfrei überführt und mit destilliertem Wasser auf 0,1l aufgefüllt. Anschließend wird die Aufschlussröhre mit dem aufgeschlossenen, abgekühlten Produkt in den Destillationsapparat eingespannt. In der Aufschlussröhre werden 0,05l Natriumhydroxid zugegeben und die Destillation in dem als Vorlage dienenden Erlenmeyerkolben gestartet. Die Geräteeinstellungen betragen Reagent Stufe 1 und Steam Stufe 5. Die Destillationszeit beträgt fünf Minuten (Basche, 2006).

Der letzte Schritt der Proteingehaltsbestimmung nach Kjeldahl ist die Titration. Dabei wird so lange mit 0,05 molarer Schwefelsäure titriert, bis die grüne Probenflüssigkeit im Erlenmeyerkolben einen violetten Farbumschlag aufweist. Anschließend wird mit folgenden Formeln zunächst der Gesamtstickstoffgehalt und danach der Proteingehalt rechnerisch ermittelt:

$$N_{\text{ges}} = \frac{a \cdot 0,14}{E}$$

$$P_{\text{ges}} = N_{\text{ges}} \cdot 5,7$$

(Basche, 2006)

3.3.6 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes

Der erste Schritt der Validierung ist die Herstellung der Probenlösung. Dazu wurden zunächst Sesamsamen in einem Mixer homogenisiert. Anschließend wurden eine 2ppm-, 1000ppm- und eine 15000ppm-haltige Lösung hergestellt, in dem die entsprechenden Massen an gemahlenden Sesamsamen in destilliertem Wasser suspendiert wurden. Die Suspensionszeit betrug zwei Minuten mit einem Edelstahlöffel. Danach wird nach Herstellerangaben der Schnelltest AgraStip Sesame für Spülwasserproben durchgeführt. Das Testprinzip beruht auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Die Antikörper sind in einem Inkubationsgefäß immobilisiert. Durch Zugabe der Sesamallergenproben (Antigene) kommt es zu einer Antigen-Antikörper-Reaktion, die auf einem Teststreifen eine Farbreaktion in Form eines roten Farbstreifens auslöst (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

4. Versuchsergebnisse

4.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen

In Tabelle 10 und 11 sind die ELISA-Analysenergebnisse der Tupferproben sowie der Endproduktproben dargestellt.

Direkt nach der Produktion der sesamhaltigen Salatkräutermischung wurde eine Sesamallergenkonzentration am Einlauftrichter von $1,180 \frac{mg}{100cm^2}$ bzw. $1,230 \frac{mg}{100cm^2}$ durch den ELISA nachgewiesen. Nach der folgenden Trockenreinigung konnte die Allergenkontamination um rund 94% reduziert werden. Die Sesamallergenkonzentration am Einlauftrichter betrug $0,075 \frac{mg}{100cm^2}$ bzw. $0,068 \frac{mg}{100cm^2}$, was in Tabelle 10 gezeigt wird.

In den Endproduktproben konnten höhere Sesamkonzentrationen nachgewiesen werden als auf den Tupferproben, was Tabelle 11 aufzeigt. Im Endprodukt, welches direkt zu Beginn der Produktion (Zeit = 0min) des Spülprodukts als Probe gezogen wurde, konnte eine mittlere Sesamallergenkonzentration von $573 \frac{mg}{kg}$ bzw. $<1000 \frac{mg}{kg}$ detektiert werden. Nach einer Spülzeit von 10min wurde eine höhere Sesamallergenkonzentration durch den ELISA nachgewiesen. Die Allergenkonzentration nach 10min Spülzeit betrug $1200 \frac{mg}{kg}$ bzw. $1810 \frac{mg}{kg}$. Ab einer Spülzeit von 30min wurden in den Endproduktproben des ersten Spülsilos nur noch Sesamallergene nachgewiesen, welche eine Konzentration kleiner als die Bestimmungsgrenze von $<2,5 \frac{mg}{kg}$ aufwiesen, wie in Tabelle 11 dargestellt wird.

Nach dem ersten Spülsilo wurde mit einem weiteren Silo (Silo 2) gespült. Das Silo 2 beinhaltete die gleiche Salatkräutermischung, wie Silo 1. In den ersten drei Endproduktproben des zweiten Silos zum Zeitpunkt 0 wurde die zweithöchste Sesamallergenkonzentration durch den ELISA nachgewiesen, was in Tabelle 11 dargestellt wird. Die Allergenkonzentration der Endverpackungsproben betragen $1360 \frac{mg}{kg}$ bzw. $1280 \frac{mg}{kg}$. Im Gegensatz dazu war die Sesamkonzentration des Rückstellmusters von der Charge des zweiten Silos kleiner als die Bestimmungsgrenze, was in Tabelle 11 abgebildet wird.

Im nachfolgenden Produkt konnte mittels PCR eine Sesamkonzentration von ca. $0,4 \frac{mg}{kg}$ festgestellt werden, wie Tabelle 11 aufzeigt.

Tab. 10: Sesamkonzentrationen vor und nach der Trockenreinigung des Einlauftrichters

	Konzentration M1 [mg/100cm²]	Konzentration M2 [mg/100cm²]
Tupfer nach Produktion Sesamhaltiger Salatkräutermischung	1,180	1,230
Tupfer nach Trockenreinigung Sesamhaltiger Salatkräutermischung	0,075	0,068
prozentuale Reduzierung [%]	93,64	94,47

Tab. 11: Sesamkonzentration in Abhängigkeit von der Spülzeit und Sesamkonzentration des Rückstellmusters und des nachfolgenden Produktes

Zeit [min]	Konzentration M1 [mg/kg]	Konzentration M2 [mg/kg]
0	573,0	<1000,0
10	1200,0	1810,0
20	<25	33,9
30	<2,5	<2,5
60	<2,5	<2,5
120	<2,5	<2,5
0 (Silo 2)	1360,0	1280,0
Rückstellmuster Silo 2	<2,5	<2,5
nachfolgendes Produkt	0,4	-

4.2 Entfernen von Hühnervolleipulver durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

In Tabelle 12 sind die Versuchsergebnisse des Versuchs Entfernen von Hühnervolleirückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion dargestellt.

Durch die Trockenreinigung konnte eine mittlere prozentuale Allergenreduzierung von 66,4% $\pm$ 8,3% beobachtet werden. In der ersten Durchführung der Trockenreinigung, wurde die geringste Trockenreinigungseffektivität von 54,5% bzw. 58,9% festgestellt, was in Tabelle 12 dargestellt wird. Bei dieser Durchführung konnten weiterhin die geringsten Hühnervolleikonzentrationen nach dem Mischen beobachtet werden. Im Gegensatz dazu wurde in Durchführung 2 nach dem Mischen die höchsten Hühnervolleipulverrückstände von $1510 \frac{\mu g}{25cm^2}$ bzw. $1460 \frac{\mu g}{25cm^2}$ durch den ELISA identifiziert. Durch die nachfolgende durchgeführte Trockenreinigung wurden 77% bzw. 76,5% der Hühnereiallergene entfernt, was die höchste Allergenreduzierung durch die Trockenreinigung der drei Durchführungen war. Wie in Tabelle 12 gezeigt wird, konnten nach der

Trockenreinigung in Durchführung 3 66,3% bzw. 65,3% der Hühnervolleipulverrückstände entfernt werden.

Bei den parallel durchgeführten Schnelltests konnten nach der Trockenreinigung positive Testergebnisse beobachtet werden, was in Tabelle 13 dargestellt wird. Daraus resultiert, dass eine Allergenkonzentration über $2\frac{\mu g}{25cm^2}$ detektiert wurde, was mit den Allergenkonzentrationen des ELISA korreliert (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

Durch die Nassreinigungen wurden höhere Konzentrationen an Hühnervollei entfernt als bei den Trockenreinigungen, was Tabelle 12 zeigt. Im Durchschnitt wurden durch die Nassreinigungen $96,8\% \pm 1,4\%$ der Hühnereirückstände entfernt. Die höchste Reinigungseffektivität konnte nach der Nassreinigung in Durchführung 3 festgestellt werden. Es konnten 98,1% bzw. 98,3% der Hühnereiallergene entfernt werden. In Durchführung 2 wurde nach der Nassreinigung eine höhere Hühnereikonzentration festgestellt als nach dem Mischen. Direkt nach dem Mischen betrug die Hühnereiallergenkonzentration $25,4\frac{\mu g}{25cm^2}$ bzw. $25,5\frac{\mu g}{25cm^2}$. Nach der Nassreinigung lag die Allergenkonzentration bei $38,9\frac{\mu g}{25cm^2}$ bzw. $38,3\frac{\mu g}{25cm^2}$.

Nach der Durchführung konnten bei allen drei durchgeführten Allergenschnelltests positive Testresultate festgestellt werden, wie in Tabelle 13 gezeigt wird. Dadurch ist wie nach dem Trockenreinigen die Hühnervolleikonzentration größer als $2\frac{\mu g}{25cm^2}$, was durch die quantitativen ELISA-Resultate in Tabelle 12 bestätigt wird (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

Die höchste Reinigungseffektivität der drei Reinigungsarten konnte bei der Desinfektion, die nach der Nassreinigung durchgeführt wurde, festgestellt werden. Die mittlere prozentuale Allergenreduzierung lag bei $99,5\% \pm 0,03\%$ (bezogen auf die Ausgangsallergenkonzentration), was in Tabelle 12 dargestellt wird. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass durch die Desinfektion im Durchschnitt die Allergenkonzentrationen im Vergleich zu den Allergenkonzentrationen nach den Nassreinigungen nochmals um 79,4% reduziert werden konnten.

Wie zuvor bei den Trocken- und Nassreinigungen zeigten die Hühnerei-Allergenschnelltests positive Testresultate an, was Tabelle 13 zeigt. Daraus ergibt sich eine Hühnervolleikonzentration von größer als $2\frac{\mu g}{25cm^2}$, was nicht mit den Resultaten des akkreditierten Labors in Tabelle 12 übereinstimmt (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

Zusammenfassend konnte in diesem Versuch beobachtet werden, dass die Desinfektion die höchste und die Trockenreinigung die geringste Reinigungseffektivität aufwiesen. Die Schnelltestergebnisse nach der Trocken- und Nassreinigung konnten von den ELISA-Ergebnissen

bestätigt werden. Im Gegensatz dazu wurden nach der Desinfektion falsch positive Testergebnisse durch den Schnelltest angezeigt.

Tab. 12: Reduzierung der Hühnervolleikonzentration durch Trocken-, Nassreinigung und Desinfektion

		Volleikonzentration [$\mu\text{g}/25\text{cm}^2$]		
		nach Produktion	nach Trockenreinigung	Reduzierung [%]
Durchführung 1	Messung 1	45,70	20,80	54,49
	Messung 2	46,70	19,20	58,89
Durchführung 2	Messung 1	1510,00	348,00	76,95
	Messung 2	1460,00	343,00	76,51
Durchführung 3	Messung 1	105,00	35,40	66,29
	Messung 2	101,00	35,10	65,25
Aritmetisches Mittel		544,73	133,58	66,39
Standardabweichung		665,43	149,98	8,30
		nach Produktion	nach Nassreinigung	Reduzierung [%]
Durchführung 1	Messung 1	100,00	4,53	95,47
	Messung 2	106,00	4,94	95,34
Durchführung 2	Messung 1	25,40	38,90	-
	Messung 2	25,50	38,30	-
Durchführung 3	Messung 1	31,20	0,60	98,09
	Messung 2	36,00	0,61	98,29
Aritmetisches Mittel		68,30	2,67	96,80
Standardabweichung		34,81	2,07	1,40
		nach Produktion	nach Desinfektion	Reduzierung [%]
Durchführung 1	Messung 1	100,00	0,60	99,40
	Messung 2	106,00	0,56	99,47
Durchführung 2	Messung 1	25,40	0,14	99,44
	Messung 2	25,50	0,15	99,42
Durchführung 3	Messung 1	31,20	0,17	99,46
	Messung 2	36,00	0,18	99,49
Aritmetisches Mittel		68,30	0,30	99,45
Standardabweichung		34,81	0,20	0,03

Tab. 13: Testresultate des Ei-Allergenschnelltestes

Trockenreinigung			
	Kontrolllinie	Testlinie	Interpretation
Durchführung 1	+	+	positiv
Durchführung 2	+	+	positiv
Durchführung 3	+	+	positiv
Nassreinigung			
	Kontrolllinie	Testlinie	Interpretation
Durchführung 1	+	+	positiv
Durchführung 2	+	+	positiv
Durchführung 3	+	+	positiv
Desinfektion			
	Kontrolllinie	Testlinie	Interpretation
Durchführung 1	+	+	positiv
Durchführung 2	+	+	positiv
Durchführung 3	+	+	positiv

4.3 Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

In Tabelle 14 sind die Versuchsergebnisse des Versuchs Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion dargestellt.

Tabelle 14 zeigt, dass nach der Trockenreinigung an beiden Messstellen negative Schnelltestresultate festgestellt werden konnten. Dementsprechend liegt die Glutenkonzentration unter der Nachweisgrenze.

Wie bei der Trockenreinigung festgestellt, konnte bei der Nassreinigung und Desinfektion bei allen Durchführungen unabhängig von der Messstelle negative Schnelltestresultate beobachtet werden. Somit ist auch bei diesen beiden Reinigungsmethoden die Glutenkonzentration unter der Nachweisgrenze.

Tab. 14: Qualitative Ergebnisse des Gluten-Schnelltestes nach einer Trocken-, Nassreinigung und Desinfektion

Reinigungsart	Durchführung	Messstelle 1			Messstelle 2		
		Kontrolllinie	Testlinie	Interpretation	Kontrolllinie	Testlinie	Interpretation
Trockenreinigung	1	+	-	negativ	+	-	negativ
Trockenreinigung	2	+	-	negativ	+	-	negativ
Nassreinigung	1	+	-	negativ	+	-	negativ
Nassreinigung	2	+	-	negativ	+	-	negativ
Desinfektion	1	+	-	negativ	+	-	negativ
Desinfektion	2	+	-	negativ	+	-	negativ

4.4 Validierung eines Gluten-Allergenschnelltestes

In Tabelle 15 sind die Validierungsergebnisse des Sesam-Allergenschnelltests dargestellt.

Es konnte festgestellt werden, dass bei allen durchgeführten Schnelltests die Kontrolllinie vorhanden war. Bei einer Glutenkonzentration von 0 bzw. 10ppm konnte keine Testlinie beobachtet werden, woraus ein negatives Testergebnis resultiert, wie Tabelle 15 aufzeigt.

Bei einer Glutenkonzentration von 30ppm konnte zusätzlich zur Kontrolllinie eine Testlinie beobachtet werden. Dadurch konnte ein positives Testergebnis festgestellt werden, was in Tabelle 15 dargestellt ist. Anzumerken ist, dass die rote Testlinie nur in schwacher Form zu erkennen war.

Tab. 15: Ergebnisse des Gluten-Allergenschnelltestes

Bezeichnung	Allergenkonzentration [mg/kg]	theoretisches Ergebnis	Schnelltestresultat		
			Kontrolllinie	Testlinie	Interpretation
Blindprobe	0	negativ	+	-	negativ
Konzentration unter Schwellenwert	10	negativ	+	-	negativ
Konzentration über den Schwellenwert	30	positiv	+	+	positiv

4.5 Bestimmung des Proteingehaltes von Weizenkleber

In Tabelle 16 sind die Versuchsergebnisse der Proteingehaltsbestimmung nach Kjeldahl eines Weizenklebers dargestellt.

