



FORSCHUNGSKREIS DER
ERNÄHRUNGSINDUSTRIE E.V.

Minimal Processing in automatisierten Prozessketten der Fleischverarbeitung

**Zentrale Ergebnisse des gleichnamigen
DFG/AiF-Clusterprojektes**



Zentrale Ergebnisse des DFG/AiF-Clusterprojektes

Minimal Processing in automatisierten Prozessketten der Fleischverarbeitung

2010 - 2013

Förderung durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Energie

DFG



FORSCHUNGSKREIS
DER ERNÄHRUNGSINDUSTRIE E.V.

AiF ALLIANZ
INDUSTRIE
FORSCHUNG

Impressum

ISBN 978-3-925032-52-3

Herausgeber

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148
D-53175 Bonn

Redaktion

Dr. Volker Häusser
Daniela Kinkel

Layout/Gestaltung

freiart gmbh, Königswinter

Druck

Bonner Universitäts-Buchdruckerei, Bonn

© FEI e. V. 2014

Inhalt

Einführung und Motivation	5
Konzeption/Beteiligte des DFG/AiF-Clusterprojektes	9
Teilprojekt 1 (AiF)	11
Minimal Processing in der automatisierten Feinerlegung von Schweinefleisch (AiF 16690 N)	
Summary Sub-Project 1	26
Teilprojekt 2 (DFG)	29
Physikalisches Imaging zur Struktur- und Texturerkennung bei der Fleischverarbeitung	
Summary Sub-Project 2	45
Teilprojekt 3 (AiF)	47
Reinigungs- und hygieneorientiertes Maschinenkonzept zur ganzheitlichen Umsetzung von Minimal Processing in der Fleischverarbeitung (AiF 16691 BR)	
Summary Sub-Project 3	63
Teilprojekt 4 (DFG)	65
Differenzierung von Autofluoreszenzsignaturen zur Online-Erfassung bakterieller Kontaminanten in der automatisierten Fleischzerlegung	
Summary Sub-Project 4	77
Teilprojekt 5 (DFG)	79
Grundlagenuntersuchungen zur Raman-Sensorik von Lactat für eine automatisierbare Beurteilung der Fleischqualität in der Prozesskette	
Summary Sub-Project 5	94
Teilprojekt 6 (AiF)	95
Entwicklung von Analysemethoden zur Etablierung einer online-fähigen Beurteilung von Fleisch (AiF 16692 N)	
Summary Sub-Project 6	111
Ziele und Ergebnisse des Clusterprojektes (Zusammenfassung)	113
Aims and Results of the Cluster Project (Summary)	124
Publikationen aus dem Clusterprojekt	135

TP
1

TP
2

TP
3

TP
4

TP
5

TP
6

Einführung und Motivation

„Für die Produktion und Bereitstellung von hochwertigen Fleischwaren ist der Einsatz von Produkt-, Energie- und Betriebsmittel-Ressourcen enorm hoch – umso wichtiger ist dabei ein ganzheitlicher, interdisziplinärer und branchenübergreifender Ansatz bei der Automatisierung unserer Prozesse. Synergien in der Forschungsförderung durch eine Zusammenarbeit der beteiligten Organisationen (BMW, AiF, DFG und FEI) sind daher sehr begrüßenswert und dienen den Verbrauchern, den Beschäftigten der betroffenen Wirtschaftszweige sowie den Unternehmen selbst – und nicht zuletzt der Umwelt“, so die einleitenden Worte zu Beginn des Cluster-Vorhabens im September 2010.

Aktueller denn je sind die zu Beginn des Projektes herausgestellten Aspekte zur Notwendigkeit der Forschung auf breiter Basis, möglichst unter Berücksichtigung aller in der Herstellung des Lebensmittels Fleisch und Fleischprodukte relevanten Technologiefelder.

In der Produktion von Lebensmitteln aus Fleisch und Fleischprodukten, sowie sicherlich auch in der gesamten Lebensmittelindustrie, stehen Effizienz, Sicherheit, sowie Produkt- und Ressourcenschonung als wichtigste Ziele ganz oben an.

Fleisch spielt zudem als Proteinquelle eine wichtige Rolle in der menschlichen Ernährung, die Verbraucher erwarten qualitativ hochwertige, hygienisch einwandfreie und nachhaltige erzeugte Lebensmittel aus Fleisch und anderen Produkten tierischen Ursprungs.

Nationaler und internationaler Wettbewerb, sowie enorm hoher Preisdruck aus dem Handel erfordern, zusätzlich zu den hohen anspruchsvollen Qualitäts- und Hygienestandards, höchst effiziente, abgesicherte und standardisierte Produktionsprozesse.

Aktuelle Diskussionen um Fleischskandale, Tierschutz bei der Schlachtung, Mindestlohn und Arbeitnehmerüberlassung schärfen das Bewusstsein der Verbraucher und beeinflussen das Verhalten beim Konsum von Fleisch und Fleischprodukten.

Einer EU-Studie¹ zufolge, welche im Mai 2013 veröffentlicht wurde, rangieren bei Fleischprodukten in der Regel eine sehr begrenzte Anzahl von Informationen wie „Haltbarkeitsdatum“, „Preis“ und „Herkunft/Produktionsstandort“ an oberster Stelle bei der Kaufentscheidung der Verbraucher.

Derzeit in der öffentlichen Diskussion stehende Themen, wie „Tierschutz-Zertifikate“, „ökologische bzw. biologische Erzeugung“ oder „genetisch unveränderte Futtermittel“ rangieren deutlich dahinter im mittleren oder hinteren Bereich der Kaufkriterien. Während die „Zutaten“ eine noch relativ wichtige Rolle (vor Herkunft und Tierschutz) bei der Kaufentscheidung spielen, scheinen andere In-

¹ VDF-2013-0394 - EUROPEAN COMMISSION: "Functioning of the meat market for consumers in the European Union"; May 2013

formationen wie z.B. „Nährwerte“ oder „Umwelt-/Klima-Zertifikate“ geringeren Einfluss auszuüben.

Die Erhebung der relevanten Daten erfolgte in den „EU 27“-Staaten. Die Ergebnisse dieser Studie spiegeln das repräsentative Kaufverhalten eines großen Teils der EU-Bevölkerung wider.

Im Spannungsfeld zwischen hoher Medienpräsenz der Aspekte rund um das Thema „Fleischproduktion und -konsum“, der damit einhergehenden öffentlichen Wahrnehmung und Sensibilität, den progressiven Anforderungen des Marktes und des Lebensmitteleinzelhandels sowie hohen Standards stehen die Fleischproduzenten vor enormen Herausforderungen.

Um diese ständig steigenden Ansprüche allumfassend erfüllen zu können, bedarf es der synergetischen Zusammenarbeit von grundlagen- und anwendungsorientierter Forschung zur Erarbeitung von Verfahren und Technologien für die prozesssichere Umsetzung auf breiter Basis.

Motivation und Ziel des Clusters war es, die umfangreichen Anforderungen anhand des Produktionsprozess der „Schinken-Feinzerlegung“ auf Basis des Minimal-Processing-Ansatzes zu automatisieren und ganzheitlich unter Beachtung aller Produkt-, Betriebsmittel-, Energie-, und Informationsströme zu optimieren.

Die Übertragung der zu erwartenden Entwicklungsergebnisse auf andere Produkte und Prozesse stand ebenso im Zielfokus der 6 Teilprojekte unter Beteiligung von insgesamt neun deutschen Forschungsstellen.

Die erzielten Ergebnisse werden dabei gleichermaßen für die fleischverarbeitende Industrie wie für den Maschinen- und Anlagenbau und die Hersteller von Sensoren, Informationstechnologie und Automatisierungstechnik von wirtschaftlicher Relevanz sein.

Die unterschiedliche Aufgabenverteilung in den einzelnen Teilprojekten unter Berücksichtigung der fachlichen Expertise erforderte eine saubere Dokumentation und souveräne Projektkoordination.

Die Erstellung eines praxisnahen und nicht verderblichen Schinken-Modells war zunächst die erste Herausforderung, um in den Forschergruppen die Basis für einheitliche Grundvoraussetzungen zu schaffen.

Unter Berücksichtigung der Verarbeitungsprozesse in der industriellen Praxis erfolgte die Ermittlung der für eine automatische Bearbeitung erforderlichen Abfolge durchzuführender Bearbeitungsschritte.

Auf Basis der Prozess- und Bearbeitungsfolge leiteten sich entsprechend die Anforderungen für Handlings- und Fixiereinheiten ab. Anlagenkomponenten waren unter strikter Berücksichtigung der Hygienic-Design-Prinzipien und weiteren besonderen Anforderungen im Bereich der Fleischverarbeitung zu entwickeln. Nicht nur Hygienekonformität und optimale Reinigunseigenschaften der mit

dem Lebensmittel Fleisch in Kontakt kommenden Anlagenteile sind Teil des Hygienekonzeptes, sondern auch das Produkt selbst.

Die Online-Bewertung von Fleisch in Hinblick auf Kontaminationen mit Mikroorganismen oder sonstigen Fremdstoffen zur Beurteilung desselben und zur Steuerung von nachfolgenden Bearbeitungs- und Verwendungsprozess sind zum einen durch Prinzipien des Minimal Processing motiviert, ausschließlich hochwertiges Rohmaterial für die Veredelung zu hochwertigen Produkten zu verwenden und dies nicht über nachgelagerte Sortierprozesse zu realisieren, zum anderen ist neben der Hygiene, einhergehend mit der Lebensmittelsicherheit, die Wirtschaftlichkeit ein weiterer entscheidender Faktor für die Wettbewerbsfähigkeit.

Im Bereich der Sensorik-Entwicklung zur Qualitätsbeurteilung von Fleisch konnten im frühen Projektstadium bereits beeindruckende Ergebnisse erzielt werden. So können z.B. im frühen postmortalen Stadium (45 min) wichtige Qualitätsparameter zuverlässig bereits im Schlachtprozess bestimmt werden, die Detektion erfolgt berührungslos durch nicht-invasive optische Sensoren. Herkömmliche Verfahren ermöglichen die entsprechenden Messungen zum Teil erst nach 24 Stunden, unmittelbar vor, während oder gar erst nach dem arbeitsintensiven und somit wertschöpfenden Zerlegeprozess. Diese neu entwickelten Messverfahren werden sicherlich zukünftig eine wichtige Rolle in der Fleischverarbeitung und Steuerung der nachfolgenden Prozesse übernehmen. Das bereits jetzt schon sehr große Interesse innovativer Unternehmen und Institute dokumentiert dies.

Kontur- und Textur-Erkennung zur Steuerung von automatisierten Prozessen und Roboter-Anwendungen sind in vielen anderen Industriezweigen schon lang gelöste Herausforderungen. Auch in der Be- und Verarbeitung von natürlich gewachsenen Produkten sind einschlägige und zuverlässig funktionierende Lösungen Stand der Technik. Die Kombination äußerer Informationen mit der Detektion des inneren Aufbaus jedoch stellt die definierten Anforderungen zur optimalen Steuerung einer automatischen Zerlege-Applikation dar. Grundlagen zur Entwicklung von entsprechenden Imaging-Systemen wurden erforscht und entwickelt und mittels CT-Scans von realen Produkten referenziert. Die Erkenntnisse und Verfahren werden sicher in zukünftigen Applikationen von Automatisierungslösungen wiederzufinden sein.

Die Prozessüberwachung unter Einbindung aller Einzelsysteme, Online- und Echtzeit-Informationsverarbeitung ist Voraussetzung derart komplexer Verarbeitungssysteme. Steuerung von Prozessschritten unter Berücksichtigung eines optimalen Ressourceneinsatzes, größtmögliche Wertschöpfung, Online-Optimierung von Prozessabläufen, ... – dies sind nur einige Anforderungen, die bei der Entwicklung der Steuerungsarchitektur Berücksichtigung fanden.

Analog zur Verarbeitung der tatsächlichen Prozessparameter werden diese analysiert, in der virtuellen Simulation optimiert und angepasst um über intelligente Software-Strukturen eine ständige Optimierung der realen Prozesse zu erwirken. Die Überwachung, Aufzeichnung und Analyse aller im Prozess erfass-

ten Betriebs- und Auswertedaten dokumentieren diesen und gewähren entsprechende Prozesssicherheit. Die Mensch-Maschinen-Schnittstelle zeichnet sich aus durch Anwenderfreundlichkeit, einfache Bedienung, übersichtliche Diagnose- und Informationsausgabe, flexible Einsatzmöglichkeiten und Kompatibilität mit modernen Kommunikationssystemen.

Die DFG/AiF-Clusterinitiative, d.h. die Möglichkeit, unter Koordination des FEI ein breit angelegtes Forschungskonzept zu realisieren und damit zeitgleich Fragestellungen sowohl aus der Grundlagen- als auch aus der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) zu bearbeiten und somit Synergien in der Forschungsförderung der DFG und der Mittelstandsförderung durch das BMWi (via AiF) zu nutzen, bot in dieser Zusammensetzung die einmalige Chance, zeitnah wissenschaftlich fundierte und fachlich breit gefächerte Erkenntnisse in einem Projekt umsetzen zu können. Insbesondere kleine und mittelständische Unternehmen haben hier die Möglichkeit, ohne zeit- und personalaufwändige Forschungs- und Entwicklungsarbeiten Erkenntnisse aus den Ergebnissen der Forscherteams in den sechs Teilprojekten zu nutzen, um so innovative Produkte erfolgreich im Markt zu platzieren.

Eine große Anzahl an Veröffentlichungen, die Teilnahme an Tagungen und Messen sowie Praxistests einzelner Verfahren und Komponenten in ähnlichen Industriebereichen fördern den Know-How-Transfer und somit die Umsetzung in die industrielle Praxis.

Es wäre an dieser Stelle wünschenswert, wenn sich – über die Laufzeit dieses Clusters hinaus – eine Fortführung der Forschungs- und Entwicklungsarbeiten dieser oder vergleichbarer Automatisierungslösungen realisieren lassen könnte. Aktuelle Planungen, die Forschungsförderung mit neu aufzulegenden Förderprogrammen weiter zu intensivieren, geben Anlass zur Hoffnung!

Für die finanzielle Förderung des Clusters durch das Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) und die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) sowie für die nachhaltige Unterstützung, die das Vorhaben seitens zahlreicher Unternehmen und Verbände erhielt, sei an dieser Stelle, auch im Namen des FEI, ebenso herzlich gedankt wie für die gute Zusammenarbeit mit der DFG und der AiF. Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Delgado und seinem Team für die professionelle und souveräne Koordinierung des Vorhabens sowie die gute und vertrauensvolle Zusammenarbeit mit dem Projektbegleitenden Ausschuss.



Frank Schmidt

BANSS Schlacht- und Fördertechnik GmbH, Biedenkopf

(Leiter des Projektbegleitenden Ausschusses der Industrie)

Biedenkopf, im Februar 2014

Konzeption/Beteiligte des DFG/AiF-Clusterprojektes

Minimal Processing in automatisierten Prozessketten der Fleischverarbeitung am Beispiel der Feinzerlegung von Schweinefleisch (Schinken)

Teilprojekte (TP):

TP 1 (AiF): Minimal Processing in der automatisierten Feinzerlegung von Schweinefleisch

Universität Erlangen-Nürnberg, Department für Chemie- und Bioingenieurwesen, Lehrstuhl für Strömungsmechanik
Prof. Dr. Antonio Delgado/Dipl.-Ing. Frauke Groß

Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik (DIL), Quakenbrück
Dr. Volker Heinz/Dr. Knut Franke

TP 2 (DFG): Physikalisches Imaging zur Struktur- und Texturerkennung bei der Fleischverarbeitung

Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW, Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Freising-Weihenstephan
Prof. Dr. Thomas Becker

TP 3 (AiF): Reinigungs- und hygieneorientiertes Maschinenkonzept zur ganzheitlichen Umsetzung von Minimal Processing bei der Fleischverarbeitung

Fraunhofer-Anwendungszentrum für Verarbeitungsmaschinen und Verpackungstechnik (AVV), Dresden
Prof. Dr. Jens-Peter Majschak/Dr. Marc Mauermann

TP 4 (DFG): Differenzierung von Autofluoreszenzsignaturen zur Online-Erfassung bakterieller Kontaminanten in der automatisierten Fleischzerlegung

Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB), Potsdam
Dr. Janina Saskia Bolling/Dr. Oliver Schlüter

Universität Hohenheim, Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, FG Prozessanalytik und Getreidetechnologie
Prof. Dr. Bernd Hitzmann

TP 5 (DFG): Grundlagenuntersuchungen zur Raman-Sensorik von Lactat für eine automatisierbare Beurteilung der Fleischqualität in der Prozesskette

Universität Bayreuth, Forschungsstelle für Nahrungsmittelqualität, Kulmbach

Dr. Heinar Schmidt

Universität Hohenheim, Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, FG Prozessanalytik und Getreidetechnologie
Prof. Dr. Bernd Hitzmann

TP 6 (AiF): Entwicklung von Analysemethoden zur Etablierung einer online-fähigen Beurteilung von Fleisch

Max-Rubner-Institut (MRI), Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel, Arbeitsgruppe Analytik, Standort Kulmbach

Prof. Dr. Fredi Schwägele/Dr. Aneka Bauer

Universität Bayreuth, Forschungsstelle für Nahrungsmittelqualität, Kulmbach

Prof. Dr. Stephan Clemens/Dr. Heinar Schmidt

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Erlangen

Dr. Hubert Diepolder

Koordination: Prof. Dr. Antonio Delgado

Universität Erlangen-Nürnberg, Department für Chemie- und Bioingenieurwesen, Lehrstuhl für Strömungsmechanik

Beteiligte Wirtschaftsverbände:

- VDMA – Fachverband Nahrungsmittel- und Verpackungsmaschinen e.V., Frankfurt
- Verband der Fleischwirtschaft e.V. (VDF), Bonn
- Bundesverband der Deutschen Fleischwarenindustrie e.V. (BVDF), Bonn

Zahl der beteiligten Unternehmen im Projektbegleitenden Ausschuss:

- 24

Teilprojekt 1 (AiF)

Minimal Processing in der automatisierten Feinerlegung von Schweinefleisch (AiF 16690 N)

Prof. Dr. Antonio Delgado¹

Dr. Volker Heinz²

Qian Xie¹

Dr. Martin Nagel¹

Stefan Hubert¹

Slawomir Procelewski¹

Dr. Knut Franke²

Frauke Groß¹

Sonja Hupfer¹

¹ Universität Erlangen-Nürnberg, Lehrstuhl für Strömungsmechanik

² Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL), Quakenbrück

Einführung

Schweinefleisch stellt eine der wichtigsten Proteinquellen der menschlichen Ernährung dar. Allein in Deutschland wurden im Jahr 2011 pro Kopf 54 kg Schweinefleisch verzehrt (BVDF, 2013). Die derzeit industriell übliche, manuelle Feinerlegung sowie Qualitätsbestimmung des Schweinefleisches erfolgt aufgrund der physiko-chemischen Komplexität des Fleisches individuell anhand von Erfahrungswerten der Mitarbeiter. Diese körperlich anstrengende Arbeit wird aus hygienischen Gründen außerdem bei sehr niedriger Temperatur (4-7 °C) durchgeführt. Darüber hinaus befinden sich Prozessketten in der Lebensmittelproduktion zunehmend im Spannungsfeld zwischen Kundenakzeptanz, Produktqualität, Automatisierungsgrad, Betriebsökonomie und Prozessökologie. Ungeachtet dessen fehlen ganzheitliche Ansätze im Sinne eines durchgängigen, d.h. generierten Minimal Processing bisher völlig.

Im Rahmen des Teilprojektes 1 (TP 1) wurde als Schwerpunkt zum einen ein Automatisierungskonzept mit neuartiger Datenerfassung und -auswertung entwickelt und umgesetzt. Zum anderen stand die eigentliche Zerlegung von Schinkenkeulen mittels Robotern im Fokus der Untersuchungen. Dabei erarbeitete das Deutsche Institut für Lebensmitteltechnik die Zerlegung basierend auf gemeinsam mit TP 2 entwickelten Berechnungen einer geeigneten Schnittbahn. Um den Stoff- und den Energieeinsatz im Sinne des Leitgedankens des Minimal Processing zu minimieren, wurden vom Lehrstuhl für Strömungsmechanik Referenz-Petri-Netze (RPN) zur Modellierung und Simulation des Gesamtprozesses eingesetzt.

So wurden im Rahmen der Forschungsaktivitäten die Grundlagen eines automatisierten, auf einfache Weise in die Praxis übertragbaren und damit neuartigen Systems zur Feinzerlegung von Schweinefleisch geschaffen, dessen Kern zwei Roboter in einer Zerlege- bzw. Fixiereinheit (TP 3) bilden. Erstmals wurden objektbasierte Referenz-Petri-Netze zur Prozesssimulation in der Fleischwirtschaft genutzt. Sowohl die erfassten Betriebsdaten (aus TP 2 bis TP 6 inkl. Referenzierung) als auch das daraus extrahierte Wissen dienen der Abbildung des Prozesses mittels dieser Referenz-Petri-Netze. Der gewählte Ansatz erlaubt durch die Variation von Simulationsparametern die Modellierung und Optimierung der Flüsse von Materie, Energie, Information und biologischer Aktivität in Abhängigkeit von Bedienerentscheidungen. Auch indem hier nicht nur die Produktqualität, sondern auch der Ressourceneinsatz berücksichtigt wurde, trägt dieses Teilprojekt zur Ausgestaltung einer automatisierten Fleischzerlegung nach dem Prinzip eines ganzheitlichen Minimal Processing bei. Darüber hinaus bildet das entstandene Simulationswerkzeug die Grundlage für eine Kapazitätsplanung.

Zielsetzung

Die Ziele des Teilprojektes 1 orientierten sich an den ausgewiesenen Gesamtzielsetzungen des Forschungsclusters. Dabei übernahm dieses Vorhaben eine zentrale Position in der Verknüpfung aller an der Feinzerlegung von Schweinefleisch partizipierenden Teilprozesse und -verfahren inkl. der Informationsgewinnung durch neuartige Sensoren und des robotergestützten Einsatzes der Fleischverarbeitungswerkzeuge.

Hauptziel bestand in der Realisierung und Automatisierung der Fleischzerlegung mit dem Ziel des Minimal Processing unter Berücksichtigung gesetzlicher Vorgaben. Das Erreichen dieses Hauptziels erforderte dabei zunächst die Erfassung der Betriebsdaten aus dem Produktionsprozess sowie die konzeptionelle Gestaltung und den Aufbau der Feinzerlegung auf Basis eines Roboters. Dies wiederum erforderte die Realisierung einer übergeordneten Prozessführungsstrategie zur Automatisierung der Zerlegung. Die Schnittführung und konkrete Schnittbahnberechnung erfolgte dabei durch die Entwicklung automatisierter Auswertelgorithmen sowohl basierend auf computertomographischen (CT) Aufnahmen (TP 6) als auch auf kombinierten 3D-Kamera- und Ultraschallaufnahmen (TP 2) der zu zerlegenden Schinken. Die Etablierung eines hybriden Modells zur Abbildung der Produktionslogistik auf der Grundlage von objektbasierten Referenz-Petri-Netzen ermöglichte darüber hinaus die Optimierung des gewählten Prozessschrittes hinsichtlich Energieeinsatz, Produktqualität und Ressourceneffizienz.

Ergebnisse und Diskussion

1. Entwicklung einer Prozessautomatisierungsstrategie

Das erarbeitete Automatisierungskonzept besteht aus verschiedenen Bausteinen. Für die angestrebte adaptive, ressourcenschonende Prozessführung des Gesamtprozesses besitzt der Datenaustausch zwischen der Automatisierungshardware und der Datenerfassung bzw. -auswertung zentrale Bedeutung: Dies ermöglicht die Umsetzung übergeordneter und vorgegebener Prozessführungsstrategien auf der Basis historischer und online-erfasster Daten. Das Automatisierungskonzept beinhaltet des Weiteren

- (i) die Steuerung der Fixierung des Fleischstücks in der Zerlegeeinheit (aus TP 3) und die Ansteuerung des Roboters für die Bewegung des Messers in dem Fleischstück,
- (ii) die Abfrage der Krafterfassung am Roboter und Reaktionen darauf hinsichtlich Veränderung der Schnittbahnen sowie
- (iii) den Weitertransport des Fleischstücks innerhalb der Zelle für die Qualitätsbewertung.

So nimmt das Automatisierungssystem die Übertragung der von den entwickelten, neuartigen Diagnosesystemen (insbesondere Ramanspektrometer aus TP 5 und fluoreszenzspektroskopische Analyse aus TP 4, 3D-Digitale Bildverarbeitung und Ultraschallmesstechnik aus TP 2) gelieferten und online-erfassten Informationen an die Datenbank vor, vergleicht diese mit hinterlegten Betriebswerten (u.a. aus TP 6) oder ruft sie zur Weiterführung des Zerlegeprozesses mittels Programmcode ab. Weiterhin werden Befehle mittels Programmcode an die Aktoren (z.B. Roboter) weitergegeben.

Grundlagen des Automatisierungskonzepts

Hardwareseitig besteht die Automatisierung aus einer Systemprogrammierbaren Steuerung (SPS) von Rockwell Automation GmbH (Haan, Germany) als Zentralkomponente. Die Ansteuerung der Motoren des sog. *Transfix* (im Rahmen von TP 3 konstruierte und gefertigte Fixiereinheit), der Roboter und der analogen bzw. digitalen Ein- und Ausgabeelemente erfolgt über Ethernet IP. Eine weitere zentrale Komponente ist der Leitreechner, der hier nicht nur die Rolle der Visualisierung und Betriebsdatenerfassung übernimmt, sondern auch die zentrale Datenbank vorhält, den *FactoryTalk Transaction Manager* als Dienst bereit stellt und die Schnittstellenprogrammierung zu den Sensorkonzepten der Forschungsstellen (TP 2 bis TP 5) beinhaltet.

Bei der Anlagenautomatisierung – *Transfix* und Roboter – handelt es sich im Grundkonzept um eine Zustandsmaschine in der Systemprogrammierbaren Steuerung (SPS), deren Übergangstabellen sowohl als Tags in der SPS als auch in der zentralen Datenbank zur Verfügung gestellt werden. Der *FactoryTalk Transaction Manager* sorgt für die Synchronisation dieser Tabellen in der Datenbank

und SPS und damit für die Ausführung von Steuerbefehlen und die Erfassung des aktuellen Zustandes der Anlage.

Im Anwendungsfall wird z.B. – vereinfacht dargestellt – das Anfahren der Schneideposition mit den *Transfix* als Schrittkette in der SPS hinterlegt: Verriegelung freigeben, Motorgeschwindigkeit, -beschleunigung und -verzögerung setzen, gewünschte Position des Schrittmotors festlegen, Motor-Start (Stopp bei Erreichen der gewünschten Position übernimmt der Schrittmotorcontroller selbst). Wird jetzt der gewünschte Zustand – *Transfix* in Schneideposition – in die Datenbank eingetragen, synchronisiert der *FactoryTalk Transaction Manager* diesen neuen Zustand mit der SPS, die entsprechende Schrittkette wird ausgelöst und das *Transfix* fährt in Schneideposition.

Konkret kann also mit einem Datenbankeintrag eine Zustandsänderung der Anlage ausgelöst werden oder der aktuelle Zustand aus der Datenbank ausgelesen werden. Datenbankeinträge können aus einer Vielzahl von unterschiedlichen Programmier- und Analyseumgebungen automatisiert vorgenommen werden: Somit ist es möglich z.B. aus MATLAB™ oder aus der Petri-Netz-Umgebung einen Anlagensteuerbefehl abzusetzen bzw. den Anlagenzustand auszulesen. Auf dieser Grundlage arbeiten die Schnittstellen zu den Sensoren der Forschungsstellen der weiteren Teilprojekte des Clusters.

Handsteuerung der zentralen Fixier- bzw. Zerlegeeinheit (*Transfix*)

Ein weiteres Beispiel für diese Datenbankschnittstelle stellt auch die Handsteuerung dar. Sie wurde als Web-Applikation programmiert. Moderne Webseitenprogrammierung beruht zu einem Hauptteil auf Datenbankzugriffen, d.h. eine entsprechenden Anbindung an die Zustandstabellen der Anlage mit entsprechender Visualisierung ist schnell aufzubauen (**Abb. 1, oben**). Für die Ausführung der Handsteuerung ist lediglich ein Browser erforderlich, d.h. die Anlage kann auch über ein beliebiges Mobilgerät – Tablet, Smartphone – bedient werden. Im Kontext der Handsteuerung kann darüber hinaus ein Ansatzpunkt für das Minimal Processing im Bereich der Anlagenautomatisierung aufgezeigt werden. In dem hier vorliegenden Anlagen-Demonstrator sind alle Konfigurationsparameter – Motorgeschwindigkeiten, Drehmomente, etc. – über die Datenbank zugänglich und können sowohl per Hand oder auch automatisch angepasst werden (**Abb. 1, unten**).

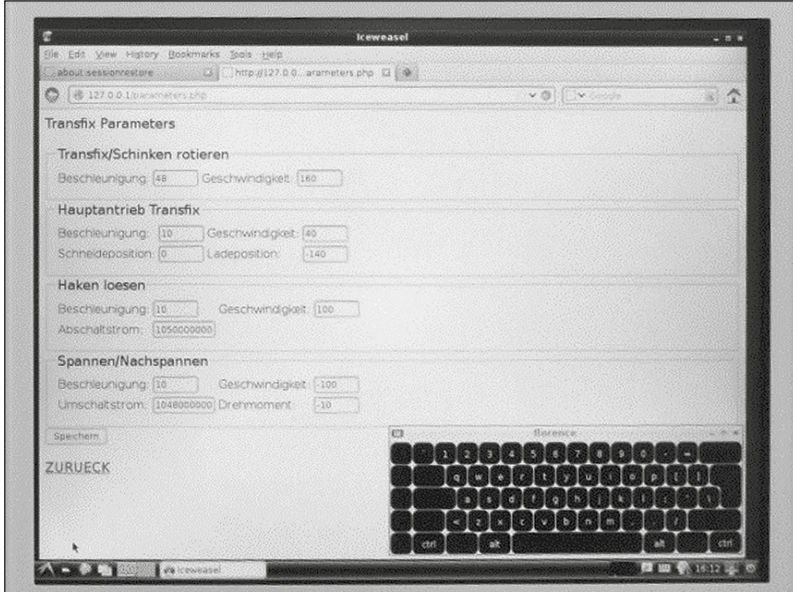
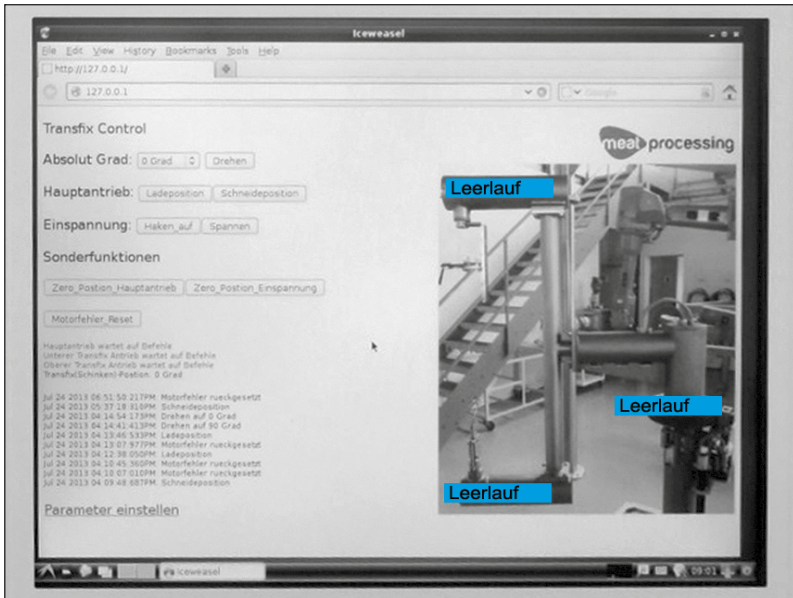


Abb. 1: Oben: Handsteuerung des Transfix als Web-Applikation mit Zugriff auf den Anlagenzustand z.B. Hauptantrieb Ladeposition, Schneideposition und Visualisierung des Anlagen-Ist-Zustands (blau hinterlegt: Motorzustände). Unten: Manuelle Anpassungsmöglichkeit von Konfigurationsparametern: Motorgeschwindigkeiten, Drehmomente, etc.

Prozessablauf und Minimal Processing in der Automatisierung

Durch die bereits erwähnte Möglichkeit, Datenbankeinträge aus den Petri-Netzen auszuführen und damit Zustandsänderungen der Anlage auszulösen, können die Petri-Netze nicht nur zur Simulation alternativer Prozessplanung eingesetzt werden, sondern auch direkt die Ablaufsteuerung der Anlage übernehmen. Anstatt, wie in der Simulation, die Rotation des *Transfix* mit einer Zeitkonstante zu simulieren, wird im Netz per Datenbank der Befehl zur Zustandsänderung abgesetzt und auf die Änderung des Zustands gewartet. Stellen in Petri-Netzen repräsentieren wie bekannt u.a. Zustände und Transitionen Zustandsänderungen. Die Netze erweisen sich somit als ein optimales Abbildungs- und Automatisierungsmedium der in der SPS realisierten Zustandsmaschine.

Der Ansatzpunkt des Minimal Processing in der Automatisierung fußt in dieser Dualität der Petri-Netze als Automatisierungs- und Simulationswerkzeug. Sie haben Zugriff auf dieselben „Schalter“ und „Ist“-Zustände wie beispielsweise die Handsteuerung und auch die Konfigurationsparameter in der Datenbank wie Drehmomente und Motorgeschwindigkeiten. Es kann also ein Optimierungszyklus aus Simulation an der „Virtuellen Anlage“ und Validierung zur Anpassung der Anlagenparameter im Sinne des Minimal Processing durchgeführt werden: „Wenn sowieso das 3D-Modell zur Schnittbahnermittlung berechnet werden muss, kann das *Transfix* langsamer in Position schwenken, die Parameter Beschleunigung und Geschwindigkeit werden reduziert, der Stromverbrauch des Motors sinkt“, kann als einfaches Beispiel für die Aussage eines solchen Optimierungszyklus dienen.

2. Übergeordnetes Informationsmanagement

Das übergeordnete Informationsmanagement beruht auf zwei Grundbausteinen: die produkt- und prozessorientierte Datenerfassung und -speicherung sowie die darauf aufbauende Modellierung und Simulation, welche letztendlich die Grundlage für die Optimierung der Materie- und Energieflüsse bildet.

Prozess- und produktorientierte Datenerfassung und -speicherung

Zur adaptiven automatisierten Führung des Zerlegevorgangs erweist es sich als notwendig, sowohl online-erfasste Messdaten (aktuelle Daten) als auch Betriebsdaten (historische Daten) zu berücksichtigen. Die übergeordnete Zielsetzung betrifft sowohl eine optimale Schnittführung als auch eine qualitative Beurteilung der Fleischqualität unter Berücksichtigung eines ganzheitlichen Minimal Processing. Dazu wurde eine auf einen Microsoft SQL-Server aufgebaute Datenbank mit ersten Versuchsdaten aufgebaut. Die von verschiedenen Sensoren erfassten Betriebsdaten aus jedem Prozessschritt werden als Tabellen online in der Datenbank hinterlegt. Dabei kann es sich sowohl um Rohdaten, aufbereitete Daten als auch um Grenz- oder Warnwerte handeln. Aus den Daten erfolgt u.a. die Bestimmung der Vorgaben für die Fixier- bzw. Zerlegeeinheit (LAY 1997).

Das Datenbankkonzept folgt einem klassischen *Entity-Relationship*-Modell in einer relationalen Datenbank. Besonderheit ist, dass zwischen den Schinken und den Teilstücken des Schinkens unterschieden und unterteilt werden muss – jeweils mit eindeutiger Zuordnung, also eindeutiger Identifikation des Schinkens und eindeutiger Zuweisung der Teilstücke zu einem Schinken. Verstöße gegen Tabellennormalformen oder Umwege über die Erfassung der Speicherorte bestimmter Daten außerhalb der Datenbank liegen in der Natur der Messdatenerfassung der Sensorik aus der vorindustriellen Forschung und Anwendung.

3. Modellierung und Simulation des Gesamtprozesses und der einzelnen Prozessschritte mittels Referenz-Petri-Netzen

Beim ganzheitlichen Minimal Processing der Fleischzerlegung handelt es sich um eine komplexe Gesamtprozessstrategie, welche die im Produktionsverlauf auftauchenden, zeitlich gleichzeitig (konkurrierend) oder hintereinander (rekurrierend) ablaufenden Teilprozesse mit hoher Effizienz kausal verknüpft. Im deutlichen Kontrast zu den bisherigen Ansätzen in Praxis und Forschung geschieht dies unter besonderer Einbindung des in der automatisierten Prozesskette resultierenden Stoff- und Energietransports. Dessen Optimierung erfolgt durch Modellierung und Simulation der automatisierten Prozesskette mithilfe von Referenz-Petri-Netzen (NAGEL 2009).

Ein Referenz-Petri-Netz ermöglicht die graphische Darstellung von Systemen als gerichteter Graph, dabei werden zwei Arten von Knoten unterschieden – Stellen und Transitionen –, die auch als Zustände und Ereignisse bezeichnet werden. Kanten verbinden in Petri-Netzen immer zwei unterschiedliche Knotenarten, also immer Stellen und Transitionen. Das dynamische Verhalten des Systems bilden Markierungen – auch Marken oder Token genannt – ab. Durch die Token werden die zu transportierenden bzw. zu transformierenden Stoffe, Energien oder Informationen dargestellt. Zusätzlich ist eine Modellierung in verschiedenen Ebenen möglich, d.h. Petri-Netze können als Token übergeordnete Netze durchlaufen (VAN DER VORST 2000, NAGEL et al. 2009).

Die Modellierung der Stoffströme in Form von Petri-Netzen in verschiedenen Ebenen wurde mit Hilfe der Software *renew 2.3*¹ erstellt. Dabei wird in den Netzebenen von oben nach unten (Top-down) – ausgehend von einem vereinfachten, aber vollständigen Gesamtprozess als übergeordnetes Hauptnetz – die Modellierung immer weiter bis zur detaillierten Abbildung der Prozessschritte mit ihren Stoffströmen, u.a. Imaging, Mikrobiologische Kontrolle, Sortierung, Schnittbahnberechnung und Zerlegung, verfeinert. Gegenläufig (Bottom-up) ergibt sich das Potential, durch energetische Betrachtungen oder alternative Prozessplanung eine Prozessgestaltung im Sinne eines ganzheitlichen Minimal Processing zu realisieren (**Abb. 2**).