Der analytisch ermittelte Proteingehalt des Weizenklebers beträgt im Durchschnitt $69 \pm 1\%$, wie in Tabelle 16 abgebildet ist. Ausgehend von den Proteingehalt 69% wird die Gluten-Suspension für die Validierung des Gluten-Schnelltestes hergestellt.

Tab. 16: Proteingehalt von Weizenkleber in Prozent

Messung	Einwaage [g]	Verbrauch [ml]	Proteingehalt [%]
1	0,5015	42,5000	68
2	0,5030	43,9900	70
3	0,5012	44,0300	70
Mittelwert [%]	-	-	69
Standardabweichung [%]	-	-	1

4.6 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes

In Tabelle 17 sind die Validierungsergebnisse des Sesam-Allergenschnelltests dargestellt.

Es konnte festgestellt werden, dass bei allen durchgeführten Teststreifen die Kontrolllinie vorhanden war, was Tabelle 17 aufzeigt. Weiterhin konnte beobachtet werden, dass 75% der Schnelltestergebnisse den Erwartungen entsprechen.

Bei einer Konzentration von 0ppm und 2ppm gemahlenen Sesam zeigte der Schnelltest keine Testlinie, sondern nur die Kontrolllinie an, was aufzeigt, dass bei dem Schnelltest kein Sesamallergen detektiert, werden konnte.

Bei einer Konzentration von 1000ppm gemahlenen Sesam wurde nach der Durchführung des Schnelltests auf dem Teststreifen die Kontroll- sowie die Testlinie festgestellt. Dies bedeutet, dass Sesamallergene im Detektionsbereich identifiziert wurden, woraus ein positives Testresultat resultiert, was Tabelle 17 zeigt.

Ein falsch-positives Testergebnis wurde bei einer Konzentration von 15000ppm gemahlenen Sesam beobachtet, was in Tabelle 17 dargestellt wird.

Tab. 17: Ergebnisse des Allergenschnelltestes im Vergleich zu den theoretischen Ergebnissen

Bezeichnung	Allergenkonzentration [mg/kg]	theoretisches Ergebnis	Schnelltestresultat		
			Kontrolllinie	Testlinie	Interpretation
Blindprobe	0	negativ	+	-	negativ
Konzentration unter Detektionsbereich	2	negativ	+	-	negativ
Konzentration im Detektionsbereich	1000	positiv	+	+	positiv
Konzentration über Detektionsbereich	15000	negativ	+	+	falsch-positiv

4.7 IST-Zustandsanalyse des Allergenmanagements der Zamek Food Solutions GmbH

4.7.1 Allergenpolitik und Präventionsteam

Das Allergenmanagement der Zamek Food Solutions GmbH ist ein Teil des HACCP-Konzeptes und wird vom HACCP-Team erstellt und aktualisiert. Das Team besteht aus Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Qualitätsmanagements, der Produktionsleitung, der Produktionsplanung, der Technik und der Produktentwicklung. Das Team hat Maßnahmen erstellt, die die Gefahr von Allergenkontaminationen reduzieren sollen. Bei der Zamek Food Solutions GmbH werden die kennzeichnungspflichtigen Allergene Krebstiere, Fische, Erdnüsse, Schalenfrüchte, Lupinen und Weichtiere ausgeschlossen. Berücksichtigt werden nur glutenhaltiges Getreide, Eier, Milch (einschließlich Laktose), Senf, Sojabohnen, Sellerie und Schwefeldioxid. Ausnahmen sind auf Kundenwunsch möglich und müssen mit einer gesonderten Risikoanalyse evaluiert werden. Schwefeldioxid wird nicht als Spur gekennzeichnet, da der Grenzwert von 10ppm nie überschritten wird (Basche, 2020; Basche, 2020).

Eine Ausnahme von der allgemeinen Allergenpolitik stellt das Allergen Sesamsamen dar. Dieses ist in einer Salatkräutermischung enthalten. Durch entsprechende Maßnahmen wird sichergestellt, dass das Allergen nicht in andere Produkte kreuzkontaminieren kann. Diese Maßnahmen sind u.a. eine getrennte Lagerung und Einweg-Big Bags. Nachfolgend abgepackte Produkte erhalten eine Allergenspurenkennzeichnung für Sesamsamen (Basche, 2020).

Zur Identifikation allergenhaltiger Rohstoffe wird von dem Qualitätsmanagement eine ständig aktualisierte Aufstellung aller allergenhaltigen Rohstoffe geführt, bei welcher die Rohstoffbezeichnung und die jeweiligen beinhalteten Allergene dokumentiert sind (Budig, 2020).

4.7.2 Allergenmonitoring

Eine Maßnahme des Allergenmanagements der Zamek Food Solutions GmbH besteht in der Durchführung eines Allergenmonitorings. Hierbei werden Produktproben bzw. Spülwasserproben nach definiertem Plan an ein externes akkreditiertes Labor zur Allergenuntersuchung geschickt. Die Überprüfung erfolgt hauptsächlich einmal pro Jahr. Die Untersuchungen konzentrieren sich dabei auf die sieben laut interner Allergenpolitik zugelassenen Allergene (glutenhaltiges Getreide, Milch (einschließlich Laktose), Sellerie, Senf, Sojabohnen und Schwefeldioxid) (Basche, 2020).

4.7.3 Personalhygiene

Das Risiko von Allergenkreuzkontaminationen kann aufgrund der Vielzahl von Rohstoffen, welche über die vorhandenen Anlagen verarbeitet werden, nicht ausgeschlossen werden, aber durch verschiedene Maßnahmen reduziert werden. Eine wesentliche Maßnahme stellt die Personalhygiene dar. Jeder neue Mitarbeiter, Dienstleister und Besucher erhält eine Belehrung über die Regeln der Personalhygiene. Diese werden in regelmäßig durchgeführten Schulungen immer wieder den Mitarbeitern verdeutlicht. Die Personalhygiene beinhaltet, dass die Arbeitskleidung von der privaten Kleidung räumlich zu trennen ist. Dazu werden jedem Mitarbeiter zwei Kleiderspinde zur Verfügung gestellt. Durch diese Maßnahme wird verhindert, dass neben Mikroorganismen und Fremdkörpern Allergene aus dem privaten Umfeld des Mitarbeiters in die Lebensmittelproduktion eingeführt werden. Weiterhin ist jeder Mitarbeiter dazu verpflichtet seine Arbeitskleidung regelmäßig (mind. einmal wöchentlich) zu wechseln und darauf zu achten, ob diese sauber ist. Bei sichtbaren Verunreinigungen der Arbeitsschuhe sind diese vor dem Betreten der Produktion gründlich zu reinigen bzw. die Arbeitskleidung zu wechseln. Eine weitere Maßnahme der Hygiene, um u.a. Allergenkreuzkontakte zu vermeiden, ist das Lagerverbot von Lebensmitteln in den Kleiderspinden (Drzewziecki, 2020).

Vor dem Betreten der Produktionsbereiche sind alle Mitarbeiter, Dienstleister und Besucher dazu verpflichtet, sich die Hände zu waschen und zu desinfizieren. Beim Transport von privaten Lebensmitteln durch bestimmte Bereiche der Produktion müssen diese in dicht verschlossenen Behältern transportiert werden. Das Verzehren von Lebensmitteln in der Produktion ist untersagt (Drzewziecki, 2020).

4.7.4 Produktion

Bei der Herstellung der Produkte sind zwingend die Herstellvorgaben einzuhalten. Dadurch wird verhindert, dass Allergene, welche in einem produzierten Lebensmittel nicht deklariert werden, auch in diesem nicht vorkommen. Weiterhin müssen alle Türen und Rolll Tore verschlossen sein, um die Gefahr von Allergenkreuzkontaminationen durch Aerosole zu minimieren. Um Kreuzkontaminationen weiterhin zu verhindern, existieren keine Kreuzpunkte von Fließbändern oder Rohleitungen. Weiterhin ist genaustens definiert, an welchen Punkten der Produktion Rework erfolgen darf. In der Endverpackung PG3 darf kein Rework erfolgen. Bei der Endverpackung PG5 ist Rework von Mischungen und Endprodukten erlaubt, wenn diese in hygienisch sauberen Behältern aufbewahrt wurden. Wenn Rework eingesetzt wurde muss dieser laut dem

Allergenmanagement der Zamek Food Solutions GmbH dokumentiert werden (Drzewziecki, 2020; Pirzkall, 2020).

In der Mischabteilung des Unternehmens existieren zwei Mischer, welche physisch voneinander getrennt positioniert sind. Im Mischer 1 werden ausschließlich Mischungen für glutenfreie Hühnerbrühwürfel hergestellt. Alle anderen Mischungen werden im Mischer 2 produziert. Durch das HACCP-Team wurde hier deshalb ein besonders hohes Risiko für Allergenkreuzkontaminationen identifiziert. Aufgrund dessen wird bei den an diesem Mischer hergestellten Produkten eine Spurenkennzeichnung auf der Endverpackung deklariert. Um den Kreuzkontakt zu minimieren, werden in einem separaten Raum die eingesetzten Rohstoffe vorverwogen. Zum Dosieren der Rohstoffe werden für allergenhaltige und nicht-allergenhaltige Rohstoffe unterschiedliche Schaufeln verwendet, welche durch eine unterschiedliche Farbcodierung eindeutig von den Mitarbeitern differenziert werden können. Weiterhin erfolgt bei jedem Produktwechsel und einmal wöchentlich eine Nassreinigung der Mischer und Hilfsmittel, wie Messer und Schaufeln. Des Weiteren wurde eine Produktreihenfolge festgelegt, um bei Produkten mit einem reduzierten Allergenspurenatz Allergenkreuzkontakte auszuschließen (Basche, 2020).

In der Endverpackung werden Allergenkreuzkontaminationen durch eine geschlossene Produktführung stark minimiert. Dennoch werden weitere Maßnahmen ergriffen. Angebrochene Gebinde müssen immer dicht verschlossen und gekennzeichnet werden. Bei Lagerung und Transport von Primärverpackungen muss darauf geachtet werden, dass diese vollständig verschlossen sind und dass die Schutzfolie erst bei der Verwendung entfernt werden darf. Um zu gewährleisten zu können, dass immer die korrekte Primärverpackung verwendet wird, kommt bei der Endverpackungslinie L17 auf Kundenwunsch ein Barcode-Reader zum Einsatz. Dieser prüft den Barcode jeder Primärverpackung. Dadurch wird eine mögliche Verwechslung von Primärverpackungen ausgeschlossen und dadurch auch die Gefahr einer fehlerhaften Allergenkennzeichnung. Um die fehlerfreie Funktionsweise des Barcode-Readers zu überprüfen, wird eine jährliche Verifizierung in Form eines Stresstests durchgeführt und dokumentiert (Basche, 2020; Drzewziecki, 2020; Krug, 2019).

Bei einem Produktwechsel in der Endverpackung wird eine Nassreinigung mit anschließender Desinfektion durchgeführt. Um eine Aerosolbildung und die damit möglicherweise einhergehende Allergenkontamination umliegender Bereiche zu vermeiden, ist die Verwendung von Druckluft nur an schwer zugänglichen Stellen genehmigt. Durch einen Abstand zwischen den einzelnen Verpackungsmaschinen wird weiterhin die Gefahr von Kreuzkontaminationen reduziert. Um eine

gründliche Reinigung zu gewährleisten, sind um die Verpackungsmaschinen genügend Freiräume vorhanden. Bei Produkten mit reduziertem Allergenspurenatz, sind definierte Produktionsreihenfolgen in aufsteigender Anzahl von Allergenen festgelegt (Basche, 2020; Drzewziecki, 2020).

4.7.5 Logistik

Um Allergenkontaminationen im Materiallager zu reduzieren, werden allergenhaltige Rohstoffe in einem durch ein Rollltor getrennten Raum separat von nicht-allergenhaltigen Rohstoffen aufbewahrt. Die Rohstoffe werden in dicht verschlossenen Gebinden gelagert und deutlich als allergenhaltig deklariert. Die Rohstoffe werden bodenfrei gelagert (Basche, 2020; Drzewziecki, 2020).

4.7.6 Allergenschulungen

Um das Bewusstsein und Aktualisierungen des Allergenmanagement bei den Mitarbeitern zu vermitteln, wird jährlich eine HACCP-Schulung durchgeführt, bei welcher auch auf die Problematik der Allergene eingegangen wird. Inhalt der Schulung ist die Nennung der in der EU deklarierungspflichtigen 14 Allergene, wobei deutlich hervorgehoben wird, welche Allergene bei der Lebensmittelproduktion der Zamek Food Solutions GmbH relevant sind, d.h. welche Allergene laut Allergenpolitik im Unternehmen verarbeitet werden. Weiterhin werden Maßnahmen geschult, welche das Risiko von Kreuzkontaminationen reduzieren sollen. Speziell wird auf Abweichungen der Allergenpolitik eingegangen. Bei den Abweichungen handelt es sich um die Produktion von glutenfreier und sesamhaltiger Lebensmittel sowie Lebensmittel mit reduziertem Allergenspurenatz (Basche, 2020).

5. Diskussion

5.1 Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen

Nach der Trockenreinigung des Einlauftrichters an der Endverpackungsanlage L51 konnte eine um rund 94% geringere Sesamallergenkonzentration festgestellt werden. Dies zeigt auf, dass die Trockenreinigung am Einlasstrichter eine hohe Effektivität aufweist. Die Auslösedosis ED_{01} für Sesamsamen beträgt 0,1mg Protein (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020). Bevor eine Trockenreinigung durchgeführt wurde, betrug die Allergenkonzentration $1,18 \frac{mg}{100cm^2}$ bzw. $1,23 \frac{mg}{100cm^2}$. Diese Konzentrationen liegen geringfügig über der ED_{01} . Daraus resultiert, dass bei Verbrauchern mit einer Sesamallergie höchstwahrscheinlich eine allergische Reaktion ausgelöst worden wäre (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020). Durch die anschließende Trockenreinigung wurde die Sesamallergenkonzentration auf $0,075 \frac{mg}{100cm^2}$ bzw. $0,068 \frac{mg}{100cm^2}$ reduziert. Diese Allergenkonzentration liegt unter der ED_{01} . Aufgrund dessen ist anzunehmen, dass bei 99% der Konsumenten mit einer Sesamallergie keine allergische Reaktion ausgelöst wird (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020).

Jackson und Al-Taher untersuchten 2010 die Effektivität unterschiedlicher Trockenreinigungsmethoden zum Entfernen von Allergenen. Eine dieser Methoden war das Trockenreinigen mit Vakuum. Es konnte festgestellt werden, dass durch die Verwendung von Vakuum alle sichtbaren Produktrückstände entfernt wurden. Jedoch zeigte sich, dass durch den ELISA bei allen untersuchten Allergenen positive Testresultate auf den Edelstahloberflächen nachweisbar waren (Jackson; Al-Taher, 2010). Nach der Trockenreinigung in dem Versuch dieser Arbeit konnte ebenfalls festgestellt werden, dass auf der Untersuchungsfläche keine sichtbaren Produktrückstände waren. Wie auch Jackson und Al-Taher (2010) festgestellt haben, konnten trotz einer visuell sauberen Oberfläche Allergenrückstände festgestellt werden. Dies bestätigt, dass eine visuelle Validierung nicht ausreichend ist, was auch Deibel et al. (1997) beschrieben haben.

Das Problem der durchgeführten Trockenreinigung in diesem Versuch ist, dass diese nur in abgeschwächter Form durchgeführt wird. Nicht alle produktberührenden Maschinenbauteile werden gründlich trockengereinigt, wodurch nicht ausgeschlossen werden kann, dass die Sesamkonzentration nach der Trockenreinigung in allen Bereichen der Anlage unter dem ED_{01} liegt. Dass die durchgeführte Trockenreinigung keine tatsächlich hohe Effektivität aufweist, zeigt sich an den Endproduktproben.

In der Endproduktprobe, die zu Beginn der sesamfreien Salatkräutermischung gezogen wurde, konnte eine Sesamallergenkonzentration von $573 \frac{mg}{kg}$ bzw. $>1000 \frac{mg}{kg}$ festgestellt werden. Verbraucher mit einer Sesamallergie erleiden bei Verzehr dieses Produkts höchstwahrscheinlich eine allergische Reaktion (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020). Für eine Portion werden jedoch nur rund 3g Salatkräutermischung benötigt. Somit sind in der Endproduktprobe zum Zeitpunkt 0min rund 1,7mg Sesamallergen enthalten (bezogen auf $573 \frac{mg}{kg}$ Sesamsamen). Aber auch diese Konzentration liegt über der Auslösedosis von 0,1mg Protein, wodurch ebenfalls bei Verbrauchern mit einer Sesamallergie höchstwahrscheinlich eine allergische Reaktion ausgelöst wird (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020). Bezogen auf die Actionlevels des VITAL-Konzeptes fällt die Allergenkonzentration in das Actionlevel 3. Aufgrund dessen sollte dieses Produkt laut dem VITAL-Konzept Sesamsamen als Zutat im Zutatenverzeichnis deklariert werden (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008).

Nach einer Spülzeit von 10 Minuten wurde eine höhere Allergenkonzentration als zum Beginn der Produktion festgestellt. Somit wurde die Auslösedosis ED_{01} deutlich überschritten und auch bei diesem Produkt sollte eine Deklaration der Sesamsamen als Zutat nach dem VITAL-Konzept erfolgen (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008). Die Erhöhung der Sesamallergenkonzentration nach einer Spülzeit von 10 Minuten war unerwartet. Eine mögliche Ursache für diesen Zustand wäre die heterogene Verteilung des Sesamallergens in der Anlage. Sesam wird bei der sesamhaltigen Salatkräutermischung als ganze Samen hinzugefügt. Es wäre möglich, dass sich Sesamsamen in der Anlage an einer Engstelle angesammelt haben und diese erst durch eine erhöhte Spülzeit und einer erhöhten Spülmasse von dieser gelöst haben. Somit wären Sesamsamen vom Zeitpunkt 0 Minuten möglicherweise in die Endproduktprobe nach 10 Minuten Spülzeit verpackt wurden.

Ab einer Spülzeit von 30 Minuten wurden Sesamallergenkonzentrationen in den Endproduktproben festgestellt, die kleiner als die Bestimmungsgrenze von $2,5 \frac{mg}{kg}$ waren. Bei diesen Endproduktproben liegen die Allergenkonzentrationen im Actionlevel 1 ($<2 \frac{mg}{kg}$) bzw. im Actionlevel 2 ($2-20 \frac{mg}{kg}$) (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008). Bei diesen Endprodukten müsste, wenn deren Sesamallergenkonzentration im Actionlevel 1 liegen würde, keine Spurenkennzeichnung erfolgen (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008). Da aber nicht mit Sicherheit ausgesagt werden kann, dass diese Konzentrationen im Actionlevel 1 liegen, sollte dennoch eine Spurenkennzeichnung nach Actionlevel 2 erfolgen (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008). Bezüglich der Auslösedosis ED_{01} ist auszusagen, dass nicht sicher

ausgesagt werden kann, ob die tatsächliche Allergenkonzentration unter 0,1mg Protein liegt, da der verwendete ELISA nicht exakt genug ist. Wenn eine Allergenkonzentration der Endproduktproben nach 30, 60 und 120 Minuten von $2,4 \frac{mg}{kg}$ angenommen wird, dann wären pro Portion (ca. 3g Produkt) 0,0072mg Sesamallergen enthalten, was deutlich unter der Auslösedosis von 0,1mg Protein liegt. Somit wären 99% der Verbraucher, die an einer Sesamallergie leiden, vor einer allergischen Reaktion geschützt. Da die genaue Allergenkonzentration dieser Proben nicht bekannt ist und selbst bei der Auslösedosis ED₀₁ noch bei einem Prozent der Verbraucher mit einer Sesamallergie eine allergische Reaktion ausgelöst werden kann, ist es empfehlenswert, die auf der Primär- und Sekundärverpackung deklarierte Spurenkennzeichnung für Sesamsamen nicht zu entfernen. Vor allem auch aus dem Grund, dass die tatsächliche Allergenkonzentration noch im Actionlevel 2 liegen könnte (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008; Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020).

Nachdem mit dem ersten Silo gespült wurde, wurde ein weiteres Silo mit gleichem Produkt endverpackt. Überraschenderweise konnte in der Endproduktprobe zum Zeitpunkt 0 Minuten eine erhöhte Sesamallergenkonzentration von $1360 \frac{mg}{kg}$ bzw. $1280 \frac{mg}{kg}$ analytisch nachgewiesen werden. Da bereits nach dem ersten Silo (reine Spülzeit von vier Stunden) die Sesamallergenkonzentration in den Endproduktproben unter der Bestimmungsgrenze lagen ist es unwahrscheinlich, dass diese erhöhte Allergenkonzentration, durch die zu Anfang produzierte, sesamhaltige Salatkräutermischung verursacht wurde. Ein möglicher Grund für die erhöhte Sesamkonzentration wäre eine Kreuzkontamination. Nachdem das Produkt im ersten Silo endverpackt wurde, wurde die Produktion für zwei Werkstage pausiert. Dadurch wäre es möglich, dass Sesamallergene aus dem umliegenden Bereich oder aus der Atmosphäre die Maschinenoberfläche kontaminiert haben. Dies ist aber wahrscheinlich auszuschließen, da nach der Endverpackung des Produkts aus dem ersten Silo der umliegende Bereich der Maschine gereinigt wurde. Durch den Reinigungsprozess könnten allergenhaltige Aerosole entstanden sein, die die Maschinenoberfläche kontaminiert haben. Da aber die Maschinenverkleidung beim Reinigen und während dem Stillstand verschlossen war, ist auch eine Kontamination durch allergenhaltige Umgebungsluft unwahrscheinlich.

Eine weitere mögliche Ursache wäre eine Kreuzkontamination durch den Silowagen. Für die sesamhaltige Salatkräutermischung werden keine separaten Silowagen verwendet. Nach der Verwendung des Silowagens wird dieser mit einem Besen trockengereinigt, um Sesamrückstände zu entfernen. Da mit einem Besen vermutlich nicht an allen Stellen ausreichend gereinigt werden kann, wäre es möglich, dass Sesamsamen in die sesamfreie Salatkräutermischung

kreuzkontaminiert sind. Da jedoch in der sesamhaltigen Salatkräutermischung ganze Samen enthalten sind und kein Pulver, existiert eine heterogene Allergenkontamination. Weiterhin ist es auch aufgrund der glatten Siloinnenoberfläche und der konischen Form unwahrscheinlich, dass Sesamsamen im Silowagen nach der Reinigung vorhanden waren. Der Einlauftrichter an der Endverpackungsanlage hat eine ähnliche Form, wie der konische Bereich des Silowagens. Bei diesem konnten nach der Trockenreinigung mit einem Vakuumsauger eine Sesamallergenkonzentration von $0,075 \frac{mg}{m^2}$ bzw. $0,068 \frac{mg}{m^2}$ nachgewiesen werden. Wenn von einer ähnlichen Reinigungseffektivität ausgegangen wird, ist es unwahrscheinlich, dass die erhöhte Sesamallergenkonzentration in der Endverpackungsprobe des zweiten Silos zum Zeitpunkt 0 durch den Silowagen verursacht wird. Dabei anzumerken ist jedoch, dass die Oberfläche des Einlauftrichters aus Edelstahl besteht und die des Silowagens aus Kunststoff. Jedoch sind Kunststoffoberflächen am schwierigsten zu reinigen, um Allergenrückstände zu entfernen (Bedford et al., 2020). Somit wäre es möglich, dass trotz einer visuell sauberen Siloinnenfläche Sesamrückstände vorhanden sind.

Weiterhin wäre eine mögliche Ursache für die erhöhte Sesamallergenkonzentration in der Endverpackungsprobe des zweiten Silos zum Zeitpunkt 0, dass bereits in der Salatkräutermischung eine erhöhte Sesamkonzentration vorhanden war. Die Salatkräutermischungen werden von einem externen Unternehmen gemischt und bei der Zamek Food Solutions GmbH verpackt. Möglicherweise wurde im Herstellerunternehmen zuvor ein sesamhaltiges Produkt gemischt und anschließend eine fehlerhafte Reinigung durchgeführt. Dadurch könnten Sesamallergene in das nachfolgende Produkt kreuzkontaminiert sein. Um dies zu überprüfen, wurde das Rückstellmuster der entsprechenden Charge auf Sesamsamen untersucht. Es konnte festgestellt werden, dass die Sesamkonzentration des Rückstellmusters unter der Bestimmungsgrenze von $2,5 \frac{mg}{kg}$ liegt. Dementsprechend konnte die in der Endverpackungsprobe festgestellte Sesamkonzentration von $1360 \frac{mg}{kg}$ bzw. $1280 \frac{mg}{kg}$ nicht bestätigt werden. Die erhöhte Sesamkonzentration im zweiten Silo könnte dennoch durch die Salatkräutermischung verursacht worden sein, da nicht sicher ausgesagt werden kann, ob vom Lager eine repräsentative Probe gezogen wurde. Des Weiteren werden die Salatkräutermischungen in einem BigBag angeliefert und in ein Silowagen umgefüllt. Durch den Umfüllvorgang kann es zu einer Entmischung kommen, wodurch sich die möglich vorkommenden Sesamsamen in einem Bereich angesammelt haben und anschließend endverpackt wurden.

Es kann nicht sicher ausgesagt werden, dass die erhöhte Sesamkonzentration in der Endverpackungsprobe des zweiten Silos zum Zeitpunkt 0 durch das externe Mischunternehmen verursacht, wurden ist. Die Möglichkeit besteht, dass durch die nicht getrennte Nutzung der

Silowagen für allergenhaltige Produkte es zu einer Kreuzkontamination gekommen ist. Aufgrund dessen kann empfohlen werden, dass für allergenhaltige Zwischenprodukte separate Silowagen verwendet werden, die dementsprechend gekennzeichnet sind. Somit wird verhindert, dass es zu Allergenkreuzkontaminationen kommen kann.

Im nachfolgend produzierten Produkt konnte mittels PCR-Analyse festgestellt werden, dass die Sesamkonzentration bei etwa 0,4ppm liegt. Diese Konzentration liegt unter dem Actionlevel 1 des VITAL-Konzeptes von 2ppm aber über der ED₀₁. Diese Konzentration zeigt auf, dass die durchgeführte Nassreinigung bei Produktwechsel hinsichtlich des Entferns von Sesamsamen erfolgreich war. Eine Spurenkennzeichnung für Sesamsamen muss nach dem VITAL-Konzept nicht erfolgen (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008).

Hinsichtlich der Trockenreinigungsart Spülen kann nicht sicher ausgesagt werden, dass eine Spülzeit von mind. 30 Minuten mit einem Produkt, welches Sesamsamen als Spur enthält, ausreicht, um eine Reduzierung der Sesamsamenkonzentration unter das Actionlevel 1 zu erreichen. Es bestünde die Möglichkeit anstatt mit einem nachfolgenden Produkt, welches Sesamsamen als Spur enthält, mit einem allergenfreien Produkt, wie Salz zu spülen (Food Drink Europe, 2013). Wenn die gleiche Reinigungseffektivität angenommen wird, könnte möglicherweise durch eine 30-minütige Spülzeit mit Salz o.Ä. eine Reduktion der Sesamkonzentration in das Actionlevel 2 bzw. 1 erreicht werden.

5.2 Entfernen von Hühnervolleipulver durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion

In diesem Versuch konnte festgestellt werden, dass durch die Trockenreinigungen rund 66±8% der Volleirückstände entfernt wurden. Im Vergleich zu den Nassreinigungen und Desinfektionen wurde eine um 31% bzw. 33% geringere Reinigungseffektivität festgestellt.

Weiterhin konnte festgestellt werden, dass die Reinigungseffektivität der Trockenreinigung höher war, wenn die Ausgangsallergenkonzentration höher ist. In Durchführung 2 wurde vor der Trockenreinigung eine Volleikonzentration von $1510 \frac{\mu g}{25 cm^2}$ bzw. $1460 \frac{\mu g}{25 cm^2}$ detektiert. Nach der Trockenreinigung betrug die Konzentration an Hühnervollei $348 \mu g / 25 cm^2$ bzw. $343 \mu g / 25 cm^2$. Dementsprechend wurden rund 77% der Eipulverrückstände entfernt. Im Gegensatz dazu betrug in Durchführung 1 vor der Trockenreinigung die Hühnervolleikonzentration $45,70 \frac{\mu g}{25 cm^2}$ bzw. $46,70 \frac{\mu g}{25 cm^2}$. Nach der anschließenden Trockenreinigung konnte eine Allergenreduzierung von lediglich 54% bzw. 59% festgestellt werden.

Bei der Nassreinigung konnte dies nicht festgestellt werden. In Durchführung 1 betrug die Volleikonzentration $100\frac{\mu g}{25cm^2}$ bzw. $106\frac{\mu g}{25cm^2}$. Nach der Nassreinigung betrug die Hühnervolleikonzentration $4,53\frac{\mu g}{25cm^2}$ bzw. $4,94\frac{\mu g}{25cm^2}$. Demnach wurden rund 95% der Eirückstände entfernt. In Durchführung 3 hingegen betrug die Hühnervolleikonzentration nach dem Mischen $31,20\frac{\mu g}{25cm^2}$ bzw. $36,00\frac{\mu g}{25cm^2}$. Nach der Nassreinigung konnten $0,60\frac{\mu g}{25cm^2}$ bzw. $0,61\frac{\mu g}{25cm^2}$ Vollei durch den ELISA detektiert werden. Dementsprechend wurden rund 98% der Hühnervolleirückstände entfernt. Im Gegenteil zur Trockenreinigung konnte bei der Nassreinigung unabhängig von der Ausgangsallergenkonzentration in etwa die gleiche Reinigungseffektivität festgestellt werden.

In den Versuchen von Bedford et al. (2020) konnte, wie in dieser Arbeit, festgestellt werden, dass Nassreinigungen eine höhere Reinigungseffektivität aufweisen als Trockenreinigungen. Im Unterschied zu den Versuchen in dieser Arbeit, wurden Eikristalle untersucht. Diese wurden mit einem trockenem Textiltuch bzw. Papiertuch entfernt. Bei allen beiden Trockenreinigungsmethoden konnten auf einer Edelstahlfläche positive Testergebnisse festgestellt werden (Bedford et al., 2020). Die Nachweisgrenze des Schnelltests, die Bedford et al. (2020) in ihren Versuchen verwendet haben, betrug $5\frac{\mu g}{25cm^2}$. Somit lagen die Eikonzentrationen über der Nachweisgrenze (Bedford et al., 2020). In den Versuchen dieser Arbeit betrugen die Volleikonzentrationen nach der Trockenreinigung im Durchschnitt 133,58 (Bedford et al., 2020) und lagen dabei ebenfalls deutlich über der Nachweisgrenze des Schnelltests von Bedford et al. (2020).