¹ renew 2.3 (<http://www.renew.de>)

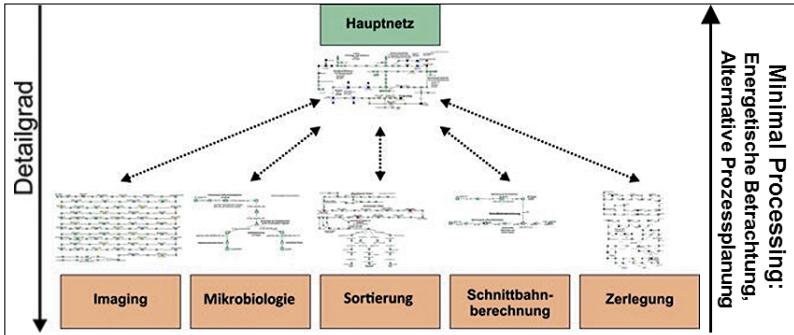


Abb. 2: Schematische Darstellung der in Ebenen durchgeführten Prozessmodellierung mit zunehmenden Detaillierungsgrad und dadurch realisierbaren Ansätzen des Minimal Processing durch energetische Betrachtungen und alternative Prozessplanungen.

Die Modellierung der Energieströme geschieht durch die Integration des Energiebedarfs bei jedem Prozessschritt in die Stoffströme. Somit fungiert bei dieser Vorgehensweise jeder Prozessschritt als einzelner „Energieverwender“ mit spezifischem Bedarf bezüglich der Energieform, -menge und Einsatzzeit.

Die Simulation der Energieströme wird im Folgenden anhand von 10 Beispieldatensätzen dargestellt. **Abb. 3** zeigt die Simulationsergebnisse der Energieströme. Auf der rechten Seite der Abbildung wurde das Token mit den zugehörigen Informationen – der ID und der benötigten Anzahl an Energieeinheiten – aufgelistet. Die Schinken mit ID 5 und 9 haben jeweils weniger Energiebedarf im Vergleich zu den anderen acht Schinken. Im Sinne des Minimal Processing sorgen die Petri-Netze für eine Aussortierung vor der eigentlichen Prozessierung aufgrund eines unzureichenden Hygienezustands. Dieses einfache Beispiel illustriert die hohen, zu nutzenden Einsparungspotentiale.

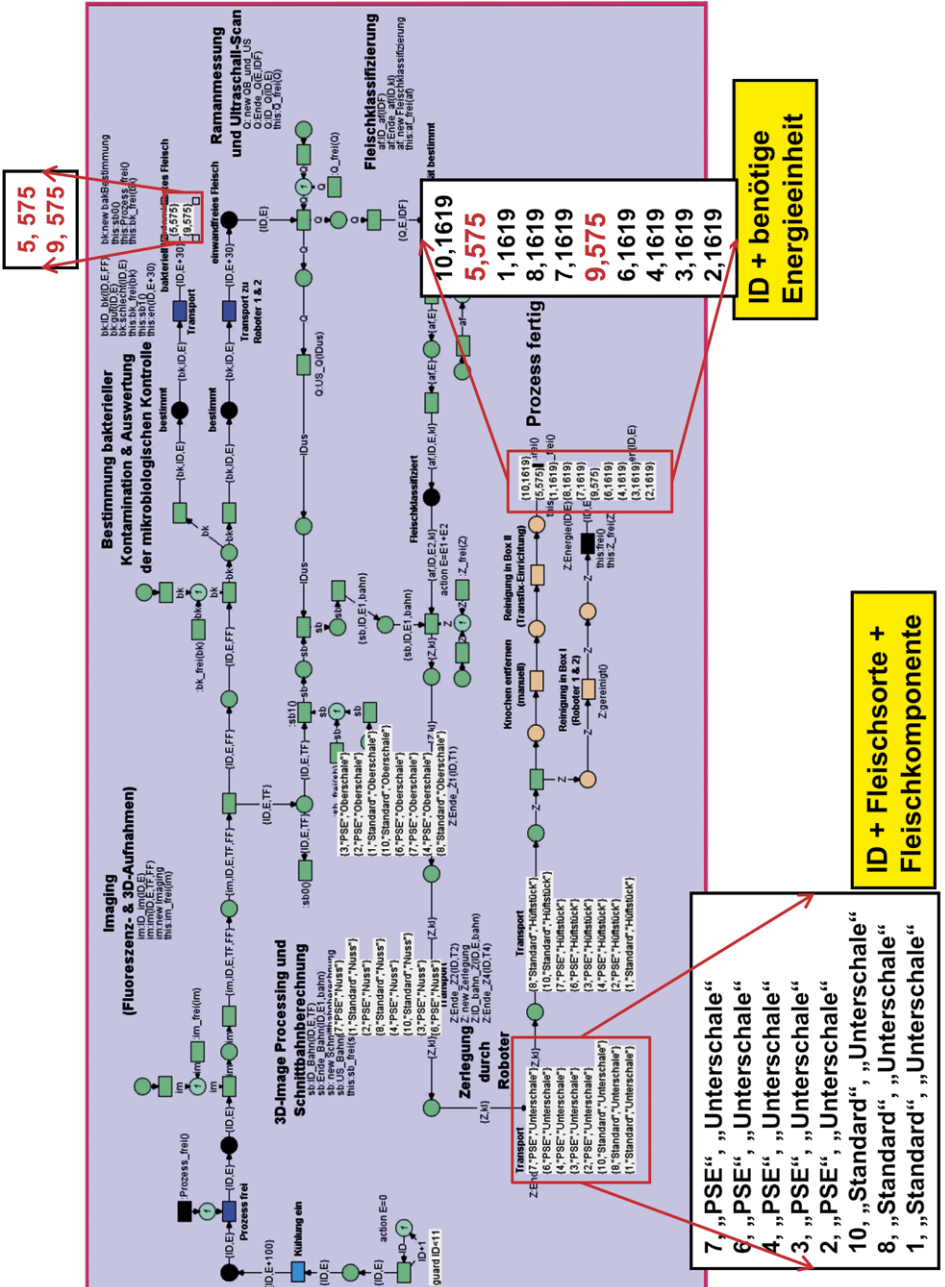


Abb. 3: RPN-basierte Simulationsergebnisse der Energieströme mit 10 Beispieldatensätzen (DELGADO et al. 2013).

4. Festlegung und Test der Schnitfführung für die automatische Feinzerlegung

Aufgrund der Werthaltigkeit der aus dem Hinterschinken zu gewinnenden Teile, insbesondere Ober- und Unterschale sowie Nuss, wurde die automatische Zerlegung des Hinterschinkens vom Schwein für die Umsetzung des Minimal Processing in der Fleischverarbeitung ausgewählt. Der Aufbau des Hinterschinkens mit den wertgebenden Fleischteilen und den Knochen ist in **Abb. 4** dargestellt.

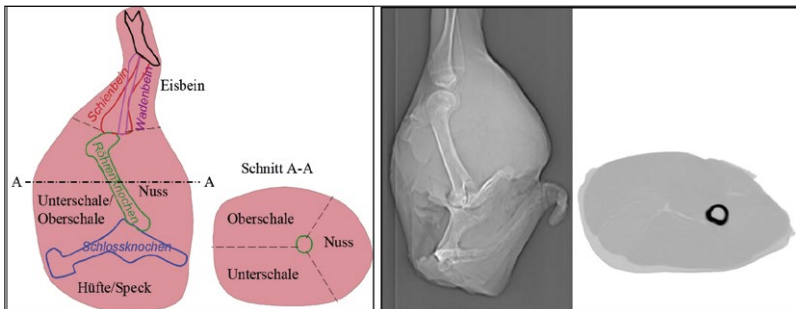


Abb. 4: Aufbau des Hinterschinkens (links: schematisch, rechts: Bilder aus Computertomographie).

Für die Festlegung der Schnitfführung bei der automatisierten Feinzerlegung sind neben den zu gewinnenden Fleischteilen auch noch weitere Randbedingungen von Bedeutung:

- Fixierungsmöglichkeiten des Schinkens (senkrecht, waagrecht)
- Zugänglichkeit aller Teile (Drehung, mechanische Öffnung der Schnitte)
- Veränderung der Lage der Knochen und der Gewebe während der Zerlegung

Unter Berücksichtigung aller Randbedingungen wurde im Projekt die senkrechte feste Einspannung des Hinterschinkens als einzig mögliche Alternative für eine robotergestützte automatisierte Zerlegung ausgewählt und umgesetzt (**Abb. 5, A**). Bei dieser Art der Einspannung können durch einfaches Drehen an der Längsachse alle Stellen des Hinterschinkens erreicht werden, so dass die Zugänglichkeit für den Roboter gegeben ist. Bei dieser Einspannung können zudem waagerechte Schnitte durch die Schwerkraft der teilabgelösten Stücke geöffnet werden. Über die durchgehende Fixierung des Schinkens im oberen und unteren Teil während der Zerlegung wird sichergestellt, dass sich die Lage der Knochen während der Zerlegung praktisch nicht ändert. Das ist die Voraussetzung dafür, dass die im Rahmen von TP 2 am kompletten Schinken ermittelten äußeren Abmessungen des Schinkens und die genaue Lage der inneren Strukturen (Knochen, Faszien) über den gesamten Zerlegevorgang erhalten bleibt. Das heißt, es ist keine aufwendige Nachvermessung des Schinkens während der Arbeiten erforderlich.

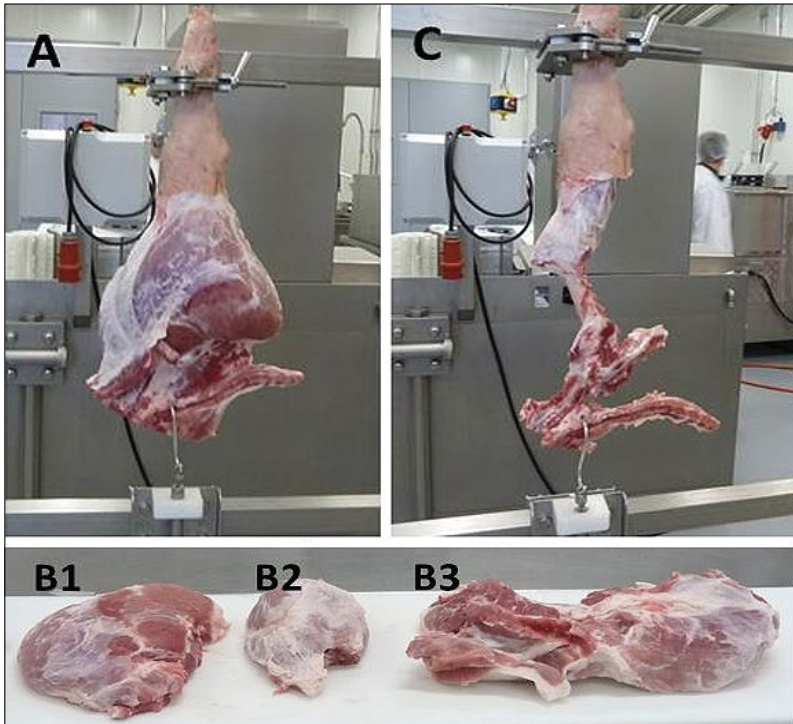


Abb. 5: Einspannung des Hinterschinkens (A) und Ergebnis der Zerlegung mit Oberschale (B1), Nuss (B2), Unterschale und Hüftstück (B3) sowie Knochenverbund (C).

Um dieses sicherzustellen, wird die automatische Zerlegung so durchgeführt, dass der Knochenverbund – bestehend aus Hinterschinken, Schwanzknochen, Schlossknochen, Röhrenknochen und Wadenbein sowie den entsprechenden Sehnen und Bändern – über die gesamte Zeit erhalten bleibt (**Abb. 5, C**).

Zudem stellte sich im Verlauf der Projektbearbeitung heraus, dass die automatische Zerlegung des Hinterschinkens nur umgesetzt werden kann, wenn dieser zuvor weitgehend entschwartet wurde, da ein zusätzliches, automatisches Ablösen der Schwarte nicht umsetzbar ist.

Die eigentliche Umsetzung der automatischen Zerlegung beginnt mit dem Freischneiden des Schloss- und Schwanzknochens (vgl. Abschnitt 5). Danach werden Oberschale und Nuss an den Faszien zwischen diesen beiden Teilstücken getrennt. Der nächste Schritt ist die Trennung der Oberschale von der Unterschale wiederum entlang der Faszien. Für das endgültige Auslösen der Oberschale wird diese dann noch nach oben vom Eisbein und vom Knochen, insbesondere Röhrenknochen, abgeschnitten. Im nächsten Abschnitt der Zerlegung wird die Nuss

von der Unterschale durch Schnitte entlang der entsprechenden Faszien abgetrennt. Auch hier ist der letzte Schritt des Auslösens das Schneiden am Knochen entlang. Die Unterschale wird zusammen mit dem Hüftstück von oben nach unten von den unterschiedlichen Knochen freigeschnitten, so dass zum Schluss der in der **Abb. 5, C** dargestellte Rest aus Eisbein und Knochenverbund übrig bleibt.

Der manuelle Test dieser – gegenüber der traditionellen Behandlung von Schweineschinken in Industrie und Handwerk – neuen Art der Zerlegung in einem Erprobungsgestell bestätigte, dass die eigentliche Zerlegearbeit durch die obere und untere Fixierung nicht behindert wird. Der Knochenverbund bleibt als zentrale Achse des Schinkens während des gesamten Vorgangs erhalten; dessen Längenänderung liegt im Bereich weniger Millimeter und kann daher vernachlässigt werden. Damit wurde nachgewiesen, dass das Prinzip der festen senkrechten Einspannung des Hinterschinkens geeignet ist, die automatische Zerlegung umzusetzen.

5. Umsetzung der Zerlegung mittels Roboter

Für die Umsetzung der automatischen Zerlegung mittels Roboter müssen die im vorhergehenden Abschnitt aufgeführten Zerlegebewegungen anhand von dreidimensionalen Kurven im Raum nachgestellt werden. Da neben der Lage der Punkte auf der Kurve auch der Winkel, mit dem das Schneidwerkzeug diesen Punkt ansteuert, einstellbar sein muss, ist für die Umsetzung ein Roboter mit mindestens 6 Achsen erforderlich (Zerlegeroboter). Darüber hinaus wird ein zweiter Roboter benötigt, um die Schnittöffnung und das Halten der Stücke einschließlich deren definierter Ablage in den dafür erforderlichen Freiheitsgraden zu ermöglichen (Halte-roboter).

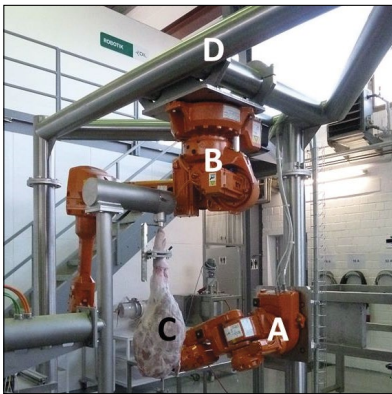


Abb. 6: Integration der Roboter in die Haltevorrichtung des Maschinenkonzepts aus TP 3 (A: Zerlegeroboter, B: Halteroboter, C: eingespannter Schinken, D: Gestell).

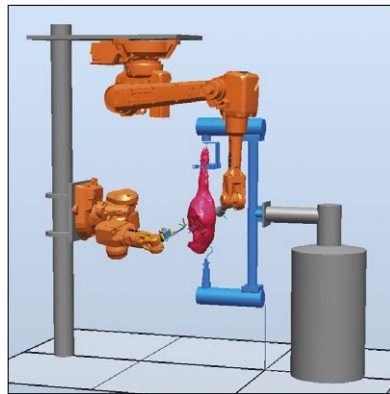


Abb. 7: Umsetzung der Zerlegeumgebung in das RobotStudio™ von ABB.

Über das TP 3 wurden durch die Fa. ABB Automation GmbH zwei 6-Achs-Roboter als Leihgabe unentgeltlich zur Verfügung gestellt. Der als Zerlegeroboter eingesetzte IRB 140 hat eine Handhabungskapazität von nominell 6 kg und eine Reichweite von 810 mm. Für das Halten und definierte Ablegen der Teilstücke wurde ein Roboter vom Typ IRB 2600 mit einer Reichweite von 1650 mm und einen maximalen Traglast von 12 kg bereitgestellt.

Beide Roboter wurden in die von TP 3 entworfene Halterung für das Maschinenkonzept des Clusterprojekts integriert und an der Forschungsstelle 2 (DIL) aufgestellt (**Abb. 6**).

Für die Programmierung der Bahnen der Roboter, um die eigentliche Zerlegung durchführen zu können, wurde das RobotStudio™ der Fa. ABB eingesetzt. Mit diesem lassen sich nicht nur die Programme für die Roboterbewegung erstellen und prüfen, sondern es ist auch möglich, die Arbeitsumgebung des Roboters mit zu integrieren. Auf diese Weise entsteht eine realitätsnahe Simulationsumgebung, in der die geplanten Anwendungsszenarien nachgestellt werden können. Eine solche vereinfachte Implementation der Zerlegeaufgabe mit beiden Robotern und den Halterungen ist in **Abb. 7** dargestellt.

Die Halterung für den Hinterschinken (*Transfix* aus TP 3) wurde direkt aus den CAD-Daten übernommen. Das Modell des Schweineschinkens beruht auf den Daten der Computertomographie (CT) eines der Modellschinken (TP 6). Die Fixierungen für die Roboter selber wurden als vereinfachte mechanische Elemente unter Berücksichtigung der genauen Lage der Komponenten zueinander integriert.

In dieser Simulationsumgebung wurden nun die einzelnen Schnitte, die für die Zerlegung erforderlich sind, für die Roboter programmiert und anschließend simuliert, wie am Beispiel der vorbereitenden Schnitte am Schlossknochen in der **Abb. 8** zu erkennen ist. Dieses vorherige Freischneiden von Schloss- und Schwanzknochen ist bei der automatischen Zerlegung vor dem eigentlichen Herauslösen der Teilstücke erforderlich, da ansonsten die Zugänglichkeit für diese Schnitte zu einem späteren Zeitpunkt der Zerlegung nicht mehr gegeben ist bzw. sich dann durch Gewichtsänderungen am Schinken zu große Lageverschiebungen genau an diesen Stellen ergeben würden.

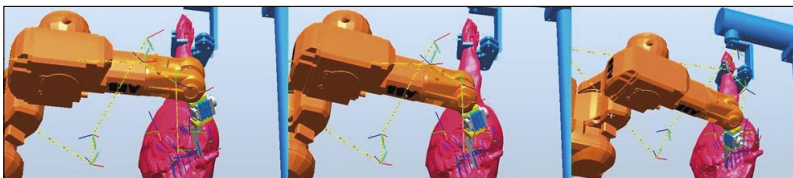
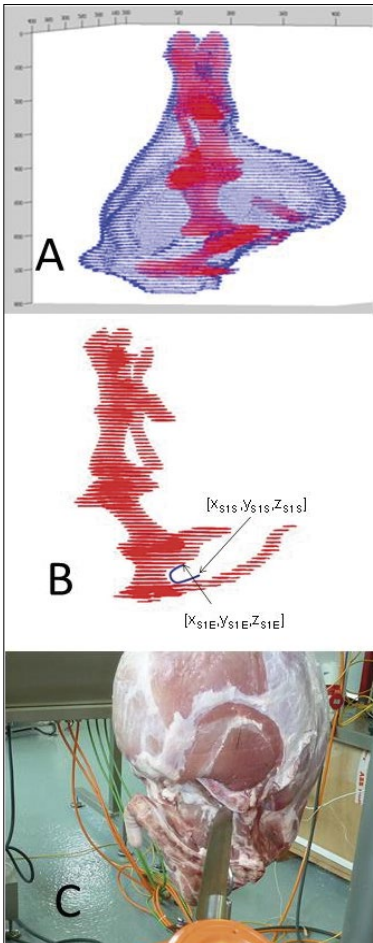


Abb. 8: Sequenzen aus der Simulation des teilweisen Freischneidens des Schwanzknochens in RobotStudio™.

Diese Simulation der Roboterbewegungen wurde anschließend in der Zerlegung am realen Schinken getestet. In der Erprobungsphase wurden die für jeden Schinken individuell erforderlichen Schnittbahnen, die sich jeweils aus der äußeren Form und der Lage der Knochen und Fasziern ergeben, aus den Daten der Computertomographie (TP 6) für einzelne Schinken berechnet. Dazu wurde durch die Forschungsstelle 1 aus den CT-Bildern ein 3D-Modell der äußeren Hülle sowie ein weiteres 3D-Modell der Knochen mittels MATLAB™ berechnet.



Mittels dieser Modelle wurden dann die Koordinaten für die Bewegung des Roboters entsprechend den Schnitten entlang der Knochen bestimmt und die entsprechenden Roboterbewegungen ausgeführt. **Abb. 9** zeigt dies beispielhaft wiederum für das Freischneiden des unteren Bereichs des Schlossknochens.

Analog zu der in **Abb. 9** gezeigten Vorgehensweise für das Freischneiden des Schlossknochens wurden die weiteren Schnitte, die für die Zerlegung des Hinterschinkens in die wertgebenden Teile Ober- und Unterschale, Nuss und Hüftstück erforderlich sind, als Bewegungen des Roboters programmiert und die Zerlegung stückweise umgesetzt.

Abb. 9: Beispiel für die Umsetzung des Freischneidens des Schlossknochens basierend auf den CT-Daten (A: MATLAB-Modell für Hülle und Knochen, B: Berechnete Schnittbahn für Freischneiden, C: Umsetzung des Schnittes mit dem Roboter).

Zum Abschluss des Projektes wurde als letzte Stufe die Einbeziehung der Daten, die zu dem jeweiligen Schinken über die Messtechniken aus TP 2 gewonnen werden konnten, getestet. Das betraf sowohl die Informationen zur äußeren Hülle

le (Stereokamera) als auch die Daten zur Lage der Knochen und Faszien (Ultraschall). Im Rahmen des Maschinenkonzeptes mit der Fixierung des Schinkens in dem schwenkbaren *Transfix* konnten diese Daten dann direkt in das Koordinatensystem der Roboterumgebung transformiert und die aktuellen Schnittbahnen für das Schneidwerkzeug am Roboter daraus generiert werden.

Zusammenfassung

Im Rahmen des hier vorgestellten Teilprojektes 1 (TP 1, Forschungsstellen Lehrstuhl für Strömungsmechanik der Universität Erlangen-Nürnberg und Deutsches Institut für Lebensmitteltechnik e.V.) des Forschungsclusters „Minimal Processing“ wurde als Schwerpunkt zum einen ein Automatisierungskonzept mit neuartiger Datenerfassung und -auswertung entwickelt und umgesetzt. Um den Stoff- und den Energieeinsatz zu minimieren, setzte der Lehrstuhl für Strömungsmechanik Referenz-Petri-Netze (RPN) zur Modellierung und Simulation des Gesamtprozesses ein. Das Deutsche Institut für Lebensmitteltechnik realisierte als weiteren Schwerpunkt die eigentliche Zerlegung mittels Roboter. Mit dieser Herangehensweise im Sinne des Minimal Processing wird die gesamte Prozesskette der Feinzerlegung im Spannungsfeld zwischen Kundenakzeptanz, Produktqualität, Automatisierungsgrad, Betriebsökonomie und Prozessökologie berücksichtigt und ganzheitlich optimiert.

Literatur

- [1] Lay, N. (1997): Anwendung neuer Technologien – Automatisierung der Arbeitsvorgänge bei der Fleischzerlegung. *Fleischwirtschaft*, 77 (5), 447-449.
- [2] Van der Vorst, JGAJ, Beulens, A. J. M. und van Beek, P. (2000): Modelling and simulating multi-echelon food systems. *European Journal of Operational Research* 122 (2), 354-366.
- [3] Nagel, M. (2009): Extending approaches for production planning, process simulation and optimization, *Proceedings of the 32nd EBC Congress*.
- [4] Nagel, M; Feng, P. und Ruß, W. (2009): Simulationsgestützte Optimierung der Dampfversorgung einer Brauerei, *Der Weihenstephaner* 3, 110 – 112.
- [5] Delgado, A., Heinz, V., Xie, Q., Franke, K., Groß, F., Hupfer, S. und Nagel, M. (2013): Automatisiertes Minimal Processing in der roboterbasierten Feinzerlegung von Schweinefleisch, *FleischWirtschaft* 95 (6), 170–174.

Im Rahmen des DFG/AiF-Clusters „Minimal Processing in automatisierten Prozessketten der Fleischverarbeitung“ wurde das Teilprojekt 1 des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Summary Sub-Project 1

Automated Minimal Processing in the robot-based deboning of pork meat

Within the framework of the presented sub-project 1 (SP 1) of the research cluster "minimal processing" a concept of automation was developed and implemented including novel data acquisition and evaluation. In order to minimise the use of material and energy, the Institute of Fluid Mechanics applied reference Petri nets (RPN) for modelling and simulation of the entire process. With the ability to perform database entries from the Petri nets and thus trigger state changes of the system, the Petri nets can be used not only for mapping the material and energy flows as well as simulating alternative process planning, but also directly take over the automatic sequence control of the plant. Thus the nets prove to be an optimal representation and automation tool of the state machine realised in the PLC.

The starting point of a holistic minimal processing in automation is based on this duality of the Petri nets as automation and simulation tool. The nets have access to the same "switches" and "actual conditions" such as the also developed manual control (web application) and well as to the configuration parameters in the database like torques and engine speeds. Thus, an optimisation cycle can be performed of simulation at the "virtual plant" and validation for adaptation of the system parameters in the sense of minimal processing.

The German Institute of Food Technologies realised and further focused the actual separation by robots. The deboning of pork ham from hind leg was chosen as the task for the robot-based automated meat processing within the minimal processing project. However, the traditional procedure of ham deboning is carried out at a table without any fixation. Such a procedure is not suitable for robot-based automated deboning and, therefore, it has to be adapted to the automation task. At the end, a vertical fixation with the opportunity to rotate the ham along its longitudinal axis was developed to enable accessibility of all ham parts by the cutting robot. The fixation on both upper and bottom side of the ham gave the required stability so that all the information about shape and location of bones which were a priori determined by sub-project 2 can be used over the full deboning process.

The novel deboning procedure was manually tested for this type of ham fixation considering the planned implementation into an automated process. The sequence of single cuts as well as the required forces to open cuts and to hold the single pieces was adapted. It could be demonstrated that the positions of the bones and their joints were stable during deboning process despite the removal of main parts of the ham. Before automated deboning, the rind had to be

removed from the ham because it is not possible to do this by the robot during deboning.

The implementation of the automated deboning according to the procedure as described above required the movement of the cutting tool (knife) by the robot along three-dimensional paths through the ham. Because not only the point in the ham itself but also the orientation of the knife are of relevance for the required cuts, a robot with at least 6 axes is required to move the knife. A second robot was used to open the cuts by defined pulling on meat parts around the cuts. Additionally, the robot was used to hold separated pieces of the ham and put them on defined places. For this purpose two robots were temporary provided by ABB without costs. Both robots were integrated into the machine concept of SP3 and positioned in the technical hall of DIL (research institute 2).

To program the robot movement, the whole environment of the deboning concept, including robots and their fixation as well as ham and its fixation were implemented in the simulation software RobotStudio™ delivered by Abb. At the beginning, single cuts of the ham deboning procedure were programmed and tested using this simulation tool. The resulting robot commands were then transferred to the robot control unit and tested on real hams.

To do this, the cutting curves had to be calculated for the individual ham, because each ham has its special shape and location of bones. This task was carried out by University of Erlangen (research institute 1) based on images obtained by computer tomography (CT) of the ham. These images formed the basis to calculate a 3D model of the outer ham shape and a second model to describe the location of the bones. MATLAB™ functionality was used for this task. Both models can be applied to calculate the required cutting paths for the single ham which has to be carried out by the robot. This procedure was finally tested on different hams.

Teilprojekt 2 (DFG)

Physikalisches Imaging zur Struktur- und Texturerkennung bei der Fleischverarbeitung

Dominik Ulrich Geier

Walid B. Hussein

Dr. Mohamed A. Hussein

Prof. Dr. Thomas Becker

Technische Universität München, Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW,
Lehrstuhl für Brau- und Getränketechnologie, Freising-Weihenstephan

TP
2

Motivation

Die ortsgenaue Auflösung von zur Zerlegung wichtigen Strukturen in Tierkörpern stellt höchste Anforderungen an Präzision, Zuverlässigkeit und Robustheit. Wegen der äußerst widrigen Einsatzbedingungen, des Risikos von Bedienfehlern und der vergleichsweise geringen Wertschöpfung in der Fleischindustrie versagen existierende Verfahren.

Der kombinierte Einsatz von Ultraschall und digitaler Bildverarbeitung zur Prozesssteuerung und -überwachung ist keine gängige Praxis in der Industrie, insbesondere nicht in der fleischverarbeitenden Industrie, bietet aber einen alternativen Lösungsansatz an.

Das Ziel dieses Teilprojektes ist die Entwicklung eines effizienten und preiswerten Systems, welches die Detektion von Oberflächenstrukturvariationen mit einer Analyse der tieferen Schichten kombiniert. Die Umsetzung erfolgt durch die Kombination von zwei modernen bildgebenden Verfahren. Bei dem ersten Verfahren handelt es sich um ein Stereokamerasystem mit angeschlossener digitaler Bildverarbeitung, welches die räumliche Lage und Geometrie der Fleischpartie erfasst, bei dem zweiten um ein Ultraschallsystem, welches den inneren Aufbau der Fleischpartie analysiert. Über eine hochentwickelte, intelligente und zuverlässige Mustererkennung wird anschließend aus den gewonnenen Informationen eine dreidimensionale Rahmen-Layer-Struktur erzeugt. Hierzu müssen neue Mustererkennungsmethoden entwickelt, etabliert und auf ihr Anwendungspotential in der Fleischindustrie evaluiert werden. Über die so ermittelten Daten kann eine automatische, auf die jeweilige Fleischpartie angepasste Schnittführung gesteuert werden.

Entwicklung des Messsystems

Das entwickelte Stereokamerasystem bestand aus zwei Farbkameras mit CCD-Sensoren, welche Bilder mit einer Auflösung von zwei Megapixeln aufnahmen. Die maximale Bildwiederholfrequenz betrug 50 Bilder pro Sekunde. Kameras mit höherer Auflösung wurden nicht verwendet, um die Echtzeitfähigkeit des Systems zu garantieren. Die beiden Kameras wurden achsenparallel an eine lichtundurchlässige Messbox montiert, wobei der Abstand der Kameras voneinander der Basislinie b entsprach (**Abb. 1**).

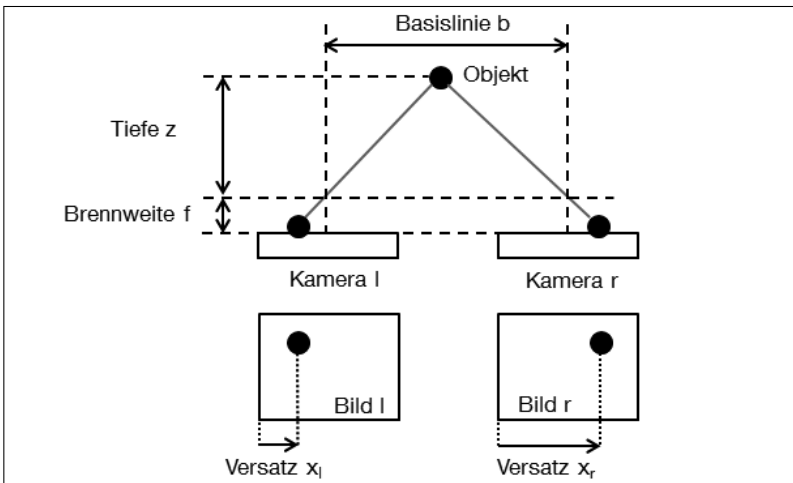


Abb. 1: Schema des Stereokamerasystems.

Die Ausrichtung der untersuchten Schinken erfolgte mit Hilfe einer speziellen Einspannvorrichtung, die eine definierte Rotation des Schinkens um 360° ermöglichte. Weiterhin wurde durch den Einbau von LED-Lichtleisten eine homogene Ausleuchtung der Schinken erzielt. Mit diesem Messaufbau wurden immer zwei Bilder (Bild der linken und Bild der rechten Kamera) zeitgleich aufgenommen. Mit Hilfe einer pixelbasierte Korrespondenzanalyse [1] wurde der jeweilige Versatz x_r und x_l eines aufgenommenen Objekts bestimmt. Die Disparität d der korrespondierenden Bildpunkte berechnete sich als:

$$d = x_r - x_l$$

Der Abstand z (Tiefe) eines Objektpunkts ergab sich durch den Zusammenhang zwischen der Brennweite f der Kameras, der Basislinie b und der Disparität d [2]:

$$z = \frac{b \cdot f}{d} = \frac{b \cdot f}{x_r - x_l} .$$

Aus diesen Abstandswerten wurde ein Tiefenbild berechnet (**Abb. 2**), bei dem der Abstand z in Farbtönen dargestellt wurde. **Abb. 2b** zeigt beispielhaft das Tiefenbild eines Schinkens. Bereiche ohne Tiefenbildinformation sind blau dargestellt. Die Analyse dieser fehlerhaften Tiefenbildregionen und der korrespondierenden Regionen des rechten und des linken Bildes, aus denen das Tiefenbild berechnet wurde, ergab, dass die Schinkenoberfläche dort nur geringe spezifische textuelle bzw. farbliche Eigenschaften aufwies. Zusätzlich zu der geringen Textur, welche insbesondere bei oberflächigen Fettfragmenten auftrat, entstanden Lichtreflexionen durch die feuchte Oberfläche des Schinkens. Dies führte dazu, dass die Disparität der korrespondierenden Bildpunkte mit Hilfe der Textur- und Farbanalyse nicht berechnet werden konnte und somit an diesen Stellen keine Tiefeninformation vorlag.

Die Rekonstruktion fehlender Tiefenbildwerte wurde durch Interpolation zwischen bekannten angrenzenden Tiefenbildwerten erreicht (**Abb. 2c**). Es wurde eine anisotrope Interpolation verwendet, die auf der LATTICE-BOLTZMANN-Diffusion beruht. Ihre Grundgleichung ist in **Abb. 2d** dargestellt. Die anisotrope Interpolation arbeitet mit einem neundimensionalen Gitter, welches im Gegensatz zu einer normalen zweidimensionalen Interpolation dazu führt, dass Kanten erhalten bleiben [3].

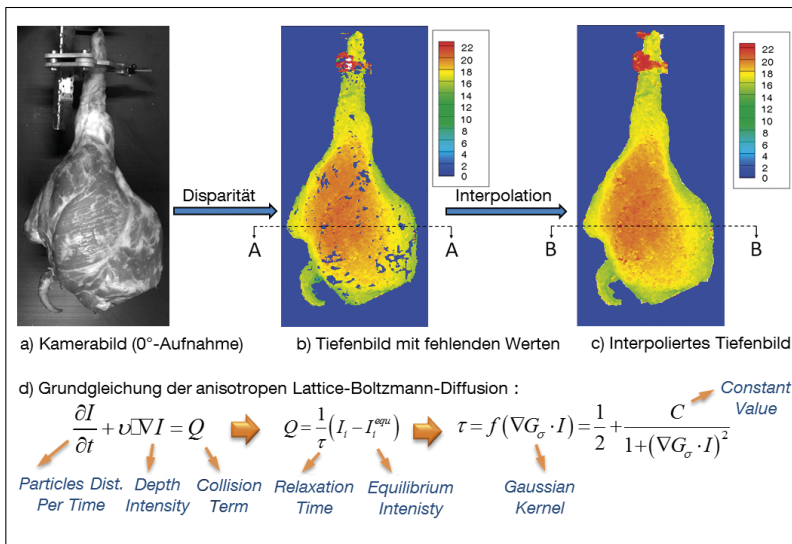


Abb. 2: Tiefenbilderzeugung (a-b), Tiefenbildinterpolation (c) und Grundgleichung der anisotropen LATTICE-BOLTZMANN-Diffusion (d).

Um das Stereokamerasystem zu validieren, wurde ein Testobjekt mit bekannten Dimensionen mit dem Stereokamerasystem untersucht und die Abweichung der aus den Tiefenbildern berechneten Dimensionen ermittelt. Die mittlere Abweichung betrug ± 3 mm.

Bei dem verwendeten Ultraschallsystem handelte es sich um ein Sonoace X6 (Fa. Samsung). Es wurde ein Linearschallkopf mit einer Mittenfrequenz von 7,5 Megahertz und einem Frequenzbereich von 5-10 Megahertz verwendet und eine konvexe Sonde mit einer Mittenfrequenz von 5 Megahertz und einem Frequenzbereich von 2-8 Megahertz. Die Ultraschallbilder wurden direkt über eine Framegrabber-Karte digitalisiert (2-4 frames per second). Die ursprüngliche Größe der Bilder betrug 640 x 480 Pixel. Das digitalisierte Ultraschallbild wurde zunächst in ein 8-Bit-Graustufen-Bild umgewandelt und anschließend die Randbereiche ohne Bildinformationen abgeschnitten, so dass nur das eigentliche Ultraschallbild gespeichert wurde.