Jackson und Al-Taher untersuchten 2010 zwei verschiedene Trockenreinigungsarten zum Entfernen von Allergenrückständen, wie Volleipulver, auf verschiedenen Materialoberflächen. Verglichen wurde die Trockenreinigung mit einem Desinfektionstuch und mit Vakuum. Festgestellt werden konnte, dass nach der Trockenreinigung mit dem Desinfektionstuch auf der Edelstahloberfläche die Volleikonzentration unter der Nachweisgrenze von $\leq 5\frac{\mu g}{kg}$ lag (Jackson; Al-Taher, 2010). Somit wurden 99,5% des Volleipulvers mit dem Desinfektionstuch entfernt, wenn eine Volleikonzentration von $5\frac{\mu g}{kg}$ angenommen wird. Bei dem Trockenreinigen mit Vakuumsauger wurden auf allen Oberflächen positive Volleirückstände festgestellt (Jackson; Al-Taher, 2010). Bei der Trockenreinigung mit einer Kunststoffbürste in dieser Arbeit, wurde eine Reinigungseffektivität von $66\pm 8\%$ erzielt, die somit deutlich geringer als die Reinigungseffektivität des Desinfektionstuches in den Versuchen von Jackson und Al-Taher (2010) ist. Daraus kann resultiert werden, dass das Reinigen mit einem Desinfektionstuch deutlich

effektiver ist. Wenn in der Produktion der Zamek Food Solution GmbH eine Trockenreinigung durchgeführt wird und eine hohe Reinigungseffektivität bezüglich des Entfernens von Allergenrückständen erzielt werden möchte, sollte anstatt mit einer Kunststoffbürste ein Desinfektionstuch zum Trockenreinigen verwendet werden. Dabei anzumerken ist, dass nicht sicher ausgesagt werden kann, ob der von Jackson und Al-Taher (2010) verwendete ELISA auch denaturiertes Protein detektieren kann. Ein möglicher Nachteil eines Desinfektionstuch als Reinigungshilfsmittel zu verwenden, wären Eiweißfehler. Es muss sichergestellt werden, dass vor allem keine pathogenen Mikroorganismen auf der Maschinenoberfläche sind, damit diese nicht in denaturiertes Eiweiß umschlossen werden. Deswegen wäre eine Vortrockenreinigung mit einem Kunststoffbesen denkbar, um eine Vielzahl an Proteinen zu entfernen und um Eiweißfehler zu reduzieren. Anschließend könnte mit einem Desinfektionstuch gereinigt werden, um die Allergenkonzentration weiter zu reduzieren. Denn wie in den Versuchen dieser Arbeit ebenfalls gezeigt wurde, wies eine Desinfektion eine hohe Reinigungseffektivität auf.

Wang et al. untersuchten 2010 die Effektivität unterschiedlicher Nassreinigungsarten hinsichtlich des Entfernens von Gliadinrückständen. Es konnte festgestellt werden, dass nach dem ersten Spülvorgang mit Wasser (Temperatur zwischen 40 und 50°C) circa 94% der Gliadinrückstände entfernt wurden. Anschließend wurde mit Wasser und 1% Spülmittel gespült, wobei 99,97% des Gliadins von der Förderbandoberfläche entfernt werden konnte. Nach der anschließenden Desinfektion konnten keine Gliadinrückstände detektiert werden (Wang et al., 2010). Bei der Nassreinigung, die in dieser Arbeit durchgeführt wurde, konnten im Durchschnitt rund 97% der Hühnervolleirückstände entfernt werden. Die Reinigungseffektivität ist dadurch geringfügig höher als die des ersten Spülvorganges in der Studie von Wang et al. (2010). Ein möglicher Grund für die geringfügig höhere Reinigungseffektivität ist die Verwendung von Spülmittel bei der Nassreinigung dieser Arbeit. Nachdem die Forscher um Wang et al. (2010) mit Wasser und 1% Spülmittel gereinigt haben, war die Reinigungseffektivität um 3% höher als die Reinigungseffektivität dieser Arbeit. Diese Tatsache beruht wahrscheinlich darauf, dass im Gegensatz zu Wang et al. (2010) zuvor nicht mit Wasser gespült wurde und dadurch zuvor keine Allergene entfernt worden sind. Nach der Desinfektion konnten in dieser Arbeit 99,5% der Hühnervolleirückstände entfernt werden. Bei Wang et al. (2010) betrug die Reinigungseffektivität 100% und ist damit wieder geringfügig höher als die Reinigungseffektivität in dieser Arbeit, wobei anzumerken ist, dass in dieser Arbeit zuvor nur ein Reinigungsschritt erfolgte im Gegensatz zu Wang et al. (2010). Die geringfügigen Unterschiede zwischen der Nassreinigungseffektivität von Wang et al. (2010) und der Nassreinigungseffektivität dieser Arbeit, können auch durch die unterschiedlichen Allergene (Gluten und Hühnerei) verursacht worden sein.

Auch in den Versuchen von Stephan et al. (2004) konnte aufgezeigt werden, dass Nassreinigungen eine hohe Reinigungseffektivität aufweisen. In dieser Studie konnte festgestellt werden, dass bereits nach einem Vorreinigungsschritt keine Erdnuss- oder Sellerierückstände nachweisbar waren (Stephan et al., 2004). Dieses Ergebnis konnte bei den Nassreinigungen in dieser Arbeit nicht erzielt werden. Nach der Nassreinigung verblieben noch rund 3% des Hühnervolleipulvers im Mischbehälter. Erst nach einem weiteren Reinigungsschritt, der Desinfektion, betrug die Reinigungseffektivität 99,5%. Somit konnte im Mischbehälter nicht vollständig das Hühnervolleipulver entfernt werden, im Gegensatz zu den Versuchen von Stephan et al. (2004). Letztendlich unterscheiden sich die Ergebnisse von Stephan et al. (2004) und die Ergebnisse dieser Arbeit nur geringfügig. Die Unterschiede zwischen dem Versuch von Stephan et al. (2004) und dem Versuch dieser Arbeit können aufgrund der unterschiedlichen Reinigungsmethoden verursacht worden sein. Eine weitere Ursache könnten die unterschiedlichen allergenhaltigen Probenmaterialien sein.

In Durchführung 2 konnte nach der Nassreinigung eine höhere Allergenkonzentration festgestellt werden als nach dem Mischen. Dieses Ergebnis war unerwartet und stimmt nicht mit den Resultaten aus Durchführung 1 und 3 überein. Eine mögliche Ursache wäre, dass es während der Trocknungszeit zu einer Kreuzkontamination von Eiallergenen aus der Umgebungsluft kam. Weiterhin wurde das Entleeren des Mischbehälters nur durch Schwerkraft durchgeführt und nicht mit einem Hilfsmittel unterstützt. Somit ist es möglich, dass erhöhte Hühnervolleipulverrückstände in der Mischschüssel verblieben sind. Da in der Rührschüssel (anders als beim Mischer in der Produktion) keine Auslassöffnung existiert, wurde das Volleipulver während der Nassreinigung gelöst bzw. suspendiert. Somit wäre es möglich, dass nach dem Entfernen des Waschwassers noch Eirückstände verblieben sind. Zusammen mit einer Kreuzkontamination aus der Umgebungsluft könnte dadurch die höhere Allergenkonzentration zu erklären sein. Weiterhin könnte es zu einer Kreuzkontamination durch die verwendete Schablone gekommen sein. Diese wurde nach jedem Misch- und Reinigungsvorgang gereinigt, um eine Kreuzkontamination auszuschließen. Es wäre möglich, dass nach dem Mischvorgang die Schablone mangelhaft gereinigt wurde und dadurch Eiallergene auf die gereinigte Mischbehälterinnenfläche kreuzkontaminiert sind.

Bei den Versuchen mit den Ei-Allergenschnelltests konnte festgestellt werden, dass nach der Desinfektion positive Testresultate angezeigt wurden. Die Nachweisgrenze der verwendeten Schnelltests beträgt $2 \frac{\mu g}{25 cm^2}$ Vollei (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019). Die vom akkreditierten Labor ermittelten Volleikonzentrationen waren nach der Desinfektion deutlich

geringer als $2\frac{\mu g}{25cm^2}$. Daraus resultiert, dass der Schnelltest falsch positive Ergebnisse angezeigt hat. Eine mögliche Ursache für die falsch positiven Testergebnisse könnte das ethanolhaltige Desinfektionsmittel sein. Bei dem vom akkreditierten Labor verwendeten ELISA kann nicht sicher ausgesagt werden, ob der Antikörper denaturierte Proben eindeutig erkennt. Es wäre möglich, dass auch durch Alkohol denaturierte Antigene nicht vollständig erfasst werden. Im Gegensatz dazu detektiert der Schnelltests auch denaturierte Antigene (Feindt, 2021). Aufgrund dessen wäre es möglich, dass der Schnelltest eine höhere Antigenkonzentration als der ELISA detektiert hat. Außerdem wäre es möglich, dass das Ethanol die Messungen negativ beeinflusst hat. Weiterhin wäre es möglich, dass Eiallergene mit Bestandteilen oder Lösungen, wie der Extraktionslösung, kreuzkontaminiert wurden. Um dies auszuschließen, wurde deshalb eine Blindprobe mit destilliertem Wasser durchgeführt. Jedoch wurde ein negatives Testresultat festgestellt. Dementsprechend kann ausgeschlossen werden, dass es zu einer Kreuzkontamination kam. Vor allem auch aus dem Grund, dass die Schnelltests in einem separaten geschlossenen Raum und unter einer Abzugshaube durchgeführt wurden.

In diesem Versuch sollte weiterhin überprüft werden, ob nach dem jeweiligen Reinigungsschritt die Produktsicherheit hinsichtlich einer Allergenkontamination gewährleistet ist. Zur Beurteilung wird die ED_{01} des VITAL-Konzeptes verwendet. Die Auslösedosis ED_{01} für Ei beträgt 0,2mg Protein (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020). Bereits nach der Produktion konnte festgestellt werden, dass die Hühnervolleikonzentration unter der ED_{01} liegt. Ausgenommen davon ist Durchführung 2 des Trockenreinigungsversuches. Nach dem Mischen konnte eine Volleikonzentration von $1510\frac{\mu g}{25cm^2}$ bzw. $1460\frac{\mu g}{25cm^2}$ festgestellt werden. Dementsprechend sind die Allergenkonzentrationen um das 7,6- bzw. 7,3-fache höher als die ED_{01} . Durch die Trockenreinigung konnte die Konzentration an Hühnervollei nicht unter die ED_{01} gesenkt werden. Die Konzentrationen betrugen $348\frac{\mu g}{25cm^2}$ bzw. $343\frac{\mu g}{25cm^2}$ und sind damit um rund 43% bzw. 42% höher als die Auslösedosis ED_{01} . Daraus resultiert, dass bei Verbrauchern, die an einer Hühnereiallergie leiden, höchstwahrscheinlich eine allergische Reaktion ausgelöst wird. Bei allen anderen Versuchen wurde die ED_{01} unterschritten unabhängig von der Reinigungsart, wobei dennoch allergische Reaktionen bei Verbrauchern mit einer Hühnereiallergie ausgelöst werden können (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020).

Bei der Zamek Food Solutions GmbH existiert zum Zeitpunkt der Arbeit nur ein Produkt, welches Hühnereigelbpulver enthält. Da der Versuch mit reinem Hühnervolleipulver durchgeführt wurde und bereits nach der Produktion (ausgenommen Durchführung 2 des Trockenreinigungsversuches) die ED_{01} unterschritten wurde, ist anzunehmen, dass für die Mehrzahl an Verbrauchern mit einer

Hühnereiallergie keine Gefahr hinsichtlich einer allergischen Reaktion bei Verzehr des Zamek-Produktes besteht (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020). Auch aus dem Grund, dass die Portionsgröße dieses Produkts nur 3g beträgt und dadurch geringfügige Massen an Hühnereieigelpulver verzehrt werden. Außerdem ist die Allergenität von Hühnereigelb geringer als die Allergenität von Eiweiß (Metcalf, 1985). Jedoch ist anzumerken, dass trotz der Unterschreitung der ED_{01} noch schwere allergische Reaktionen bei Verbrauchern ausgelöst werden können, wenn sie an einer Hühnereiallergie leiden (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020).

Abschließend ist auszusagen, dass, wie von Jackson, Al-Taher (2010) und Bedford et al. (2020) ebenfalls festgestellt wurde, trotz optisch sauberen Oberflächen eine Allergenkontamination nicht sicher ausgeschlossen werden kann.

Zusammenfassend ist auszusagen, dass die festgestellte Reinigungseffektivität der Trocken-, Nassreinigung und Desinfektion denen der Literatur ähneln. Unterschiede können vor allem durch geringfügig unterschiedliche Reinigungsparameter und durch verschiedene Allergene verursacht worden sein. Die Testergebnisse der parallel durchgeführten Schnelltests stimmen bei der Trocken- und Nassreinigung mit den Ergebnissen des ELISA überein. Nur bei der Desinfektion wurden falsch positive Ergebnisse identifiziert, die wahrscheinlich durch das alkoholhaltige Desinfektionsmittel verursacht worden sind. Außerdem wurde nur mit einer Ausnahme bei allen Versuchen die ED_{01} unterschritten und somit die Produktsicherheit hinsichtlich Hühnereiallergene für eine Mehrzahl an Verbrauchern mit einer Hühnereiallergie gewährleistet (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020).

5.3 Entfernen von Gluten durch Trocken-, Nassreinigung und Desinfektion

In diesem Versuch sollte die Reinigung nach der Produktion eines glutenhaltigen Produkts validiert werden. In der Gesamtmischung ist der Glutengehalt kleiner als 20ppm. Da aber der Aufwand und die Zeit bei der Reinigung minimiert werden sollen, in dem von einer Nassreinigung auf eine Trockenreinigung vor der Produktion eines Produktes ohne Glutenspurenkennzeichnung umgestellt wird, sollte überprüft werden, ob nach einer Reinigung das Gluten unter den Grenzwert von 20ppm reduziert wird.

Es konnte festgestellt werden, dass sowohl nach der Trockenreinigung als auch nach der Nassreinigung und der folgenden Desinfektion die Gluten-Schnelltest negativ waren. Dementsprechend ist die Glutenkonzentration auf der Mischerinnenfläche kleiner als 20ppm.

Anzumerken ist, dass die Schnelltests fehlerhaft durchgeführt wurden. Der Durchführungsfehler wurde mit dem Schnelltesthersteller besprochen und diskutiert. Bei Tupferproben soll aufgrund der Nachweisgrenze von $4\frac{\mu g}{25cm^2}$ auf die Marke 5 auf dem Verdünnungsgefäß verdünnt werden. In den Versuchen wurde jedoch auf die Marke 20 verdünnt. Dadurch hat sich die Nachweisgrenze auf $20\frac{\mu g}{25cm^2}$ verschoben, wenn von einer linearen Verdünnung ausgegangen wird. Wenn keine lineare Verdünnung vorliegen würde, könnte die Nachweisgrenze auch geringfügig höher sein als $20\frac{\mu g}{25cm^2}$. Die festgestellten Schnelltestresultate sind nicht falsch. Nur liegt die Konzentration an Gluten bei einem positiven Testresultat nicht mehr $\geq 4\frac{\mu g}{25cm^2}$, sondern bei $\geq 20\frac{\mu g}{25cm^2}$. Da bei allen Durchführungen unabhängig von der Messstelle und Reinigungsart negative Testresultate erzielt wurden, wurde der gesetzliche Grenzwert nach VO 43/2009 (2009) von 20ppm nicht überschritten (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

Wang et al. (2010) untersuchten drei verschiedene Nassreinigungsarten hinsichtlich des Entfernens von Gliadinrückständen. Nachdem mit warmen Wasser gespült wurde, betrug die mittlere Gliadinkonzentration 2,37ppm. Anschließend wurde mit Wasser und 1% Spülmittel gereinigt, wobei die Gliadinkonzentration auf 0,01ppm reduziert werden konnte. Nach der Desinfektion konnten keine Gliadinrückstände nachgewiesen werden (Wang et al., 2010). Die Resultate von Wang et al. (2010) konnten auch bei den Versuchen dieser Arbeit festgestellt werden. Nach der Nassreinigung war bei allen Durchführungen der Gluten-Schnelltest negativ und dementsprechend die Glutenkonzentration kleiner als 20ppm, was bei den Versuchen von Wang et al. (2010) ebenfalls festgestellt werden konnte. Auch nach der Desinfektion konnten negative Schnelltestergebnisse festgestellt werden. Bei Wang et al. (2010) betrug die Gliadinkonzentration nach dem Reinigungsschritt „Desinfizieren und Spülen mit Wasser“ 0ppm und lag damit auch, wie bei den Versuchen in dieser Arbeit, unter 20ppm.