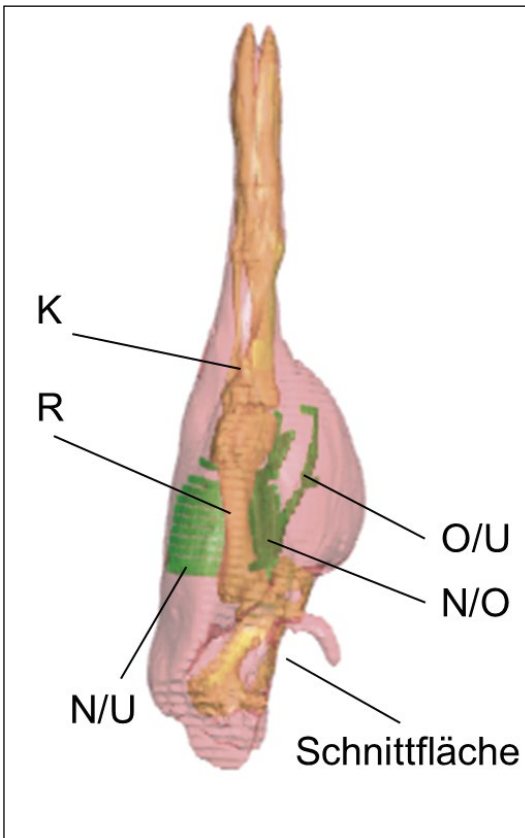


Abb. 3: CT-Aufnahme eines linken Schinkens mit den zu detektierenden anatomischen Strukturen. Die Faszien wurden manuell segmentiert.

Entwicklung des Auswertemethodik

Um die dreidimensionale Anatomie der Schinken zu erfassen, wurden die Schinken in der Einspannvorrichtung fixiert und in Schritten von 9° Tiefenbilder aufgenommen. Als Referenzbild (0°) wurde die Ansicht festgelegt, bei der die Unterschale parallel zur Basislinie des Kamerasystems ausgerichtet war (siehe **Abb. 2a**)

Zusätzlich zur Bestimmung der räumlichen Lage und der Geometrie der Schinken mussten folgende Eigenschaften und Bereiche der Schinken erkannt werden:

- Es musste eine Klassifikation in rechte und linke Schinken erfolgen, da rechte und linke Schinken unterschiedliche Schnittbahnen aufweisen.
- Definierte *Regions of Interest* (ROIs) des Schinkens mussten lokalisiert werden, um dort einen Schnittpunkt zu setzen bzw. einen Ultraschallscan durchzuführen.
- Der Ultraschallscan lieferte im Anschluss die Lage ossaler Strukturen wie Röhrenknochen und Kniescheibe sowie der Faszien. Dies ist nötig, um die a-priori-berechneten Schnittbahnen (TP 1, AG Delgado) auf den jeweiligen Schinken anzupassen. Zusätzlich sollten tief liegende Abszesse im Rahmen des HACCP-Konzepts detektiert werden.

Die mit der Kombination Stereokamera und Ultraschall zu detektierende anatomische Strukturen sind (**Abb. 3**): Kniescheibe (K), Röhrenknochen (R), Faszie Nuss-Unterschale (N/U), Faszie Nuss-Oberschale (N/O) und Faszie Oberschale-Unterschale (O/U).

Die Faszien sind ein Teil des Bindegewebes und aus verschiedenen Faserschichten aufgebaut. Sie trennen Muskeln voneinander, aber auch Muskeln von Haut und Organen und erhalten aufgrund ihrer hohen Elastizität die körperliche strukturelle Integrität [4].

Erste sonographische Untersuchungen zeigten, dass eine Entschwartung der Schinken notwendig war, um eine ausreichende Ankopplung des Ultraschallkopfs an den Schinken zu gewährleisten, da aus hygienischen Gründen kein Koppelmittel eingesetzt wurde. In Absprache mit TP 1 (AG Heinz) und TP 3 (AG Majschak) wurde das Zerlegekonzept so geändert, dass der Schinken vor der eigentlichen Feinzerlegung entschwart wird. Untersuchungen des DIL e.V. (TP 1, AG Heinz) zeigten, dass eine Entschwartung nicht zu einer wesentlichen Destabilisierung der Schinken führte.

Tief liegende Strukturen wie z.B. der Röhrenknochen konnten nur mit der konvexen Sonde erfasst werden, da nur durch eine niedrige Betriebsfrequenz von 2 MHz eine ausreichende Eindringtiefe (10-15 cm) des Ultraschallsignals in das Gewebe gewährleistet war. Bei einem konvexen Schallkopf sind die Piezoelemente jedoch nebeneinander auf einer konvexen Linie angeordnet, dadurch ergibt sich ein fächerförmiges Ultraschallbild [5]. Anhand der geometrischen

Zusammenhänge zwischen Ultraschallbild- und Ultraschallsondengeometrie wurde eine Methode entwickelt, um den vertikale Abstand D_v eines Pixels zur Ultraschallsonde in Abhängigkeit des Krümmungsradius R der Ultraschallsonde und des Abstands x zur Mittelachse des generierten Ultraschallbilds (*center line*) zu ermitteln (**Abb. 4**).

Damit ein automatisierter Ultraschallscan durchgeführt werden kann, wurde die Kraft ermittelt, die der Roboter auf die Ultraschallsonde ausüben muss, denn die Ultraschallbildqualität wird maßgeblich von der ausgeübten Kraft beeinflusst. Die Ultraschallsonde wurde mit definierten Kräften von 0,4 N – 2,4 N in Schritten von 0,2 N beaufschlagt und jeweils 10 Ultraschallbilder der Röhrenknochenregion aufgenommen. Die Analyse der Ultraschallbilder zeigte, dass bei höheren Kräften zwar der Mittlere Grauwert (Indikator für Qualität der Ankopplung) anstieg, allerdings das Muskelgewebe stärker deformiert wurde, was zu einer Vergrößerung der Knochen-Ultraschallsonden-Distanz führte (siehe **Abb. 5**).

Die berechneten textuellen Eigenschaften der Ultraschallbilder (Kontrast, Homogenität und Energie) zeigten keinen signifikanten Zusammenhang mit der beaufschlagten Kraft (siehe **Tab. 1**). Es zeigte sich, dass schon eine relative geringe Kraft von etwa 0,8-1 N für eine adäquate Ankopplung ausreicht. Größere Kräfte führten zu einem Anstieg der Gewebekompression, geringere Kräfte zeigten keine ausreichende Kopplung.

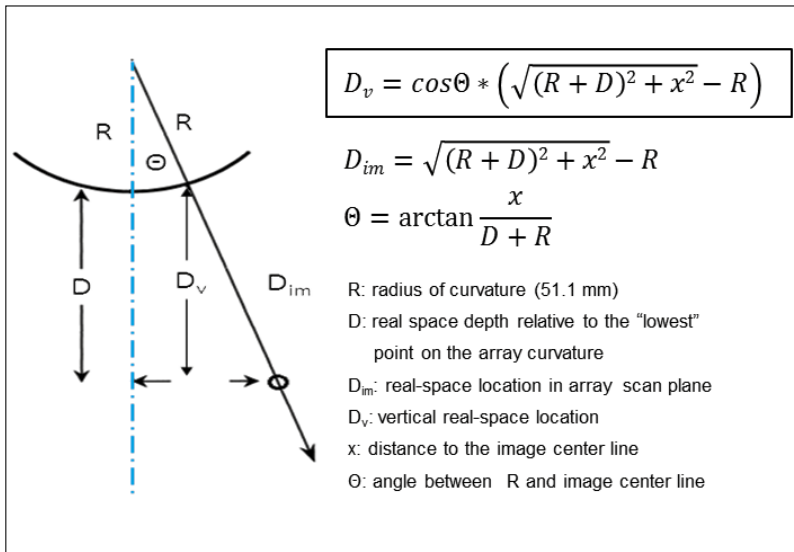


Abb. 4: Abstandsberechnung bei einer konvexen Ultraschallsonde.

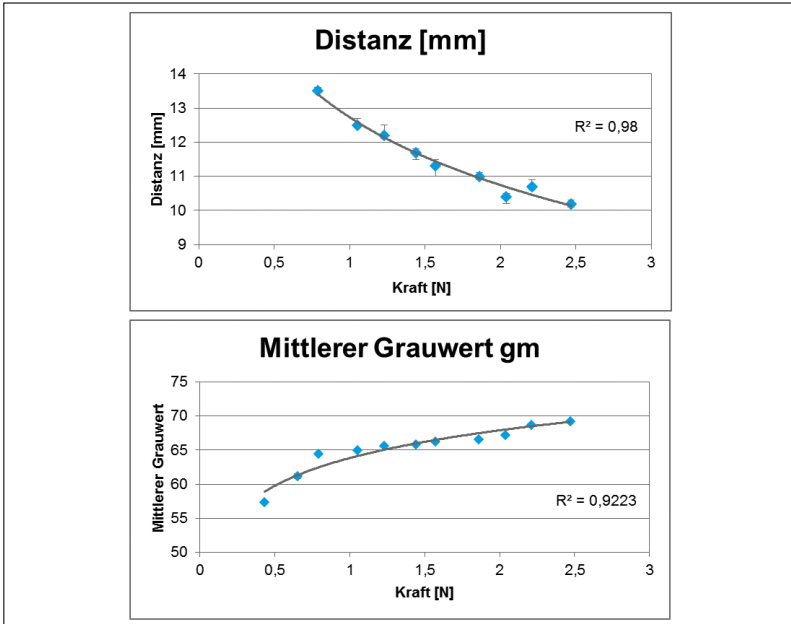


Abb. 5: Knochen-Ultraschallsonden-Distanz und Mittlerer Grauwert in Abhängigkeit der beaufschlagten Kraft, $N = 10$.

Tab. 1: Parameter zur Ermittlung des Kräfteinflusses und Bestimmtheitsmaß R^2

Parameter	Formel	R^2
Distanz Knochen-Ultraschallsonde	$\text{Distanz} = \sum \text{Pixel} * \text{Pixelfaktor}$	-0,98
Mittlerer Grauwert (gm)	$gm = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N g_i$	0,92
Kontrast	$\text{Kontrast} = \sum_{i,j=0}^{N-1} P_{i,j} (i-j)^2$	-0,40
Homogenität	$\text{Homogenität} = \sum_{i,j=0}^{N-1} \frac{P_{i,j}}{1 + (i-j)^2}$	0,08
Energie	$\text{Energie} = \sum_{i,j=0}^{N-1} P_{i,j}^2$	-0,40

Klassifikation in rechte und linke Schinken

Um die Klassifikation in rechte und linke Schinken vornehmen zu können, wurde das Referenztiefenbild (0°) durch das Centroid in einen linken und einen rechten Abschnitt unterteilt, jeweils der Verlauf der Oberflächenkrümmung des Schinkens [6] berechnet und die Mittlere Krümmung, die Anzahl der Nullstellen der 1. Ableitung der Krümmung und die Position der Nullstellen bestimmt. Eine ausführliche Beschreibung der Klassifikation und der verwendeten Parameter findet sich in [7]. Durch den Vergleich der berechneten Parameter für den linken und den rechten Abschnitt konnten alle zwölf untersuchten Schinken (neun linke und drei rechte Schinken) erfolgreich klassifiziert werden.

Detektion der Regions of Interest (ROIs)

Die Bestimmung der Kniescheiben-ROI erfolgte anhand geometrischer Analyse von anatomischen Zusammenhängen (**Abb. 6**). Dazu wurden Verhältnisse, welche insbesondere auf der Gesamtlänge (\overline{ab}) und der Breite (\overline{cd}) beruhen, berechnet. Die so entwickelten Verhältnisse und Variablen wurden mit den Daten von zehn Schinken trainiert (**Abb. 7**). Die Verhältnisse $R1 = 1,8$ und $R4 = 1,6$ hatten eine geringe Standardabweichung von 0,2, das Verhältnis $R2 = 1,3$ hatte eine Standardabweichung von 0,4. $R3$ war das Verhältnis von Gesamtlänge (\overline{ab}) zu Gesamtbreite (\overline{cd}) und spiegelt mit einer Standardabweichung von 0,3 (entspricht 11,5%) die Variation der Schinkendimensionen wider. Durch eine Kombination der Verhältnisse $R1$ und $R4$ konnte die Kniescheiben-ROI bei allen 12 Schinken erfolgreich detektiert werden. **Abb. 6** zeigt beispielhaft die berechnete Kniescheiben-ROI für einen rechten und einen linken Schinken.

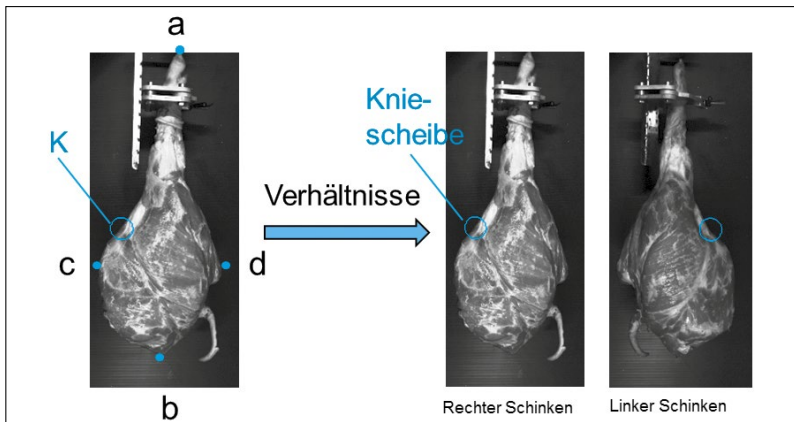


Abb. 6: Detektion der Kniescheibe-ROI für einen rechten und einen linken Schinken.

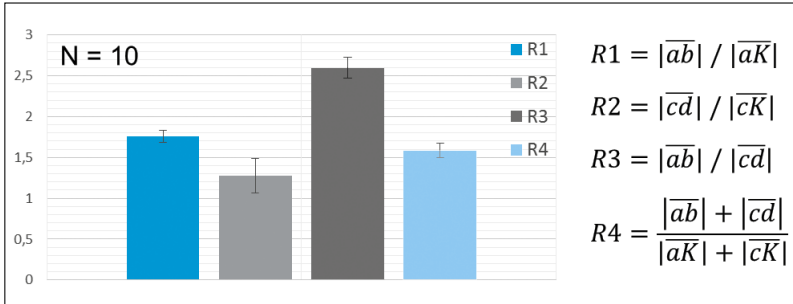


Abb. 7: Beispiele der zur ROI-Detektion herangezogene Verhältnisse (R1-R4).

Die Detektion der Faszien-ROI erfolgte ebenfalls anhand anatomischer Verhältnisse und Variablen. **Abb. 8** zeigt die Detektion der Faszien-ROI zwischen Nuss und Unterschale (N/U). Der erste Schritt war die Detektion des Centroids und der Kniescheiben-ROI. Anschließend wurde um die Mittelpunkte dieser zwei charakteristischen Features jeweils ein Kreis gelegt. Der Radius der Kreise definierte sich über anatomische Verhältnisse, insbesondere die Gesamtlänge und Breite des Schinkens. Der Schnittpunkt dieser zwei Kreise wurde als Scheitelpunkt b festgelegt. Der zweite Scheitelpunkt a wurde durch den Mittelpunkt der Kniescheiben-ROI festgelegt. Mit Hilfe der beiden Scheitelpunkte $\{a,b\}$ wurde eine Ellipse konstruiert, deren Kanten die Faszien-ROI definierte.

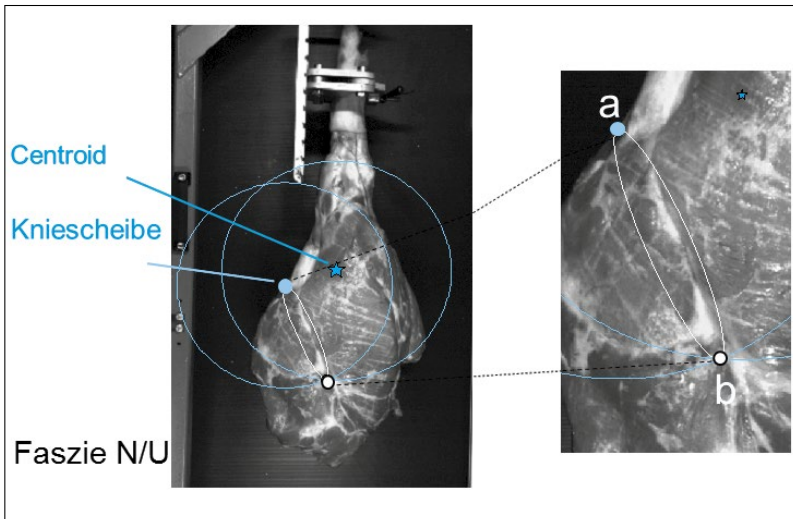
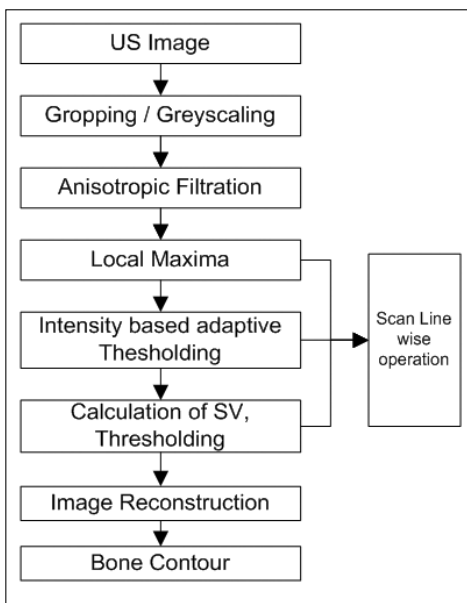


Abb. 8: Detektion der Faszien-ROI.

Um die Detektion der Faszien-ROI zu optimieren, wird allerdings ein größerer Datensatz benötigt, der zur Berechnung der verwendeten anatomischen Verhältnisse herangezogen wird, da die große anatomische Varianz der Schinken (Verhältnis R3, **Abb. 7**) nicht umfassend abgebildet werden konnte. Weiterhin kann bei einem entsprechend umfangreichen Datensatz eine Klassifikation der Schinken in die Handelsklassen erfolgen, um im Anschluss einen auf die spezifische Handelsklasse angepassten Algorithmus zur Detektion der Faszien zu implementieren.

Analyse des inneren Aufbaus

Wegen des großen Impedanzunterschieds zwischen Gewebe und Knochen dringt nur ein sehr geringer Teil der Ultraschallwellen in Knochen ein. Deswegen erscheint das Gebiet unterhalb des Knochens im Ultraschallbild dunkel, während die Knochenoberfläche selbst eine starke Reflexion verursacht. Diese Reflexion erscheint als heller Streifen mit einer gewissen Dicke [8]. Aus diesem Grund bilden Pixel, die einem hellen Streifen zugehören, mit hoher Wahrscheinlichkeit eine Knochenoberfläche ab. Zusätzlich zu der starken Reflexion an der Knochenoberfläche ist die oben beschriebene Ausbildung eines Schallschattens ein charakteristisches Merkmal für eine Gewebe-Knochen-Grenzfläche und entscheidend, um Knochenoberflächen von anderen echoreichen (hyperechogenen) Strukturen zu unterscheiden [9].



Um Rauschartefakte, welche durch Streukörper im Schallfeld hervorgerufen werden, charakteristisch für Ultraschallbilder und die Hauptursache für die limitierte Qualität von Ultraschallaufnahmen sind [10], zu reduzieren, wurden die Ultraschallbilder mit einem anisotropen LATTICE-BOLTZMANN-Filter [3] gefiltert. Der zur Detektion von tief liegenden ossalen Strukturen entwickelte Algorithmus ist in **Abb. 9** schematisch dargestellt. Nach der Filtration wurden für jede *Scan Line* (**Abb. 10**) die lokalen Maxima bestimmt.

Abb. 9: Schema der Knochendetektion.

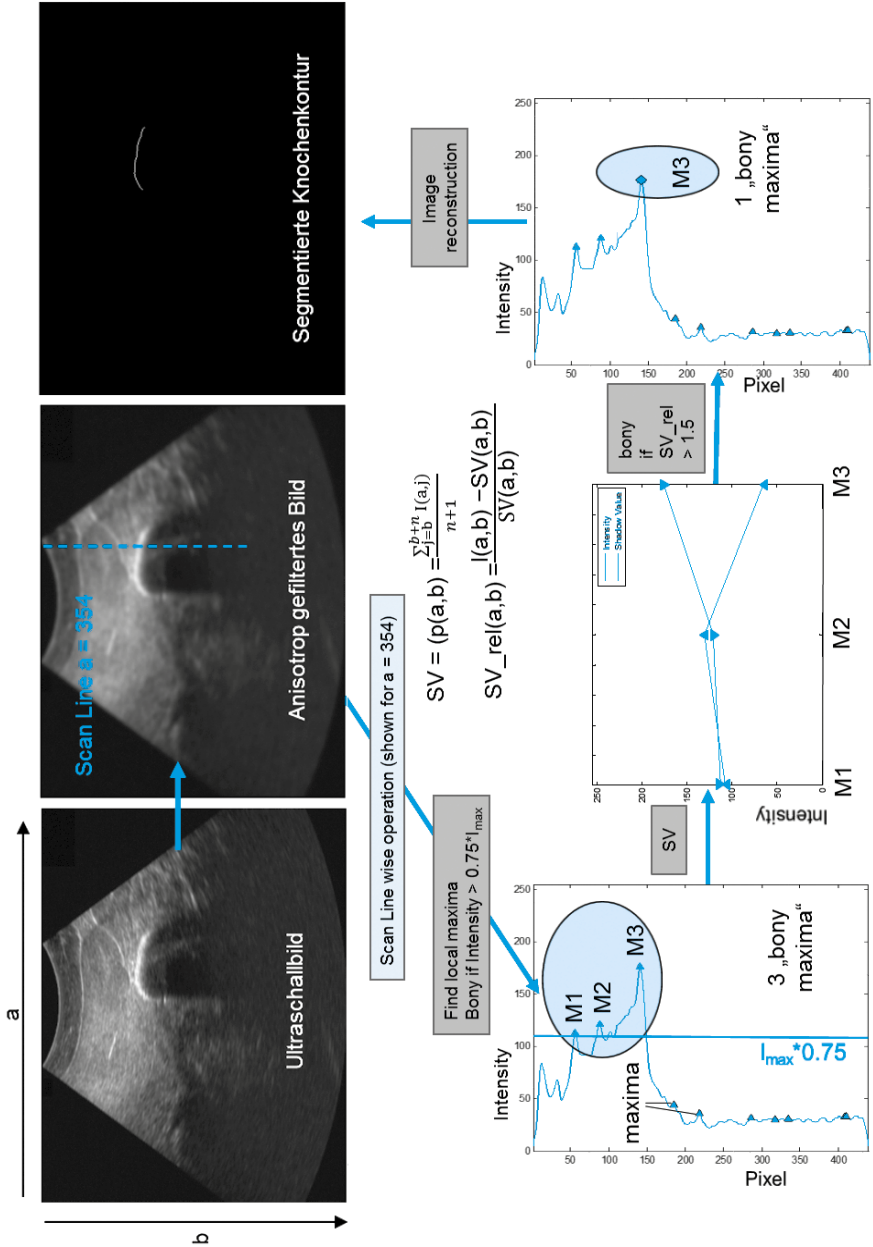


Abb. 10: Ergebnis der Knochensegmentierung.

Anschließend wurde die oben beschriebenen charakteristischen Eigenschaften von Knochen wie folgt implementiert:

- Da Knochen im Ultraschallbild hyperechogen erscheinen, wurden die Maxima mit einem Intensität-Schwellenwert I bearbeitet. Der Schwellenwert betrug 75 % der maximalen Intensität im Ultraschallbild ($I = 0.75 * I_{\max}$).
- Anschließend wurden Maxima, die oberhalb des Schwellenwerts lagen, hinsichtlich der Schallschattenausbildung untersucht.

Dazu wurde der Schallschattenwert (SV) für jedes Maximum berechnet:

$$SV = p(a, b) = \frac{\sum_{j=b}^{b+n} I(a, j)}{n+1}$$

Hierbei ist p das jeweilige Maximum, a die Spalte, b die Zeile, I die Intensität und n sind die Anzahl der Pixel, die zur Schallschattenberechnung herangezogen wurden. Der Schallschattenwert diente zur Berechnung des durchschnittlichen Helligkeitswerts der einem Maximum nachfolgt. Anschließend wurde der relative Schallschattenwert SV_{rel} berechnet:

$$SV_{\text{rel}}(a, b) = \frac{I(a, b) - SV(a, b)}{SV(a, b)}$$

wobei $I(a, b)$ die Intensität des Maximums $p(a, b)$ ist. Nur Maxima, die einen $SV_{\text{rel}} > 1,5$ aufwiesen, wurden als Knochenkontur segmentiert. Der letzte Schritt war die Bildrekonstruktion aus den einzelnen *Scan Lines*. Durch morphologisches *Closing* und *Opening* wurden zudem kleine Diskontinuitäten geschlossen bzw. kleine Strukturen herausgefiltert [11,12]. Die Position des Knochens in Bezug zur Ultraschallsonde konnte entsprechend **Abb. 4** berechnet werden.

Um die Genauigkeit der Knochendetektion zu überprüfen, wurden von zehn unterschiedlichen Schinken Ultraschallbilder verschiedener Knochen aufgenommen. Die Knochenkonturen in diesen 256 Ultraschallbildern wurden manuell segmentiert ($N = 3$), gemittelt und anschließend mit dem Ergebnis der automatischen Segmentierung ($n = 60$, $I = 0,75 * I_{\max}$, $SV_{\text{rel}} = 1,5$) verglichen, indem der *Localisation Error* (LE), die Längenübereinstimmung (*Length Agreement* (LA)) und die *Image Correlation* (IC) [13] berechnet wurden:

$$LE = \frac{\sum_{i=1}^k |Y_i - y_i|}{k}$$

$$LA = \frac{x}{X} * 100$$

$$IC = 1 - \frac{\sum_i \sum_j [A(x_i, y_i) - A^*][B(x_i, y_i) - B^*]}{\sqrt{\sum_i \sum_j [A(x_i, y_i) - A^*]^2 \sum_i \sum_j [B(x_i, y_i) - B^*]^2}}$$

Y ist die y-Position eines Pixels bei automatischer Segmentierung, y die y-Position bei manueller Segmentierung, k die Anzahl übereinstimmender Datenpunkte, X die Anzahl der Datenpunkte bei manueller Segmentierung, x die Anzahl der Datenpunkte bei automatischer Segmentierung, A ist das manuell segmentierte Bild, B ist das automatisch segmentierte Bild, $A(x_i, y_j)$ ist die Intensität in Punkt (x_i, y_j) in A; $B(x_i, y_j)$ ist die Intensität in Punkt (x_i, y_j) in B, A^* die durchschnittliche Intensität von A und B^* die durchschnittliche Intensität in B. Ein Wert von $IC = 1$ entspricht der maximalen Übereinstimmung, d.h. die verglichenen Bilder sind identisch. In **Tab. 2** ist der Vergleich der manuellen und der automatischen Segmentierung dargestellt. Der *Localisation Error* betrug $LE = 1,00 \pm 0,45$ Pixel, was ca. $0,30 \pm 0,14$ mm entsprach.

Tab. 2: Vergleich der manuellen und automatischen Segmentierung (N = 256)

LE [Pixel]	LA [%]	IC
$1,00 \pm 0,45$	$84,65 \pm 14,23$	$0,82 \pm 0,09$

Die Faszien-detektion basierte ähnlich wie die Konchendetektion auf einem Schwellenwertverfahren. Dabei zeigten sich allerdings zwischen den verschiedenen Fasziengrößen große Unterschiede in der sonographischen Erfassbarkeit. Die Fasziengrößen zwischen Nuss und Unterschale sowie Nuss und Oberschale waren vorwiegend sehr gut bis gut erfassbar, die Faszie zwischen Oberschale und Unterschale hingegen zeigte meist eine geringe Erfassbarkeit. Auch eine Ankopplung mit Ultraschallgel lieferte keine Verbesserung. Vermutlich war in diesem Bereich der Impedanzunterschied zwischen Muskelgewebe und Faszie zu gering, um die Faszie im Ultraschallbild eindeutig abzubilden.

Die Detektion von Abszessen ist ein wesentlicher Bestandteil im Rahmen des HACCP-Konzepts, um die Sicherheit des Lebensmittels Fleisch zu erhöhen. In einer Studie von [14] wurden 12.000 Schweinehälften auf Abszesse untersucht. Es zeigte sich, dass nur etwa 0,4% der untersuchten Schweinehälften Abszesse im Bereich der Schinken aufwiesen. Aufgrund dieser geringen Prävalenz wurde ein Abszessmodell entwickelt, mit dessen Hilfe Features für eine automatische Abszessedetektion trainiert werden können. Das Modell bestand aus:

- Wasser, da Muskelgewebe zu 73-76% aus Wasser besteht [15],
- Gelatine als Verdickungsmittel [16,17],
- Samenschalen von *Plantago ovata*, um das Rauschen in den Ultraschallbildern (*Speckle Noise*), welches durch Gewebeinhomogenitäten zustande kommt, zu simulieren [18] und
- Ethanol, um Abszessflüssigkeit zu simulieren.

Das Ziel des Modells war es, das sonographische Erscheinungsbild von Abszessen zu simulieren. Nach [19] und [20] erscheinen Abszesse meistens als hypoechogene Strukturen, welche zudem überwiegend eine runde Form aufweisen. Die Ultraschallaufnahmen des Abszessmodells in **Abb. 11a** zeigen, dass das sonographische Erscheinungsbild von Abszessen erfolgreich simuliert werden konnte. Zudem wurden die Abszesse mit Hilfe eines Schwellenwertverfahrens segmentiert und die Exzentrizität E [21] der Abszessgebiete berechnet (siehe **Abb. 11b**):

$$E = \frac{\sqrt{a^2 - b^2}}{a}$$

Die Exzentrizität ist Maß für die Abweichung von der Kreisform und kann daher genutzt werden, um kreisförmige hypoechoogene Strukturen von morphologisch anders geformeten hypoechoogenen Strukturen zu unterscheiden.

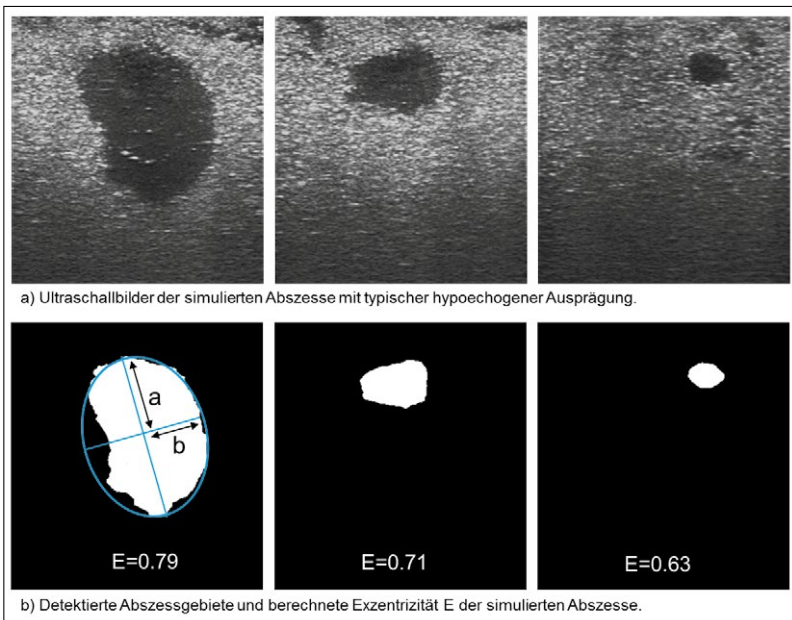


Abb. 11: Ergebnis des Abszessmodells.

Literaturverzeichnis

- [1] O. Schreer, Stereoanalyse und Bildsynthese, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2005.
- [2] K. Mühlmann, D. Maier, J. Hesser, R. Männer, Calculating Dense Disparity Maps from Color Stereo Images, an Efficient Implementation, *International Journal of Computer Vision* 47 (2002) 79–88.
- [3] W.B. Hussein, A.A. Moaty, M.A. Hussein, T. Becker, A novel edge detection method with application to the fat content prediction in marbled meat, *Pattern Recognition* 44 (2011) 2959–2970.
- [4] van den Berg, F., *Angewandte Physiologie: Band 1: Das Bindegewebe des Bewegungsapparates verstehen und beeinflussen*, Thieme, 2010.
- [5] O. Dietz, W. Bolz, *Lehrbuch der allgemeinen Chirurgie für Tiermediziner: 14 Tabellen, 6., völlig neu bearb. Aufl*, Enke, Stuttgart, 2004.
- [6] F. Zana, J.-C. Klein, Segmentation of vessel-like patterns using mathematical morphology and curvature evaluation, *IEEE Trans. on Image Process.* 10 (2001) 1010–1019.
- [7] D. Geier, W.B. Hussein, M.A. Hussein, T. Becker, *Physikalisches Imaging zur Struktur- und Texturerkennung bei der Fleischverarbeitung*, *Fleischwirtschaft* (2013) 82–85.
- [8] A.K. Jain, R.H. Taylor, Understanding bone responses in B-mode ultrasound images and automatic bone surface extraction using a Bayesian probabilistic framework, *SPIE Proceedings Vol. 5373 Medical Imaging*, San Diego 131–142.
- [9] D.V. Amin, T. Kanade, DiGioia, Anthony M 3rd, B. Jaramaz, Ultrasound registration of the bone surface for surgical navigation, *Comput Aided Surg* 8 (2003) 1–16.
- [10] R. Vanithamani, G. Umamaheswari, Performance Analysis of Filters for Speckle Reduction in Medical Ultrasound Images, *IJCA* 12 (2010) 23–27.
- [11] M. Wider, Y.M. Myint, E. Supriyanto, Comparison of Histogram Thresholding Methods for Ultrasound Appendix Image Extraction. *International Journal of Computers* 4 (2011) 542–549.
- [12] R.C. Gonzalez, S.L. Eddins, R.E. Woods, *Digital image processing using MATLAB*, McGraw Hill, New Delhi [u.a.], 2004.
- [13] P.K. Rastogi, *Photomechanics*, Springer, Berlin, New York, 2000.
- [14] C. Goebbels, *Untersuchungen zur Erstellung eines Bildanalyseystems zum Online-Nachweis von Abszessen in Schweinefleisch mittels Ultraschall*, 2000.

- [15] G. Rehner, H. Daniel, Biochemie der Ernährung, Biochemie der Ernährung (2010).
- [16] C.L. Osmer, A gelatine-based ultrasound phantom, *Anaesthesia* 63 (2008) 107.
- [17] L. Clemmesen, T.F. Bendtsen, E. Sloth, N.P. Oveland, L. Knudsen, Gelatine phantom for training of ultrasound guided vascular access, *Ugeskr Laeger* 175 (2013) 576–578.
- [18] S.-L. Chao, K.-C. Chen, L.-W. Lin, T.-L. Wang, C.-F. Chong, Ultrasound Phantoms Made of Gelatin Covered with Hydrocolloid Skin Dressing, *The Journal of Emergency Medicine* 45 (2013) 240–243.
- [19] K.S. Cosby, J.L. Kendall, *Practical guide to emergency ultrasound*, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Pa, 2006.
- [20] G. Lock, K. Schlottmann, J. Schölmerich, *Lehratlas der interventionellen Sonographie*, Thieme, Stuttgart, 2009.
- [21] H. Stöcker, *Taschenbuch mathematischer Formeln und moderner Verfahren*, 4., korr. Aufl., Nachdr, Deutsch, Frankfurt am Main, 2008.

Summary Sub-Project 2

Physical imaging for structure and texture recognition in meat processing

Extremely adverse conditions, human error factor and low creational value in meat industry are faced with high expectations of precision, reliability and robustness. Against this background existing methods of spatial resolved meat cutting fail.

Using a combination of ultrasound and digital imaging for process monitoring and control, is not common practice in industry, especially meat processing industry, which would offer an alternative solution to the existing failures. The aim of this project was to develop an efficient and cheap system, consisting of a combination of a stereo camera system to detect surface structure variations and an ultrasound system to analyze the deeper structures.

The developed stereo system consists of two parallel mounted color cameras with CCD sensors, which were installed at a lightproof measurement box. By integration of LED bars, the illumination of ham samples was optimized. Furthermore the hams were oriented with a rotational traverse mechanism, which provided a defined ham rotation of 360°. With this camera setup two images (image of left camera and image of right camera) were simultaneously recorded and processed. The disparity of the corresponding pixels was calculated by a pixel-based correspondence analysis. From these values, a depth image was calculated, in which the distance of the meat sample to the camera was displayed in different depth-colors. The reconstruction of missing depth image values was achieved by interpolation between known adjacent depth image values. In order to capture the three-dimensional anatomy of the hams, depth images from the fixed hams were taken in steps of 9°. Validation of the stereo camera system comprising a benchmark with known dimensions resulted in a deviation of ± 3 mm. A categorization into right and left hams was achieved by calculating the surface curvature from the recorded images. Furthermore, regions of interest (ROIs) of the ham, which define the scan area for subsequent ultrasound detection or the origin of cutting curves, were calculated. The focus was on the detection of ROIs for the determination of the patella and the fasciae between nut and upper shell, nut and lower shell and upper shell and lower shell. The detection of ROIs was based on geometric analysis of anatomical relations and ratios.

For ultrasound detection a sonographer recording B-mode ultrasound images was used. The ultrasound images were directly digitized with a frame grabber card (2-4 fps) and transferred. In order to reduce noise artifacts, especially speckle noise, the ultrasound images were filtered with a new anisotropic Lattice-Boltzmann-Filter. Subsequently, the images were analyzed for certain structures. The focus was on the detection of bones, fasciae, and abscesses. The detection of

osseous structures was carried out by combined analysis of characteristic features: on the one hand the strong reflection at the tissue-bone interface and on the other hand the formation of an acoustic shadow (bone shadow formation). The comparison between manual and automatic bone detection based on 256 ultrasound images yielded in a mean deviation of 1.00 ± 0.45 pixels, which is about 0.3 ± 0.14 mm. Fasciae detection was based on a threshold method. There were significant differences in the sonographic detectability for diverse fasciae. Due to the low prevalence of abscesses in the ham region, an abscess model was developed, which could be used to train features for automatic abscess detection. The used features were based on the hypoechoic occurrence of abscesses in ultrasound images and the typical spherical structure, which was calculated by the eccentricity.

The described combination of surface structure detection and analysis of the deeper layers provides a novel approach to automated cutting. In addition to the cutting process, the contamination analysis should be extended in future, because both superficial and deep tissue anomalies can be detected with such a system. Therefore, food safety of meat could be increased significantly in the context of HACCP concepts, by detection of abscesses and foreign bodies such as broken knife blades or bone fragments.