Bedford et al. (2020) untersuchten verschiedene Trocken- und Nassreinigungsarten hinsichtlich des Entfernens von Milch-, Ei-, und Erdnussrückständen auf unterschiedlichen Materialoberflächen. Die Trockenreinigung wurde mit einem trockenen Textil- und Papiertuch durchgeführt. Die Nassreinigungen erfolgten mit einem nassen Textilwasser und Spülmittel sowie mit einem nassen Textiltuch mit Desinfektionsmittellösung. Weiterhin wurden eine Desinfektion mit einem Desinfektionstuch durchgeführt. Nach der Trockenreinigung wurde auf allen Oberflächen bei allen allergenhaltigen Produkten positive LFD-Testresultate festgestellt (Bedford et al., 2020). Dies konnte nach der Trockenreinigung bei Versuchen in dieser Arbeit nicht festgestellt werden. Bei allen drei Durchführungen konnten negative Schnelltestresultate beobachtet werden. Ein möglicher Grund für diese Unterschiede ist die unterschiedliche

Nachweisgrenze des Gluten-Schnelltests dieser Arbeit und des LFD-Schnelltests von Bedford et al. (2010). Bei dem Gluten-Schnelltest wurde auf den Schwellenwert 20ppm untersucht. Die Nachweisgrenzen der LFD-Tests von Bedford et al. (2010) waren geringer. Dadurch detektieren die LFD-Tests schon kleine Massen an allergenhaltigem Material und zeigen ein positives Testergebnis an. Weiterhin wurden bei den Versuchen von Bedford et al. (2010) Untersuchungsproben verwendet, die einen hohen Anteil an Allergenen aufweisen. Beispielsweise wurden Erdnussbutter, Magermilchpulver und Mayonnaise verwendet. In der allergenhaltigen Mischung, die in dieser Arbeit verwendet worden ist, war die Allergenkonzentration geringer. Außerdem wurden unterschiedliche Trockenreinigungsmethoden verwendet (Bedford et al., 2020). Bei der Nassreinigung und Desinfektion in den Versuchen von Bedford et al. (2010) konnten bei der Erdnussbutter, beim Magermilchpulver, bei höheren Konzentrationen an Frischkäse, bei Vollmilch und bei Eikristallen positive LFD-Testergebnisse festgestellt werden (Bedford et al., 2020). Bei der Nassreinigung und Desinfektion der glutenhaltigen Curryinstantsoßenmischung dieser Arbeit konnten keine positiven Schnelltestergebnisse erzielt werden. Wie auch bei der Trockenreinigung könnten mögliche Gründe für die unterschiedlichen Testergebnisse die Nachweisgrenzen der Schnelltests sein. Auffällig an den Ergebnissen von Bedford et al. (2010) ist, dass vor allem bei nassen bzw. viskosen Produkten, wie Erdnussbutter und Frischkäse positive Testresultate festgestellt wurden (Bedford et al., 2020). Dies könnte eine weitere Ursache für die unterschiedlichen Testergebnisse zwischen der Studie von Bedford et al. (2010) und dieser Arbeit sein. Das glutenhaltige Pulver wies eine geringe Haftung an der Mischerinnenwand auf. Dadurch war es leichter diese zu entfernen. Es ist vorstellbar, dass die viskosen Produkte eine höhere Adhäsion aufweisen als das glutenhaltige Pulver und dadurch schwieriger zu entfernen sind. Auch die unterschiedlichen Nassreinigungsarten können die unterschiedlichen Testergebnisse hervorrufen. Wahrscheinlich kann durch das Spülen mit Wasser und Spülmittel eine höhere Reinigungseffektivität erreicht werden als das Reinigen mit einem nassem Textiltuch. Dies zeigen auch die Versuche von Stephan et al. (2004). Bei diesen Versuchen konnten bereits mit dem Vorreinigungsschritt mit Wasser alle Erdnuss- und Sellerierückstände entfernt werden (Stephan et al. 2004).

Jackson und Al-Taher untersuchten 2010 die Effektivität von zwei Trockenreinigungsarten hinsichtlich des Entferns von Allergenrückständen. Hierfür wurden die Trockenreinigungen mit einem Desinfektionstuch und mit Vakuum verglichen. Bei der Trockenreinigung mit einem Desinfektionstuch konnten, wie bei den Trockenreinigungen dieser Arbeit negative Testresultate für alle allergenhaltigen Produkten festgestellt werden (Jackson; Al-Taher, 2010). Bei der Trockenreinigung mit einem Vakuumsauger konnten, im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser

Arbeit, hauptsächlich positive Testresultate festgestellt werden (Jackson; Al-Taher, 2010). Dies zeigt auf, dass die Reinigungen mit einem Desinfektionstuch und eine Trockenreinigung mit einem Besen bzw. mit einer Bürste effektiv sind. Anzumerken dabei ist, dass die Ausgangsallergenkonzentration bei den Versuchen von Jackson und Al-Taher (2010) höher waren, wodurch ein erhöhter Reinigungsaufwand vorlag als bei den Trockenreinigungen in dieser Arbeit. Außerdem war die Bestimmungsgrenze des ELISA von Jackson und Al-Taher (2010) niedriger als die Nachweisgrenze des Schnelltests, wodurch die Trockenreinigung mit einem Desinfektionstuch die Allergenkonzentration stärker verringern konnte. Ob die Effektivität der Reinigung mit einem Vakuumsauger tatsächlich geringer ist als die Reinigung mit einem Besen oder einer Bürste kann nicht sicher ausgesagt werden, da nur qualitative Untersuchungen durchgeführt wurden.

Abschließend ist auszusagen, dass sowohl die Trockenreinigung als auch die Nassreinigung und Desinfektion erfolgreich waren, die Glutenrückstände aus dem Mischerinnenraum zu entfernen. Da die Nachweisgrenze des Schnelltests unter der ED_{01} von Gluten (0,7mg Protein) liegt, kann ausgesagt werden, dass 99% der Verbraucher mit einer Weizenallergie o.Ä. keine allergische Reaktion erleiden. (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020) Somit konnte gezeigt werden, dass nach einer Trockenreinigung der Instantcurrysoßenmischung das Produkt hinsichtlich dem Allergen Gluten sicher ist.

5. 4 Validierung eines Gluten-Allergenschnelltestes

Bei der Validierung der Gluten-Allergenschnelltests konnte festgestellt werden, dass alle Schnelltestergebnisse den zu erwartenden theoretischen Ergebnissen entsprechen. Somit konnte gezeigt werden, dass die Schnelltests funktionieren und korrekte Resultate anzeigen.

Der Gluten-Allergenschnelltest soll bei der Zamek Food Solutions GmbH zur betrieblichen Eigenkontrolle z.B. nach der Reinigung einer glutenhaltigen Instantcurrysoße eingesetzt werden, um sicherzustellen, dass Glutenrückstände in kein anderes Produkt kreuzkontaminieren. Ein solches Produkt wäre z.B. eine Instantkräutersoße, bei welcher keine glutenhaltige Zutat verarbeitet ist, sowie Gluten nicht als Spur gekennzeichnet wird.

Nach der VO (EG) 41/2009 kann ein Lebensmittel als glutenfrei deklariert werden, wenn der Grenzwert von 20ppm Gluten nicht überschritten wird. Nach den Actionlevels des VITAL-Konzeptes muss Gluten nicht als Spur gekennzeichnet werden, wenn dessen Konzentration kleiner als 20ppm beträgt (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008). Bei den in dieser Arbeit validierten Schnelltest kann auf drei verschiedene Schwellenwerte (5, 10, 20ppm) untersucht werden. Wenn

als Schwellenwert 20ppm gewählt wird, dann korreliert der Schnelltest mit den gesetzlichen Vorgaben der VO (EG) 41/2009 und mit den Actionlevel 1 des VITAL-Konzeptes. Dies gilt jedoch nur, wenn Produktproben untersucht werden. Wenn Tupferproben zur Schnelltestanalyse verwendet werden, dann beträgt die Nachweisgrenze $4 \frac{\mu g}{25 cm^2}$ (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019). Der Nachteil an dieser Nachweisgrenze ist, dass nur ein negatives Testresultat eine eindeutige Aussage über den Allergenstatus zulässt. Dies bedingt jedoch einen unverhältnismäßig hohen Reinigungsaufwand. Aufgrund dessen ist die Verwendung des Schnelltestes in der Variante der Tupferproben nicht empfehlenswert für den Reinigungsnachweis bei der Zamek Food Solutions GmbH.

Bei einer Glutenkonzentration von 30ppm konnte eine schwache rote Testlinie beobachtet werden. Eine solche schwache Linie tritt vor allem dann auf, wenn die Glutenkonzentration gleich dem Schwellenwert 20ppm ist (Feindt, 2021). Demnach hat der Teststreifen eine um 10ppm geringere Allergenkonzentration angezeigt. Dies könnte wahrscheinlich durch die Probenlösung verursacht worden sein. Das Gluten löste sich schlecht in Wasser. An der Becherglaswand konnten Glutenrückstände festgestellt werden. Dadurch war eine etwas geringere Glutenkonzentration in der Lösung suspendiert, wodurch der Schnelltest eine etwas geringere Allergenkonzentration anzeigt.

Aufgrund der niedrigen Nachweisgrenze des Schnelltestes eignet sich dieser nicht zur Reinigungskontrolle der Zamek Food Solutions GmbH, weil die Anforderung eines geringen Reinigungsaufwandes nicht erfüllt werden. Der Gluten-Schnelltests kann dennoch eingesetzt werden, um Analysenkosten zu reduzieren, wenn anstatt Tupferproben Produktproben analysiert werden, da ein definierter Schwellenwert festgelegt werden kann. Da einer dieser einstellbaren Schwellenwerte dem gesetzlichen Grenzwert für glutenfreie Lebensmittel und den Actionlevels des VITAL-Konzeptes von 20ppm entsprechen, eignet sich dieser Schnelltest, um direkte Aussagen über die Produktsicherheit treffen zu können (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008; VO (EG) 41/2009, 2009).

Ein Gluten-Schnelltests kostet 16,22€ (nach aktuellem Preisangebot speziell für die Zamek Food Solutions GmbH). Eine quantitative Allergenuntersuchung mittels ELISA kostet 67€ (nach aktuellem Preisangebot speziell für die Zamek Food Solutions GmbH). Dementsprechend könnten durch die Verwendung des Gluten-Schnelltests 76% der Kosten für die Glutenuntersuchung reduziert werden. Ein weiterer Vorteil wäre, dass innerhalb kurzer Zeit das Testresultat ersichtlich ist und aufgrund dessen bei einem positiven Testresultat sofortige Maßnahmen ergriffen werden

können. Somit können für die im Allergenmonitoring festgelegten Glutenuntersuchungen die Analysenkosten reduziert werden.

Ein Nachteil ist, dass die Auslösedosis ED_{01} deutlich unter dem Actionlevel 1 und unter dem Grenzwert der VO (EG) 41/2009 liegt. Dadurch kann mit einem negativem Testresultat nicht sicher ausgesagt werden, ob der ED_{01} -Wert von 0,7mg unterschritten wird und dadurch auch nicht, ob die Mehrheit der Verbraucher mit einer Zöliakie o.Ä. eine allergische Reaktion erleiden. Dadurch wäre es nach den Referenzwerten des VITAL-Konzeptes wahrscheinlich empfehlenswert, eine Spurenkennzeichnung für Gluten zu deklarieren (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008; Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020).

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass der untersuchte Schnelltest die zu erwartenden Ergebnisse anzeigt und somit die erwartete Funktionalität aufweist. Bei der Verwendung eines auf den Schwellenwert 20ppm eingestellten Schnelltest für Produktproben kann bei einem negativen Testresultat sicher ausgesagt werden, dass nach dem VITAL-Konzept keine Spurenkennzeichnung bei dem nachfolgenden Produkt erfolgen muss, sowie dass ein nachfolgendes Produkt als „glutenfrei“ gekennzeichnet werden könnte (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008; VO (EG) 41/2009, 2009). Einziger festgestellter Nachteil ist, dass bei einem negativen Testresultat nicht sicher ausgesagt werden kann, dass auch der ED_{01} -Wert von 0,7mg unterschritten ist (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020). Der Schnelltest in Form von Tupferproben wäre, für den bei der Zamek Food Solutions GmbH beabsichtigten Einsatz, ungeeignet.

5. 5 Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes

Bei der Schnelltestvalidierung konnte festgestellt werden, dass drei von vier Schnelltestergebnissen das theoretische Testergebnis widerspiegeln. Nur bei der Konzentration an gemahlenden Sesamsamen über der oberen Detektionsgrenze von 10000ppm konnte ein falsch positives Testergebnis festgestellt werden. Nach Rücksprache mit Romer Labs Deutschland GmbH ist die obere Detektionsgrenze von 10000ppm ein Hinweis an die durchführende Person, dass zu beachten ist, dass eine Detektionsobergrenze existiert, die ab 10000ppm beginnen kann. Dabei anzumerken ist, dass die Konzentration von 10000ppm Sesam ein Richtwert ist. Es ist möglich, dass es erst ab höheren Konzentrationen zum Hook-Effekt kommen kann. Dadurch wäre es möglich, dass auch bei höheren Sesamkonzentrationen ein positives Testergebnis entstehen kann. Weiterhin sind nach der Romer Labs Deutschland GmbH die Teststreifen hauptsächlich zum Detektieren von Allergenspuren spezialisiert und nicht zum Nachweis von hohen Allergenkonzentrationen (Feindt, 2021; Romer Labs Division Holding GmbH, 2019).

Da die obere Detektionsbereichsgrenze nur ein Richtwert ist, es theoretisch bei einer Sesamallergenkonzentration von 15000ppm noch Produktrückstände auf der Maschinenoberfläche deutlich visuell wahrnehmbar wären und im unteren Detektionsbereich die theoretischen Testergebnisse durch den Teststreifen widerspiegelt wurden, kann ausgesagt werden, dass der Schnelltest korrekte Resultate anzeigt.

Die Schnelltests sollen bei der Zamek Food Solutions GmbH den Reinigungserfolg untersuchen und aufzeigen, ob die durchgeführte Reinigung das zuvor festgelegte Ergebnis erzielt hat. Als Untersuchungsmedium soll die Maschinenoberfläche dienen. Aufgrund dessen wären Tupferproben auf ihren Allergehalt qualitativ mittels des Schnelltestes untersucht. Die Nachweisgrenze des Schnelltests für Tupferproben liegt bei 5µg pro untersuchte Fläche. Die obere Detektionsbereichsgrenze liegt bei etwa 10000ppm. Dadurch ergibt sich bei einem positiven Schnelltestergebnis eine Allergenkonzentration von 0,005mg bis 10000mg pro untersuchte Fläche (Romer Labs Division Holding GmbH, 2019). Ein Problem an diesem großen Intervall ist, dass bei einem positiven Schnelltestergebnis nicht ausgesagt werden kann, ob die tatsächliche Allergenkonzentration unter der Auslösedosis ED₀₁ bzw. unter dem Actionlevel 1 liegt. Dadurch kann nicht sichergestellt werden, ob die tatsächliche Allergenkonzentration bei Verbrauchern mit einer Sesamallergie eine allergische Reaktion auslöst bzw. ob das Allergen Sesamsamen als Spur gekennzeichnet werden sollte (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008; Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020). Bei einem positiven Testergebnis sollte aus Verbraucherschutzgründen eine Spurenkennzeichnung erfolgen. Da das Sesamsamenallergen bei der Zamek Food Solutions GmbH ausgeschlossen wird und in keinem der Produkte, die nach den Salatkräutermischungen produziert werden als Spur gekennzeichnet werden darf, muss der Schnelltest ein negatives Ergebnis anzeigen. Wenn ein positives Schnelltestergebnis angezeigt wird, müsste entweder erneut gereinigt werden und der Schnelltest wiederholt werden oder zusätzlich ein Tupfer für die quantitative Allergenuntersuchung im akkreditierten Labor abgestrichen werden.

Der große Detektionsbereich könnte weiterhin speziell bei der Zamek Food Solutions GmbH problematisch sein, weil das Ziel der Allergenuntersuchung dieser Arbeit ist, zu überprüfen, welche Effektivität unterschiedliche Reinigungsmethoden hinsichtlich des Entfernens von Allergenrückständen aufweisen. Hintergrund der Untersuchungen ist, dass Zeit und Aufwand bei den Reinigungen reduziert werden sollen, in dem z.B. von einer Nassreinigung auf eine Trockenreinigung umgestellt wird. Voraussetzung dafür wäre, dass die Produktsicherheit gewährleistet ist. Wenn als kritische Allergenkonzentration der Schwellenwert des Actionlevels 1 durch die Zamek Food Solutions angewendet wird, dann wären die untersuchten Schnelltests aufgrund ihrer niedrigen Nachweisgrenze ungeeignet, da die Allergenkonzentration des

Actionlevels 1 400mal so hoch wäre, wie die Nachweisgrenze des Schnelltests. Dadurch wäre theoretisch ein größerer Reinigungsaufwand und somit auch eine größere Reinigungszeit notwendig, damit der Schnelltest ein negatives Testergebnis anzeigt. Ein positives Testergebnis wäre nicht akzeptabel, da die Allergenkonzentration theoretisch deutlich über die des Actionlevels 3 liegen könnte (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008).

Abschließend ist zu erwähnen, dass aufgrund der einfachen Durchführbarkeit und der geringen Analysenzeit der Allergenschnelltest eine geeignete Maßnahme zur Überprüfung des Reinigungserfolgs hinsichtlich des Entferns von Allergenrückständen darstellt.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass der Allergenschnelltest korrekt funktioniert, wenn die Allergenkonzentration von 10000ppm nicht überschritten wird. Im Gegensatz zum Gluten-Allergenschnelltest kann nicht auf einen gesetzlich festgelegten Grenzwert bzw. auf einen Schwellenwert des VITAL-Konzeptes untersucht werden. Da aber die Nachweisgrenze des Sesam-Allergenschnelltests unter der Allergenkonzentration des Actionlevels 1 und unter der ED₀₁ liegt, ist bei einem negativen Schnelltestergebnis die Produktsicherheit hinsichtlich der Allergene gewährleistet (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008; Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020). Jedoch könnte aufgrund der niedrigen Nachweisgrenze der Schnelltest bei der Zamek Food Solution GmbH ungeeignet sein.

5.6 IST-Zustandsanalyse Allergenmanagement der Zamek Food Solutions GmbH

5.6.1 Allergenpolitik und Präventionsteam

Die in der Literatur beschriebenen Inhalte eines Allergenmanagement spiegeln sich im Allergenmanagement der Zamek Food Solutions GmbH wider.

Nach Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) ist es essenziell ein Präventionsteam zu bilden, um ein Allergenmanagement aufzubauen. Dieses sollte aus unterschiedlichen Unternehmensbereichen zusammengestellt werden. Bei der Zamek Food Solutions GmbH ist das Allergenmanagement Teil des HACCP-Konzeptes. Das HACCP-Team bildet das Allergenpräventionsteam, welches aus den Bereichen Qualitätsmanagement, Produktionsleitung, Technik und Produktentwicklung besteht. Dadurch ist gewährleistet, dass das Team genaueste Kenntnisse über die Produktion und Rohstoffe verfügt (Basche, 2020).

Abschließend ist festzustellen, dass das Allergenmanagement aus vielen verschiedenen Arbeits- und Verfahrensbeschreibungen sowie Risikoanalysen besteht, welche in unterschiedlichen Ordnern gespeichert sind. Zur Übersichtlichkeit wird empfohlen eine einzige Datei oder einen

einzigsten Ordner zu erstellen, in welchem alle für das Allergenmanagement relevanten Dateien gespeichert sind.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass, wie von Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008), bei der Zamek Food Solutions GmbH ein Präventionsteam aus verschiedenen Unternehmensbereichen aufgestellt wurde (Basche, 2020). Dieses Team erstellt Risikoanalysen und Präventionsmaßnahmen, um die Gefahr von Allergenen zu lenken. Die Risikoanalysen sollten dabei nach Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) Fließdiagramme beinhalten, was auch der Zamek Food Solutions GmbH zu empfehlen ist, da durch Fließdiagramme die Verarbeitung allergenhaltiger Rohstoffe anschaulich und übersichtlich dargestellt werden. Weiterhin ist sofort erkennbar, welche Verarbeitungsbereiche kritisch zu bewerten sind (Deibel et al., 1997).

5.6.2 Produktion

Auch im Bereich der Produktion der Zamek Food Solutions GmbH werden die in der Literatur beschriebenen Inhalte eines Allergenmanagement angewendet.

Es existieren viele verschiedene Formen, wie Allergene in ein Lebensmittel gelangen können. Ein großes Problem stellt dabei die Form der Kreuzkontamination dar. Aufgrund dessen müssen Präventionsmaßnahmen erstellt werden, die das Risiko einer Kreuzkontamination verringern (Deibel et al., 1997). Durch eine gute Personalhygiene werden Allergenkontaminationen verringert (Food Drink Europe, 2013). Bei der Zamek Food Solution GmbH existieren strenge Hygieneauflagen für alle Mitarbeiter, wie z.B. das Lagerverbot von privaten Lebensmitteln in der Produktion und das verunreinigte Arbeitskleidung umgehend zu wechseln ist. Dadurch wird soll sichergestellt werden, dass u.a. Allergene in die Produktionsbereiche kreuzkontaminieren (Drzewziecki, 2020).

Auch durch Rework können nach Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) Allergenkreuzkontaminationen auftreten. Aufgrund dessen sollte der Grundsatz immer nur Produkte mit denselben Allergenen als Rework zuzugeben eingehalten werden. Bei der Zamek Food Solutions GmbH ist Rework nur in bestimmten Fällen erlaubt und wird dokumentiert (Pirzkall, 2020).

Eine weitere Maßnahme, um Allergenkontaminationen zu verringern, ist die Produktion von allergenhaltigen Produkten in separaten Produktionsräumen oder Anlagen (Jackson et al., 2008). Dies kann bei der Zamek Food Solution GmbH nicht angewendet werden. Lediglich in der

Mischabteilung wurde für eine glutenfreie Brühe ein separater und räumlich getrennter Mischer verwendet, um die Brühe zu mischen. Um Allergenkontaminationen zu verhindern, werden die Anlagen nach der Produktion eines allergenhaltigen Produkts nassgereinigt (Basche, 2020). Um eine einfache Reinigbarkeit zu gewährleisten, sollten sich z.B. Fließbänder nicht kreuzen (Deibel et al., 1997). Bei der Zamek Food Solutions GmbH existieren keine solcher Kreuzungspunkte. Außerdem ist neben den Produktionsanlagen ausreichend Freiraum, um eine gute Reinigbarkeit zu gewährleisten. Wenn eine Trockenreinigung durchgeführt wird, ist die Verwendung von Druckluft nur an schwer zugänglichen Stellen genehmigt, um allergenhaltige Aerosole zu vermeiden (Drzewziecki, 2020). Dies wird ebenfalls von Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) empfohlen.

Nach Deibel et al. (1997) und nach der Food Drink Europe (2013) wird empfohlen Reinigungen analytisch zu validieren. Dies wird bei der Zamek Food Solutions GmbH durch das Allergenmonitoring jährlich durchgeführt und im Rahmen dieser Arbeit spezifischer untersucht (Basche, 2020).

Während der Endverpackung wird nach Deibel et al. (1997) und nach der Food Drink Europe (2013) empfohlen durch beispielsweise Barcode-Scannern zu überprüfen, ob die korrekte Rezeptur oder das korrekte Etikett verwendet wird, um eine fehlerhafte Allergenkennzeichnung zu verhindern. Diese müssen regelmäßig verifiziert werden (Deibel et al., 1997). Bei der Zamek Food Solutions GmbH wird nur an einer Anlage auf Kundenwunsch ein Barcode-Scanner eingesetzt und einmal jährlich durch einen Stresstest verifiziert (Basche, 2020, Krug, 2019). An den anderen Anlagen werden keine Barcode-Scanner o.Ä. zur Überprüfung, ob das korrekte Etikett verwendet wird, eingesetzt. Weiterhin wird empfohlen Barcode-Scanner auch in der Produktion einzusetzen, um zu überprüfen, ob die korrekten Zutaten verarbeitet werden (Food Drink Europe, 2013). Dies wird bei der Zamek Food Solutions GmbH nicht durchgeführt. Bei der Zamek Food Solutions GmbH soll anstatt von Barcode-Scanner sämtliche Produktionsparameter, wie Artikelnummer des zu abpackenden Produkts und Etiketten nach dem „Vier-Augen-Prinzip“ überprüft werden. Bei diesem Prinzip überprüft der Maschinenführer und ein weiterer Maschinenmitarbeiter die kritischen Produktionsparameter und unterzeichnen die Korrektheit dieser. Durch die Maßnahme wird ebenfalls verhindert, dass beispielsweise ein fehlerhaftes Etikett und somit eine fehlerhafte Allergenkennzeichnung verursacht werden. Jedoch wurde diese Maßnahme noch nicht eingeführt (Müller, 2021).

Bei Wartungsarbeiten in der Produktion wird von Deibel et al. (1997) und nach Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) beschrieben, dass dafür verwendetes Werkzeug nur für definierte

Produktionsanlagen verwendet werden darf oder Werkzeuge nach Verwendung gereinigt werden müssen (Deibel et al., 1997, Food Drink Europe, 2013). Bei der Zamek Food Solutions GmbH werden im Allergenmanagement Werkzeuge als Kreuzkontaminationspunkte nicht berücksichtigt. Für mehrere Anlagen werden dieselben Werkzeuge verwendet.

Nach Deibel et al. (1997) ist die Produktionsplanung ein wichtiger Baustein des Allergenmanagements. Allergenhaltige Produkte sollten immer erst nach allergenfreien Produkten hergestellt werden. Bei der Zamek Food Solutions GmbH sind bei Produkten mit reduziertem Allergenspurenatz eine definierte Produktionsreihenfolge in aufsteigender Allergenanzahl festgelegt (Basche, 2020).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass viele in der Literatur beschriebenen Inhalte eines Allergenmanagements im Bereich der Produktion bei der Zamek Food Solutions GmbH angewendet werden. Aber es konnten auch Unterschiede bei der Handhabung von Barcode-Scannern und Werkzeugen identifiziert werden. Um eine Allergenkreuzkontaminationen sicher ausschließen zu können sollten pro Produktionsanlage ein Werkzeugwagen o.Ä. (Deibel et al., 1997, Food Drink Europe, 2013). bereitgestellt werden. Barcode-Scanner im Bereich der Endverpackung können fehlerhafte Etiketten und Verpackungen und dadurch eine falsche Allergenkennzeichnung identifizieren. Der Einsatz von Barcode-Scannern in der Mischabteilung ist empfehlenswert, da nach Allergenkontaminationen vor allem durch menschliches Versagen auftreten (Deibel et al., 1997, Food Drink Europe, 2013).

5.6.3 Logistik

Die von Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) beschrieben Inhalte eines Allergenpräventionsplans bezüglich der Logistik spiegeln sich im Allergenmanagement der Zamek Food Solutions GmbH wider. Nach Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) werden die Präventionsmaßnahmen der Logistik in zwei Teile gegliedert. Der erste Teil bildet die betriebsinterne Logistik. Lieferanten bilden den zweiten Teil (Deibel et al., 1997; Food Drink Europe; 2013; Jackson et al., 2008). Bei der Zamek Food Solutions werden lediglich Präventionsmaßnahmen für die betriebsinterne Logistik und das externe Materiallager getroffen. Gegenwärtig finden keine Auditierungen von Lieferanten statt (Basche, 2020).

Die Präventionsmaßnahmen, die in der Literatur geschildert werden, umfassen eine separate Lagerung von allergenhaltigen Rohstoffen und dessen deutliche Kennzeichnung (Deibel et al., 1997; Food Drink Europe; 2013; Jackson et al., 2008). Diese Präventionsmaßnahmen werden bei

der Zamek Food Solution GmbH umgesetzt. Allergenhaltige Rohstoffe werden deutlich gekennzeichnet und in einem separaten und räumlich getrennten Bereich des Materiallagers aufbewahrt (Basche, 2020).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass die betriebsinternen Allergenpräventionsmaßnahmen der Logistik den Literaturempfehlungen von Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) entsprechen. Um das Allergenmanagement im Bereich der Logistik zu vervollständigen sollten, wie nach Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) empfohlen, auch Lieferantenauditierungen durchgeführt werden. Dabei sollten vor allem die Präventionsmaßnahmen der Lieferunternehmens, um Allergenkontaminationen zu verhindern, überprüft werden (Jackson et al., 2008).

5.6.4 Allergenschulungen

In den Schulungen sollten Allergene und dessen Symptome definiert und anschaulich dargestellt werden sowie die Mitarbeiter spezifisch für ihren Arbeitsplatz geschult werden sollten (Deibel et al., 1997; Food Drink Europe, 2013; Jackson et al., 2008). Bei der Zamek Food Solutions GmbH werden Mitarbeiter spezifisch für ihren Arbeitsplatz geschult (Basche, 2020). Eine Definition von Allergenen und dessen Symptomen werden in der Allergenschulung der Zamek Food Solutions GmbH nicht durchgeführt. Bei der Allergenschulung werden die 14 von der EU deklarierungspflichtigen Allergene und die bei der Zamek Food Solutions GmbH relevanten Allergene vorgehoben (Basche, 2020).

Weiterhin sollten in Allergenschulungen Präventionsmaßnahmen genannt und erklärt werden (Deibel et al., 1997). In der Allergenschulung der Zamek Food Solutions GmbH werden ebenfalls Präventionsmaßnahmen kurz erläutert. Des Weiteren wird auf die jeweiligen Arbeits- und Verfahrensanweisungen gewiesen, in welchen die Mitarbeiter genauere Erläuterungen zu den Präventionsmaßnahmen erhalten (Basche, 2020). Ausführlichere Arbeitsverfahren werden nicht erläutert.