Teilprojekt 3 (AiF)

Reinigungs- und hygieneorientiertes Maschinenkonzept zur ganzheitlichen Umsetzung von Minimal Processing in der Fleischverarbeitung (AiF 16691 BR)

Dr. Marc Mauermann

Dipl.-Ing. Stephanie Lange

Dipl.-Ing. Andreas Martin

Dipl.-Ing. Thomas Weyrauch

Prof. Dr. Jens-Peter Majschak

Fraunhofer-Anwendungszentrum für Verarbeitungsmaschinen und Verpackungstechnik (AVV), Dresden

TP
3

Ausgangssituation und Motivation

Bei der Feinerlegung von Schweinefleisch zur Herstellung von Schinken erfolgt – im Unterschied z.B. zur Grobzerlegung – die Verarbeitung derzeit noch infolge mangelnder Automatisierungsmöglichkeiten hauptsächlich in manueller Form. Das betrifft insbesondere das Auslösen von qualitativ hochwertigen Fleischteilen vom Knochen. Diese körperlich anstrengende Tätigkeit erweist sich auf der einen Seite als monoton und damit fehleranfällig, da immer die gleichen Schnitte ausgeführt werden müssen. Auf der anderen Seite erfordert die Variabilität der Einzelstücke eine jeweils individuelle Auswahl der optimalen Schnittführung, um die weitgehende Gewinnung aller wertvollen Bestandteile unter möglichst geringen Verlusten bzw. Verunreinigungen, beispielsweise durch Knochensplitter zu garantieren. Erschwerend kommt hinzu, dass diese Arbeiten aus hygienischen Gründen bei sehr niedrigen Temperaturen, in der Regel deutlich unter 10 °C, durchgeführt werden. Das Gefährdungspotential geht auch aus dem Berufsreport Fleischer 2007 der IKK hervor [1]. Während der Krankenstand im gesamten Nahrungsmittelgewerbe stetig sinkt, bleibt er bei den Fleischern konstant hoch.

Eine Automatisierung der Feinerlegung von Fleisch kann deshalb zur körperlichen Entlastung des Menschen beitragen. Weiterhin kann ein wichtiger Beitrag zur Garantie der Lebensmittelsicherheit geleistet werden, da hierdurch die Reproduzierbarkeit erhöht und der Mensch als größte Kontaminations- und Unsicherheitsquelle vom händischen Eingriff bei der Verarbeitung ausgeschlossen wird [2].

Ziel des Teilprojekts 3 war die Entwicklung eines flexiblen Maschinenkonzepts, welches die monotone Arbeit des Menschen bei niedrigen Temperaturen ersetzen kann. Teilziele sind die ganzheitliche Kontrolle und Rückverfolgbarkeit inklusive der qualitätssensitiven Weiterverarbeitung des Produkts, die validierte hygienegerechte Gestaltung des Maschinenkonzepts zur Minimierung der Kontaminationsgefahren, Integration eines hygienegerechten Positionier- und Handhabungssystems, der Sensoren von Teilprojekt 2, 4, 5 und 6 sowie eines automatischen und bedarfsgerechten Reinigungssystems.

Die Ziele des Minimal Processing (optimale Produkt-, Betriebsmittel-, Energie- und Informationsströme) erfordern eine Feinerlegung von Fleisch mit ganzheitlich hohem Automatisierungsgrad, um die gestiegenen Anforderungen im Sinne der Hygiene und Rückverfolgbarkeit sowie die geforderte minimale Beanspruchung natürlicher, humaner und betrieblicher Ressourcen ganzheitlich zu realisieren.

Maschinenkonzept

Die allgemeinen Anforderungen an das Maschinenkonzept sind entlang der Prozesskette in **Abb. 1** zusammengefasst. Zusätzlich soll die mechanische und softwaretechnische Vernetzung der Module gewährleistet werden.

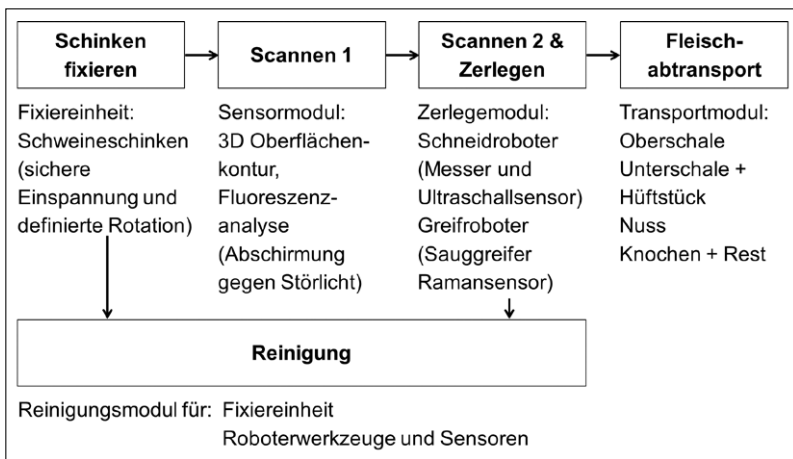


Abb. 1: Prozesskette mit Anforderungen an das Maschinenkonzept.

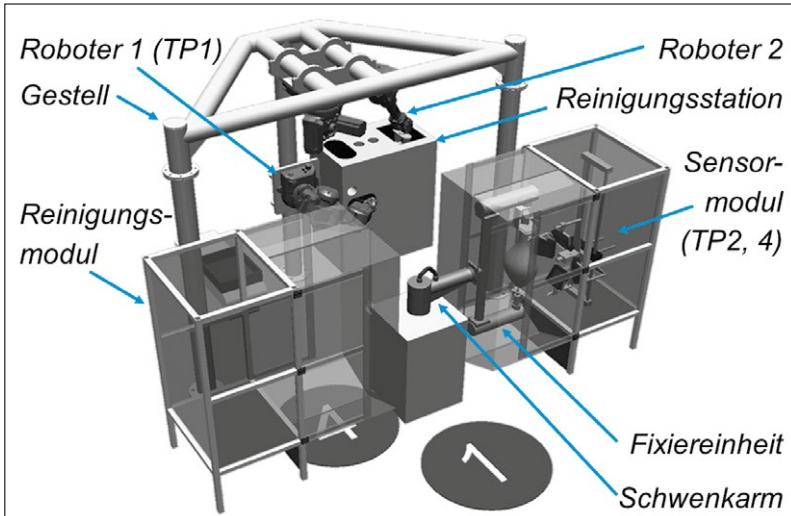


Abb. 2: Maschinenkonzept zur Umsetzung einer automatischen Zerlegung von Schweineschinken mit zwei Industrierobotern.

Grundelemente des Maschinenkonzepts (**Abb. 2**) sind eine zentrale schwenkbare Fixiereinheit für die Schinkenkeule sowie ein Portalgestell für die Montage zweier Industrieroboter. Weitere Elemente des Maschinenkonzepts sind ein Sensormodul, eine Reinigungsstation für die robotergeführten Zerlegewerkzeuge und ein Reinigungsmodul für die Fixiereinheit. Alle Module sind in der abgebildeten Reihenfolge kreisförmig um die zentrale Fixiereinheit angeordnet. Der eingespannte Schinken durchläuft nacheinander alle vier Arbeitsstationen entgegen dem Uhrzeigersinn. An Station 1 wird die Schinkenkeule manuell in die Fixiereinheit eingespannt. An Station 2 fährt die Schinkenkeule in ein Sensormodul ein, das mit einer Fluoreszenz-Sensoreinheit zur Bewertung der mikrobiellen Kontamination sowie einem Stereokamerasystem zur Erfassung der Oberflächengeometrie ausgestattet ist. An Station 3 wird die Schinkenkeule mit 2 Industrierobotern verarbeitet. Zunächst wird von Roboter 2 ein Raman-Sensor an die Fleischoberfläche geführt. Aus dem Raman-Spektrum des Fleisches werden Rückschlüsse auf die Fleischqualität gezogen. Danach führt Roboter 1 eine Ultraschallsonde an definierten Stellen der Schinkenkeule entlang, um relevante Informationen über die innere Fleischstruktur zu ermitteln. Aus den genannten Sensordaten errechnet die zentrale Steuerung ein Schnittmuster für das Heraustrennen der einzelnen Schinkenteile. Roboter 1 führt bei der Zerlegung das Schnittwerkzeug und Roboter 2 übernimmt Handlingsaufgaben, wie Schnittöffnung und Ablegen der Fleischstücke auf dem Transportsystem. In Reichweite beider Roboter ist eine Reinigungsstation für die robotergeführten Zerlegewerkzeuge vorgesehen. An Station 4 fährt die Fixiereinheit mit dem noch eingespannten Knochenstrang in

ein Reinigungsmodul ein. Dort wird zunächst manuell der Knochenstrang entnommen. Anschließend erfolgt eine automatische Reinigung der Fixiereinheit innerhalb des zur Umgebung abgeschirmten Reinigungsmoduls.

TransFix-Modul

Im Transport- und Fixier-Modul (Fixiereinheit) kann die Schinkenkeule vertikal eingehängt und vorgespannt werden. Zwei integrierte Antriebe ermöglichen eine Rotation der Schinkenkeule um ihre eigene Achse. Der Schwenkarm ermöglicht den Transport der fixierten Schweinekeule zwischen den Arbeitsstationen. Die Analyse des Verarbeitungsgutes Schweineschinken führte zu folgenden Festlegungen: Die Rotationsachse der Schweinekeule ist parallel zur wirkenden Erdanziehungskraft anzuordnen, um eine Verformung während der Rotation infolge Durchbiegung zu unterbinden. Ein Vorspannen des Knochenstranges bewirkt die Fixierung der räumlichen Lage im Koordinatensystem auch nach dem Herauslösen der ersten Fleischstücke. Mit dem *TransFix*-Modul wurde eine flexible Antriebslösung entwickelt, die in Interaktion mit den Bewegungsbahnen der Roboter eine optimale Schnitfführung ermöglicht.

Sensor-Modul

Sowohl die Fluoreszenz-Sensoreinheit zur Bewertung der mikrobiellen Kontamination der Schinkenkeule sowie das Stereokamerasystem zur Erfassung der Oberflächengeometrie müssen während der Messung gegen Störlicht aus der Umgebung abgeschirmt werden. Das Sensormodul ermöglicht durch seine geschlossene Hülle und zwei schwenkbare Türelemente sowohl das Hinein- und Hinausschwenken der in der Fixiereinheit eingespannten Schinkenkeule als auch das lichtdichte Abschließen des Innenraumes bei eingefahrener Fixiereinheit.

Zerlegemodul mit Schneid- und Greifroboter

In Zusammenarbeit mit dem projektbegleitenden Ausschuss wurden zwei 6-Achs-Industrieroboter für die Verarbeitungsaufgabe ausgewählt. Der Schneidroboter (Roboter 1) hat eine Reichweite von 800 mm und ist in Wandmontageposition an einem Edelstahl-Portalgestell installiert. Der Handlingsroboter (Roboter 2) hat eine Reichweite von 1.850 mm und ist ebenfalls am Portalgestell, jedoch in Deckenmontage installiert. Mit dieser räumlichen Anordnung der 6-Achs-Roboter wird der Bewegungsraum der Roboter optimal ausgenutzt. Im Zusammenspiel mit der senkrechten Rotationsachse der Schweinekeule ist jeder Punkt des Schinkens für die robotergeführten Werkzeuge erreichbar und die Bewegungen über die zentrale Steuerungseinheit synchronisierbar. Der Hallenboden bleibt durch die Portalbauweise nahezu frei von kritischen Stellen an denen sich Schmutz ablagern kann und bleibt für die Reinigung barrierefrei zugänglich. Der Bau der Funktionsmuster (**Abb. 3**) erfolgte in enger Zusammenarbeit mit den weiteren Forschergruppen des Clusters und den Industrieunternehmen des projektbegleitenden Ausschusses.

Reinigungsmodul für robotergeführte Werkzeuge

Zur Reinigung der robotergeführten Zerlegewerkzeuge wurde ein Reinigungsmodul konzipiert, das mittels Spritzreinigung Werkzeuge unterschiedlicher Geometrien (Messer, Saugglocken, zylinderförmige Werkzeuge etc.) reinigen und desinfizieren kann. In einer zylindrischen Kammer sind separat schaltbare Reinigungsdüsen angeordnet, die in Kombination mit rotatorischen sowie linearen Roboterbewegungen sowohl Außen- als auch Innenflächen von Werkzeugen reinigen können. Bei zukünftigen Anlagenkonzeptionen sollte das Reinigungsmodul in Reichweite beider Roboter angeordnet werden, so dass im Sinne des Minimal Processing nur ein Reinigungsmodul für alle robotergeführten Werkzeuge installiert werden muss.

Reinigungsmodul für Fixiereinheit

Nach Entnahme des eingespannten Knochenstrangs kann das Fixiermodul in einem zur Umgebung abgeschirmten Reinigungsmodul gereinigt werden, bevor nach erneutem Schwenk der Fixiereinheit zur Arbeitsstation 1 die nächste Schweinekeule eingespannt wird. Das Reinigungsmodul entspricht in der äußeren Form dem Sensormodul, jedoch sind im Inneren statt der Sensoren Düsenstöcke angeordnet. Der C-förmige Rohrrahmen wird dabei durch statische

Spritzreinigung gereinigt und desinfiziert. Die produktberührenden Baugruppen Klemmzange und Spannhaken rotieren vor speziell angeordneten statischen Düsen und werden so trotz ihrer komplexeren Geometrien akzeptabel gereinigt.



Abb. 3: Funktionsmuster am Standort Quakenbrück.

Detektions-/ Schnitt-/ Zerlegereihenfolge

Ableitung der zu bestimmenden Schinkeneigenschaften

Ziel der automatischen Zerlegung ist das hinreichend genaue Trennen der qualitätsbestimmenden Fleischpartien. Dafür muss den Robotern ein Schnittmuster vorgegeben werden, in dem die genaue Lage der Faszien und Knochen enthalten sind, die aus den Daten der Stereokamera und der Ultraschallschans abgeleitet werden. Dabei bedeutet Lagebestimmung die Ermittlung eines Koordinatennetzes für die jeweilige Oberfläche von einem definierten Koordinatenursprung innerhalb des *TransFix*.

Auf Basis manueller Vortests wird die nachstehende Reihenfolge der Datenerfassung für Stereokamera und Ultraschall vorgeschlagen:

1. Bestimmung der äußeren Form und der Gesamtmaße (Stereokamera)
2. Erkennen von rechtem und linkem Schinken (Stereokamera), deutliche Anhaltspunkte sind Ferse (hinten) sowie die Trennstelle (innen) (**Abb. 4a**)
3. Ermittlung der ungefähren Lage der Kniescheibe zur Positionierung der Ultraschallschallsonde (Stereokamera) (**Abb. 4a**)
4. Bestimmung der exakten Position der Kniescheibe (Ultraschall)
5. Erfassen der Position von Kniegelenk und Röhrenknochen (Ultraschall)
6. Lage und Verlauf der Faszien Oberschale-Nuss und Unterschale-Nuss (Ultraschall); Ausgangspunkt: Kniescheibe, danach iterativ der Faszie folgen (**Abb. 4b**)
7. Lage und Verlauf der Faszie Oberschale-Unterschale (Ultraschall); Anhaltspunkt: unterhalb der Ferse, leicht geschwungen (**Abb. 4c**)
8. Position des Schlossknochens (Ultraschall) (**Abb. 4d**)
9. Lage und genaue Form von Schloss- und Schwanzknochen (Ultraschall), Aufsetzen der Sonde auf Unterschale/Hüfte

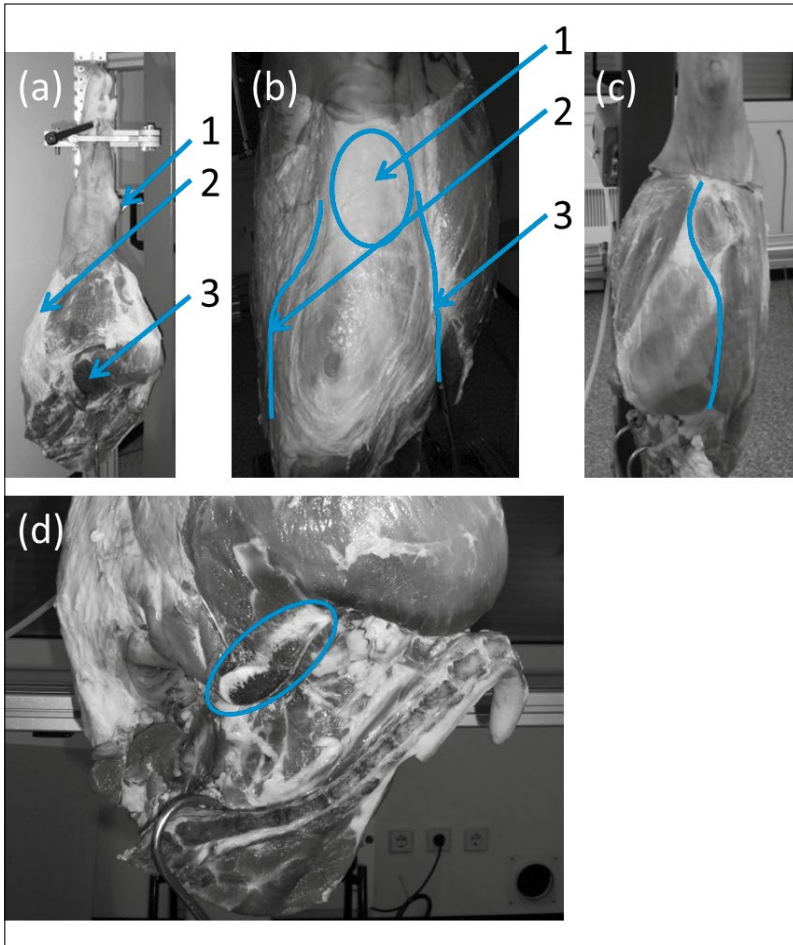


Abb. 4: (a) Position von Ferse (1), Kniescheibe (2) und Trennstelle (3) eines Schinkens; (b) Position von Kniescheibe (1) und den Faszien zwischen Unterschale und Nuss (2) sowie Oberschale und Nuss (3), Ansicht des Schinkens von vorn; (c) Position der Faszie zwischen Unterschale und Oberschale, Ansicht des Schinkens von hinten; (d) Position des Schlossknochens.

Schnittreihenfolge

Da bei der automatischen Zerlegung der Knochenverbund zum Einspannen dient, muss dieser, anders als bei der manuellen Zerlegung, intakt bleiben. Weiterhin muss die Zugänglichkeit für das Messer gegeben sein, teilweise ausgelöste Fleischpartien dürfen Schnittbahnen nicht verdecken und die Lage der Fleischpartien sollte sich während der Zerlegung möglichst nicht ändern.

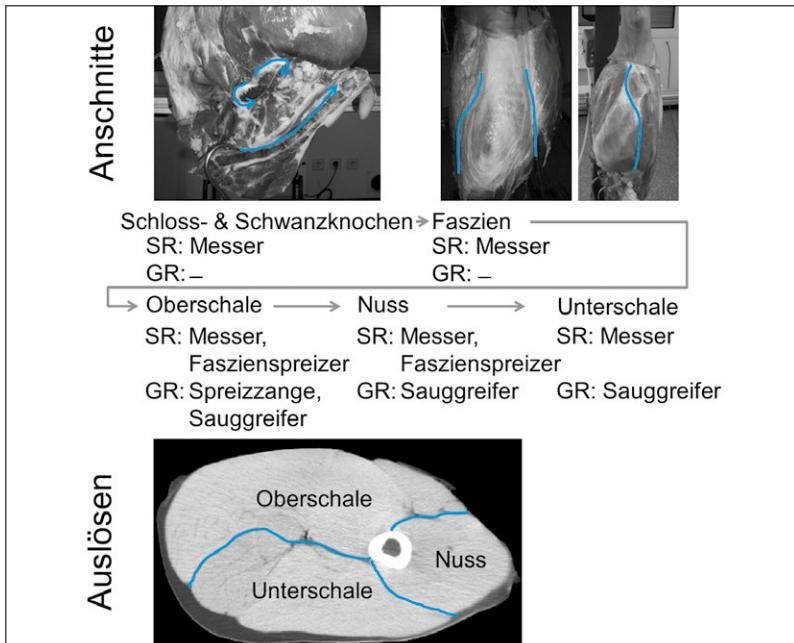


Abb. 5: Schematische Darstellung der Schnittreihenfolge und Werkzeugauswahl (SR: Schneidroboter; GR: Greifroboter).

Unter Beachtung dieser Kriterien wurden in manuellen Vortests die folgende Schnittreihenfolge erarbeitet und die Werkzeuge für die beiden Roboter ausgewählt (**Abb. 5**):

1. Anschnitt von Schwanz- und Schloßknochen von Seiten der Trennstelle: Freier Zugang zu den Knochen,
2. Anschnitt der Faszien (Oberschale-Unterschale, Oberschale-Nuss und Unterschale-Nuss), jeweils 20 bis 30 mm tief,
3. Auslösen der Oberschale: Trennung der Partien entlang der Faszien und anschließend vom Röhrenknochen,

4. Auslösen der Nuss: Auftrennen der Faszie zur Unterschale, gerade Trennung der Nuss gerade von der Unterschale, Freilegen der Kniescheibe und Lösen vom Knochen,
5. Auslösen der Unterschale: Trennen der Unterschale von der Hüfte und vom Eisbein mit zwei geraden, waagerechten Schnitten, Trennen vom Knochen.

Das Abtrennen der Hüfte gestaltet sich aufgrund der Komplexität des Schlossknochens als schwierig. Der Fokus für die Versuche lag deshalb zunächst auf der Abtrennung von Oberschale, Unterschale und Nuss.

Reinigungsuntersuchungen mit Fleischmatrix

Zur Auslegung des Reinigungssystems wurden Untersuchungen mittels Sprühreinigungssystemen und einer für die Fleischzerlegung typischen Verschmutzungsmatrix durchgeführt. Der Versuchsablauf erfolgte in 3 Stufen:

1. Untersuchung des Reinigungsverhaltens auf Probenplättchen, 20x40 mm,
2. Reinigungsuntersuchungen einzelner Bauteile (z.B. Saugglocken, Messer),
3. Sprühschattensimulation von Baugruppen (*TransFix*).

Die Testverschmutzung bestand aus Schweineschinken-Muskelfleisch (43 % w/w), das gemeinsam mit destilliertem Wasser (57 % w/w) für ca. 5 min püriert wurde. Für die bessere optische Detektion der Restverschmutzung wurden 0,01 % (w/w) des Fluoreszenzfarbstoffes Uranin zugegeben. Der Auftrag erfolgte mittels Rakeln bei den Probenplättchen und mittels Dip-Coating für Saugglocke und Messer. Anschließend trockneten die Proben für 24 h bei 23 °C und 50 % rel. Luftfeuchte.

Die untersuchten Materialien waren zum einen Edelstahl, da dies der Standardwerkstoff in der Lebensmittelindustrie ist, sowie POM (Polyoxymethylen), aus dem die Saugglocke gefertigt war. Die Reinigung erfolgte mit 0,5%iger Natronlauge (Probenplättchen), destilliertem Wasser (Saugglocke) und Flachstrahl Düsen verschiedener Größe. Die Versuche wurden zyklisch durchgeführt und nach jedem Zyklus die Restverschmutzung detektiert. Daraus ergab sich ein zeitaufgelöster Reinigungsverlauf, aus dem die Reinigungsrate \bar{R} berechnet wird [nach 5]:

$$\bar{R} = \frac{0,95 \cdot m_0}{t_{95,W}} \quad (1)$$

m_0 Ausgangsverschmutzung in mg/cm²

$t_{95,W}$ Reinigungszeit zur Entfernung von 95 % der Ausgangsverschmutzung ($\sum_0^{x_{95}} t_i$)

x_{95} Anzahl der Reinigungszyklen zur Entfernung von 95 % der Ausgangsverschmutzung

Ergebnisse Stufe 1: Reinigungsverhalten auf Probenplättchen

Reinigungsrate in Abhängigkeit von Material und Winkel

Bei der Reinigung müssen sowohl die Kohäsionskräfte innerhalb der Schmutzschicht überwunden werden als auch die Adhäsionskräfte zwischen Schmutzschicht und Oberfläche. Verschmutzungen mit ihren charakteristischen Reinigungsmechanismen können dementsprechend in zwei Gruppen eingeteilt werden: eine Gruppe, bei der der Reinigungsverlauf durch überwiegendes Kohäsionsversagen gekennzeichnet ist (Kohäsionskräfte kleiner als Adhäsionskräfte) und eine Gruppe mit überwiegend adhäsivem Versagen (Kohäsionskräfte größer als Adhäsionskräfte). Im Reinigungsverlauf erkennt man kohäsives Versagen durch schrittweises Verdunkeln der verschmutzten (hellen) Bereiche infolge einer abnehmenden Schichtdicke der Verschmutzung. Adhäsives Versagen ist durch teilweises Ablösen der Verschmutzungsschicht und durch eine abrupte Vergrößerung des gereinigten (schwarzen) Bereiches gekennzeichnet. Auf Edelstahl können beide Reinigungsmechanismen, jedoch vorwiegend kohäsives Versagen beobachtet werden, während die Reinigung von POM klar durch adhäsives Versagen geprägt ist. Charakteristisch für das adhäsive Versagen bei der vorliegenden fleischbasierten Verschmutzung ist das flächige Ablösen von großen Bereichen der noch in sich zusammenhängenden Schmutzschicht (**Abb. 6**). Aufgrund der geringeren Adhäsion auf POM erfolgt hier die Reinigung schneller (**Abb. 6**). Als weiches Material ist POM sehr kratzanfällig, daher wurden auch aufgeraute Proben getestet, welche langsamer als Edelstahl gereinigt wurden.

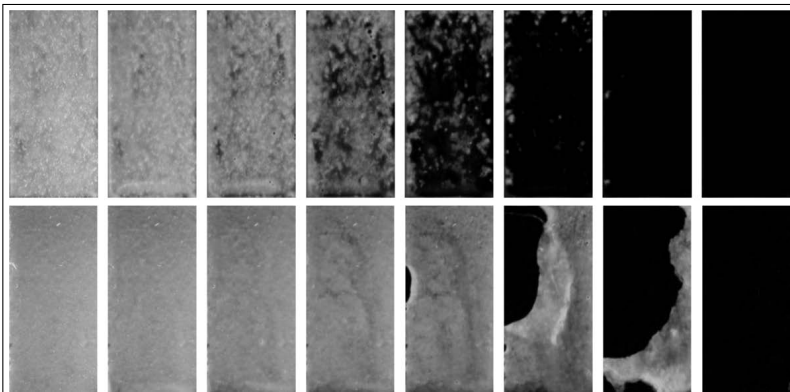


Abb. 6: Exemplarische Reinigungsverläufe von Fleisch auf Edelstahl (oben, jeder 2. Zyklus) und auf POM (unten, jeder Zyklus).

Trifft der Spritzstrahl in einem von 90° abweichenden Winkel auf die Oberfläche, verringert sich dessen Impact. Gleichzeitig steigt die Schälwirkung, mit der der schräge Strahl unter die Verschmutzung dringt. Bei Edelstahl halten sich Im-

pactverlust und Schälereffekt die Waage, bis zu einem Winkel von ca. 45°, danach nimmt die Reinigungsrate ab. Bei POM dagegen wirkt der Schälereffekt deutlich stärker und beschleunigt die Reinigung (**Abb. 7**). Hier wird auch der Einfluss einer gerichteten Oberflächenrauigkeit deutlich. Während sich bei den quer geschliffenen Proben ein Strömungskanal ausbildet, wirken die Längsrillen als Strömungshindernis. Dies kann bei Bauteilen mit gerichteter Oberflächenrauigkeit (z.B. Sauglocke als Drehteil) vorteilhaft sein.

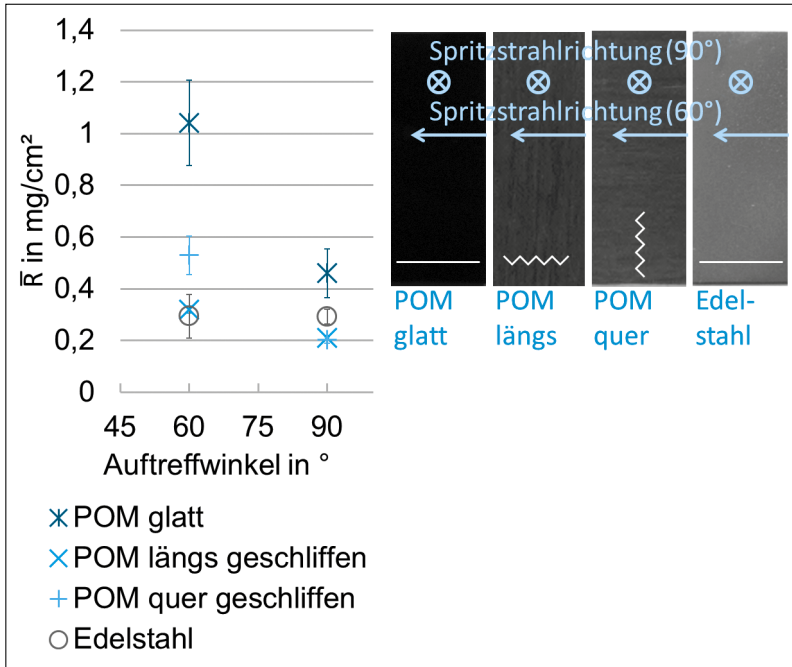


Abb. 7: Abhängigkeit der Reinigungsrate \bar{R} vom Auftreffwinkel des Spritzstrahls für POM verschiedener Rauigkeiten und Edelstahl bei 4 bar, 3,5 L/min, ca. 28 °C und 50 mm Düsenabstand (links), Darstellung der Proben mit Spritzstrahlrichtung (rechts).

Reinigungsrate in Abhängigkeit von Druck und Volumenstrom

Sowohl ein höherer Betriebsdruck als auch ein steigender Volumenstrom können die Reinigungsrate erhöhen [5]. Im vorliegenden Fall wird das sowohl bei POM als auch bei Edelstahl beobachtet (**Abb. 8, oben**). Im Sinne des Minimal Processing wird zur Auslegung der Reinigung eine maximale Effizienz angestrebt. Die Effizienz ist als Nutzen pro Aufwand definiert [5]. Der Nutzen im Sinne der Reinigung ist die abgetragene Schmutzmenge (siehe Definition Reinigungsrate in Formel (1)). Als Aufwand können Zeit, Reinigungsmittelverbrauch, Ener-

gieverbrauch (elektrisch, thermisch, chemisch) oder die Kosten herangezogen werden. Von industrieller Relevanz sind vor allem die zeit- und verbrauchsbezogene Effizienz E_t bzw. E_F :

$$E_t = \bar{R} \quad (2)$$

$$E_F = \frac{\bar{R}}{\dot{V}} = \frac{m_0}{V} \quad (3)$$

\dot{V} Volumenstrom

V Volumen des verbrauchten Reinigungsmediums

Die Effizienzverläufe sind in **Abb. 8 (unten)** dargestellt. Allgemein lässt sich beobachten, dass die maximale zeitbezogene Effizienz (E_t) mit großen Düsen bei hohem Druck (Datenpunkte innerhalb des Diagramms links oben), und die maximale verbrauchsbezogene Effizienz (E_F) bei kleinen Düsen mit niedrigem Druck erzielt wird (Datenpunkte innerhalb des Diagramms rechts unten). Für Düse 1 ist auf Edelstahl bei ansteigender zeitbezogener Effizienz infolge zunehmenden Drucks eine Abnahme der verbrauchsbezogenen Effizienz zu beobachten. Für die größere Düse 3 ist auf Edelstahl eine gleichbleibende verbrauchsbezogenen Effizienz trotz steigender zeitbezogener Effizienz infolge zunehmenden Drucks zu beobachten. Auf POM dagegen steigt mit zunehmender Zeiteffizienz einer Düsenkonfiguration auch die verbrauchsbezogene Effizienz. Das unterschiedliche Verhalten ist vermutlich auf das oben beschriebene abweichende Reinigungsverhalten auf POM und Edelstahl zurückzuführen. Eine genaue Erklärung kann auf Basis dieser Versuche noch nicht gegeben werden.

Reinigungsrate in Abhängigkeit von der Temperatur des Reinigungsmittels

Die steigende thermische Energie des Reinigungsmittels führte in Versuchen (nicht dargestellt) zu einer Erhöhung der Reinigungsrate. Im untersuchten Bereich von 20 bis 80 °C wurden ein linearer Anstieg der Reinigungsrate und eine annähernde Verdopplung derselben beobachtet. Eine verstärkte Anhaftung von Proteinen durch Denaturierung [6], die sich in sinkenden Reinigungsraten widerspiegeln würde, wurde nicht beobachtet. Das ist vermutlich auf den vorgegebenen Zyklusablauf der Versuchseinrichtung zurückzuführen, da durch die verfahrensbedingte sehr kurze Spritzzeit während eines Gesamtzyklus die Probe nicht ausreichend durch das Reinigungsmedium erwärmt wurde.

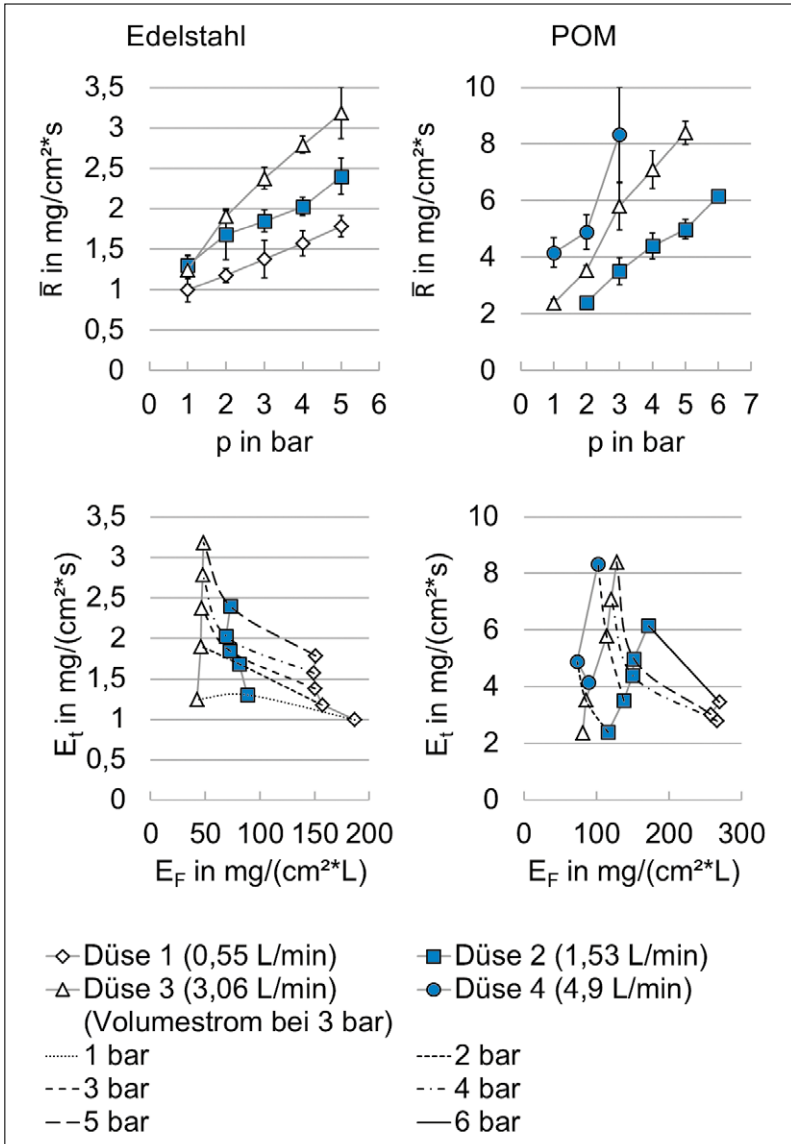


Abb. 8: Reinigungsverhalten auf Edelstahl (links) und POM (rechts): Reinigungsrate \bar{R} in Abhängigkeit vom Druck p (oben) und Zusammenhang zwischen der zeitbezogenen Effizienz E_t und der verbrauchsbezogenen Effizienz E_F (unten) für verschiedene Düsen bei Raumtemperatur und einem Abstand von 100 mm (Edelstahl) und 50 mm (POM).

Ergebnisse Stufe 2: Reinigung von Bauteilen

Am Beispiel der Saugglocke aus POM konnten die Abhängigkeit der Reinigungsrate von Druck und Volumenstrom sowie die Reinigungseffizienz bestätigt werden. Zusätzlich wurde untersucht, welcher Winkel der Außenkontur mit einer Düse, abhängig von deren Abstand, gereinigt werden kann. Dazu wurden zunächst theoretische Werte berechnet, indem davon ausgegangen wurde, dass nur direkt auftreffende Tropfen des Spritzstrahls eine Reinigungswirkung haben, also maximal bis zur Tangente. Da die gemessenen Werte jedoch deutlich höher sind als die berechneten (**Abb. 9**), kann darauf geschlossen werden, dass ein tangential auftreffender Strahl jedoch abgelenkt wird und der Kontur der Glocke noch ein weiteres Stück folgt. Die dabei auftretende Schälwirkung führt zur Abreinigung eines größeren Winkels.

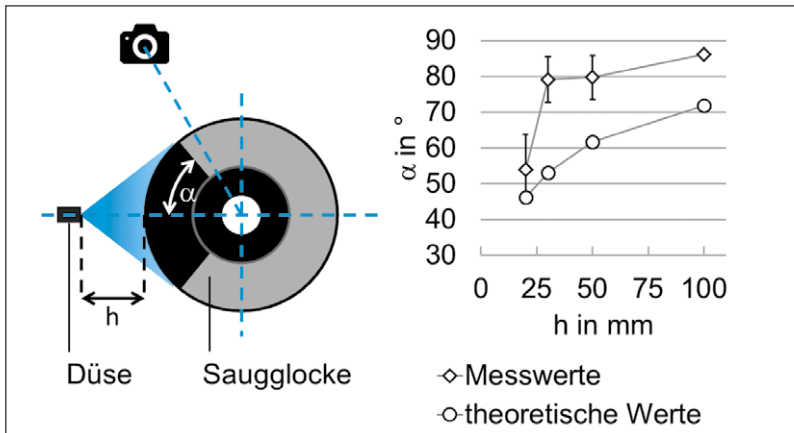


Abb. 9: Schematischer Versuchsaufbau zur Ermittlung des gereinigten Winkels α (links), Vergleich der Messwerte mit den theoretischen Werten in Abhängigkeit vom Düsenabstand h (rechts) bei 4 bar, 3,5 L/min, Raumtemperatur und 50 mm Düsenabstand.

Ergebnisse Stufe 3: Sprüschattensimulation

Die hygienegerechte Gestaltung der Fixiereinheit wurde mittels einer Sprüschattensimulationssoftware untersucht und optimiert. Weiterhin wurde damit das Spritzreinigungssystem ausgelegt. Die Analyse zeigt, dass das C-förmige Rohrgestell der *TransFix*-Einheit durch statische Spritzreinigung mittels Düsenstock reinigbar ist. Die Einspannvorrichtungen (Klemmzange und Spannhaken) zeigen bei der Simulation der statischen Spritzreinigung jedoch nur ungenügende Reinigungswirkungen. Zur Optimierung des Reinigungsprozesses können während der Reinigung die Rotationsantriebe eingeschaltet werden, so dass die produktberührenden Bauteile Klemmzange und Spannhaken vor dem Düsen-

stock rotieren. Die Sprühschattensimulation zeigt bei kombinierter statischer Reinigung des Gestells und dynamischer Reinigung der Einspannbaugruppen, dass ein adäquates Reinigungsergebnis der Baugruppe Fixiereinheit im Reinigungsmodul möglich ist.

Schlussfolgerungen

Im Rahmen des vorliegenden Teilprojekts wurde ein Maschinenkonzept entwickelt, mit dem die automatisierte Feinzerlegung von Schweineschinken durchgeführt werden kann. Mit der umgesetzten Modulbauweise, sowie der hygiene- und reinigungsgerechten Ausführung konnte für das Clusterprojekt ein flexibler Versuchsträger zur Verfügung gestellt werden.

In manuellen Zerlegeversuchen an Schinken wurden relevante Eigenschaften aufgezeigt, welche für die Schnittbahnberechnung unerlässlich sind und von den Sensoren im Laufe des Bearbeitungsprozesses erfasst werden müssen. Daraus wurde eine Detektions- sowie eine Schnittreihenfolge ermittelt und festgelegt. Es erweist sich bei der automatisierten Zerlegung von Schweineschinken als vorteilhaft, zunächst alle Anschnitte im noch intakten Schinken durchzuführen. Anschließend lassen sich in der Reihenfolge Oberschale, Nuss, Unterschale und Hüftstück die wertgebenden Fleischpartien günstig auslösen.

Mittels Reinigungsuntersuchungen an Werkstoffoberflächen wurden verschiedene Parameter hinsichtlich ihres Einflusses auf die Reinigungsgeschwindigkeit untersucht. Als Standardverschmutzung fand eine fleischbasierte Verschmutzungsmatrix Verwendung. Mit der Erhöhung von Druck, Volumenstrom und Temperatur des Reinigungsmediums konnte die Abreinigung der fleischbasierten Verschmutzung beschleunigt werden. Über die Einstellung des jeweils günstigsten Abstands und Winkels der Reinigungsdüsen zur Werkstoffoberfläche lässt sich die Reinigung weiter optimieren. Für vergleichende Aussagen zur Effizienz von Reinigungsprozessen wurden Aufwand-Nutzen-Berechnungen durchgeführt. Eine Optimierung ist dabei sowohl bezüglich der kürzesten Dauer, des geringsten Reinigungsmittelverbrauchs, der minimalsten aufzuwendenden Energie und in letzter Konsequenz des geringsten Aufwandes möglich. Die Ergebnisse zeigen, dass bei einheitlicher Verschmutzung auf den Werkstoffen Edelstahl und POM (Kunststoff Polyoxymethylen) unterschiedliche Reinigungsergebnisse auftreten. Die exakten Mechanismen, welche die Unterschiede im Reinigungsverhalten von POM und Edelstahl prägen, sind noch nicht ausreichend bekannt und bilden die Grundlage weiterer Forschung. In weiteren Untersuchungen wurden Grundlagenforschungsergebnisse aus TP 2 zur optischen Erfassung der mikrobiellen Kontamination von Oberflächen in einen Versuchsträger überführt und unter anwendungsbezogenen Kriterien bewertet sowie weiterentwickelt.

Literatur

- [1] Anonymous: Der IKKimpuls – Berufsreport Fleischer 2007. IKK-Berufsverband Referat Prävention, 2007.
- [2] Franke K, Hukelmann B: Hygiene und Funktionalität vereint – Vakuum-Greifer für automatisiertes Handling von Fleisch und Fleischwaren. Fleischwirtschaft 2010; 12: 4244.
- [3] Norm DIN EN 1672 - Teil 2 Juli 2005. Nahrungsmittelmaschinen – Allgemeine Gestaltungsleitsätze – Teil 2: Hygieneanforderungen.
- [4] Pahl, G., Beitz, W., Feldhusen, J., Grote, K.-H.: Konstruktionslehre – Grundlagen erfolgreicher Produktentwicklung, Springer Verlag, 2007.
- [5] Mauermann, M.: Methode zur Analyse von Reinigungsprozessen in nicht immergierten Systemen der Lebensmittelindustrie, Dissertation, Technische Universität Dresden, 2012.
- [6] Mauermann, M., Eschenhagen, U., Bley, T. & Majschak, J.-P.: Surface modifications - application potential for the reduction of cleaning costs in the food processing industry. Trends in Food Science & Technology 2009, 20, 9-15.

Im Rahmen des DFG/AiF-Clusters „Minimal Processing in automatisierten Prozessketten der Fleischverarbeitung“ wurde das Teilprojekt 3 des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Summary Sub-Project 3

Cleaning and hygienic oriented machine concept for the automatic deboning of pork ham

The aim of the cluster project was the automation of the deboning of pork ham. In addition to high quality requirements and health harmlessness of the product, particularly economic and ecologic aspects in terms of minimal processing were considered. In the present sub-project, a machine concept for the automatic fine cutting was developed, which meets hygienic design requirements.

Basic elements of the machine concept are two robots mounted on a portal frame made of stainless steel and a rotary arm including a novel clamping device called "TransFix" to fix the pork ham. A box for sensors, a cleaning station for the robot tools and a cleaning box for the clamping device are completing the machine concept. All modules are arranged around the central rotary arm. So the fixed pork ham can pass through all the four processing stations of in the correct order. At station 1 the pork ham can be fixed in the clamping device "TransFix" by hand. At station 2 the pork ham swings into a box which contains both a sensor for the fluorescence analysis of the outer surface of the pork ham to evaluate the contamination level with microorganisms and a stereo camera system to determine the shape of the pork ham with Cartesian coordinates. The box is necessary to shield the sensors from the disturbing environmental light. After a further swing of the rotary arm to station 3 the fixed pork ham is located in the range of the two robots. At first a sensor for determining the Raman spectrum is placed by the larger robot 2 on the pork ham surface. Raman spectrum allows an authentic classification of the actual quality of the meat. After this an ultrasonic sensor is placed by robot 1 at specified areas to receive information about the inner structure of the pork ham, especially bones and fasciae. The collected informations are used by the control system to calculate the optimal cutting paths for each single pork ham. During the deboning, robot 1 moves the cutting tools and robot 2 realizes handling functions, for example open the cutting site and hold the single pieces of the pork ham and lay it down on a transportation system. To clean the robot tools, a cleaning station is designed, which must be mounted in an accessible position for both robots. At station 4 the rotary arm arrives with the fixed skeleton, where they can be removed by hand. In the end the empty clamping device can be cleaned and disinfected for the next use. For that purpose a cleaning box is designed, that allows an automatic cleaning of the clamping device using static cleaning nozzles mounted on nozzle stocks. To protect the environment from humidity and splash water the cover construction of the cleaning box is a kind of containment system with two rotatable cover plates related to the construction of the box for the sensors.

Manual cutting of pork ham showed relevant properties, which are important for the calculation of the cutting paths. The sensors have to provide these data. A sequence of data determination was defined: First, the outer shape of the ham is captured with a stereo camera system, the decision between left and right ham is made and points to position the ultrasonic sensor are derived. With ultrasound, the position of bones and fasciae should be determined afterwards. Furthermore, the order of cutting was acquired. It is advantageous to start with all first cuts at the intact ham. In the order of topside, thick flank and silverside, the parts can be easily cut.

In cleaning experiments, the influence of different parameters on the cleaning rate was analyzed. Standard contamination was a mixture of muscle meat of pork and water. For better detection, the fluorescence tracer uranin was added. Tested materials of construction were stainless steel and POM (polyoxymethylene). Cleaning rate could be increased with increasing pressure, volume flow rate and temperature. Adjusting an advantageous distance and angle of the nozzle can also optimize the cleaning procedure. To compare the efficiency of cleaning processes, an effort-benefit calculation was made. Optimization is possible relating to the shortest time, the lowest usage of cleaning medium, the minimal energy or the lowest costs. Cleaning experiments with the same test soil on two types of substrates showed different results regarding time related efficiency and fluid usage related efficiency. The exact mechanisms therefor are not fully understood yet. Based on experimental results from sub-project 2 an experimental set-up for the visual capturing of microorganisms on surfaces was designed, evaluated and further developed.

Teilprojekt 4 (DFG)

Differenzierung von Autofluoreszenzsignaturen zur Online-Erfassung bakterieller Kontaminanten in der automatisierten Fleischzerlegung

Dr. Janina S. Bolling¹

Dr. Oliver Schlüter¹

Oliver Paquet-Durand²

Prof. Dr. Bernd Hitzmann²

¹ Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB)

² Universität Hohenheim, Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, FG Prozessanalytik und Getreidetechnologie

1. Einleitung und Motivation

Der Verzehr von Fleisch ist fester Bestandteil der menschlichen Ernährung und die weltweit steigende Nachfrage führt zu einer zunehmenden Industrialisierung der Fleischproduktion, zu deren lückenlosen Qualitätskontrolle neue Lösungskonzepte erforderlich sind. Aufgrund seiner chemischen und physikalischen Beschaffenheit ist Fleisch ein idealer Nährboden für Mikroorganismen. Kontaminationen von Fleisch führen nicht nur zu Veränderungen im Erscheinungsbild (z.B. Verfärbungen) und zur Geruchs- und Schleimbildung [ELLIS & GOODACRE, 2001], sondern können auch die menschliche Gesundheit gefährden. Ziel dieses Teilprojektes ist die grundlegende Untersuchung der Signalentwicklungsmechanismen von nativen fluoreszierenden Substanzen in Abhängigkeit vom bakteriellen Befall einer Schweinefleischmatrix. Dabei sollen gezielt fluoreszenzspektroskopische Techniken unter Einbeziehung neuartiger Auswertalgorithmen zur Echtzeiterkennung von bakteriellen Verunreinigungen auf einer Fleischoberfläche abgeleitet werden, um wesentliche Grundlagen für ein Kontaminationsmonitoring in automatisierten Prozessketten im Sinne eines Minimal Processing bereit zu stellen.

Für eine schnelle und Prozess begleitende Qualitätsüberwachung sind zerstörungsfreie optische Messmethoden erforderlich, die es ermöglichen, jede einzelne Probe entlang der gesamten Prozesskette zu verfolgen und zu untersuchen. Es erfolgten bereits Testmessungen zum Verderb von Rinderhackfleisch mit einem tragbaren Fluoreszenzspektrometer [AÏT-KADDOUR et al., 2011]. Mithilfe chemometrischer Methoden konnte die Gesamtkeimzahl mit einer Bestimmtheit von $R^2 = 0,57$ bis $0,96$ bei verschiedenen Umgebungsbedingungen voraus-

gesagt werden. Fluoreszenzspektrometrische Messungen wurden ebenfalls von SAHAR et al. [2011] genutzt, um die Gesamtkeimzahl auf Hähnchenbrustfilets mit einer Bestimmtheit von $R^2 = 0,99$ vorherzusagen. PARK et al. [2007] setzte ein multispektrales Imaging-System zur Inspektion von fäkalen Verunreinigungen unterschiedlicher Herkunft auf der Oberfläche von frischem Fleisch ein. Dieses System führte jedoch aufgrund von hohen Signal-Rausch-Verhältnissen einzelner Kanäle im technischen Setup zu hohen falsch-positiven Darstellungen.

2. Ergebnisse

In eigenen Vorarbeiten wurde mit Hilfe der Fluoreszenzspektroskopie ein im Verlauf der Lagerung und Reifung zunehmendes Fluoreszenzsignal im Schweinefleisch detektiert, das Protoporphyrin IX ($\lambda_{\text{exr, max}} = 400 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{emr, max}} = 635 \text{ nm}$, 705 nm) und Zink-Protoporphyrin ($\lambda_{\text{exr, max}} = 420 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{emr, max}} = 595 \text{ nm}$, 642 nm) zugeordnet werden konnte [SCHNEIDER et al., 2008; DUREK et al., 2012]. Zur Klärung des Zusammenhangs zwischen der Entstehung des Fluoreszenzsignals und dem Wachstum von Mikroorganismen wurde der Schweinelachs (*Musculus Longissimus Dorsi*, MLD) über einen Lagerungszeitraum von 20 Tagen bei 5 °C mikrobiologisch (Bestimmung der Gesamtkeimzahl auf ST1-Agar; 30 °C, 72 h) und fluoreszenzspektroskopisch (LS55, PerkinElmer, Rodgau-Jügesheim, Deutschland) untersucht. Parallel wurden Fleischproben mit indirektem Plasma

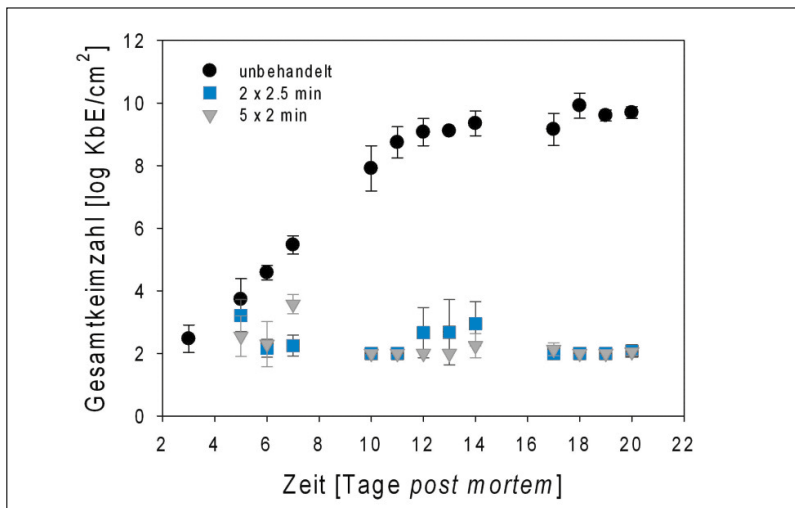


Abb.1: Gesamtkeimzahl des unbehandelten und mit indirektem Plasma behandelten MLD während einer Lagerung bei 5 °C.

behandelt, um das Wachstum der Mikroorganismen zu unterdrücken und die Auswirkung auf das resultierende Fluoreszenzsignal zu untersuchen. Hierfür wurden am 4. Tag *post mortem* (*p.m.*) einige Fleischproben für 2 x 2,5 min bzw. 5 x 2 min mit dem Abgasstrom eines Mikrowellenplasmas behandelt und nachfolgend steril für 16 Tage bei 5 °C gelagert. Die Gesamtkeimzahl zeigte in dieser Zeit keinen signifikanten Anstieg, sondern verblieb bei 2,1 log KbE/cm² in beiden Fällen, während sie bei den unbehandelten Fleischproben auf 9,7 log KbE/cm² nach 20 Tagen *p.m.* signifikant anstieg (**Abb. 1**).

Die gleichzeitig gemessene Fluoreszenzintensität ($\lambda_{\text{ex}}=420\text{ nm}$ und $\lambda_{\text{em}}=550\text{--}750\text{ nm}$) zeigte einen Anstieg ab etwa dem 6. Tag *p.m.* bei den unbehandelten Fleischproben und dessen Ausbleiben bei den plasmabehandelten Proben (**Abb. 2**).

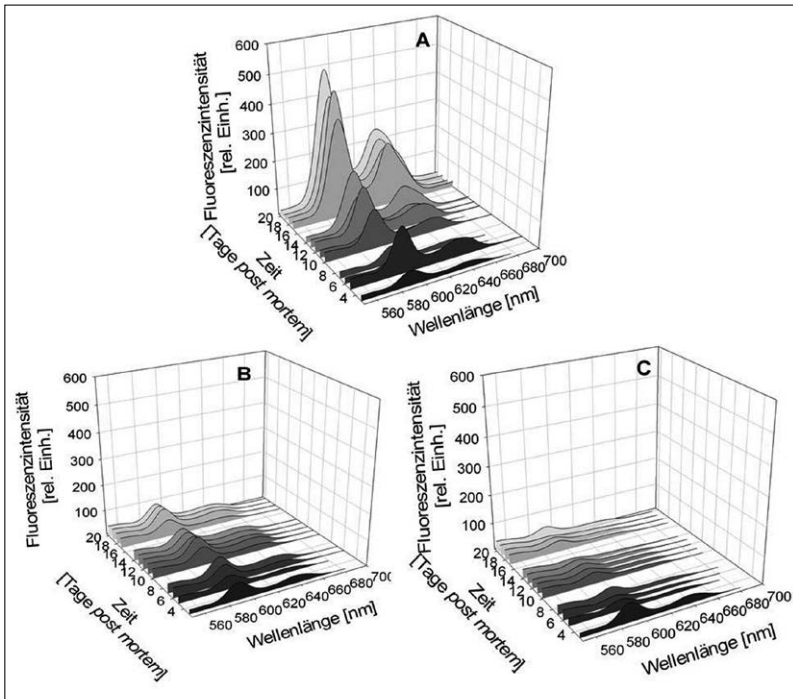


Abb. 2: Fluoreszenzintensität bei $\lambda_{\text{ex}}=420\text{ nm}$ des unbehandelten (A) und plasmabehandelten (2 x 2,5 min: B; 5 x 2 min: C) MLD während der Lagerung (verändert nach FRÖHLING et al., 2012).

Auch der direkte Vergleich der integrierten Fluoreszenzintensitäten bei $\lambda_{\text{ex}} = 420 \text{ nm}$ und $\lambda_{\text{em}} = 450\text{-}750 \text{ nm}$ mit der Gesamtkeimzahl der Fleischproben führte zu der Annahme, dass Mikroorganismen in die Porphyrinbildung involviert sind. Bei steigender Gesamtkeimzahl stiegen die Fluoreszenzintensitäten, und bei niedriger mikrobieller Belastung blieben auch die Fluoreszenzsignale niedrig (**Abb. 3**).

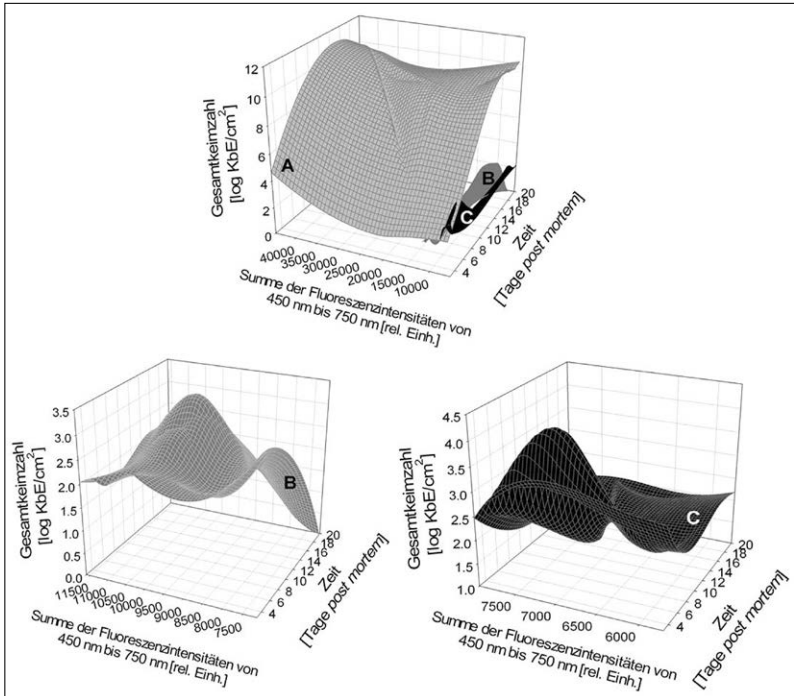


Abb. 3: Vergleich der Gesamtkeimzahl mit der integrierten Fluoreszenzintensität bei $\lambda_{\text{ex}} = 420 \text{ nm}$ von unbehandeltem (A) und plasmabehandeltem MLD (B: $2 \times 2.5 \text{ min}$; C: $5 \times 2 \text{ min}$) über die Lagerdauer (verändert nach FRÖHLING et al., 2012).

Ein prinzipieller Zusammenhang zwischen Fluoreszenzsignalen und koloniebildenden Einheiten auf Schweinefleisch konnte auch anhand von Anregungs-Emissions-Matrizen anderer Arbeitsgruppen bestätigt werden [NISHINO et al., 2013; OTO et al., 2013].

Zur Durchführung weiterer grundlegender Untersuchungen mit ausgewählten Mikroorganismen wurde zunächst die Ausgangssituation der bakteriellen Kontamination von Hinterschinken bestimmt, indem exemplarisch die Charakterisie-

rung der angesiedelten Bakterienpopulation mit Hilfe von Plattenzählverfahren sowohl auf Standardnährmedien als auch auf Selektivnährmedien durchgeführt wurde. Die aerobe Gesamtkeimzahl des Hinterschinkens variierte zwischen 3 log KbE/cm² und 6,5 log KbE/cm². Eine eindeutige Identifizierung der Kolonien ließ sich jedoch aus diesen Untersuchungen nicht vornehmen. Daher wurden die am häufigsten vorkommenden Kolonien auf den Selektivnährmedien und dem Universalnährmedium ausgewählt und einer Analyse mittels MALDI-TOF-MS unterzogen. *Escherichia coli* und *Pseudomonas fluorescens* wurden am häufigsten identifiziert, gefolgt von *Staphylococcus aureus*, *Shewanella putrefaciens*, *Microbacterium oxydans*, *Staphylococcus sciuri*, *Brevibacterium casei*, *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii*, *Comamonas kerstersii*, *Cellulosimicrobium cellulans*, *Corynebacterium falsenii*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Micrococcus luteus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Macrococcus caseolyticus*, *Staphylococcus pasteurii*, *Penicillium chrysogenum*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida zeylanoides* und *Brevundimonas vesicularis*. Die Kolonien, die nicht zweifelsfrei identifiziert werden konnten, wurden nachfolgend einer Direct-Colony-PCR unterzogen. Zusätzlich konnten hiermit *Acinetobacter calcoaceticus*, *Pantoea agglomerans* und *Chryseobacterium indoltheticum* eindeutig bestimmt werden.

Aufgrund der Fülle der identifizierten Bakterien wurden für die weiteren Untersuchungen zu den Mechanismen der Fluoreszenzsignalentwicklung exemplarisch *P. fluorescens* und *E. coli* ausgewählt und nach verschiedenen Wachstumszeiten gemessen. Die Fluoreszenzemissionsspektren von Suspensionen zeigten deutliche Intensitäten in den für Fleisch charakteristischen Wellenlängenbereichen von 300-900 nm (**Abb. 4**). Zur Fluoreszenz angeregt werden konnten u. a. bakterienrelevante Proteinverbindungen ($\lambda_{\text{ex}} = 280$ nm und $\lambda_{\text{em}} = 340$ nm) sowie die NADH-Fluoreszenz ($\lambda_{\text{ex}} = 340$ nm und $\lambda_{\text{em}} = 460$ nm).

Die Messung der Autofluoreszenzsignale von *P. fluorescens* und *E. coli* zeigte sowohl auf Einzelzellebene (in der Durchflusszytometrie) als auch in Suspension (in der Fluoreszenzspektroskopie) Unterschiede in der Intensität im Verlauf der verschiedenen Wachstumsstadien (**Abb. 4 und 5**), welche durch die gemessenen Lebendkeimzahlen erklärt werden konnten (**Abb. 6**). Für *P. fluorescens* können z.B. entsprechend einer steigenden Lebendkeimzahl mit zunehmender Wachstumszeit auch Anstiege in den Intensitäten der Fluoreszenzemission gemessen werden (**Abb. 4, oben**). Hierbei handelt es sich primär um aromatische Aminosäuren und um NADH. Bei einer Anregung mit 420 nm sollte die Porphyrinfloureszenz in einem Wellenlängenbereich von ca. 580-710 nm liegen. Mit dem spektroskopischen Messsystem konnten diese Fluoreszenzsignaturen an beiden Bakterienstämmen in Suspension nicht nachgewiesen werden. Es war jedoch mit Hilfe der Durchflusszytometrie möglich, auch in dem für Protoporphyrine charakteristischen Wellenlängenbereich deutliche Autofluoreszenzsignaturen auf Einzelzellebene zu messen (**Abb. 5**). Dies könnte auf die erhöhte Lichtenergie bei der Anregung durch den Einsatz von Lasern im Durchflusszytometer zurückgeführt werden.

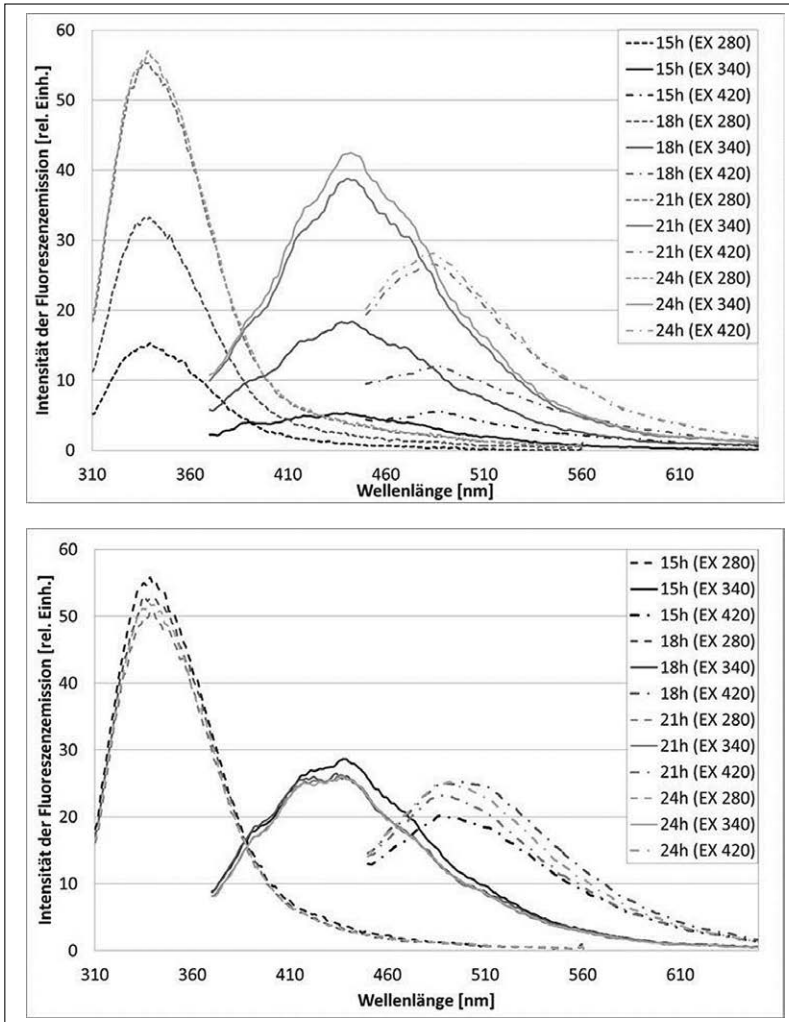


Abb. 4: Fluoreszenzemissionsspektren gemessen an *P. fluorescens* (oben) und *E. coli* (unten) in Mineralnährlösung nach 15, 18, 21 und 24 Stunden Wachstumszeit bei den Anregungswellenlängen 280 nm, 340 nm und 420 nm.

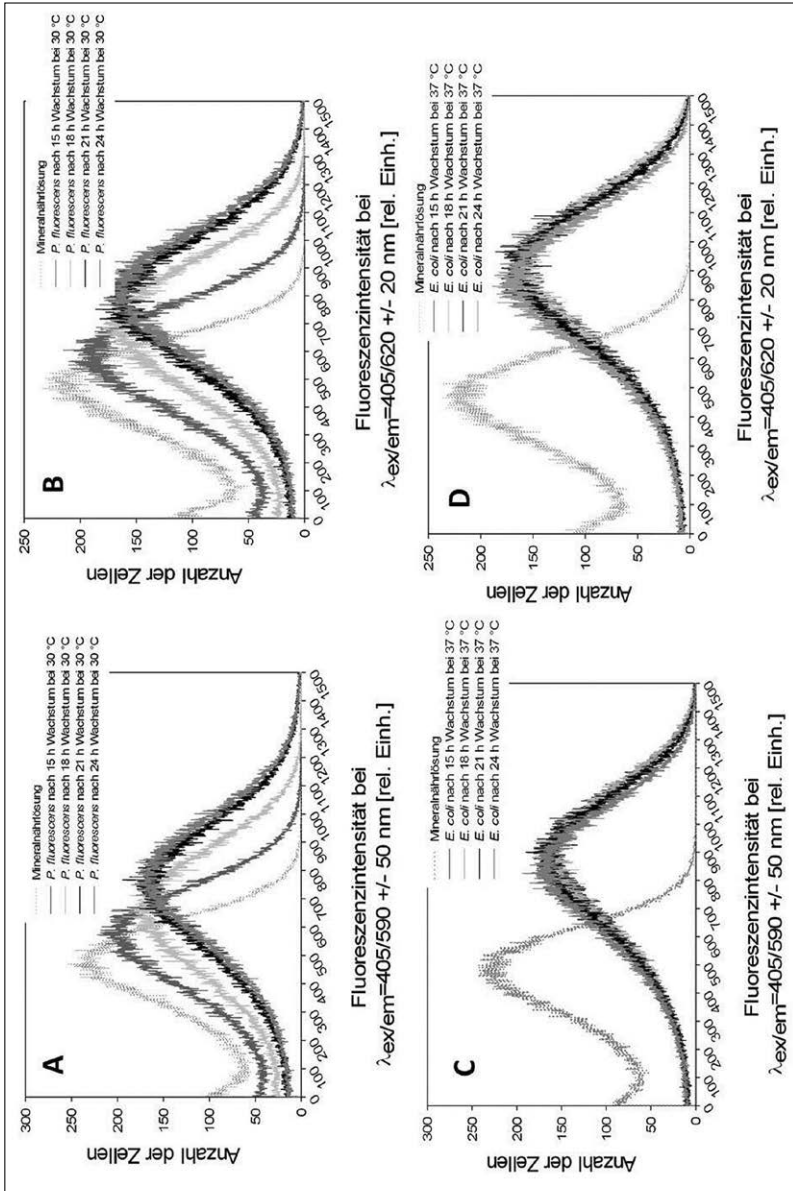


Abb. 5: Autofluoreszenzsignaturen von *P. fluorescens* (A und B) und *E. coli* (C und D) auf Einzelzellebene gemessen mit Hilfe der Durchflusszytometrie nach 15, 18, 21 und 24 Stunden. Die Anregung lag bei 405 nm und die Emission wurde in einem Bereich von 540 – 640 nm (A, C) und 600 – 640 nm (B, D) gemessen.

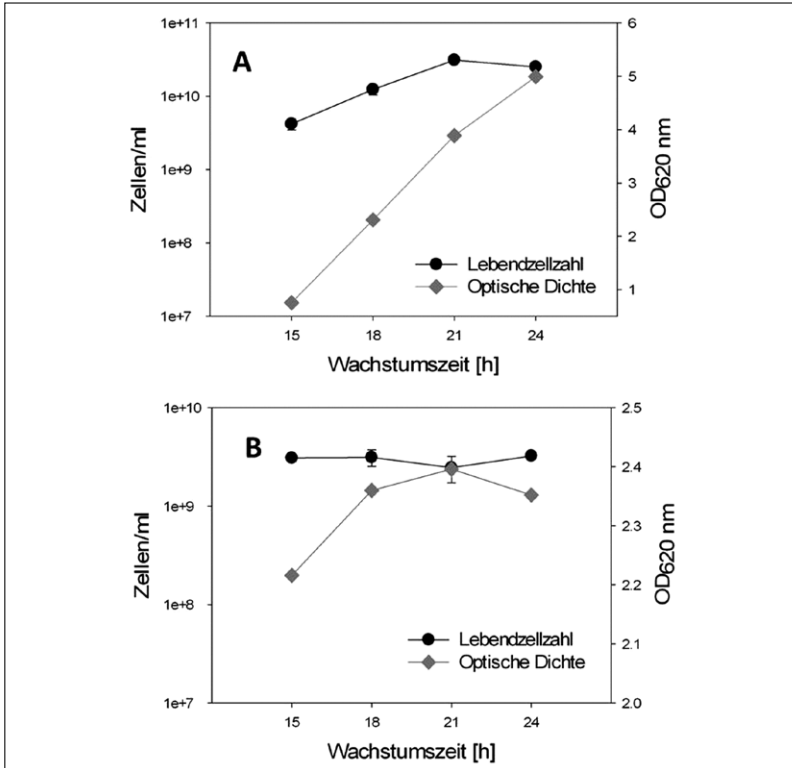


Abb. 6: Optische Dichte, Lebendzellzahl und Zellgröße von *P. fluorescens* (A) und *E. coli* (B) gemessen nach 15, 18, 21 und 24 Stunden Wachstumszeit.

Anhand dieser Untersuchungen wurden wichtige Wellenlängenbereiche identifiziert, die eine Konzeption und Auslegung eines bildgebenden Systems zur Fluoreszenzmessung (PSI (Photon Systems Instruments), Brno, Tschechien) ermöglichen, um daraus mit Hilfe vereinfachter Datenauswertungsmodelle und kostengünstigeren Komponenten den zeitlichen Aufwand der Messung im Prozessablauf erheblich zu reduzieren und die Grundlage für ein online-fähiges Messsystem zu erarbeiten. In Vorbereitung auf die bildgebende Messung von Fluoreszenzsignaturen direkt auf der Fleischoberfläche wurden *E. coli* und *P. fluorescens* auf ST1-Agarplatten kultiviert. Hierfür wurden die Platten über mehrere Tage bei Raumtemperatur gelagert und wiederholt gemessen. In **Abb. 7** ist die bildgebende Messung der Platten bei einer Anregung mit 420 nm exemplarisch dargestellt.

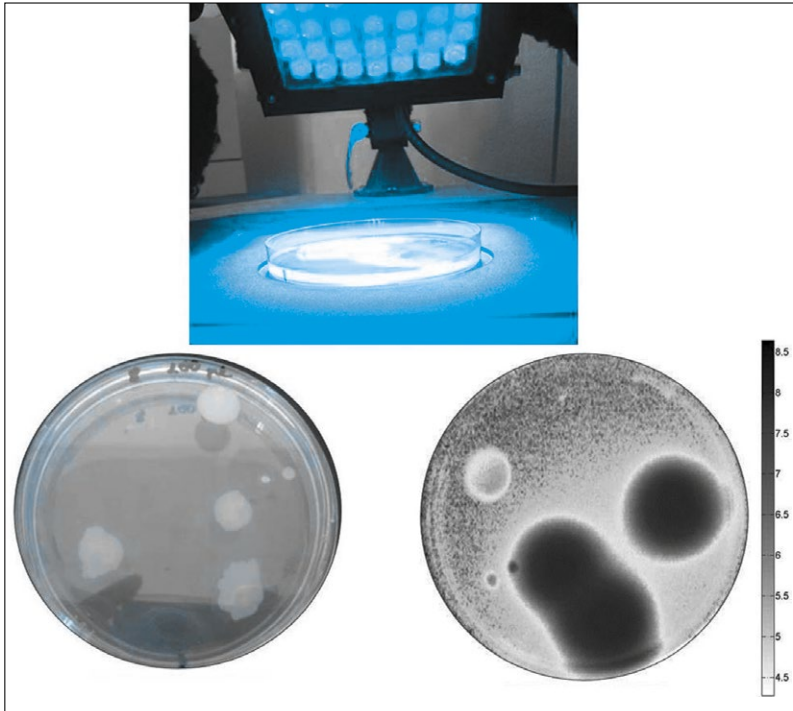


Abb. 7: Oben: Messung der Fluoreszenzsignaturen von Kontaminanten auf ST1-Agarplatten im bildgebenden System bei einer Anregung mit 420 nm. Unten: Originalbild der Kultur auf ST1-Agar (hier: *P. fluorescens*) links und Varianz der Fluoreszenzemission von *P. fluorescens* auf Agar über die Zeit (rechts).

Es konnte bestätigt werden, dass in den Regionen des mikrobiellen Wachstums auf den Agarplatten eine starke Varianz bzw. Veränderung der Fluoreszenz auftrat. Die Fluoreszenz der Mikroorganismen lässt sich mit dem aufgebauten Messsystem somit orts aufgelöst messen. Allerdings ist für eine Anwendung in der Prozessüberwachung zu berücksichtigen, dass die Varianz der Fluoreszenz von Mikroorganismen auf einer stark fluoreszierenden Fleischoberfläche schwieriger zu ermitteln ist.

Es zeigte sich jedoch, dass die Eigenfluoreszenz der Fleischoberfläche bei der beobachteten Wellenlängenkombination eher gering ist, solange das Fleisch frisch ist. Erst ab etwa 5 Tagen Lagerdauer bei 5°C ist ein signifikanter Anstieg der Fluoreszenz messbar (**Abb. 8 und 9**).

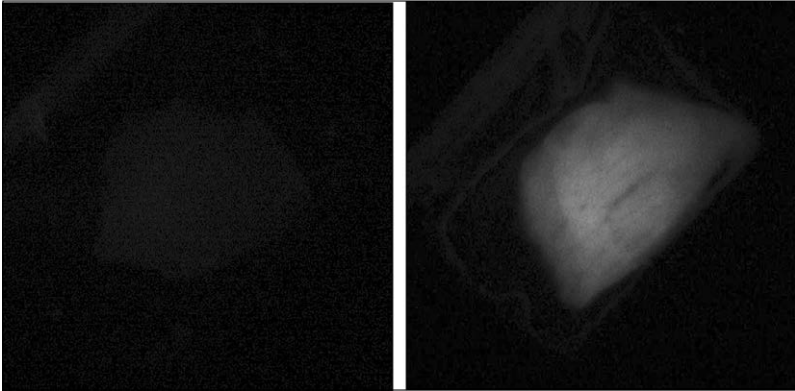


Abb. 8: Links: Messung der Fluoreszenz von Schweineschinken im bildgebenden System bei einer Anregung mit 420 nm. Rechts: 1 Tag post mortem. Links: 19 Tage post mortem, gelagert bei 5 °C.