Im Vergleich zu Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) zeigten sich bei den Allergenschulungen der Zamek Food Solutions GmbH Unterschiede. Die Präventionsmaßnahmen werden nicht ausführlich genug erläutert. Das zeigt sich beispielsweise darin, dass nicht erläutert wird, wie Etiketten ordnungsgemäß gewechselt werden sollten. Auch auf medizinische Fakten zu Allergenen, wie Symptome, wird nicht eingegangen. Des Weiteren werden den Mitarbeitern keine Informationen vermittelt, die aufzeigen, welche Auswirkungen ein Allergen auf den menschlichen Körper verursachen kann und was man unter einem Allergen versteht. Aufgrund dessen sollte die Allergenschulung erweitert werden und vor allem die

Präventionsmaßnahmen genauer geschult werden sowie die möglichen Risiken einer Allergie anschaulich aufgezeigt werden (Deibel et al., 1997).

6. Zukünftiges Allergenmonitoring

Das aktuell bestehende Allergenmanagement und -monitoring bezieht sich auf die aktuelle Produktion der Zamek Food Solutions GmbH. Einen genauen Ablaufplan für neu eingeführte Produkte existiert nicht. Aufgrund dessen sollte in dieser Arbeit ein solcher Plan in Form eines Entscheidungsbaumes angefertigt werden. Um bei neuen Produkten zu verhindern, dass ungewünschte Allergenkontaminationen auftreten, soll der im Anhang 1 dargestellte Entscheidungsbaum verwendet werden. Mithilfe dieses Entscheidungsbaumes kann ein neues Produkt in die aktuell bestehende Produktion der Zamek Food Solution GmbH eingegliedert werden, ohne die Produktsicherheit hinsichtlich Allergene zu gefährden.

Der Entscheidungsbaum besteht aus drei Hauptästen. Der erste Hauptast beinhaltet die Allergene, die in der Allergenpolitik der Zamek Food Solutions GmbH berücksichtigt werden. Dieser Hauptast wird unterteilt in zwei weitere Äste. Wenn das neu eingeführte Produkt an der Endverpackungsanlage L17 endverpackt werden soll, muss weiterhin berücksichtigt werden, ob das Produkt zusätzlich Ei und/oder Gluten beinhaltet. Grund dafür ist, dass an dieser Endverpackungsanlage aktuell Instantsoßen abgepackt werden, bei denen eine reduzierte Spurenkennzeichnung für Ei und Gluten deklariert wird. Wenn Ei und/oder Gluten in dem neuen Produkt verarbeitet sind, dann muss die Produktionsreihenfolge eingehalten werden. Dabei gilt, dass zuerst die Produkte endverpackt werden, die keine Ei- und/oder Gluten-Spurenkennzeichnung oder Zutat aufweisen. Gleiches gilt für die Mischabteilung PG4. An einem Beispiel erklärt muss, bevor die glutenhaltige Instantcurrysoße gemischt oder endverpackt wird, die Instantkräutersoße (besitzt kein Gluten als Zutat bzw. Spur) verarbeitet werden (Basche, 2020). Nach jedem Produktwechsel muss eine Trockenreinigung erfolgen. Eine Nassreinigung ist nicht erforderlich, da eine vorangegangene Validierung zeigte, dass nach einer Trockenreinigung die Konzentrationen an Ei und Gluten im Actionlevel 1 liegen. Wenn die Produktion des neuen Produktes nicht an der L17 endverpackt werden soll, dann ist die Produktion freigegeben, da bei nachfolgenden Produkten der komplette Allergenspurenatz der Allergenpolitik gekennzeichnet ist. Aufgrund dessen ist ebenfalls nur eine Trockenreinigung notwendig.

Der zweite Hauptast berücksichtigt Allergene, die von der Allergenpolitik der Zamek Food Solutions GmbH ausgeschlossen werden. Eine Ausnahme bildet dabei das Allergen Sesamsamen. Da dieses in dieser Arbeit validiert wurde, muss, wenn nur dieses Allergen in dem neuen Produkt

bzw. zusätzlich die Allergene der Allergenpolitik enthalten sind, mit einem allergenfreien Produkt für 30 Minuten gespült werden. Wenn das Produkt keine Sesamsamen oder ein weiteres von der Allergenpolitik ausgeschlossenes Allergen beinhaltet, dann muss eine Reinigungsvalidierung durchgeführt werden. Gleiches gilt für den dritten Hauptast. Dieser beinhaltet verschiedene Szenarien, die auftreten könnten. Wenn beispielsweise das neue Produkt als glutenfrei gekennzeichnet wird oder Senf als Zutat und Spur ausgeschlossen wird, dann muss eine Reinigungsvalidierung durchgeführt werden. Das Ziel der Validierung ist, dass die Allergenkonzentration unter dem gesetzlichen Grenzwert bzw. im Actionlevel 1 des VITAL-Konzeptes liegt.

Da der dieser Entscheidungsbaum für die aktuelle Produktion der Zamek Food Solutions GmbH erstellt wurde, muss dieser genau wie das Allergenmanagement bei neuen Produkten erweitert bzw. aktualisiert werden.

In dieser Arbeit wurden einmalig für die drei Allergene Ei, Gluten und Sesamsamen Reinigungsvalidierungen durchgeführt. Um diese zu verifizieren, sollten bei einer Produktumstellung bzw. nach der Reinigung das erste Produkt auf das jeweilige bzw. auf die jeweiligen ausgeschlossenen Allergene quantitativ untersucht werden und mit den gesetzlichen Vorgaben bzw. mit dem VITAL-Konzept verglichen werden.

Weiterhin sollten die in der Arbeit durchgeführten Validierungen wiederholt werden, um deren aktuelle Richtigkeit zu überprüfen und bei Abweichungen Maßnahmen ergriffen werden, um die Gefahr einer Allergenkontamination zu verhindern (Food Drink Europe, 2013).

Die untersuchten Schnelltests können die Anforderung der Kostenreduzierung während der Reinigung aufgrund der geringen Nachweisgrenzen für die Variante der Tupferproben nicht erfüllen. Bei einem positiven Testergebnis kann nicht ausgesagt werden, ob die tatsächliche Allergenkonzentration unter der ED_{01} oder im Actionlevel 1 liegt. Bei einer Fehleinschätzung könnte die Verbrauchersicherheit gefährdet sein. Der Gluten-Schnelltest eignet sich, um Analysenkosten zu reduzieren.

7. Zusammenfassung

Ziel der Arbeit war die Validierung der Reinigungen in der Mischabteilung und Endverpackung zum Entfernen von Ei-, Gluten- und Sesamsamenrückständen. Gleichzeitig sollten unterschiedliche Reinigungsmethoden hinsichtlich ihrer Effektivität Allergene zu entfernen verglichen werden. Weiterhin wurden Allergen-Schnelltests zur betrieblichen Reinigungskontrolle validiert. Außerdem wurde eine Ist-Zustandsanalyse des Allergenmanagements der Zamek Food Solutions GmbH durchgeführt.

Im Allergenmanagement der Zamek Food Solutions GmbH spiegelten sich die von Deibel et al. (1997), Food Drink Europe (2013) und Jackson et al. (2008) beschriebenen Inhalte eines Allergenmanagement wider. Es konnten im Bereich der Logistik und bei den Allergenschulungen Abweichungen identifiziert werden. Geschlussfolgert werden konnte, dass Lieferantenauditierungen durchgeführt werden und in der HACCP-Schulung spezifischer auf die Problematik der Allergene und Präventionsmaßnahmen eingegangen werden sollte (Deibel et al. 1997; Food Drink Europe 2013; Jackson et al., 2008).

Die Trockenreinigungsmethode des Spülens zeigte eine hohe Reinigungseffektivität auf. Bereits nach einer Spülzeit von 30 Minuten konnte die Sesamkonzentration um 99,8% bzw. 99,9% reduziert werden. Jedoch konnte festgestellt werden, dass, nachdem ein Silowagenwechsel erfolgte, die Sesamkonzentration über 1000ppm betrug. Als mögliche Ursache wurde eine fehlerhafte Reinigung im Mischunternehmen oder im Silowagen in Betracht gezogen. Aufgrund dessen wurde geschlussfolgert, dass sesamhaltige Salatkräutermischungen in getrennten Silowagen gelagert werden und anstatt mit Produkt, mit einem allergenfreien Rohstoff (wie Salz) gespült werden sollte.

Durch die Trockenreinigungsmethode „Ausbürsten“, durch die Nassreinigungsmethode des Spülens mit Wasser, sowie durch eine Desinfektion konnten die Hühnervolleipulverrückstände deutlich verringert werden. Die Desinfektion zeigte die höchste Reinigungseffektivität gefolgt von der Nassreinigung auf. Bei der Trockenreinigung konnten $66 \pm 8\%$ der Hühnereirückstände entfernt werden. Bei dem parallel durchgeführten Ei-Allergenschnelltest konnten nach der Desinfektion falsch-positive Testresultate, möglicherweise verursacht durch das ethanolhaltige Desinfektionsmittel, identifiziert werden.

Bei der Validierung einer Reinigung zum Entfernen von Rückständen einer glutenhaltigen Instantcurrysoße konnte festgestellt werden, dass sowohl nach der Trockenreinigung als auch nach der Nassreinigung und Desinfektion die Allergenschnelltests negative Testresultate aufzeigen.

Dementsprechend lag die Konzentration an Gluten unter der Nachweisgrenze und dadurch auch unter dem gesetzlichen Grenzwert von 20ppm (VO (EG) 41/2009, 2009). Die angewendeten Trockenreinigungs- und Nassreinigungsmethoden sowie die Desinfektion erwiesen sich als effektiv.

Bei der Validierung der Allergenschnelltests konnte im Allgemeinen festgestellt werden, dass diese die erforderliche Funktionalität aufweisen. Lediglich bei der Validierung des Sesam-Allergenschnelltests wurde festgestellt, dass der Schnelltest bei einer Sesamkonzentration von über 10000ppm nicht wie erwartet ein negatives Testresultat aufzeigt. Jedoch ist anzumerken, dass die obere Detektionsbereichsgrenze ein Richtwert ist (Feindt, 2021). Aufgrund der geringen Nachweisgrenze der Schnelltests bei Tupferproben eignen sich die Schnelltests nicht für die Reinigungskontrolle bei der Zamek Food Solutions GmbH. Lediglich der Gluten-Schnelltest kann verwendet werden, um die Analysenkosten für Gluten zu reduzieren.

Wenn neue allergenhaltige Produkte in die Produktion der Zamek Food Solutions GmbH eingeführt werden, soll der in dieser Arbeit erstellte Entscheidungsbaum angewendet werden. Dieser zeigt auf, an welchen Stellen der Produktion das Produkt optimal eingegliedert werden kann, ohne eine Allergenkontamination zu verursachen bzw. welche Maßnahmen ergriffen werden müssen, um eine Allergenkontamination zu vermeiden.

8. Literaturverzeichnis

Allergene. Allergieinformationsdienst. 6. Juni 2019. [Zugriff am: 9. März 2021, 13:59], Verfügbar unter: <https://www.allergieinformationsdienst.de/immunsystem-allergie/allergene.html>

Allergien. gesund.bund.de. 28. August 2020 [Zugriff am: 15. Februar 2021, 15:04], Verfügbar unter: <https://gesund.bund.de/allergien>

Alvarez, P. A.; Boye, J. I.: Food Production and Processing Considerations of Allergenic Food Ingredients: A Review. Journal of Allergy [online]. 2012, Band 2012 [Zugriff am: 16. März 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1155/2012/746125>

Basche, P.: Allgemeines Allergenmonitoring ab 01-2020. Dresden: Zamek Food Solutions GmbH, 2020

Basche, P.: HACCP-Konzept. Version 31. Dresden: Zamek Food Solutions GmbH, 2020

Basche, P.: Analysenvorschrift: Bestimmung des Gesamtstickstoff- bzw. Eiweißgehaltes nach Kjeldahl. Version vom 01.09.2006. Dresden: Zamek Nahrungsmittel Dresden GmbH, 2006.

Basche, P.: Schulung: Verhalten an CCPs und zu qualitäts- und sicherheitsrelevanten Punkten. Version 6. Dresden: Zamek Food Solutions GmbH, 2020

Basche, P.: Verfahrensbeschreibung: Allergenmanagement. Version 11. Dresden: Zamek Food Solutions GmbH, 2020

Bedford, B.; Liggans, G.; Williams, L.; Jackson, L.: Allergen Removal and Transfer with Wiping and Cleaning Methods Used in Retail and Food Service Establishment. Journal of Food Protection [online]. Juli 2020, Band 83 (7), 1248-1260 [Zugriff am: 16. Februar 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.4315/JFP-20-025>

Bergmann, K-C.; Heinrich, J.; Niemann, H.: Current status of allergy prevalence in Germany: Position paper of the Environmental Medicine Commission of the Robert Koch Institute. Allergo Journal International [online]. Februar 2016, Band 25, 6-10 [Zugriff am: 07. Mai 2021] Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1007/s40629-016-0092-6>

Beyer, K.; Grishina, G.; Bardnia, L.; Sampson, H. A.: Identification of 2 new sesame seed allergens: Ses i 6 and Ses i 7. The Journal of Allergy and Clinical Immunology [online]. Juni 2007, Band 119 (6); 1554-1556 [Zugriff am: 10. März 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.03.041>

Beyer, K.; Grishina, G.; Bardnia, L.; Sampson, H. A.: Identification of sesame seed allergens by 2-dimensional proteomics and Edman sequencing: Seed storage proteins as common food allergens. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. Juli 2002, Band 110 (1), 154-159 [Zugriff am: 10. März 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1067/mai.2002.125487>

Biesiekierski, J. R.: What is gluten?. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* [online]. März 2017, Band 32 (S1), 78-81 [Zugriff am: 10. März 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1111/jgh.13703>

Budig, K.: Aufstellung der gegenwärtig angelieferten, gelagerten und eingesetzten Rohstoffe in Dresden. Stand 05/2021. Dresden. Zamek Food Solutions GmbH, 2020

Bundesinstitut für Risikobewertung: Neues Konzept zur Kennzeichnung von Allergenspuren in Lebensmitteln. BfR-Stellungnahmen [online]. April 2008, Stellungnahme 038/2008 [Zugriff am: 13. April 2021], Verfügbar unter: https://www.bfr.bund.de/de/bfr_stellungnahmen_2008.html
Auch verfügbar als PDF unter: https://www.bfr.bund.de/cm/343/neues_konzept_zur_kennzeichnung_von_allergenspuren_in_lebensmitteln.pdf

Bundesinstitut für Risikobewertung: „VITAL 3.0“: Neue und aktualisierte Vorschläge für Referenzdosen von Lebensmittelallergenen. BfR-Stellungnahmen [online]. März 2020, Band 2020 (015) Verfügbar unter: <https://doi.org/10.17590/20200309-130710> [Zugriff am 15. März 2021] Auch verfügbar als PDF unter: <https://www.bfr.bund.de/cm/343/vital-30-neue-und-aktualisierte-vorschlaege-fuer-referenzdosen-von-lebensmittelallergenen.pdf>

Courtney, R. C.: Evaluation of Qualitative Food Allergen Detection Methods and Cleaning Validation Approaches [online]. Lincoln, The Graduate College at the University of Nebraska, Food Science and Technology, Master Thesis, 2016. Verfügbar unter: <https://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1068&context=foodscidiss> [Zugriff am 23.03.2021; 11:23]

Deibel, K.; Trautman, T.; DeBoom, T.; Sveum, W.H.; Dunaif, G.; Scott, V.N.; Bernard, D.T.: A Comprehensive Approach to Reducing the Risk of Allergens in Food. *Journal of Food Protection* [online]. April 1997, Band 60 (4), 436-441 [Zugriff am 08. März 2021] Verfügbar unter: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-60.4.436>

Drzewziecki, A.: Verfahrensbeschreibung: Allgemeine Hygieneregeln. Version 1. Dresden: Zamek Food Solutions GmbH, 2020.

Ecolab Deutschland GmbH: Produktdatenblatt: P3-alcodes. Version November 2015. Monheim am Rhein: Ecolab Deutschland GmbH, 2015 [online]. Verfügbar unter:

https://www.faie.at/media/pdf/85/34/a0/dat_schnelldesinfektion_104915.pdf

fit Spülmittel Sonderposten. fit GmbH. [Zugriff am: 15. Mai 2021, 11:51], Verfügbar unter:

<https://shop.fit.de/haushalt/spuelen/handspuelmittel/448/fit-spuelmittel-sonderposten?c=47>

Feindt, Carola: Präsentation Allergenschnelltests: Online-Präsentation. Butzbach/Dresden, 2021-03-09 10:00-11:00 Uhr.

Feindt, Carola: Sesam-Allergenschnelltests: Telefongespräch. Butzbach/Dresden, 2021-04-14 11:00-11:30 Uhr.

Food Drink Europe: Guidance on Food Allergen Management for Food Manufacturers [online]. Version vom Januar 2013. Brüssel: Food Drink Europe, 2013 [Zugriff am: 4. März 2021].

Verfügbar unter

https://www.fooddrinkeurope.eu/uploads/publications_documents/Guidance_on_Food_Allergen_Management.pdf

Hahn, Alexandra: DNA-based analytical strategies for the detection of genetically modified organisms and of allergens in foods [online]. München, Technische Universität München, Lehrstuhl für Allgemeine Lebensmitteltechnologie, Diss., 2009. Verfügbar unter: <http://mediatum.ub.tum.de/doc/684250/document.pdf> [Zugriff am 15.03.2021; 12:00]

Heinrich, P. C.; Müller, M.; Graeve, L.: Löffler/Petrides: Biochemie und Pathobiochemie. 9. Auflage. Berlin Heidelberg: Springer Medizin, 2014.

IFS Food.: Standard zur Beurteilung der Produkt- und Prozesskonformität in Bezug auf Lebensmittelsicherheit und -qualität. Version vom 7. Oktober 2020. Berlin: IFS Management GmbH, 2020.

Jackson, L. S.; Al-Taher F.: Efficacy of Different Dry Cleaning Methods for Removing Allergenic Foods from Food-Contact Surfaces. FDA Center for Food Safety and Applied Nutrition [online Poster]. 2010 [Zugriff am: 23. März 2021], Verfügbar unter: https://www.researchgate.net/profile/Lauren_Jackson/publication/267548651_Efficacy_of_Different_Dry_Cleaning_Methods_for_Removing_Allergenic_Foods_from_Food-Contact_Surfaces/links/55b868ec08aed621de05cd77/Efficacy-of-Different-Dry-Cleaning-Methods-for-Removing-Allergenic-Foods-from-Food-Contact-Surfaces.pdf

Jackson, L. S.; Al-Taher F.; Moorman, M.; DeVries, J.W.; Tippet, R.; Swanson, K.M.J.; Fu, T.; Salter R.; Dunaif, G.; Estes. S.; Albillos, S.; Gendel, S.M.: Cleaning and Other Control and Validation Strategies To Prevent Allergen Cross-Contact in Food-Processing Operations. *Journal of Food Protection* [online]. Februar 2008, Band 71 (2), 445-458 [Zugriff am: 08. März 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-71.2.445>

Kirsch, S.; Fourdrilis, S.; Dobson, R.; Scippo, M.L.; Maghuin-Rogister, G.; De Pauw, E.: Quantitative methods for food allergens: a review. *Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. März 2009, Band 395, 57-67 [Zugriff am: 15.03.2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2869-7>

Krug, P.: Arbeitsbeschreibung: Einsatz der Barcode Reader. Version 2. Dresden Zamek Food Solutions GmbH, 2020.

Leduc, V.; Moneret-Vautrin, D.A.; Tzen, J.T.C.; Morisset, M.; Guerin, L.; Kanny, G.: Identification of oleosins as major allergens in sesame seed allergic patients. *European Journal of Allergy and Clinical Immunology* [online]. Januar 2006, Band 61 (3), 349-356 [Zugriff am: 10.03.2021], Verfügbar unter: https://www.researchgate.net/profile/Gisele-Kanny/publication/7337773_Identification_of_oleosins_as_major_allergens_in_sesame_seed_allergic_patients/links/5c9939cf92851cf0ae980e0a/Identification-of-oleosins-as-major-allergens-in-sesame-seed-allergic-patients.pdf

Metcalf, D. D.: Food allergens. *Clinical Reviews in Allergy* [online]. Juli 1985, Band 3, 331-349 [Zugriff am: 10. März 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1007/BF02992999>

Müller, R.: Formblatt: Sicherstellung des richtigen Big Bags beim Aufsetzen L17. Version vom 11. März 2021. Dresden: Zamek Food Solutions GmbH, 2021.

Müller, H-J.; Prange, D. R.: PCR-Polymerase-Kettenreaktion. 2. Auflage. [E-Book] Berlin Heidelberg: Springer, 2016 [Zugriff am 17. März 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1007/978-3-662-48236-0>

Nahrungsmittelallergie. gesund.bund.de. 28. August 2020 [Zugriff am: 15. März 2021, 15:09], Verfügbar unter: <https://gesund.bund.de/nahrungsmittelallergie>

Pirzkall, M.: Verfahrensbeschreibung: Rework. Version 10. Dresden: Zamek Food Solutions GmbH, 2020

R-Biopharm AG: RIDASCREEN® FAST Sesame Art. No. R7202: Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Sesam [online]. Darmstadt: R-Biopharm AG. [Zugriff am 15. Mai 2021] Verfügbar unter: <https://food.r-biopharm.com/de/produkte/ridascreenfast-sesame-2/>

R-Biopharm AG: RIDASCREEN®FAST Ei / Egg Protein Art. Nr. 6402: Enzymimmunoassay zur quantitativen Bestimmung von Vollei (-pulver) [online]. Darmstadt: R-Biopharm AG. [Zugriff am 15. Mai 2021] Verfügbar unter: <https://food.r-biopharm.com/de/produkte/ridascreenfast-ei-egg-protein/>

Romer Labs Division Holding GmbH: AgraStrip® Gluten G12™ test kit: Package Insert. Version 22. Getzersdorf: Romer Labs Division Holding GmbH, 2019

Romer Labs Division Holding GmbH: AgraStrip® Sesame: Package Insert. Version 5. Getzersdorf: Romer Labs Division Holding GmbH, 2019

Romer Labs Division Holding GmbH: AgraStrip® Whole Egg: Package Insert. Version 6. Getzersdorf: Romer Labs Division Holding GmbH, 2019

Romer Labs Division Holding GmbH: ALLERGENE AgraStrip® Allergen-Streifentest Kit. Version 2 [online]. Getzersdorf: Romer Labs Division Holding GmbH, 2019. Verfügbar unter: https://www.romerlabs.com/shop/romer_us_de/agrastrip-r-sesame/

Romer Labs Division Holding GmbH: ALLERGENS: AgraStrip® Allergen Lateral Flow Devices. Version 2 [online]. Getzersdorf: Romer Labs Division Holding GmbH, 2019. Verfügbar unter: https://www.romerlabs.com/shop/inter_de/agrastrip-r-gluten-g12/

Stephan, O.; Weisz, N.; Vieths, S.; Weiser, T.; Rabe, B.; Vatterott, W.: Protein Quantification, Sandwich ELISA, and Real-Time PCR. Journal of AOAC International [online]. November 2004, Band 87 (6), 1448–1457 [Zugriff am: 16. März 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1093/jaoac/87.6.1448>

VO (EG) 41/2009 (v. 20. Januar 2009) Artikel 3 [online]. [Zugriff am 10. März 2021, 12:13], Verfügbar unter:

<https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:016:0003:0005:DE:PDF>

VO (EU) 1169/2011 (v. 25. Oktober 2011) Anhang 2 [online]. [Zugriff am 15. Februar 2021, 15:47], Verfügbar unter:

<https://eurlex.europa.eu/legalcontent/DE/TXT/HTML/?uri=CELEX:02011R116920180101&from=DE#tocId71>

VO (EU) 1169/2011 (v. 25. Oktober 2011) Kapitel IV Artikel 21 [online]. [Zugriff am 15. Februar 2021, 15:47], Verfügbar unter:

<https://eurlex.europa.eu/legalcontent/DE/TXT/HTML/?uri=CELEX:02011R116920180101&from=DE#tocId71>

Wang, X.; Young, O.A.; Karl, D.P.: Evaluation of Cleaning Procedures for Allergen Control in a Food Industry Environment. Journal of Food Science [online]. November 2010, Band 75 (9), T149-T155 [Zugriff am 08. März 2021], Verfügbar unter: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01854.x>

Zamek Nahrungsmittel GmbH & Co. KG: Familienunternehmen Zamek. Düsseldorf: 2007

9. Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1: Auslösedosis ED₀₁ und ED₀₅ laut dem VITAL-Konzept (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2020) 13

Abb. 2: Actionlevels für ausgewählte Allergene laut VITAL-Konzept (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2008) 13

10. Verzeichnis der Tabellen

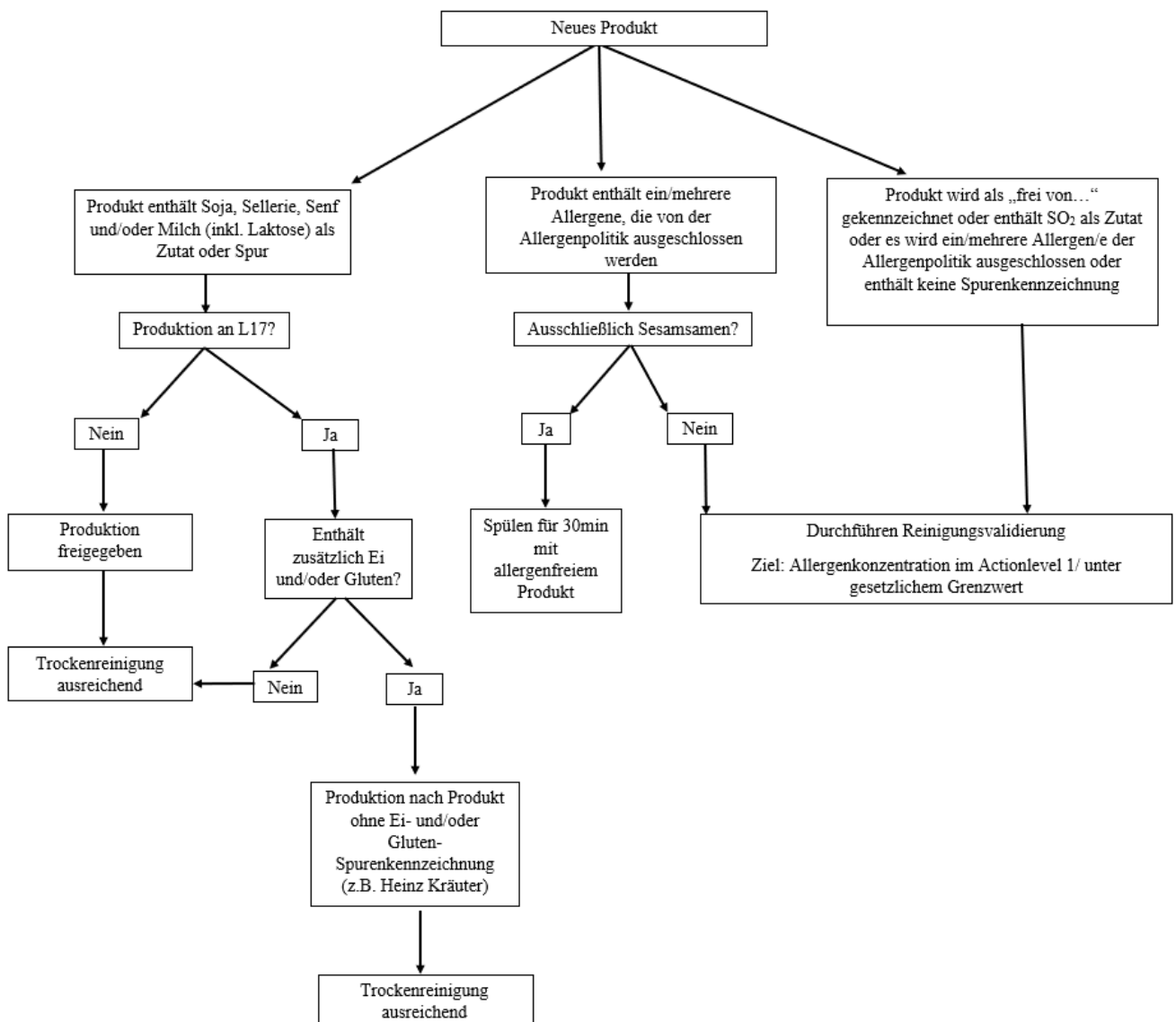
Tab. 1: Verwendete Materialien im Versuch Entfernen von Sesamrückständen durch Spülen	32
Tab. 2: Verwendete Geräte im Versuch Entfernen von Hühnervolleipulverrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	33
Tab. 3: Verwendete Materialien im Versuch Entfernen von Hühnervolleipulverrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	33
Tab. 4: Verwendete Materialien im Versuch Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	34
Tab. 5: Verwendete Geräte im Versuch Entfernen von Glutenrückständen durch Trockenreinigung, Nassreinigung und Desinfektion	34
Tab. 6: Verwendete Chemikalien im Versuch Proteinbestimmung nach Kjeldahl	36
Tab. 7: Verwendete Geräte im Versuch Proteinbestimmung nach Kjeldahl	36
Tab. 8: Verwendete Materialien im Versuch Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes	37
Tab. 9: Verwendete Geräte im Versuch Validierung eines Sesam-Allergenschnelltestes	37
Tab. 10: Sesamkonzentrationen vor und nach der Trockenreinigung des Einlauftrichters	44

Tab. 11: Sesamkonzentration in Abhängigkeit von der Spülzeit und Sesamkonzentration des Rückstellmusters und des nachfolgenden Produktes	44
Tab. 12: Reduzierung der Hühnervolleikonzentration durch Trocken-, Nassreinigung und Desinfektion	46
Tab. 13: Testresultate des Ei-Allergenschnelltestes	46
Tab. 14: Qualitative Ergebnisse des Gluten-Schnelltestes nach einer Trocken-, Nassreinigung und Desinfektion	47
Tab. 15: Ergebnisse des Gluten-Allergenschnelltestes	48
Tab. 16: Proteingehalt von Weizenkleber in Prozent	48
Tab. 17: Ergebnisse des Allergenschnelltestes im Vergleich zu den theoretischen Ergebnissen	49

11. Verzeichnis der Anlagen

Anlage 1: Entscheidungsbaum	86
-----------------------------	----

Anlage 1: Entscheidungsbaum



Erklärung über die selbstständige Anfertigung der Arbeit

Hiermit versichere ich, dass die vorliegende Arbeit von mir selbstständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt worden ist und ich keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Textstellen, die wörtlich oder annähernd wörtlich aus Veröffentlichungen entnommen wurden, sind durch Zitate als solche gekennzeichnet.

Ich erkläre weiterhin, dass die abgegebene digitale Version mit der eingereichten schriftlichen Arbeit übereinstimmt.

Ort, Datum

Eigenständige Unterschrift