Die normalisierten mittleren Fluoreszenzintensitäten verschiedener Lagerversuche sind in **Abb. 9** dargestellt. Dabei wurde jeweils eine Fleischprobe über 20 Tage bei 5 °C gelagert und jeden Tag mit dem bildgebenden System vermessen.

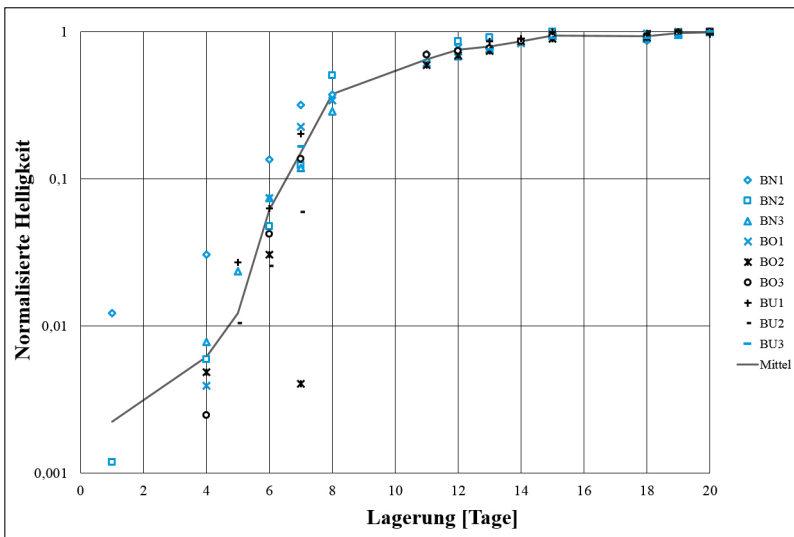


Abb. 9: Mittlere Fluoreszenzintensität von Fleischproben nach unterschiedlicher Lagerdauer (bei 5 °C), gemessen mit dem bildgebenden System.

Unter der Annahme, dass die Fluoreszenz oder die Fluoreszenzänderung maßgeblich von den Mikroorganismen direkt oder indirekt verursacht wird und somit die Verteilungen der Fluoreszenzintensität den Verteilungen der mikrobiellen Belastung entsprechen, lässt sich aus den Daten ein empirischer Zusammenhang erzeugen.

$$M = f \cdot \log_{10}(\sqrt{I_{Fluo}})$$

M = mikrobielle Belastung (Gesamtkeimzahl in log KbE/cm²)

I_{Fluo} = gemessene Fluoreszenzintensität

$$f \cong 8,87$$

Mit diesem univariaten Modell lässt sich aus der orts aufgelösten Fluoreszenz die mikrobielle Belastung orts aufgelöst berechnen (**Abb. 10**). Der Fehler (RMSECV) liegt bei 0,93 log KbE/cm². Aus dem Rauschen des CCD-Chips im bildgebenden System wurde das untere Detektionslimit auf etwa 4 log KbE/cm² geschätzt.

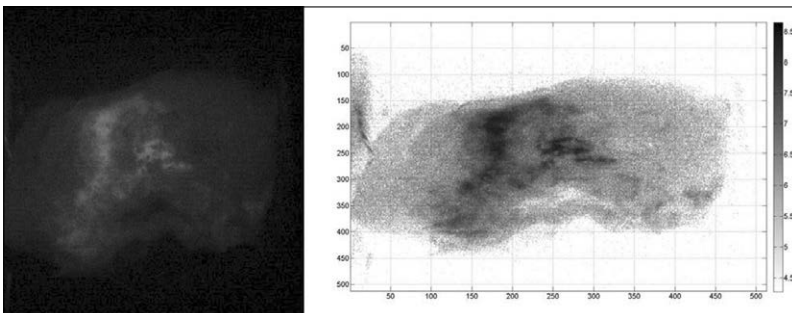


Abb. 10: Vorhersage der bakteriellen Belastung einer Fleischoberfläche aus der orts aufgelösten Fluoreszenz.

3. Schlussfolgerung

Die direkt auf der Fleischoberfläche gemessenen Fluoreszenzintensitäten von Protoporphyrin IX und Zink-Protoporphyrin konnten mit der parallel ermittelten Gesamtkeimzahl korreliert werden. Die Fluoreszenz oder Fluoreszenzänderung, direkt oder indirekt verursacht durch Mikroorganismen, lässt sich also auch auf der Fleischmatrix mit dem bildgebenden System erfassen und zur Berechnung einer orts aufgelösten mikrobiellen Belastung nutzen. Da sowohl das Kamerasystem als auch die Datenauswertung vergleichsweise wenig aufwendig sind, sind die Messzeiten kurz (ca. 2 s) und eine Onlinefähigkeit ist somit gegeben. Ein direkt in die Produktionslinie integriertes Kontaminationsmonitoring einzelner Fleischpartien könnte sich somit zeitnah umsetzen lassen.

Literatur

- [1] Aït-Kaddour A.; Boubellouta T.; Chevallier I. (2011). Development of a portable spectrofluorimeter for measuring the microbial spoilage of minced beef. *Meat Science* 88, 675-681.
- [2] Durek J.; Bolling J.S.; Knorr D.; Schwägele F.; Schlüter O. (2012). Effects of different storage conditions on quality related porphyrin fluorescence signatures of pork slices. *Meat Science* 90, 252-258.
- [3] Ellis D.I.; Goodacre R. (2001): Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of muscle foods: current status and future trends. *Trends in Food Science & Technology* 12, 414-424.
- [4] Nishino K; Nakamura K.; Tsuta M.; Yoshimura M.; Sugiyama J.; Nakauchi S. (2013). Optimization of excitation-emission band-passfilter for visualization of viable bacteria distribution on the surface of pork meat. *Optics Express* 21, 12579-12591.
- [5] Oto N.; Oshita S.; Makino Y.; Kawagoe Y.; Sugiyama J.; Yoshimura M. (2013). Non-destructive evaluation of ATP content and plate count on pork meat surface by fluorescence spectroscopy. *Meat Science* 93, 579–585.
- [6] Park B.; Kise M.; Lawrence K.; Windham W.; Smith D.; Thai C. (2007). Real-time multispectral imaging system for online poultry fecal inspection using unified modeling language. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety* 1, 45-54.
- [7] Sahar A.; Boubellouta T.; Dufour E. (2011). Synchronous front-face fluorescence spectroscopy as a promising tool for the rapid determination of spoilage bacteria on chicken breast fillet. *Food Research International* 1, 471-480.
- [8] Schneider J.; Wulf J.; Surowsky B.; Schmidt H.; Schwägele F.; Schlüter, O. (2008). Fluorimetric detection of protoporphyrins as an indicator for quality monitoring of fresh intact pork meat. *Meat Science* 80, 1320-1325.

Summary Sub-Project 4

Differentiation of autofluorescence signatures for on-line detection of bacterial contamination in automated deboning of meat

The aim of this subproject is to examine the basic mechanisms of the fluorescence signal development of native substances in correlation to the microbial load of a pork matrix. New algorithms for real time detection of bacterial contaminations on a meat surface should be implemented to provide essential knowledge for an online monitoring in automated process chains in terms of a minimal processing. Reliable non-destructive optical methods are required to allow a monitoring of single samples along the processing chain. Within the project fluorescence spectroscopy and fluorescence imaging analysis were evaluated to non-invasively detect contaminations on the meat surface in real-time.

Previous experiments using fluorescence spectroscopy revealed an increasing fluorescence signal of pork meat during storage. The detected fluorescence signals were assigned to protoporphyrin IX ($\lambda_{\text{exr max}} = 400 \text{ nm}$ and $\lambda_{\text{emr max}} = 635 \text{ nm}$, 705 nm) and zinc protoporphyrin ($\lambda_{\text{exr max}} = 420 \text{ nm}$ and $\lambda_{\text{emr max}} = 595 \text{ nm}$, 642 nm). It was assumed that bacteria are involved in the formation of porphyrins. To obtain knowledge about the correlation of microbial load and fluorescence signal development, cold plasma was used as a tool to suppress the microbial load of pork meat. The pork meat was treated with indirect microwave induced plasma and subsequently stored at 5°C for up to 20 days. After plasma treatment the aerobic viable count of pork meat remained between 10^2 and 10^3 CFU/cm^2 during the storage period. The comparison of integrated fluorescence signals at $\lambda_{\text{ex}} = 420 \text{ nm}$ and $\lambda_{\text{em}} = 450\text{-}750 \text{ nm}$ with total viable count of untreated and plasma treated pork meat supports the suggestion that bacteria are involved in the formation of porphyrins. With increasing total viable count the fluorescence intensities also increased. In contrast, the fluorescence intensities remained on a low level if total viable count was on a low level.

Detailed knowledge about the microbial diversity on ham was required to determine suitable further analyzing methods. Therefore, selected sampling positions were spread over the whole ham surface, rind and muscle. Total viable count was determined using plate count agar and selective media. The most frequent colonies were analyzed using MALDI-TOF-MS and Direct-Colony-PCR. The bacterial load ranged from 3.5 to 6.5 log CFU/cm^2 , depending on sampling position and ham. The microbial classification revealed *Escherichia coli* and *Pseudomonas fluorescens* as commonest, followed by *Staphylococcus aureus*, *Shewanella putrefaciens*, *Microbacterium oxydans*, *Staphylococcus sciuri*, *Brevibacterium casei*, *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii*, *Comamonas kerstersii*, *Cellulosimicrobium cellulans*, *Corynebacterium falsenii*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Micrococcus*

luteus, *Brochothrix thermosphacta*, *Macrococcus caseolyticus*, *Staphylococcus pasteurii*, *Penicillium chrysogenum*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida zeylanoides* and *Brevundimonas vesicularis*. Therefore, for the subsequent analysis *P. fluorescens* and *E. coli* were selected. The measurements of bacterial autofluorescence signals showed differences in fluorescence intensities on single cell level (flow cytometry) as well as in suspension (fluorescence spectroscopy) depending on the growth phase of bacteria. Detected fluorescence signals were aromatic amino acids, NADH and porphyrins. Using 420 nm as excitation wavelength the fluorescence signal of protoporphyrin IX and zinc protoporphyrin could be detected at an emission of 550-710 nm. Porphyrin fluorescence signals were not detected in bacteria using fluorescence spectroscopic methods. However, on single cell levels these signals were detectable. According to these results, relevant wavelengths were chosen for the fluorescence imaging system (PSI (Photon Systems Instruments), Brno, Czechia). New algorithms for real time detection of bacterial contaminations on a meat surface should provide essential knowledge for an online monitoring in automated process chains in terms of a 'minimal processing'.

Using the imaging system a spatially resolved measurement of bacterial contamination on pork meat surfaces was possible. The measurement error was 0.9 log CFU/cm² and the detection limit was 4 log CFU/cm². The measurement accuracy was as good as the accuracy of traditional microbiological plate count methods but up to now the detection limit is higher than the requested 3 log CFU/cm². The measurement time for the analysis of meat was 2 s which enables a real-time measurement.

Teilprojekt 5 (DFG)

Grundlagenuntersuchungen zur Raman-Sensorik von Lactat für eine automatisierbare Beurteilung der Fleischqualität in der Prozesskette

Dr. Heinar Schmidt¹

Rico Scheier¹

Natalia Agarkov¹

Prof. Dr. Bernd Hitzmann²

Marius Nache²

¹ Universität Bayreuth, Forschungsstelle für Nahrungsmittelqualität, Kulmbach

² Universität Hohenheim, Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie, Fachgebiet Prozessanalytik und Getreidetechnologie

Motivation

Wichtige technologische Qualitätsparameter von Fleisch wie pH-Wert, Farbe, Tropfsaftverlust und Scherkraft sind durch frühpostmortal ablaufende Stoffwechselprozesse innerhalb der Muskelzellen bestimmt. Ein Indikator für diese Prozesse ist Lactat, das nach der Schlachtung im Muskel gebildet wird und für die Absenkung des pH-Wertes von 7,0 auf etwa 5,4 verantwortlich ist. Zur objektiven Bestimmung der Qualität von Fleisch werden daher pH-Messungen mit Einstichsonden durchgeführt, wobei der 45 min *post mortem* (*p.m.*) gemessene pH-Wert (pH_{45}) der Erkennung der Qualitätsabweichung PSE (*pale, soft, exudative*) dient und der End-pH-Wert (pH_{24}) der Identifizierung von DFD-Fleisch (*dark, firm, dry*). Diese pH-Messungen sind jedoch fehleranfällig und wartungsintensiv und daher während der Schlachtung oder Zerlegung nicht online einsetzbar. Gegenstand aktueller Forschungsarbeiten ist daher die Prüfung spektroskopischer Verfahren zur schnellen Bestimmung der Qualität von Frischfleisch, da diese berührungslos und ohne Beeinträchtigung des untersuchten Probengutes arbeiten. Eine dieser Techniken ist die Raman-Spektroskopie. Beim Raman-Effekt wird die inelastische Streuung von Laserlicht an Molekülen gemessen. Die Rotverschiebung des Streulichtes liefert als spektroskopischer Fingerabdruck Informationen über Molekülschwingungen der Probe und damit über deren Zusammensetzung. An Fleisch wurde mit Hilfe der Infrarot- und Raman-Spektroskopie bisher u.a. gezeigt, dass mikrobieller Verderb, Scherkraft oder Wasserbindungsvermögen in den Spektren erkannt werden können [1]-[4]. Die Messung des pH-

Wertes oder der Lactatbildung in Fleisch mittels Raman-Spektroskopie wurden vorher noch nicht beschrieben.

Die Zielstellung des Teilprojektes 5 (DFG) war daher, die prinzipielle Anwendbarkeit der Raman-Spektroskopie zur Beurteilung der Qualität von Fleisch basierend auf Lactatbildung und pH-Wert zu prüfen, um zukünftig invasive pH-Messungen ersetzen zu können. Durch grundlegende Raman-Untersuchungen sollte auch ein tiefgreifendes Verständnis der frühpostmortalen Spektren erarbeitet werden, um gegebenenfalls weitere Indikatoren für die Qualitätsbeurteilung aus den Raman-Spektren ableiten zu können. Aufgrund der Komplexität der Spektren und der Datenmenge bestand eine wesentliche Aufgabe in der Datenanalyse. Hier sollten lineare und nicht-lineare Auswertelgorithmen sowie Verfahren zur Datenreduktion eingesetzt werden, um die Zielgrößen effizient aus den Spektren zu extrahieren sowie die Güte und Robustheit der Vorhersagemodelle zu verbessern.

Dazu wurden im ersten Schritt im Labor zeitabhängige pH-, Lactat- und Raman-Untersuchungen am ausgelösten *Musculus semimembranosus* (SM) des Schinkens durchgeführt. Der Muskel wurde gewählt, da er an der Schlachttierhälfte offen zugänglich ist. Parallel dazu wurde eine Datenbank mit Referenz-Raman-Spektren aufgebaut. Im zweiten Schritt wurde in Zusammenarbeit mit Teilprojekt 6 die Vorhersage wichtiger qualitätsbestimmender Kenngrößen aus Raman-Spektren untersucht, die dann bereits am Schlachtkörper aufgenommen wurden.

Raman-spektroskopische Quantifizierung des pH-Wertes und der Lactatkonzentration

Zur Quantifizierung des pH-Wertes und der Lactatkonzentration aus Raman-Spektren wurden Raman-, pH-Wert- und Lactatkinetiken im Zeitraum von 0,5 bis 10 h p.m. jeweils parallel an drei Teilen desselben Muskels an insgesamt 30 Oberschalen vom Schwein untersucht. Gefunden wurde ein quadratischer Zusammenhang zwischen pH-Wert und Lactatkonzentration, der für einzelne Tiere sehr eng war ($R^2 > 0,9$), bei Berücksichtigung aller Tiere jedoch mit $R^2 = 0,49$ im Vergleich zu Literaturangaben relativ niedrig ausfiel [5]. Dies ist zum einen durch einen Positionseffekt im Muskel erklärbar, d.h. pH-Wert und Lactatbildung verlaufen in den Teilstücken unterschiedlich, zum anderen durch die Varianz von Tier zu Tier. In den normalen Muskeln (RFN) veränderte sich die Lactatkonzentration im Durchschnitt mit einer Rate von 7 mmol/kg·h, während in Muskeln mit PSE-Tendenz etwa 14 mmol/kg·h Lactat gebildet wurden (siehe **Abb. 1a**). In den Raman-Spektren, die in **Abb. 1b** dargestellt sind, spiegelt sich die Milchsäurebildung und die Säuerung des Muskels unter anderem in Signalen von Lactat (L) und Glycogen (G) sowie den pH-abhängigen Signalen der Phosphatgruppe bei 980 und 1.080 cm^{-1} wider.

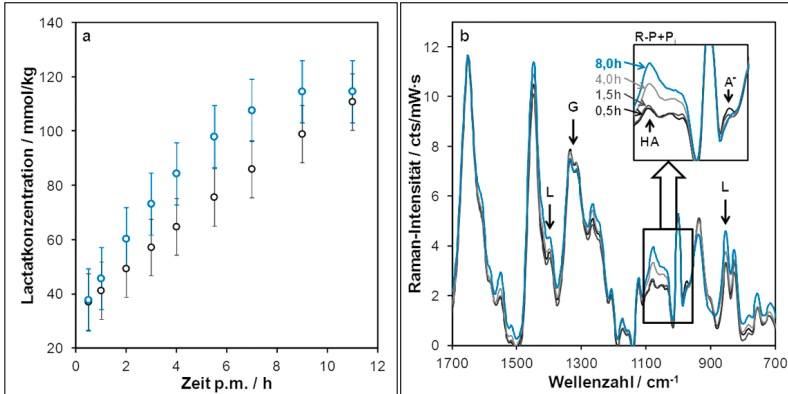


Abb.1: (a) Mittlere Lactatkonzentrationen von ausgelösten Oberschalen (SM) für normale Tiere (schwarz) und Tiere mit PSE-Tendenz (blau)

(b) Raman-Spektren von normalem Fleisch in den ersten 8 h post mortem. Raman-Signale von Lactat (L), Glycogen (G), sowie Säure- (HA) und Basenpeak (A⁻) phosphorylierter Metabolite (R-P) und von anorganischem Phosphat (P) sind mit Pfeilen markiert.

Das stärkste Lactatsignal bei 855 cm⁻¹ wird durch eine Reihe anderer Metabolite mit teils gegenläufiger Tendenz gestört. Aufgrund dieser Kompensationen ist eine Quantifizierung über dieses Signal nicht möglich. Andererseits konnte der pH-Wert direkt aus den Raman-Spektren berechnet werden über:

1. das Verhältnis zweier Phosphatbanden,
2. ein MLR-Modell (*multiple linear regression*) und
3. ein PLS-Modell (*partial least squares*).

Im ersten Fall wurden die Nettopeakintensitäten der Phosphatbanden bei 980 (A⁻) und 1.080 cm⁻¹ (HA) bestimmt und der pH-Wert über die HENDERSON-HASELBALCH-Gleichung (**Gl. 1**) berechnet:

$$pH = pK_S + \log_{10} \left(\frac{A^-}{HA} \right)$$

Für die Säurekonstante pK_S wurde dabei ein mittlerer Wert für alle Phosphatspezies verwendet [5]. Der beobachtete Positionseffekt resultierte in einer konstanten Verschiebung der pH-Vorhersagen für einzelne Oberschalen und einem Fehler von 0,3 pH-Einheiten mit einem mittleren Bestimmtheitsmaß von R² = 0,71. Die Linearität ist dabei erkennbar hoch (**Abb. 2a**).

Im zweiten Fall wurden die Nettopeakintensitäten von 11 Raman-Banden bestimmt, die den Signalen von Lactat, Phosphat, Kreatin, ATP, IMP und der Carboxyl-Gruppe zuzuordnen sind. Zur Berechnung des pH-Wertes wurden die Werte in einem MLR-Modell linear mit einem Offset-Parameter kombiniert. Das Bestimmtheitsmaß der pH-Wert-Vorhersage verbesserte sich auf $R^2 = 0,78$ und der Vorhersagefehler auf 0,22 pH-Einheiten.

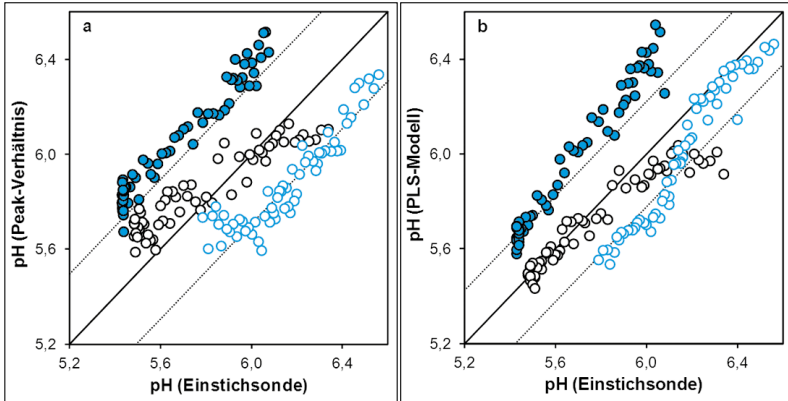


Abb. 2: pH-Wert-Berechnung aus (a) dem Peakverhältnis von zwei Phosphatbanden bei 980 und 1080 cm^{-1}

(b) mit PLS-Modell jeweils mit Vorhersagefehler (gepunktete Linien) für drei ausgewählte Zeitmessreihen an der Oberschale.

Mit einem PLS-Modell, das die spektralen Kanäle von 500 bis 1.800 cm^{-1} verwendet, konnte die Vorhersage weiter verbessert werden. In **Abb. 2b** ist die höhere Linearität ($R^2 = 0,95$) im Vergleich zur Vorhersage basierend auf nur zwei Phosphat-Peaks zu erkennen. Die systematische Verschiebung der pH-Wert-Vorhersagen einzelner Messreihen aufgrund des Positionseffektes zeigt sich naturgemäß auch hier: Der Vorhersagefehler verbessert sich im PLS-Modell gegenüber dem MLR-Modell nicht weiter (0,22 pH-Einheiten).

Es konnte gezeigt werden, dass frühpostmortal gemessene Raman-Spektren zur nicht-invasiven Bestimmung des pH-Wertes prinzipiell geeignet sind und dass die guten pH-Vorhersagen zum Gutteil auf die pH-abhängigen Signale von Phosphat und anderer Metabolite zurückgehen. Bei der Kalibrierung ist dabei die natürlich auftretende Varianz im Muskel zu berücksichtigen.

Raman-Spektren als Abbild des frühpostmortalen Stoffwechsels von Muskelzellen

Mit Unterbrechung der Blutzirkulation kann der Muskel keine oxidative Phosphorylierung mehr durchführen. Seinen Energiebedarf in Form von ATP kann er postmortal im Wesentlichen auf drei Stoffwechselwegen decken: (a) durch Abbau von Phosphokreatin zu Kreatin, (b) über die Adenylat-Kinase-Reaktion, bei der zwei ADP-Moleküle verbraucht werden und (c) mittels Glycolyse. Das dabei gebildete Pyruvat wird zur Regeneration von NAD^+ zu Lactat reduziert, wobei die gebildete Milchsäure zur Säuerung des Muskels führt. Das gebildete ATP wird zur Aufrechterhaltung der Muskelspannung verbraucht (Reaktion (d) in **Abb. 3**). Sinkt die ATP-Konzentration unter 1 mmol/kg, bindet Myosin dauerhaft an die Actinfilamente und die Totenstarre (*Rigor mortis*) tritt ein. Dieses vereinfachte Bild des frühpostmortalen Stoffwechsels der Muskelzellen ist in **Abb. 3** illustriert.

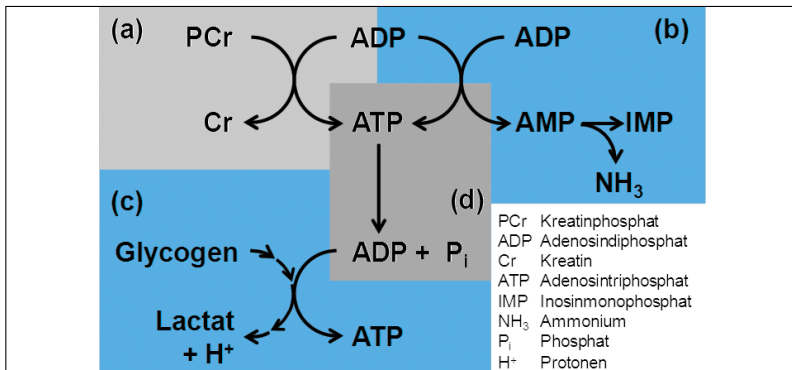


Abb. 3: Schema des frühpostmortalen Stoffwechsels im Muskel: (a) PCr-Abbau, (b) Adenylat-Kinase-Reaktion, (c) Glykolyse und Lactatbildung und (d) ATP-Abbau.

Neben Phosphat und Lactat enthält das Raman-Spektrum von Fleisch eine Vielzahl weiterer Signale, die sich jedoch teilweise überlagern oder kompensieren, wodurch eine Identifikation einzelner Metabolite erschwert ist. Um die spektralen Änderungen zu analysieren, wurden anhand der gemessenen Raman-Kinetiken Differenzspektren in zwei Zeitfenstern berechnet: in der Prärigor-Phase (2 h minus 0,5 h *p.m.*) und in der Rigor-Phase (8,5 h minus 2 h *p.m.*). Die gemessenen und die simulierten Differenzspektren für beide Phasen sind in **Abb. 4** dargestellt. Für die Simulation wurden Raman-Spektren der Reinstoffe in wässriger Lösung bei pH-Werten verwendet, die den im Fleisch gemessenen Werten entsprechen. In der Prärigor-Phase sinkt der pH-Wert von 6,2 auf 6,0. Durch die Differenzbildung zeigen Metabolite, die gebildet werden, positive Peaks und Metabolite, die verbraucht werden, negative Peaks. Signale von Stoffen, deren

Konzentrationen unverändert bleiben, werden eliminiert. In der Prärigor-Phase sind die Metabolit-Paare Lactat/Glycogen und Kreatin/Phosphokreatin sowie die pH-abhängigen Veränderungen der Phosphatgruppe für die beobachteten Veränderungen verantwortlich. Zudem tragen Veränderungen α -helikaler Proteine, sowie von Oxy- und Deoxyhäm zum Differenzspektrum bei. Durch Summation dieser fünf skalierten Differenzspektren werden die im Fleisch-Differenzspektrum (**Abb. 4a**) gemessenen Veränderungen im Bereich von 800 bis 1.150 cm^{-1} sehr gut wiedergegeben [6].

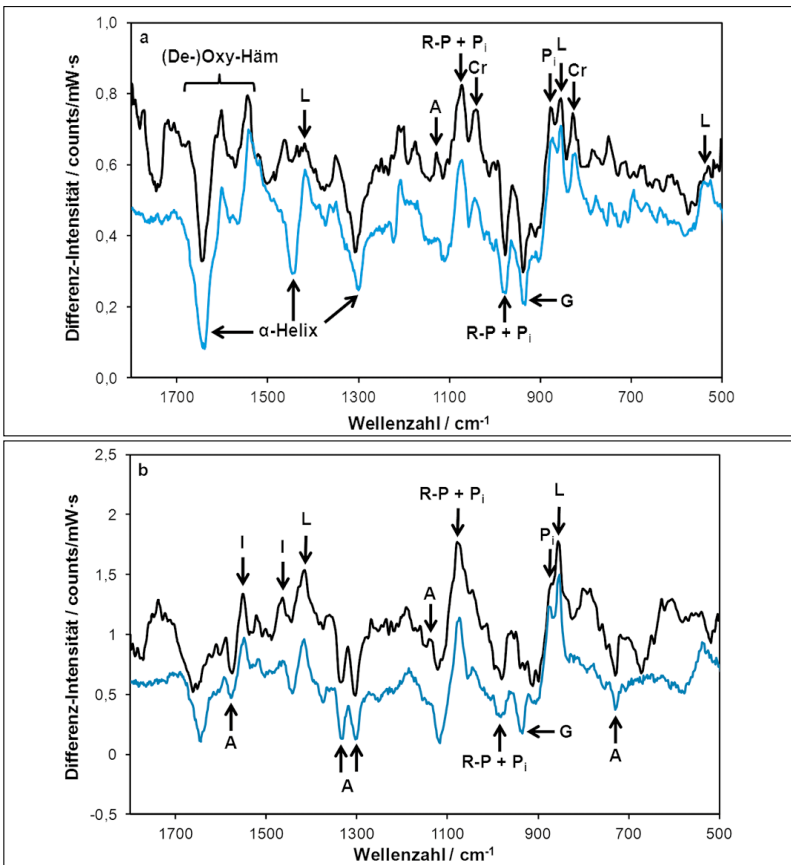


Abb. 4: Gemessene Differenzspektren (schwarz) und simulierte Differenzspektren (blau) (a) für die Prärigor-Phase (2 h minus 0,5 h p.m.) und (b) für die Rigor-Phase (8,5 h minus 2 h p.m.). Signale von Lactat (L), Glycogen (G), Kreatin (Cr), ATP (A), Inosinmonophosphat (I), phosphorylierten Metaboliten (R-P) und anorganischem Phosphat (Pi) sind mit Pfeilen markiert.

In der Rigor-Phase sinkt die ATP-Konzentration nahezu auf Null, während IMP angereichert wird. Die Umwandlung von Phosphokreatin zu Kreatin spielt keine Rolle mehr. Die fortlaufende Milchsäurebildung führt zu einer Absenkung des pH-Wertes von 6,0 auf 5,6. Diese Änderungen wurden durch das Differenzspektrum $IMP \text{ minus } ATP$ und entsprechende Wahl der pH-Werte der Referenzspektren in der Simulation berücksichtigt. Damit konnten auch in dem Zeitfenster, in dem der Muskel in den *Rigor* eintritt, die beobachteten spektralen Veränderung im Fleisch-Differenzspektrum mit sehr guter Übereinstimmung simuliert werden (siehe **Abb. 4b**).

Durch die Differenzspektren und deren Simulation aus den Einzelkomponenten konnte gezeigt werden, dass Raman-Spektren einen detaillierten Einblick in die frühpostmortal ablaufenden Stoffwechselfvorgänge von Fleisch liefern und diese Information durch eine zerstörungsfreie Messung erhalten werden kann.

Feldstudie zur frühpostmortalen Messung und Beurteilung der Qualität von Fleisch

Da die Raman-Spektren, insbesondere in der Zeit vor Eintritt des *Rigor mortis*, wichtige Informationen über den Stoffwechselzustand des Muskels enthalten, wurden im Kühlhaus eines Schlachthofes Raman-Spektren von 96 Oberschalen am unzerlegten Schlachtierkörper im Zeitfenster 1-2 h *p.m.* gemessen. Hierzu wurde ein portables Raman-System verwendet [7],[8]. Je Tier wurden 10 Spektren an der Fleischoberfläche mit je 2,5 s Integrationszeit gemessen. Parallel wurden die Referenzparameter pH_{45} , pH_{24} , $L^*a^*b^*$ -Werte, Tropfsaftverlust nach 72 h (TSV) und Scherkraft nach 24 h (SK₂₄) und 72 h *p.m.* (SK₇₂) erhoben. Eine Übersicht der Ergebnisse ist in **Tab. 1** gezeigt.

Die Proben wurden mit dem in Teilprojekt 6 entwickelten Sortierschema in acht Qualitätskategorien sortiert. Von Interesse ist dabei u.a. eine frühzeitige Erkennung von PSE. Um die spektralen Unterschiede zwischen normaler und PSE-Qualität hervorzuheben, wurde das Differenzspektrum $RFN \text{ minus } PSE$ mit 31 bzw. 6 Proben berechnet (**Abb. 5**) [8]. Der fortgeschrittene Stoffwechselzustand von PSE-Fleisch im Vergleich zu RFN-Fleisch ist in den Raman-Spektren anhand geringerer Signalintensitäten von Phosphokreatin, Glycogen und ATP nachweisbar, wohingegen die Signale von Kreatin, Lactat und IMP höhere Intensität aufweisen. Gleichzeitig ist der niedrigere pH-Wert im PSE-Fleisch deutlich anhand der Phosphatpeaks zu erkennen. Das PSE-Fleisch ist zudem durch eine erhöhte Proteindenaturierung gekennzeichnet. Damit wurden die im Labor an ausgelösten Oberschalen gemessenen Ergebnisse unter Schlachthofbedingungen bestätigt und gezeigt, dass mit der Raman-Spektroskopie unterschiedliche Stoffwechselzustände detektiert und beispielsweise RFN- und PSE-Fleisch anhand charakteristischer Signalmuster in den Spektren unterscheidbar sind.

Tab. 1: Übersicht der Referenzmessungen für pH (pH_{45} , pH_{24}), Farbe ($L^*a^*b^*$), Tropfsaftverlust (TSV) und Scherkraft (SK_{24} , SK_{72}) mit Anzahl der Proben (N), Mittelwert (MW), Standardabweichung (σ), Fehler der Referenzmethode (Ref. error) sowie wichtiger Kenngrößen der PLS-Modelle mit Bestimmtheitsmaß der Kalibrierung und Kreuzvalidierung (R^2 bzw. R^2_{cv}) und mittlere quadratische Fehler der Kalibrierung und Kreuzvalidierung (RMSEC bzw. RMSECV)

Parameter	N	MW	σ	Ref. error	R^2	RMSEC	R^2_{cv}	RMSECV
pH_{45}	96	6,29	0,29	0,06-0,12	0,82	0,11	0,65	0,17
pH_{24}	96	5,53	0,15	0,01-0,04	0,85	0,06	0,68	0,09
L^*	96	48,8	3,1	0,9	0,95	0,7	0,64	1,9
a^*	96	9,1	1,6	0,4	0,48	1,2	0,36	1,3
b^*	96	4,2	1,2	0,3	0,90	0,4	0,73	0,6
TSV / %	81	4,1	1,9	0,3-1,3 ^a	0,90	0,6	0,73	1,0
SK_{24}/N	81	57,1	8,7	4,7	0,37	6,9	0,22	7,8
SK_{72}/N	64	48,7	6,9	4,6	0,95	1,4	0,70	4,0

^a aus [9]

Mit den Raman-Spektren lassen sich noch weitreichendere Qualitätsaussagen treffen, die über den aktuellen Messzeitraum (1-2 h *p.m.*) hinausgehen, da der frühpostmortale Stoffwechsel im Muskel die Parameter pH_{45} , aber auch pH_{24} , $L^*a^*b^*$, TSV und Scherkraft mitbestimmt. Entsprechend wurden die Raman-Spektren mit diesen Qualitätsparametern mittels *Partial Least Squares* Regression (PLS) korreliert (weitere Methoden werden im nächsten Abschnitt beschrieben). Die Kenndaten dieser PLS-Korrelationen sind in **Tab. 1** aufgeführt. Der pH_{45} -Wert lässt sich erwartungsgemäß sehr gut bestimmen ($R^2 = 0,82$, $RMSECV = 0,17$ pH-Wert-Einheiten). Die Güte der Korrelation ist durch den großen Messfehler der pH_{45} -Messung und den Positionseffekt im SM beschränkt. Beide sind im Fall des pH_{24} deutlich geringer (siehe **Tab. 1**). Dadurch wird beim pH_{24} eine bessere Vorhersage erreicht ($R^2 = 0,89$, $RMSECV = 0,09$ pH-Einheiten), obwohl dieser Parameter aus den frühpostmortalen Spektren vorhergesagt wird.

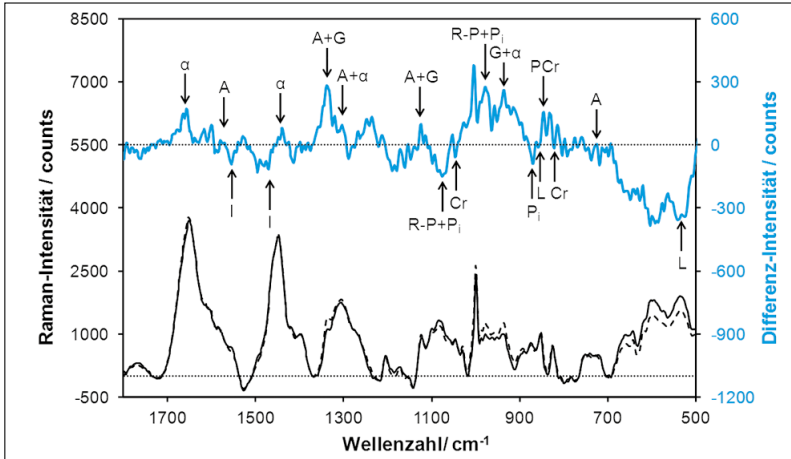


Abb. 5: Raman-Mittelwertspektren von RFN- (durchgezogene Linie) und PSE-Fleisch (gestrichelte Linie) sowie das Differenzspektrum RFN minus PSE (blau). Peakzuordnung: Lactat (L), Glycogen (G), Kreatin (Cr), Phosphokreatin (PCr), IMP (I), ATP (A), anorganisches Phosphat (Pi), phosphorylierte Verbindungen (R-P) sowie α -helikale Proteine (a).

Als sichtbares Merkmal ist die Fleischfarbe für den Kunden kaufentscheidend. Sie ist im $L^*a^*b^*$ -Farbraum objektiv darstellbar und kann mit einer schnellen Messung ermittelt werden. Die Farbe verändert sich jedoch zwischen Schlachtung und Zerlegung, wodurch eine frühpostmortale Messung des $L^*a^*b^*$ -Wertes wenig Aussagekraft über die Farbe nach 24 h hat. Mit den Raman-Spektren hingegen der L^* - und b^* -Wert mit hoher Genauigkeit ($R^2 > 0,9$) vorhergesagt werden. Interessanterweise gilt dies für den a^* -Wert nicht ($R^2 = 0,48$).

Der Tropfsaftverlust ist der prozentuale Gewichtsverlust während der Lagerung über 48 h. Dieser kann ebenfalls mit hoher Genauigkeit aus den Raman-Spektren vorhergesagt werden ($R^2 = 0,9$, RMSECV = 1%), wobei der Vorhersagefehler nahezu dem der klassischen Tropfsaftbestimmung (0,3-1,3%) entspricht [9]. Die Korrelation zwischen gemessenen und vorhergesagten TSV-Werten ist in **Abb. 6a** visualisiert. Dabei sind die TSV-Vorhersagen der Kalibrierung (blaue Punkte) und der Kreuzvalidierung (graue Kreise) dargestellt. Das PLS-Modell belastet dazu Signale des Energiestoffwechsels, wie der in **Abb. 6b** dargestellte VIP-Plot (*Variable Importance in Projection*) verdeutlicht. Hierdurch werden spektrale Kanäle entsprechend ihres Beitrags zur Korrelation gewichtet. Je höher der VIP-Score, desto wichtiger ist das Signal für die Vorhersage. Genutzt werden hier unter anderem Signale von Lactat, Kreatin, ATP und Phosphat.

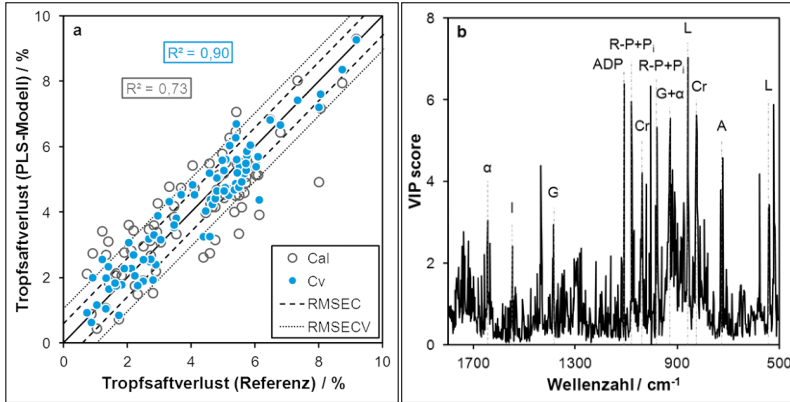


Abb. 6: (a) Korrelation zwischen gemessenen und mittels PLS vorhergesagten TSV-Werten aus Kalibrierung (Cal) und Kreuzvalidierung (Cv) sowie mittlere quadratische Fehler (RMSEC bzw. RMSECV).

(b) VIP-Plot mit Raman-Signalen wichtiger Metabolite. Peakzuordnung: Lactat (L), Glycogen (G), Kreatin (Cr), IMP (I), ATP (A), Adenosintriophosphat (ADP), anorganisches Phosphat (P), phosphorylierte Verbindungen (R-P) sowie α -helikale Proteine (α).

Die Zartheit spielt für den Verbraucher eine entscheidende Rolle für den Genusswert von Fleisch. Als sensorischer Parameter ist die Zartheit jedoch nicht objektiv messbar, weswegen als physikalisches Maß statt ihrer oft die Scherkraft dient. Bisher wird dieser Wert nach WARNER-BRATZLER in einem zeit- und arbeitsaufwendigen Verfahren bestimmt. Eine Vorhersage der Scherkraft aus frühpostmortalen Daten war bisher noch nicht gelungen.

Hier zeigt die Raman-Spektroskopie unerwartet gute Ergebnisse: So wurde die Scherkraft nach 72 h *p.m.* mit hoher Genauigkeit ($R^2 = 0,95$, RMSECV = 4 N) aus den frühpostmortalen Spektren vorhergesagt. Der berechnete Vorhersagefehler (RMSECV) ist vergleichbar mit dem Fehler der Referenzmethode von 4,6 N. Dagegen zeigte die Korrelation der Raman-Spektren mit der nach 24 h gemessenen Scherkraft keinen Zusammenhang. Die Gründe dafür sind noch unbekannt, jedoch hat die Proteolyse, die zur Zartwerdung führt, nach 24 h erst begonnen.

Lineare und nichtlineare Algorithmen zur Auswertung der Spektren

Die experimentell gemessenen Raman-Spektren enthalten neben den gesuchten Informationen auch Störsignale und Rauschen, die aus der Probe oder dem Messaufbau stammen. Zur qualitativen und quantitativen Informationsgewinnung müssen die Spektren aufbereitet und gefiltert werden. Jedoch existiert

bisher kein allgemein akzeptiertes, standardisiertes Vorgehen zur Analyse von Raman-Spektren. Daher wurden verschiedene Vorverarbeitungsprozeduren und chemometrische Verfahren systematisch anhand der Quantifizierung der Lactatkonzentration und des pH-Wertes aus den Raman-Spektren von frühpostmortalem Fleisch evaluiert. Hierzu wurden empirisch durch Vorverarbeitung nicht-relevante Bestandteile der Spektren entfernt und relevante durch Berechnung chemometrischer Modelle hervorgehoben. Ziel und Prüfkriterium waren dabei, eine möglichst genaue Vorhersage der pH- und Lactat-Referenzwerte aus den Raman-Spektren zu erreichen.

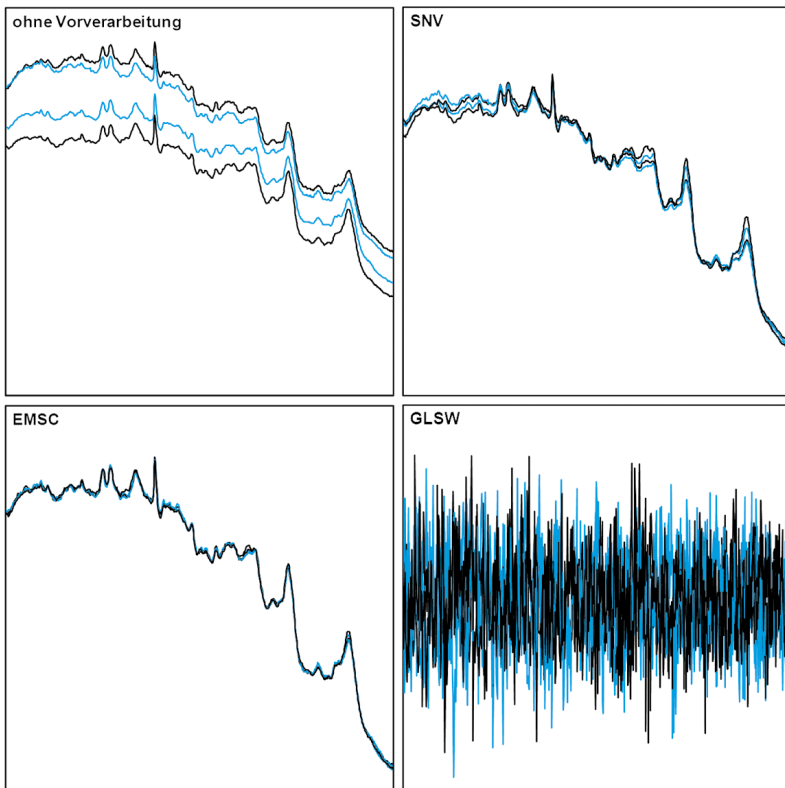


Abb. 7: Veranschaulichung der SNV-, EMSC und GLSW-Vorverarbeitung auf vier ausgewählte Raman-Spektren von Schweinefleisch.

Erster Schritt vor der Berechnung chemometrischer Modelle ist die Vorverarbeitung spektraler Daten [10]. Dazu stehen eine Vielzahl von Methoden zur Verfügung: Die *Standard-Normal-Variate*-Normierung (SNV) wurde 1989 von BARNES

et al. [11] vorgestellt und stellt zusammen mit der *Multiplicative Scattering Correction* (MSC) und der *Extended Multiplicative Scattering Correction* (EMSC) [12] eine der am häufigsten angewendeten Vorverarbeitungsmethoden dar. *General Least Square Weighting* (GLSW) ist eine neuere Filtermethode, die 2003 eingeführt wurde [13], um redundante Anteile des Spektrums zu entfernen, die in der Regel die Güte des Vorhersagemodells limitieren. Der Effekt dieser Vorverarbeitungsmethoden auf die Raman-Spektren ist in **Abb. 7** illustriert.

In **Tab. 2** sind PLS-Vorhersagen der Referenzparameter pH-Wert und Lactatkonzentration zusammengefasst, die mit den Rohspektren, sowie mit den SNV-, EMSC- und GLSW- vorverarbeiteten Raman-Spektren berechnet wurden.

Tab. 2: Übersicht der Kenngrößen der PLS-Modelle zur Vorhersage des pH-Wertes und der Lactatkonzentration (in mmol/kg), die aus Raman-Spektren mit unterschiedlichen Vorverarbeitungsmethoden berechnet wurden

Vorverarbeitung:	Ohne		SNV		EMSC		GLSW	
	Lactat	pH	Lactat	pH	Lactat	pH	Lactat	pH
R ²	0,62	0,02	0,96	0,93	0,95	0,93	0,96	0,93
RMSECV	16,3	0,8	5,1	0,09	5,6	0,08	5,2	0,06

Die Vorverarbeitung der Spektren verbessert wie erwartet die Vorhersagekraft der PLS-Modelle, wobei SNV und GLSW die besten Ergebnisse liefern.

Im nächsten Schritt wurden mit den vorverarbeiteten Spektren verschiedene chemometrische Methoden getestet und deren Leistung zur Vorhersage von pH-Werten und Lactatkonzentrationen verglichen. Dabei wurden sowohl lineare Algorithmen wie SIMPLS/NIPALS [14] als auch nicht-lineare Regressionsalgorithmen wie *Locally-Weighted-Regression* (LWR) verwendet [15]. Zur Berechnung der Vorhersagemodelle wurden dazu die Datensätze so geteilt, dass 70% der Daten zur Kalibrierung und 30% zur Validierung genutzt wurden. Um ein „Overfitting“ zu verhindern, wurde jeweils eine *Leave-One-Out*-Kreuzvalidierung durchgeführt. Die Kenngrößen R², RMSEC, RMSECV und RMSEP (mittlerer quadratischer Fehler der Vorhersage) sind in **Tab. 3** für PLS und LWR gegenüber gestellt. Mit LWR sind bessere Vorhersagen möglich als mit dem linearen Verfahren, weil der Zusammenhang zwischen Raman-Spektren und dem pH-Wert (siehe HENDERSON-HASSELBALCH-Gleichung) bzw. der Lactatkonzentration nicht-linear ist.

Tab. 3: Übersicht der besten Ergebnisse der multivariaten Analysemethoden zur Vorhersage des pH-Wertes und der Lactatkonzentration (in mmol/kg)

Methode	PLS		LWR		PLS		PLS	
Kanalreduktion	keine		keine		ACO		GA	
Parameter	Lactat	pH	Lactat	pH	Lactat	pH	Lactat	pH
R^2	0,96	0,97	0,96	0,96	0,96	0,94	0,97	0,97
RMSEC	0,1	0,01	4,5	2,9	2,9	0,10	0,1	0,001
RMSEP	15,7	10,1	3,3	12,5	12,5	0,08	10,1	0,22
RMSECV	5,1	4,5	5,3	5,1	5,1	0,06	4,5	0,06

Im letzten Schritt wurden die spektralen Kanäle extrahiert, die für die Vorhersagemodelle am wichtigsten sind. Die Raman-Spektren bestehen aus 1.024 Variablen, die unterschiedlich stark zur Vorhersage eines Referenzparameters beitragen. Im Prinzip können spektrale Kanäle, die nur Rauschen enthalten, die Vorhersagegüte der Modelle mindern. Daher wurden metaheuristische Verfahren wie der *Ant Colony Optimization* (ACO) Algorithmus und eine angepasste Implementierung eines genetischen Algorithmus (GA) zur Kanalreduktion angewandt, um durch Variablenselektion ein Minimum an spektralen Kanälen zu bestimmen und damit die Vorhersagefehler zu reduzieren. Die statistischen Kenngrößen der PLS-Modelle, die basierend auf den reduzierten Datensätzen (ACO, GA) berechnet wurden, sind in **Tab. 3** angegeben. Die Kanalreduktion mit ACO erzielt hier die besten Ergebnisse für die untersuchten Kanal-Reduktionsverfahren.

Durch Kombination von Vorverarbeitung der Raman-Spektren, Reduktion der Anzahl spektraler Kanäle und linearen bzw. nicht-linearen Regressionsalgorithmen ist es möglich, die Güte von Vorhersagemodellen noch deutlich zu steigern und deren Robustheit zu verbessern. Somit stellen diese Untersuchungen einen wichtigen Schritt zur Entwicklung online-fähiger Vorhersagealgorithmen von Qualitätsparametern von Frischfleisch mit Hilfe der Raman-Spektroskopie dar.

Zusammenfassung

Wichtige Qualitätsparameter von Fleisch wie pH-Wert, Farbe, Tropfsaftverlust und Scherkraft sind durch den frühpostmortalen Stoffwechsel in den Muskelzellen bestimmt. Einzig der pH-Wert kann davon derzeit im Schlacht- und Zerlegeprozess mit Einstichsonden gemessen werden. Für eine automatisierbare Prozessbeobachtung zur frühzeitigen Sortierung im Sinne des *Minimal Processing* werden schnelle, nicht-invasive Messverfahren zur objektiven Erfassung der Fleischqualität benötigt, die neben dem pH-Wert auch weitere Qualitätsparameter im Prozess verfügbar machen.

In Teilprojekt 5 wurde die prinzipielle Anwendbarkeit der Raman-Spektroskopie zur Bestimmung von Fleischqualität basierend auf pH-Wert und Lactatkonzentration gezeigt. Die frühpostmortal gemessenen Raman-Spektren korrelieren mit dem pH-Wert und der Lactatkonzentration. Durch Differenzspektren im Zeitfenster vor und nach Einsetzen des *Rigor mortis* konnte gezeigt werden, dass die Raman-Spektren einen viel detaillierteren Einblick in den frühpostmortalen Stoffwechsel der Muskelzellen geben als der pH-Wert und die Lactatkonzentration. Dabei wird die Protonierung von Phosphatgruppen als pH-Indikator benutzt und die Signale des Säure-Base-Paares können zur pH-Berechnung verwendet werden. Genauere Aussagen sind mit linearen Modellen möglich, die Signale wichtiger Metabolite des Energiestoffwechsels nutzen, beziehungsweise das gesamte Spektrum verwenden. Durch Spektrenvorverarbeitung, Kanalreduktion und nicht-lineare Regressionsalgorithmen werden Güte und Robustheit der Vorhersagemodelle noch weiter verbessert. Die stärksten Veränderungen in den Raman-Spektren von Fleisch sind frühpostmortal durch Konzentrationsänderungen von Lactat, Phosphokreatin und ATP, sowie Änderungen der Signale der α -helikalen Proteine erklärbar. Auf Basis dieser Informationen sind weitreichendere Aussagen über die zukünftige Qualitätsentwicklung von Schweinefleisch möglich als es der pH-Wert erlauben würde. In einer Feldstudie konnten im Kühlraum schon 1-2 h nach der Schlachtung die fünf Qualitätsparameter pH_{45} , pH_{24} , Farbe, Tropfsaftverlust und Scherkraft vorhergesagt werden, welche mit invasiven Referenzmethoden teils erst nach zeit- und arbeitsintensiver Analytik Tage nach der Schlachtung bestimmt werden können. Dadurch werden zukünftig Tropfsaftverlust und die Scherkraft im Schlachthof mit Hilfe der Raman-Spektroskopie mess- bzw. vorhersehbar, so dass eine frühzeitige Sortierung für eine Ressourcen schonende Verarbeitung möglich wäre.

Literatur

- [1] R. J. Beattie, S. J. Bell, L. J. Farmer, B. W. Moss, D. Patterson (2004) *Meat Sci.* 66:903-913.
- [2] H. Schmidt, R. Scheier, D. Hopkins (2013) *Meat Sci.* 93:138-143.
- [3] K. Sowoidnich, H. Schmidt, H.-D. Kronfeldt, F. Schwägele (2012) *Vib. Spectrosc.* 62:70-76.
- [4] D. K. Pedersen, S. Morel, H. J. Andersen, S. B. Engelsen (2003) *Meat Sci.* 65:581-592.
- [5] R. Scheier, H. Schmidt (2013) *Appl. Phys. B* 111:289-297.
- [6] R. Scheier, J. Köhler, H. Schmidt (2014) *Vib. Spectrosc.* 70:12-17.
- [7] H. Schmidt, K. Sowoidnich, H.-D. Kronfeldt (2010) *Appl. Spectrosc.* 64:888-894.
- [8] R. Scheier, A. Bauer, H. Schmidt (2014) *Food Bioprocess Technol.*, accepted.
- [9] L. B. Christensen (2003) *Meat Sci.*, 63:469–477.
- [10] P. Geladi (2003) *Spectrochim. Acta B* 58:767-782.
- [11] R. J. Barnes, M. S. Dhanoa, S. J. Lister (1989) *Appl. Spectrosc.* 43:772-777.
- [12] H. Martens, S. A. Jensen, P. Geladi (1983) *Proc. Nordic Symp. Applied Statistics*, Stokkland Forlag, Stavanger, Norway pp. 205-234.
- [13] H. Martens, J. P. Nielsen, S. B. Engelsen (2003) *Anal. Chem.* 75:394-404.
- [14] S. De Jong (1993) *Chemometr. Intell. Lab.* 18:251-236.
- [15] T. Naes, T. Isaksson, B. Kowalski (1990) *Anal. Chem.* 62:664-673.
- [16] F. Allegri, A. C. Olivieri (2011) *Anal. Chim. Acta* 699:18-25.

Summary Sub-Project 5

Fundamental studies on Raman sensor technology for automated evaluation of meat quality within the process chain

Technological important quality traits of meat such as pH-value, colour, drip loss and shear force are influenced and to some extent determined by the early post-mortem metabolism of the muscle cells. Today, of these traits, only the pH-value can be monitored during meat production with puncture probes, which are destructive and error prone. To enable an early sorting in the sense of minimal processing, new measuring technologies are required for an automatized, fast and non-invasive process monitoring.

The objective of sub-project 5 was to show the principal applicability of Raman spectroscopy for an assessment of meat quality based on the pH-value and lactate concentration. To this end, basic investigations were performed to elucidate the spectral information which is contained in the early *post mortem* Raman spectra. Sophisticated methods of data processing were applied to analyze the spectra and to optimize calibration models.

As a result, the early *postmortem* Raman spectra were shown to correlate with the pH-value and the lactate concentration. Thus, both parameters can be measured with Raman spectroscopy. Using difference spectra in time slots before *rigor* and when the muscle enters the *rigor mortis*, it was shown that the Raman spectra are providing a much more detailed insight into the early *postmortem* metabolism of the muscle cells than the pH-value or the lactate concentration. Amongst others, the protonation of phosphate groups is used as a pH indicator. Thus, the signals of this acid/base pair are used for calculating the pH-value. More precise predictions were obtained with linear models using additional signals of essential intermediates of the energy metabolism. The quality and robustness of the prediction models was further improved by using various methods of pre-processing, data reduction and non-linear regression algorithms. The strongest changes in the Raman spectra could be assigned to changes in the concentrations of lactate, phosphocreatine and ATP as well as structural changes of α -helical proteins. Based on this spectral information, wide-ranging predictions of the development of the pork meat quality can be made. In a field study in an abattoir with 95 animals, the quality traits pH_{45} , pH_{24} , CIE $L^*a^*b^*$, drip loss and shear force could be predicted from Raman spectra which were measured in the chill room 1-2 h *p.m.* Thus, in addition to the pH-value, quality traits which are conventionally available only after time- and labour- intensive analytics can be predicted with Raman spectroscopy. This would allow for an early sorting of meat qualities with a view to a resource-friendly meat processing.

Teilprojekt 6 (AiF)

Entwicklung von Analysemethoden zur Etablierung einer online-fähigen Beurteilung von Fleisch (AiF 16692 N)

Dr. Fredi Schwägele

Max-Rubner-Institut (MRI), Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel, Arbeitsgruppe Analytik, Kulmbach

Dr. Anja Petzet

Dr. Aneka Bauer

Max-Rubner-Institut (MRI), Bundesforschungsinstitut für Ernährung und Lebensmittel, Institut für Sicherheit und Qualität bei Fleisch, Kulmbach

Dr. Heinar Schmidt

Dipl.-Phys. Rico Scheier

Dipl.-LM-Ing. Angelina Octoviani

M.Ed. Alexandra Bauer

Universität Bayreuth, Forschungsstelle für Nahrungsmittelqualität, Kulmbach

Dr. Hubert Diepolder

Dr. Antje Hammon

Susanne Dürr

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), Spezialeinheit Lebensmittelsicherheit, Erlangen

Motivation

Der Begriff „Fleischqualität“ lässt sich als die Summe aller sensorischen, ernährungsphysiologischen, hygienischen, toxikologischen und verarbeitungstechnologischen Eigenschaften des Fleisches definieren (HOFMANN, 1973). Dabei wird deutlich, dass je nach Verwendung bzw. Kundenwunsch das Produkt „Fleisch“ unterschiedliche Qualitätsansprüche erfüllen muss. Der Verbraucher versteht unter guter Fleischqualität beispielsweise ein ansprechendes Aussehen (rote Farbe), zartes und saftiges Fleisch mit typischem Geschmack. Für die fleischverarbeitenden Betriebe rücken dagegen technologische Qualitätsfaktoren wie zum Beispiel das Wasserbindungsvermögen und der pH-Wert in den Vordergrund.

Die Qualität von Schweinefleisch kann stark variieren. Bekannte Qualitätsabweichungen sind PSE- bzw. DFD-Fleisch. PSE-Fleisch (*pale, soft, exudative*) ist gekennzeichnet durch eine blasse Farbe und hohe Tropfsaftverluste, wohingegen DFD-Fleisch (*dark, firm, dry*) eine dunkle Farbe und sehr geringe Tropfsaftverluste

aufweist. Momentan besteht im Produktionsprozess die Möglichkeit, über die invasive Messung des pH-Wertes diese beiden Abweichungen zu ermitteln. Es besteht aber ein akuter Mangel an online-fähigen, nicht-invasiven Diagnosesystemen, die einfach und schnell die Fleischqualität bestimmen können. In Teilprojekt 6 wurden deshalb verschiedene online-fähige Messverfahren mit Hilfe von Referenzanalytik geprüft, um die am besten geeignete Methode zur Beurteilung von Fleischqualität im Zerlegeprozess zu ermitteln.

Musterdatensatz Schinken

Erforderlich war zunächst eine adäquate Probenauswahl, die ein möglichst breites Spektrum an verschiedenen Schlachtkörpern umfasste. Die Proben (n = 181) für den Musterdatensatz „Schinken“ wurden anhand von Schlachtgewicht und Muskelfleischanteil der Schlachtkörper ausgewählt (**Tab. 1**). Davon wurden 7 Schinken als Referenz komplett TP 2 zur Verfügung gestellt und weitere 17 Schinken zur Erfassung der Gewebeanteile Muskulatur, Fett, Bindegewebe und Haut manuell grobgeweblich zerlegt. Diese Ergebnisse dienten als Referenz beziehungsweise zur Überprüfung der mittels Computertomographie bestimmten Gewebeszusammensetzung der Schinken. Durch Röntgen der Schinken wurden Bilddaten erhoben, die für die Optimierung und Referenzierung des Ultraschallsystems in Teilprojekt 2 genutzt wurden, um beispielsweise die Lage des Knochens und der einzelnen Muskeln im Schinken zu ermitteln.

Tab. 1: Übersicht der anhand des Schlachtgewichtes und des Muskelfleischanteils der Schlachtkörper ausgewählten Stichprobe (n = 181)

Schlachtgewicht	Muskelfleischanteil (%)		
	< 55	55-60	> 60
< 95 kg	21	30	33
95-105 kg	15	28	23
> 105 kg	6	13	12

Zur Bestimmung der Fleischqualität standen somit noch 156 Schinken zur Verfügung und es wurden als Offline-Parameter die pH-Werte 45 min (pH_{45}) beziehungsweise 24 h (pH_{24}) *post mortem*, die Farbe des Fleisches ($L^*a^*b^*$ -Werte) und der Tropfsaftverlust (TSV) gemessen. Des Weiteren wurden Scherkräftmessungen (SF) an Fleischproben durchgeführt, um die Zartheit zu charakterisieren. Alle Untersuchungen wurden an der Oberschale (*Musculus*

semimembranosus, SM) durchgeführt. Eine Übersicht der Ergebnisse der offline-Qualitätsparameter ist in **Tab. 2** zusammengestellt.

Tab. 2: Übersicht der untersuchten Qualitätsparameter mit Mittelwert (MW), Standardabweichung (SD) sowie Minimum (Min) und Maximum (Max) (n = 156)

	pH ₄₅	pH ₂₄	L*	TSV[%]	SF[N]
MW	6,3	5,5	49,6	4,2	48,7
SD	0,3	0,2	3,4	2,0	6,9
Min	5,4	5,3	41,0	0,7	35,7
Max	6,8	6,1	57,9	10,7	68,7

Der Musterdatensatz zeigte eine ausreichende Varianz in allen fünf Qualitätsparametern, wie sie zur Etablierung von Korrelationen erforderlich ist und enthielt auch die Extremfälle PSE und DFD, wenngleich in geringer Zahl.

Anhand dieser Parameter zeigte sich schnell, dass der Musterdatensatz „Schinken“ eine feinere Unterteilung der Qualitäten erforderlich machte als nur nach Fleisch normaler Qualität (RFN (*reddish, firm, non-exudative*)) und abweichender Qualitäten PSE und DFD. Um den Datensatz vollständig beschreiben zu können, erwies sich eine Unterteilung in acht Qualitätsgruppen sinnvoll (**Abb. 1**). Diese Qualitätsgruppen ließen sich anhand der Kriterien pH₄₅, pH₂₄, Tropfsaftverlust und L*Wert (Helligkeitswert) unterscheiden. Die Grenzwerte der Qualitätsparameter zur Definition der unterschiedlichen Gruppen wurden verschiedenen Literaturquellen entnommen (BENDALL, 1988; MONIN, 1985; WARNER, 1997). So wurden wegen des Auftretens von normalem Fleisch mit blasser Farbe (L* > 50), sehr niedrigem End-pH-Wert (pH₂₄ < 5,4) beziehungsweise hohem Tropfsaftverlust (> 5 %) die Kategorien PFN (*pale, firm, non-exudative*), AM (*acid meat*) beziehungsweise RSE (*reddish, soft, exudative*) eingeführt. Ferner traten Proben auf, die im Wesentlichen alle PSE- beziehungsweise DFD-Kriterien erfüllten, bis auf die pH-Kriterien pH₄₅ < 5,8 bzw. pH₂₄ > 6,0. Diese Proben wurden als milde Formen PSE- bzw. DFD-Tendenz eingruppiert.

Mit Hilfe dieser Kriterien wurde ein Fließschema entwickelt, um die Schinken der Stichprobe automatisierbar den einzelnen Qualitätsgruppen zuzuordnen (**Abb. 1**).

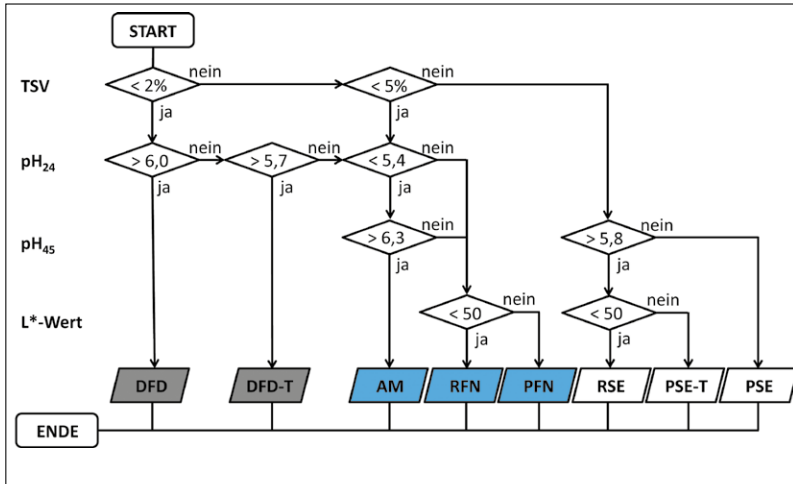


Abb. 1: Fließschema zur Einordnung der Schinken in Qualitätsgruppen anhand der Qualitätsparameter TSV, pH_{24} , pH_{45} und L^* -Wert. Qualitätsgruppen: **DFD** (dark, firm, dry) · **DFD-T** DFD-Tendenz · **AM** (acid meat) · **PFN** (pale, firm, non-exudative) · **RFN** (reddish-pink, firm, non-exudative) · **RSE** (reddish-pink, soft, exudative) · **PSE-T** PSE-Tendenz · **PSE** (pale, soft, exudative).

Eine Übersicht der Verteilung im Musterdatensatz „Schinken“ gibt **Abb. 2**. Es wurden 89 der Schinken (57%) den Gruppen mit normalem Tropfsaftverlust zugeordnet (**Abb. 2**, blau unterlegt). Extremfälle waren erwartungsgemäß selten. Nur 7 der Schinken wurden als PSE und nur 4 als DFD eingruppiert. Jedoch wurden insgesamt 48 Schinken den „wässrigen“ Gruppen PSE-T (17%) und RSE (14%) zugeordnet (weiß unterlegt). Damit zeigten 35% der Stichprobe einen Tropfsaftverlust von über 5%. Der Tropfsaftverlust ist unerwünscht, da er zu einem Wertverlust an Protein und Masse führt und geringes Wasserbindungsvermögen zum Beispiel bei der weiteren Verarbeitung zu Problemen führen kann.

Evaluierung bestehender Methoden und Kalibrierung neuer, online-fähiger Methoden

Die Parameter zur Einteilung in die Qualitätsgruppen beruhen auf Laboranalysen und sind zum Teil sehr zeitaufwendig (TSV-Bestimmung) oder invasiv (pH-Messung mit einer Einstichsonde). Deshalb wurden verschiedene online-fähige Messverfahren wie Farbmessung, VIS-NIR-Spektroskopie und Raman-Spektroskopie getestet.

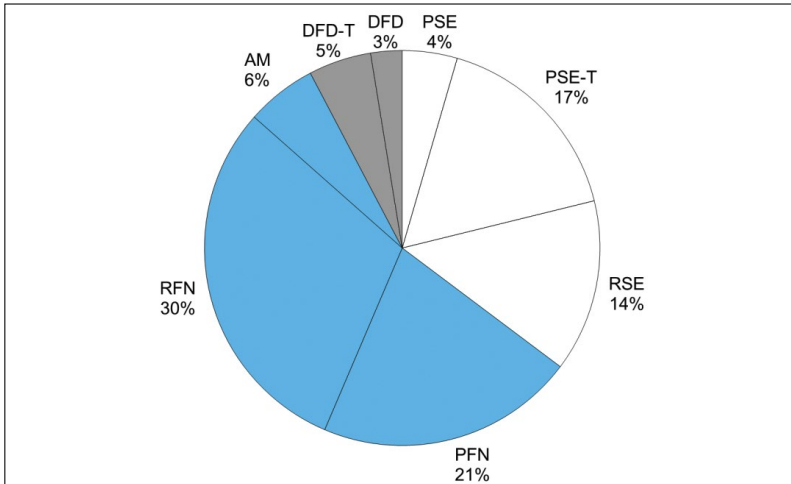


Abb. 2: Verteilung der Schinken ($n = 156$) auf acht Qualitätsgruppen bzw. in die Hauptgruppen „normal“ (blau), „wässrig“ (weiß) und „trocken“ (grau). Bezeichnung der Qualitätsgruppen wie in Abb. 1.

Die Spektroskopiemethode im sichtbaren (VIS) und nahinfraroten (NIR) Bereich wäre generell ein geeignetes Verfahren, das auch schon prozessbegleitend in anderen Bereichen eingesetzt wird. Mit dem vorhandenen Datensatz ergaben sich jedoch am unzerlegten Schinken schlechtere Ergebnisse im Vergleich zur Raman-Spektroskopie. Gründe für die Fehlzuordnungen, die Farbe (VIS) betreffend, lagen in Schwankungen des Hämingehaltes in der Stichprobe sowie in der Inhomogenität der Muskel selbst. Weder aus den $L^*a^*b^*$ -Werten noch aus den VIS-NIR-Reflektanzmessungen konnten an einem frischen Anschnitt des SM am unzerlegten Schinken für eine Sortierung hinreichende Informationen über den zu erwartenden Tropfsaftverlust erhalten werden. Lediglich die Gruppen DFD und DFD-Tendenz wurden von den anderen Gruppen unterschieden. Daher war mittels VIS/NIR keine Sortierung entsprechend der ermittelten Qualitätskriterien möglich. Bessere Ergebnisse wurden mit Raman-Spektroskopie erzielt, weshalb die Untersuchungen im weiteren Versuchsverlauf auf diese Methode konzentriert und das Detektionskonzept von einer Farb- zur Raman-Messung geändert wurde.

Während sich die Arbeiten in Teilprojekt 5 auf den Zeitraum kurz nach der Schlachtung konzentrierten, wurden in Teilprojekt 6 Raman-Spektren am Tag der Zerlegung (24 h *p.m.*) am *M. semimembranosus* des intakten Schinkens aufgenommen.

Die 24 h *p.m.* gemessenen Raman-Spektren korrelierten mit dem pH_{24} mit einem R^2 von 0,92 (**Abb. 3a**). Damit war es möglich, die Qualitätskategorie DFD

und DFD-Tendenz zu erkennen. Weitere Qualitätskategorien sind allein mit dem pH_{24} nicht differenzierbar. Hierzu wird zusätzlich der Tropfsaftverlust benötigt. Mit den Raman-Spektren konnte der TSV im Musterdatensatz „Schinken“ mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,81$ bestimmt werden (siehe **Abb. 3b**).

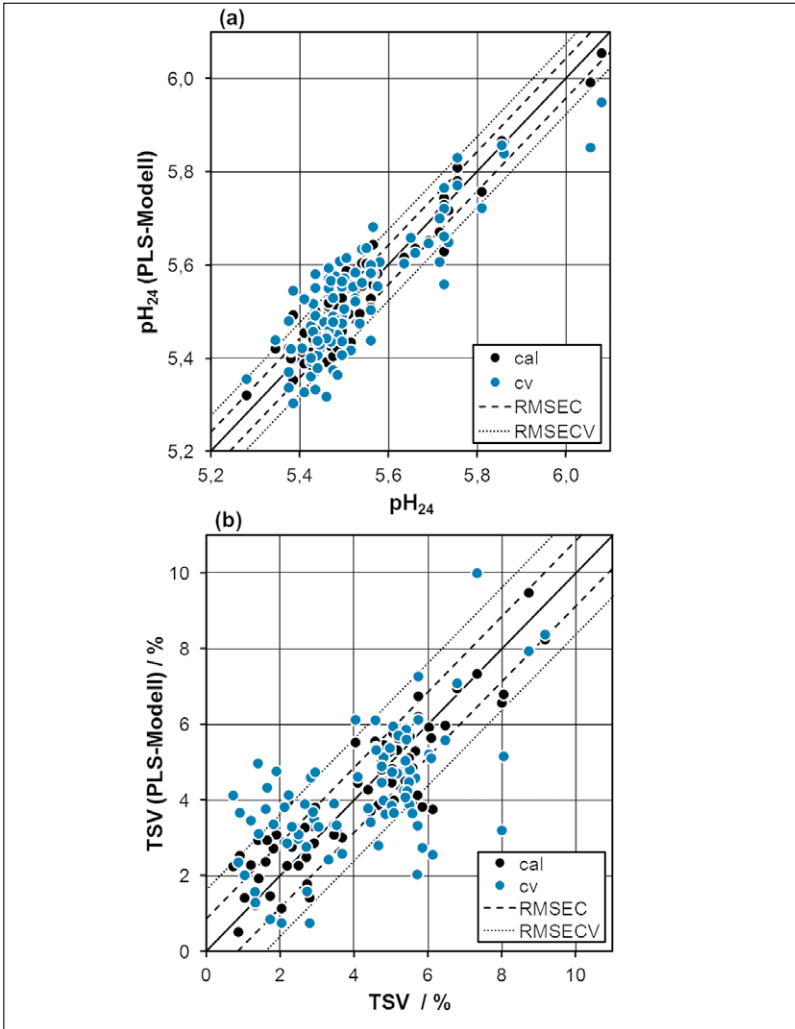


Abb. 3: Aus dem PLS-Modell vorhergesagter pH (a) und TSV (b), aufgetragen gegen die Werte der Referenzanalytik ($n = 96$); cal (calibration), cv (cross-validation), RMSEC/RMSECV (root mean square error of calibration/cross-validation).

Dies ermöglicht die Erkennung von Fleisch mit sehr hohem Tropfsaftverlust. Damit wurden zwei Projektziele, die „pH-Messung“ und die „Vorhersage des Tropfsaftverlustes“ zur Erkennung von Fleischqualität mit Raman-Messungen am Tag der Zerlegung erreicht.

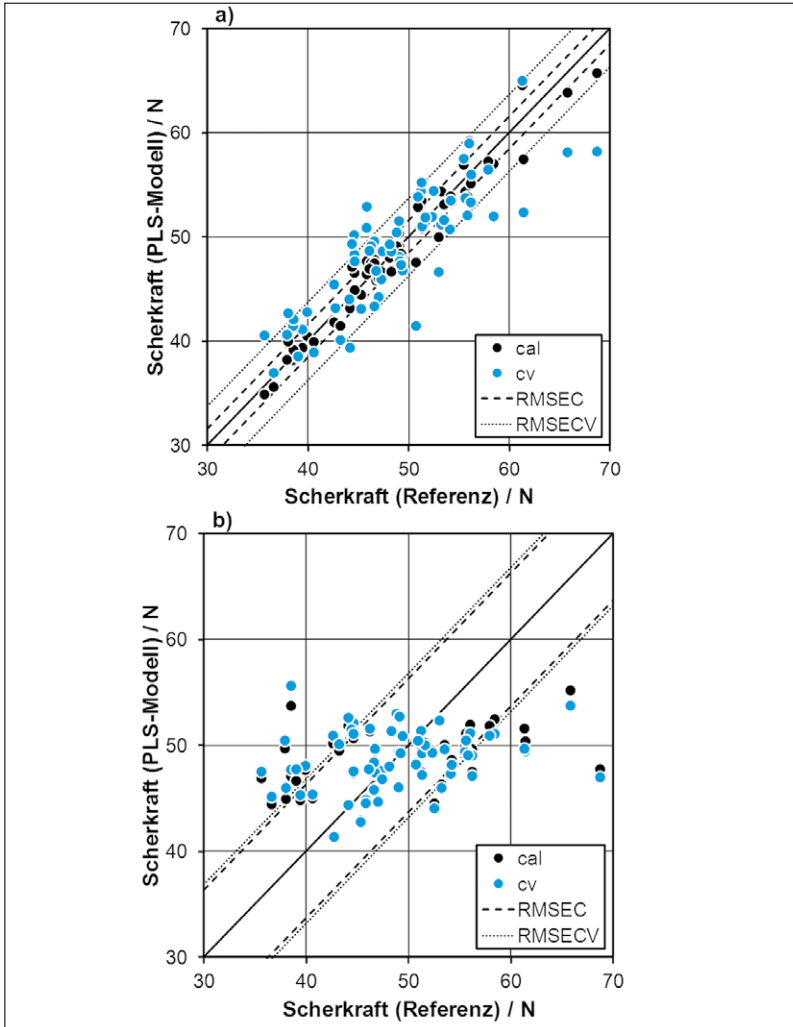


Abb. 4: PLS-Korrelationen zwischen Raman-Spektren, die 1-2 h (a) bzw. 24 h (b) nach der Schlachtung detektiert wurden und Scherkraftwerten, die nach 72 h mit klassischer Referenzanalytik bestimmt wurden ($n = 64$).

Ein für den Verbraucher relevantes Qualitätskriterium ist die Zartheit des Fleisches. Als objektives Maß für die Zartheit wurde die Scherkraft (SF) des *M. semimembranosus* 72 Stunden *p.m.* bestimmt ($n = 64$). Obwohl die Qualitäten DFD und AM tendenziell die größten Scherkraftwerte aufwiesen, war eine Sortierung darüber nicht möglich. Die Raman-Spektren, die 1-2 h nach der Schlachtung am SM gemessen wurden (TP 5), sind mit PLS-Regression (*partial least squares*) mit der Scherkraft SK_{72} korreliert worden (**Abb. 4a**). Das berechnete Modell erreichte ein Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,95$ für die Kalibrierung und $R^2_{cv} = 0,70$ für die Kreuzvalidierung. Diese guten Ergebnisse konnten nicht mit den Raman-Spektren nach 24 h wiederholt werden (**Abb. 4b**). Hier ergibt sich eine deutlich geringere Korrelation mit einem Bestimmtheitsmaß für die Kalibrierung von $R^2 = 0,17$ und für die Validierung von $R^2 = 0,05$. Der Grund hierfür ist, dass die Spektren nach 24 h keine zur Vorhersage der Scherkraft nutzbaren Stoffwechselunterschiede mehr enthalten.

Entwicklung eines Funktionsmusters zur nicht-invasiven Bestimmung des pH-Wertes und der Vorhersage des Tropfsaftverlustes



Die Ergebnisse aus TP 5 und TP 6 haben gezeigt, dass durch Raman-Messungen die besten Vorhersagen in einem Zeitfenster von 45 bis 120 min *p.m.* zu erwarten sind. In diesem frühen Zeitfenster können die Parameter pH_{45} , pH_{24} , Farbe, Tropfsaftverlust (nach 72 h) und Scherkraft nach 72 h gemessen beziehungsweise vorhergesagt werden, so dass eine frühzeitige Sortierung erfolgen kann. Die Überprüfung der Fleischqualität im Wareneingang ist darüber hinaus aus ökonomischer Sicht für Zerlegebetriebe von Bedeutung. Das Funktionsmuster sollte daher beide Messszenarien abdecken.

Abb. 5: Funktionsdemonstrator (Zentraleinheit und Messkopf) des Raman-Systems auf einem fahrbaren Untergestell.

Für Feldmessungen im Schlachthof beziehungsweise Zerlegebetrieb wurde ein Funktionsdemonstrator, basierend auf der Raman-Spektroskopie, entwickelt (**Abb. 5**). Dieser wurde aus Mobilitätsgründen auf ein fahrbares Untergestell montiert. Der Funktionsdemonstrator besteht aus einem Messkopf, welcher zur Ansteuerung und Datenerfassung über ein Glasfaserkabel und elektrische Leitungen mit einer Zentraleinheit verbunden wird, sowie einer Zentraleinheit, die hygienegerecht mit einem Edelstahlgehäuse konzipiert wurde. Sie enthält das Spektrometer und einen Panel-PC, der über einen Touchscreen bedient werden kann.

Feldtest im Zerlegebetrieb

Der Funktionsdemonstrator wurde in einem Zerlegebetrieb in einem Feldtest erprobt. Die Stichprobe umfasste insgesamt 150 Schinken, wovon 50 Schinken ein Alter von 2 Tagen *p.m.* und 100 Schinken von 4 Tagen *p.m.* hatten. Die Messungen der Raman-Spektren erfolgten mit dem Funktionsdemonstrator am *M. semimembranosus* nach Zerlegung der Schinken und parallel dazu die Erfassung der Referenzwerte (End-pH-Wert pH_u (2 bzw. 4 d *p.m.*), TSV und L^* -Werte). Die Verteilung von pH_u , TSV und L^* sind in **Abb. 6** dargestellt.

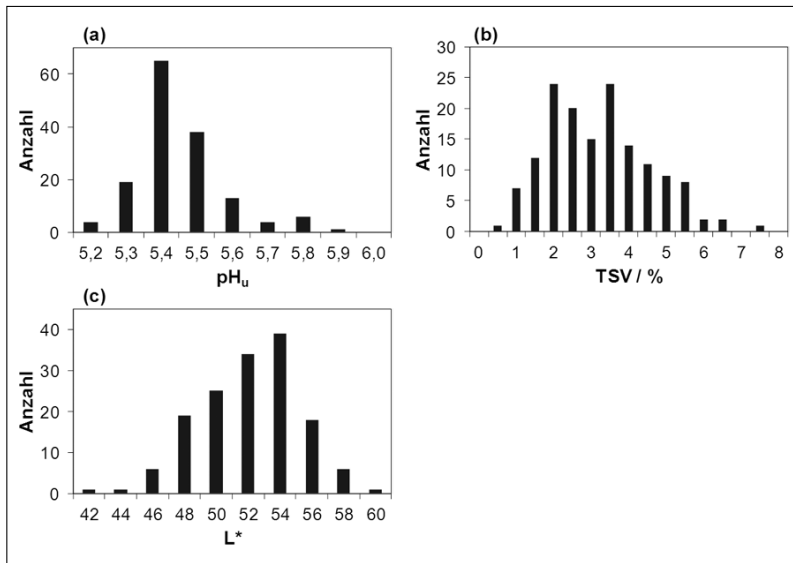


Abb. 6: Verteilung der Referenzwerte pH_u (a), TSV (b) und L^* (c) ($n = 150$).

In der Stichprobe waren kaum abweichende Qualitäten vorhanden. Insgesamt wurden nur 11 Proben mit DFD-Tendenz gefunden (Sortierkriterium pH_u zwischen 5,7 und 6,0 und Tropfsaftverlust $< 2\%$). Bei keiner Probe lag der pH_u über 5,9 (**Abb. 6a**) und somit kam in der untersuchten Stichprobe keine DFD-Vollausprägung vor. Fünf Proben wiesen einen größeren Tropfsaftverlust als 6% auf und wurden in die Gruppe PSE-Tendenz eingeteilt. PSE-Vollausprägung und somit ein Tropfsaftverlust zwischen 8 und 10% war nicht vorhanden (**Abb. 6b**). Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, dass der Tropfsaftverlust bis zum zweiten/vierten Tag nach der Schlachtung nicht erfasst und dieser daher unterschätzt wurde. Ebenso fehlte der pH_{45} zur eindeutigen Identifikation.

Die Raman-Messungen wurden mit einer Integrationszeit von 4x5 Sekunden durchgeführt. Gemessen wurden an jeweils zehn verschiedenen Stellen des *M. semimembranosus*. Anschließend wurde geprüft, ob aus den gemittelten Raman-Spektren mit PLS-Regression pH_u und Tropfsaft vorhersagbar sind. Die Korrelationen mit dem pH_u erzielten gute Ergebnisse (**Tab. 4**), wobei sogar die Proben mit DFD-Tendenz erkannt wurden. Beim End-pH-Wert spielt dabei das Alter der Proben eine geringe Rolle, da sich dieser pH-Wert in den ersten vier Tagen nicht wesentlich ändert. Dagegen wird der gemessene Tropfsaftverlust durch das unterschiedliche Alter der Proben und durch den bei der Zerlegung erlittenen Saftverlust verfälscht. Die Korrelationen sind entsprechend schwächer als im Musterdatensatz.

Tab. 4: Kenngrößen der PLS-Korrelationen basierend auf 150 Oberschalen mit dem End-pH-Wert (pH_u) und Tropfsaftverlust (TSV)

	RMSEC	RMSECV	R ²	R ² _{CV}	LV
pH _u	0,05	0,07	0,83	0,67	10
TSV	0,89	1,14	0,58	0,36	8

Modellkontamination

Für die Überprüfung des Reinigungs- und Desinfektionserfolges der in Teilprojekt 2 entwickelten Zerlegebox beziehungsweise für die UV-Keimdetektion (Teilprojekt 4) auf dem zu zerlegenden Ausgangsmaterial ist es unrealistisch, alle relevanten pathogenen Keime und Verderbniserreger bestimmen zu wollen. Um das Ausmaß der Gefährdung dennoch abschätzen zu können, wurde eine Gruppe von Modellkeimen festgelegt, die als apathogen beziehungsweise gering fakultativ pathogen einzustufen sind. Diese sollten hinsichtlich der Resistenz bei der Desinfektion, der jeweils erforderlichen Wachstumsbedingungen, des Keimreservoirs und der Übertragungseigenschaften stellvertretend für alle

pathogenen Keime und Verderbniserreger stehen. Für die Modellkontamination wurden Keime der Gruppen Salmonellen, *Enterobacteriaceae* und koagulase-positive Staphylokokken sowie *Campylobacter jejuni/coli*, *Pseudomonas spec.* und *Listeria monocytogenes* festgelegt.

Proben des *M. semimembranosus* wurden zur bakteriellen Untersuchung an das Deutsche Institut für Lebensmitteltechnik e.V. (DIL) in Quakenbrück weitergeleitet und dort hinsichtlich der ausgewählten Keime untersucht. Das Untersuchungsergebnis und Warnwerte der DGHM (Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie) sind in **Tab. 5** aufgeführt. Werden diese Warnwerte erreicht, wird eine erste Warnung ausgesprochen. Es besteht aber bei weitem noch keine Gefährdung für den Verbraucher. Die in der vorhandenen Stichprobe nachgewiesenen Keimzahlen der koagulase-positiven Staphylokokken, der *Enterobacteriaceae* und der *Pseudomonas* sowie die ermittelte Gesamtkeimzahl liegen deutlich unter dieser ersten Warngrenze. Keime der Gruppen *Campylobacter jejuni/coli*, *Listeria monocytogenes* und Salmonellen wurden nicht auf den Fleischproben nachgewiesen (**Tab.5:** n.n.). Diese Ergebnisse finden bei der Erarbeitung des HACCP-Konzeptes (siehe unten) Berücksichtigung.

Tab. 5: Keimbelastung von 75 untersuchten Schinken des MDS und DGHM-Warnwerte (Mai 2011)

Parameter	Keimzahlen KBE/g	Warnwerte KBE/g
aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	Ø 1,6 x 10 ³	5 x 10 ⁶
<i>Campylobacter jejuni/coli/lari</i>	n.n. in 10 g	n.n. in 25 g
<i>Salmonella spp.</i>	n.n in 25 g	n.n. in 25 g
<i>Listeria monocytogenes</i>	< 1,0 x 10 ¹	1 x 10 ²
Koagulase-positive Staphylokokken	Ø 4,8 x 10 ²	5 x 10 ³
<i>Enterobacteriaceae</i>	< 1,0 x 10 ²	1 x 10 ⁵
<i>Pseudomonas spec.</i>	Ø 5,9 x 10 ²	1 x 10 ⁶

HACCP-System

HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Points*) ist definiert als „ein System, welches Gefahren, die für die Lebensmittelsicherheit wesentlich sind, identifiziert, bewertet und beherrscht“ (Codex Alimentarius). Entsprechend der Lebensmittelhygieneverordnung (VO (EG) Nr. 852/2004) haben Lebensmittelproduzenten ein oder mehrere ständige Verfahren, die auf den HACCP-Grundsätzen

(Gefahrenanalyse, Festlegung kritischer Kontrollpunkte, Grenzwerte, Überwachungsverfahren und Korrekturmaßnahmen, Dokumentation und Verifizierung des Systems) beruhen, einzurichten, durchzuführen und aufrechtzuerhalten. Basierend auf diesen Grundsätzen wurde das HACCP-System für den Prozess der automatisierten Zerlegung von Schinken ermittelt.

Für die Gefahrenanalyse erfolgte eine Prozessbeschreibung, anhand derer der automatisierte Zerlegeprozess einer Risikoanalyse zur Ermittlung potentieller Gefahren unterzogen wurde. Mithilfe dieser wurde schließlich das Risikopotenzial einer möglichen Gefahr produkt- und prozessspezifisch bewertet (Risikobeurteilung). Im Ergebnis der Gefahrenanalyse (nachfolgend stark vereinfacht dargestellt) wurden chemische, physikalische und biologische Gefahren identifiziert.

Bei den chemischen Gefahren (Schmierstoffe, Reinigungs- und Desinfektionsmittelrückstände) wurde unter Beachtung der allgemeinen Sorgfaltspflicht die Gesundheitsgefahr als gering eingestuft. Dies gilt ebenso für Rückstände und Kontaminanten, zum Beispiel verbotene Masthilfsmittel, Arzneimittelrückstände, Schwermetalle, da diese Gefahren in der Regel nur durch Vorbelastung des Ausgangsmaterials determiniert sind.

Bezüglich der physikalischen Gefahren (zum Beispiel Kunststoffteile der Maschinenabdeckung, Knochen- oder Holzsplitter) wurde unter Beachtung einer „Guten Verfahrenspraxis“ die Gesundheitsgefahr als gering bis mäßig eingestuft. Eine Ausnahme hiervon ist jedoch die Gefahr eines Fremdkörpereintrages durch Metallteile, wie beispielsweise Maschinenantrieb oder -splitter oder abgebrochene Messer. Die Gesundheitsgefährdung wurde hier als sehr hoch bestimmt.

Das bezüglich der biologischen Gefahren (Schädlinge, Parasiten, mikrobielle Kontaminationen mit Verderbserregern, sichtbare Abszesse) bestehende Risiko wird hinsichtlich des Ausgangsmaterials durch die Einhaltung einer „Guten Verfahrenspraxis“ gering gehalten. Hingegen wird das Risiko einer Gesundheitsgefährdung durch eine Kontamination des Ausgangsmaterials mit pathogenen Erregern als hoch eingestuft, da das Vorkommen dieser auch bei Durchführung einer angemessenen Wareneingangskontrolle nicht sicher ausgeschlossen werden kann. Die Gefahr einer mikrobiellen Kontamination des Fleisches (Verderbserregern beziehungsweise Pathogene) während des automatisierten Zerlegeprozesses ist bei strikter Einhaltung der Arbeits- und Anlagenhygiene sowie der Kühlkette (Waren-/Raumtemperatur) als gering einzustufen. Dahingegen ist das Risiko einer Gefahr der Kontamination des Fleisches durch Eröffnung tiefliegender, oberflächlich nicht sichtbarer Abszesse während der automatisierten Zerlegung als hoch einzustufen. In der manuellen Zerlegung werden diese während des Zerlevorganges vom Personal erkannt und das kontaminierte Fleisch ausgeschleust.

In Bezug auf die Festlegung von Kontrollpunkten (KP) wurden die bisher in der Literatur für die herkömmliche Feinzerlegung genannten Punkte für die automatisierte Zerlegung als unzureichend angesehen. Vielmehr wurde anhand der

Ergebnisse der Gefahrenanalyse die Einschätzung vorgenommen, an den neu entwickelten Prozesssensoren (Raman zur Einschätzung der Fleischqualität und Autofluoreszenz zur Erfassung der mikrobiellen Kontamination) weitere Kontrollpunkte zu installieren, um eine „Gute Hygienepraxis“ optimal gewährleisten zu können.

Als kritischer Kontrollpunkt (CCP) im automatisierten Zerlegeprozess wurde im Gegensatz zur manuellen Zerlegung die „Online-Abszessererkennung“ definiert, da sich aufgrund des neu entwickelten Prozesssensors („Scannen mittels Ultraschall“) ein wirksames Verfahren zur Überwachung und ein Grenzwert (definierte Messparameter, Abszessgröße) festlegen lassen. Einen optionalen CCP stellt der Einsatz eines Metalldetektors dar. Dieser ist im derzeitigen Maschinenkonzept (TP 3) jedoch nicht vorgesehen.

Zur Kontrolle der CCP dienen Grenzwerte, welche produkt- oder prozessspezifische, messbare Parameter sind (SCHMIDT, 2006). Als Grenzwert für den CCP „Abszessererkennung“ wurden im hiesigen Konzept die minimalen Detektionsgrenzen des Scanners aus TP 2 festgelegt. Das entsprechende Überwachungsverfahren (Echtzeit-Abszessererkennung mittels ultraschallbasierten Scanverfahrens) gewährleistet, dass die Informationen eines solchen Online-Verfahrens idealerweise rechtzeitig zur Verfügung stehen, um Korrekturmaßnahmen im Sinne einer steten Prozessbeherrschung ergreifen zu können.

Als Korrekturmaßnahme im Falle einer Grenzwertüberschreitung des CCP „Abszessererkennung“ wird seitens dieses Teilprojektes ein Ausschleusen des Schinkens und eine Überprüfung und Bestimmung der weiteren Vorgehensweise durch den Produktionsleiter vorgesehen. Hierfür wird ein Alarmsystem auf optischer und akustischer Basis vorgeschlagen, das durch eine Aussonderungsautomatik zu ergänzen ist.

Zum Nachweis der Implementierung eines Verfahrens auf HACCP-Grundlage wurde ein schriftliches Dokumentationssystem erarbeitet, in dem sämtliche erstellten, das HACCP-System betreffende Vorgabedokumente (Produktbeschreibung, Fließdiagramm, Gefahrenanalyse mit Entscheidungs-Matrix, CCP-Prüfplan, Korrekturmaßnahmen) als Mustervorlagen für ein HACCP-Konzept zusammengefasst wurden. Unter Berücksichtigung der Online-Fähigkeit des automatisierten Prozesses ist als Optimierung jedoch ein EDV-basiertes Dokumentationssystem anzustreben.

Die Verifizierung der HACCP-Konzeption ist notwendig, um festzustellen, ob das System an sich, dessen Durchführung und die Wirksamkeit auf dem aktuellen Stand sind und ob alle relevanten Gefahren identifiziert sowie die festgelegten Verfahren eingehalten werden. Hierfür wurden Formblätter erarbeitet, anhand derer die Funktionsfähigkeit dieses Systems regelmäßig überprüft und dokumentiert werden kann.

Neben den rechtlichen Anforderungen zur Gewährleistung der Lebensmittelsicherheit obliegt den Lebensmittelproduzenten die Qualitätssicherung. Um das Erreichen einer festgelegten Qualität gewährleisten zu können, ist eine „Gute Hygienepraxis/Verfahrenspraxis“ (GHP) Grundvoraussetzung für den gewerblichen Verkehr mit Lebensmitteln (KÜHNE, 2001). Hierfür wurden für folgende Punkte an die automatisierte Feinzerlegung angepasste Prüfschemata (Dokumentationshilfen) konzeptioniert: Rohstoffe und Packmaterialien, einschließlich Anlieferung und Lagerung; bauliche Voraussetzungen von Produktionsräumen und -anlagen sowie von Verpackungs- und Konfektionierungsräumen; Lagerhaltung und Versand; Abfallbehandlung und -entsorgung; Produktions- und Betriebshygiene und Personalhygiene einschließlich Schulung.

Zusammenfassung

Die Qualität von Schweinefleisch kann stark variieren. Die bekanntesten Qualitätsabweichungen sind PSE-Fleisch (Fleisch heller Farbe mit hohem Tropfsaftverlust) und DFD-Fleisch (Fleisch dunkler Farbe mit sehr geringem Tropfsaftverlust). Es gibt zurzeit keine Methoden, die die Fleischqualität zum einen online während des Produktionsprozesses und zum anderen nicht invasiv bestimmen können. Ziel dieses Teilprojektes des Clusters „Minimal Processing“ war es, die Online-Tauglichkeit bestehender und neuer Diagnoseverfahren zur Bestimmung der Fleischqualitätsmerkmale im Hinblick auf eine weitere Automatisierung der Prozesskette zu evaluieren.

Dafür wurde zunächst ein Musterdatensatz „Schinken“ erstellt. Es wurden insgesamt 181 Schinken anhand des Schlachtgewichts und des Muskelfleischanteils des Schlachtkörpers ausgewählt. Diese standen dann anteilig für die Bestimmung der grobgeweblichen Zusammensetzung ($n = 17$) und für die Messung der Qualitätsparameter mit den Referenzmethoden ($n = 156$) sowie für die Aufnahme der Spektren (VIS/NIR und Raman als online-fähige Messmethoden) zur Verfügung.

Die in der Stichprobe des Musterdatensatzes auftretenden Qualitäten wurden in insgesamt acht verschiedene Gruppen eingeteilt. Diese feinere Aufteilung ermöglichte es, den gesamten Datensatz zu beschreiben und zeigte weiter, dass eine Unterscheidung nur nach PSE, DFD und Fleisch normaler Qualität bei weitem nicht alle auftretenden Qualitäten zu charakterisieren in der Lage ist. Für die Eingruppierung wurde ein Fließschema entwickelt, das anhand der Offline-Referenzwerte pH_{45} (pH-Wert nach 45 min *p.m.*), pH_{24} (pH-Wert nach 24 h *p.m.*), L^* -Wert (Helligkeit des Fleisches) und Tropfsaftverlust alle Proben automatisch in die Qualitätsgruppen sortiert.

VIS-NIR-Reflektanzmessungen, die ursprünglich zu Sortierung genutzt werden sollten, erwiesen sich beim Teilstück Schinken und bei Messung an der Oberseite vor der Zerlegung als so variabel, dass eine Sortierung basierend auf

diesen Daten nicht möglich war. Da die Raman-Daten im Vergleich dazu deutlich bessere Korrelationen lieferten, wurden die Untersuchungen im Verlauf des Projektes darauf konzentriert. Anhand der vor der Zerlegung (24 h *p.m.*) aufgenommenen Raman-Spektren konnten der pH-Wert und der Tropfsaftverlust bestimmt werden. Dies erlaubte eine schnelle, nicht-invasive Einteilung der Proben in die Fleischqualitätsgruppen mit extremen Abweichungen (PSE und DFD).

Zur automatischen Bestimmung von Fleischqualität in der Praxis wurde in einem zweiten Schritt ein Funktionsmuster eines Multiparameter-Testsensors entworfen. Dieses besteht aus einem hygienegerechten Edelstahlgehäuse, welches das Raman-Spektrometer und den Steuerungscomputer enthält. Dieser Multiparameter-Testsensor wurde bereits erfolgreich in einem Zerlegebetrieb getestet. Der Feldversuch umfasste 150 Schinken, an deren Oberschalen Messungen des pH-Wertes, der Farbe ($L^*a^*b^*$), des Tropfsaftverlustes (TSV), der Zartheit (Scherkraft = SF) und der Raman-Spektren durchgeführt wurden. Anhand der Korrelation der Referenzwerte mit den Raman-Messungen konnten Proben mit PSE- und DFD-Tendenz erfasst werden.

Parallel zu den Untersuchungen zur Fleischqualität wurde ein Hygiene- und Kontroll-Konzept (HACCP-Konzept) für den Gesamtablauf der Zerlegung im Minimal Processing erstellt. Für dieses HACCP-Konzept wurden Schlüsselstellen (mögliche Gefahrenstellen und Kontrollstellen) in automatisierten Prozess der Schinkenzerlegung ermittelt. Weiter wurden Grenzwerte für diese Schlüsselstellen bestimmt, die überwacht werden und bei Überschreiten Korrekturmaßnahmen einleiten sollen. Der gesamte Vorgang soll regelmäßig verifiziert werden und unterliegt einer ständigen Aufzeichnung und Dokumentation.

Literatur

- [1] Barbin, D.F.; ElMasry, G.; Sun, D.W.; Allen, P. (2012): Predicting quality and sensory attributes of pork using near-infrared hyperspectral imaging. *Analytica Chimica Acta*, 719: 30-42.
- [2] Bendall, J.R.; Swatland H.J. (1988): A review of the relationships of pH with physical aspects of pork quality, *Meat Science* 24: 85-126.
- [3] Čandek-Potokar, M.; Prevolnik, M.; Škrlep, M. (2006): Ability of near infrared spectroscopy to predict pork technological traits. *Near Infrared Spectroscopy* 14: 269-277.
- [4] Codex Alimentarius (2003): (Alinorm 03/13A - Appendix II) Report of the Thirty-Fifth Session of Codex Committee on Food Hygiene CAC - Codex Alimentarius Commission, Rom, Revision 4, Juni 2003.
- [5] Damez, J.L.; Clerjon, S.; (2008): Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Science* 80: 132-149.

- [6] Gesink, G.H.; Schreutelkamp, F.H.; Frankhuizen, R.; Vedder, H.W.; Faber, N.M.; Kranen, R.W.; Gerritzen, M.A. (2003): Prediction of pork quality attributes from near infrared reflectance spectra. *Meat Science* 65: 661-668.
- [7] Hoffman, K. (1973): Was ist Fleischqualität? *Fleischwirtschaft* 53: 485.
- [8] Kühne, M. (2001): Einführung in das Lebensmittelrecht – für Studierende der Veterinärmedizin. Behr's Verlag, Hamburg, 1. Auflage.
- [9] Monin, G.; Sellier, P. (1985): Pork of Low Technological Quality with a Normal Rate of Muscle pH Fall in the Immediate Post-Mortem Period: The Case of the Hampshire Breed. *Meat Science* 13: 49-63.
- [10] Prevolnik, M.; Čandek-Potokar, M.; Škorjanc, D. (2004): Ability of NIR spectroscopy to predict meat chemical composition and quality – a review. *Czech Journal of Animal Science* 49: 500-510.
- [11] Qiao, J.; Wang, N.; Ngadi, M.O.; Gunenc, A.; Monroy, M.; Gariépy, C.; Prasher, S.O. (2006): Prediction of drip-loss, pH, and color for pork using a hyperspectral imaging technique. *Meat Science* 76: 1-8.
- [12] Savenije, B.; Geesink, G.H.; van der Palen, J.G.P.; Hemke, G. (2006): Prediction of pork quality using visible/near-infrared reflectance spectroscopy. *Meat Science* 73: 181-184.
- [13] Schmidt, A. (2006): Vergleichende Darstellung unterschiedlicher Qualitätsmanagementsysteme in der Fleischwirtschaft unter besonderer Berücksichtigung der Effizienz und Praktikabilität, Dissertation, Ludwig-Maximilian-Universität, München.
- [14] Warner, R.D.; Kauffman, R.G.; Greaser, M.L. (1997): Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. *Meat Science* 45: 339-352.
- [15] Xinga, J.; Ngadia, M.; Gunenca, A.; Prashera, S.; Gariépy, C. (2007): Use of visible spectroscopy for quality classification of intact pork meat. *Journal of Food Engineering* 82: 135-141.

Im Rahmen des DFG/AiF-Clusters „Minimal Processing in automatisierten Prozessketten der Fleischverarbeitung“ wurde das Teilprojekt 6 des Forschungskreises der Ernährungsindustrie e.V. (FEI) über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Summary Sub-Project 6

Development of analytical methods for online assessment of meat quality

The quality of pork is extremely variable. The most common deviations of meat quality are PSE- and DFD-meat. PSE is characterized by pale colour, soft and exudative meat going along with a rather low pH value 45 min *p.m.* and high drip loss. On the other hand, DFD- meat shows dark colour with a high pH value 24 h *p.m.* and less drip loss. Presently, there is no method available to determine differences in meat quality online and non-invasive during the production process. Therefore, the objective of this project of the Cluster "Minimal Processing" was to evaluate common and new methods for meat quality determination with regard to an increasingly automatized production process.

The first step was to generate a model data set "ham" comprising in total 181 hams which were selected according to slaughter weight and lean meat content of the carcass. These hams were used partly for the manual tissue dissection ($n = 17$), for the determination of reference quality parameters ($n = 156$) and for the collection of spectral data (VIS/NIR and Raman).

The resulting meat qualities in the model data set were assigned to eight different quality groups. This detailed differentiation provided a complete description of the data set. Furthermore it showed that a differentiation between PSE, DFD and normal quality meat was not sufficient to describe the occurring qualities. A flow chart was developed for the assignment of hams into the quality groups by means of offline reference parameters. According to pH_{45} (pH value 45 min *p.m.*), pH_{24} (pH value 24 h *p.m.*), L^* value (lightness of the meat) and drip loss all samples could be assigned to the eight quality groups.

VIS-NIR spectroscopy was planned for online measurement and thus sorting of hams. However, in this study, the results obtained with this method were too variable for sorting. On the other hand, results of the Raman measurement were promising and thus, further analyses were focussed on this method. With Raman spectra taken 24 h *p.m.*, it was possible to determine pH-value and drip loss. This allowed for a fast and non-invasive assignment of hams in the quality groups with extreme deviations (PSE and DFD).

As a second step, a multiparameter sensor was developed for an automated determination of meat quality under practical conditions. This test sensor comprised the Raman spectrometer and a controlling computer in a stainless steel box which was according to the hygienic requirements. This sensor was successfully tested in a production plant. In the study 150 hams were used. Measurements (pH-value, colour ($L^*a^*b^*$), drip loss, shear force and Raman spectra) were taken at the *semimembranosus* muscle. By means of this data (correlation

between reference values and spectral data), the quality groups slightly PSE and slightly DFD could be determined.

Parallel to the analysis of meat quality, a hygiene and control concept (HACCP) for the whole dissection process was developed. For this concept, potential risky steps and control points were determined. Further, critical values and limits for these control points were defined which have to be monitored and documented. In case of excess of these limits, adjustment measures should be initiated. The whole dissection process and the control points should be verified regularly and should underlie a permanent documentation.

Ziele und Ergebnisse des Clusterprojektes (Zusammenfassung)

Hintergrund

Prozessketten in der Lebensmittelproduktion befinden sich zunehmend im Spannungsfeld zwischen Kundenakzeptanz, Produktqualität, Automatisierungsgrad, Betriebsökonomie und Prozessökologie. Ungeachtet dessen fehlten bisher ganzheitliche Ansätze zu einem generalisierten Minimal Processing. Es handelt sich hierbei nicht nur um eine schonende Behandlung des Produkts mit dem Ziel der Vermeidung unerwünschter Prozesseinwirkungen sowie hoher Naturbelassenheit und ernährungsphysiologischer Wertigkeit. Vielmehr umfasst das Minimal Processing im Rahmen dieses Clusterprojektes auch eine generelle Betrachtung aller relevanten Produkt-, Betriebsmittel-, Energie- und Informationsströme, um den Einsatz von betrieblichen Ressourcen sowie die Belastung der Umwelt unter strikter Wahrung von Lebensmittelsicherheit und Wirtschaftlichkeit zu minimieren.

Die konsequente Umsetzung des in diesem Cluster verfolgten Minimal Processing erforderte demgemäß eine automatisierte Produktionslogistik, welche ganzheitlich

- eine physikalische, biochemische und mikrobiologische Produkt- und Prozessbeobachtung realisiert,
- auf der Grundlage von hieraus abzuleitenden Prozessdiagnosen und -prognosen die Ströme an Materie, Energie und biologischer Aktivität einstellt und
- den effizienten, produktadaptiven Einsatz von Verarbeitungsprozeduren und -werkzeugen unter besonderer Berücksichtigung der maximalen Nutzung von wertgebenden Bestandteilen bei optimalem Hygienestatus ermöglicht.

Studien zum ganzheitlichen Minimal Processing in automatisierten Prozessketten der Lebensmittelverarbeitung fehlten bisher völlig. Dies hat die Akteure dieses Clusterprojektes dazu motiviert, dessen Realisierbarkeit anhand der Fleischzerlegung zu überprüfen. Dabei entspricht die automatisierte Grobzerlegung von Fleisch dem Stand der Technik. Im Unterschied hierzu erfolgt die Feinerlegung von Schweinefleisch zur Herstellung von Schinken mangels Automatisierungsmöglichkeiten derzeit hauptsächlich noch in manueller Form. Das betrifft insbesondere das Auslösen von qualitativ hochwertigen Fleischteilen vom Knochen. Als Maxime gilt aus wirtschaftlicher Sicht die weitgehende Gewinnung aller wertvollen Bestandteile unter möglichst geringen Verlusten bzw. Verunreinigungen, beispielsweise durch Knochensplitter. Darüber hinaus trägt jeder Lebensmittelproduzent hinsichtlich rechtlicher Anforderungen die Verantwortung für die Sicherheit und Qualität der Lebensmittel (Art. 17 Abs.1 EG-Basisverord-

nung (VO (EG) Nr. 178/2002), VO (EG) Nr. 852/2004) und hat gemäß Produkthaftungsgesetz die Haftung für fehlerhafte Produkte zu übernehmen.

In der manuellen Feinzerlegung nehmen die Produktionsfaktoren Arbeit und Humanwissen eine Schlüsselrolle ein: Die Mitarbeiter zerteilen die Fleischstücke, beurteilen zugleich die Qualität, sortieren die Stücke anhand dieser Beurteilung und legen die weitere Verwendung fest. Dabei geschieht auch eine visuelle Prüfung der Stücke bezüglich unerwünschter Gewebeveränderungen, z.B. durch Abszesse, und anderer Qualitätsfehler. Diese körperlich anstrengende Tätigkeit erweist sich auf der einen Seite als monoton, da immer identische Arbeitsschritte anfallen, auf der anderen Seite erfordert die Variabilität der Einzelstücke eine jeweils individuelle Auswahl der optimalen Schnittführung. Erschwerend kommt hinzu, dass die Arbeitstemperatur aus hygienischen Gründen bei sehr niedrigen Werten, in der Regel unter 12°C, liegt. Die im Kernleitsatz der Automatisierung stehende körperliche Entlastung des Menschen liefert eine weitere Motivation für die Forschungsarbeit in diesem Cluster.

Der derzeit geringe Automatisierungsgrad in Praxisbetrieben begründet sich nicht zuletzt in der physiko-chemischen Komplexität des Fleisches, welche zugleich die Informationsgewinnung durch Beobachtung von Produkt und Prozess deutlich erschwert. So führen mögliche Fehler bei der manuellen Fleischzerlegung und der Einstufung in unterschiedliche Qualitätsstufen zu einer Verschwendung von Ressourcen, und zwar bezüglich Personal, Betriebs- und Hilfsmitteln, Lager- und Produktionsräumen sowie Energie. Zusätzlich zu diesen offensichtlichen Optimierungspotentialen in der Wertschöpfung und Ertragssteigerung liegen weitere in der Minimierung notwendiger Reinigungszyklen. Nicht zuletzt minimiert die Verwendung adäquater Fleischqualität den Zeitbedarf für die Verarbeitung, welche sich zugleich auf die Produktfrische und somit auf die Kundenakzeptanz auswirkt.

Die genannten Fakten zeigen deutlich auf, dass die in diesem Cluster thematisierte Umsetzung eines generalisierten Minimal Processings in den Prozessketten der Fleischverarbeitung die Berücksichtigung aller Schlüsselemente des Material-, Energie- und Informationsflusses erfordert. Minimal Processing bedeutet des Weiteren, die biologische Aktivität des Fleisches als Maß für dessen Frische maximal und diejenige der unerwünschten Mikroorganismen minimal zu halten.

Dabei bedarf diese Umsetzung zunächst zwingend einer Anlage hinreichend hohen Automatisierungsgrads. Die zuvor angeführten Randbedingungen lassen allerdings auch die überaus hohen Herausforderungen für eine solche innovative Lösung erkennen. Die Detektion der hohen strukturellen Streuungen in den lokalen Verteilungen biologischer Materialien (wie Fleischgewebe und Knochen) und von Qualitätsmängeln (zum Beispiel Gewebeveränderungen und Blutgerinnsel) muss präzise und zuverlässig geschehen. Daraufhin einzuleitende Ausschleusungsprozesse von qualitativ minderwertigen Teilen haben automatisch und mit möglichst geringem Energieeinsatz zu erfolgen. Natürlich muss auch

eine garantierte Funktionalität der Automatisierung auch bei den angewandten tiefen Temperaturen vorliegen. Die Gesamtkonstruktion der Zerlegungsanlagen hat indessen die Ansprüche an Maschinen für den Lebensmittelbereich hinsichtlich *Hygienic Design* und Reinigbarkeit als grundlegende Bausteine des zur präventiven Gefahrenabwehr und Eigenüberwachung erforderlichen *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP)-Konzepts zu erfüllen.

Arbeitshypothese, Organisation und Ziele des Clusters

Diese zuvor erwähnten Aspekte führten zu der Arbeitshypothese, dass sich das angestrebte generalisierte Minimal Processing nur mittels eines hohen Automatisierungsgrades und einer hoch entwickelten Informationsauswertung umsetzen lässt. Die Verfolgung dieser Arbeitshypothese erforderte eine interdisziplinäre Zusammenarbeit in engmaschiger Verflechtung, aus welcher sich der wissenschaftlich-technische Mehrwert des Clusters gegenüber isolierten Einzelvorhaben ergab. Dabei prägten die sich bei der Fleischzerlegung ergebenden Produkt-, Energie- und Informationsströme weitestgehend die Organisation im hier vorliegenden Cluster sowie die Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Teilprojekten.

Die Grundlage des Clusters bildete der Aufbau einer Datenbank, die alle anfallenden Rohdaten bzw. die in den einzelnen Teilprojekten vorprozessierten Daten vereint und hinsichtlich der für die einzelnen Partner notwendigen Informationen auswertet (**Teilprojekt 1, Gruppe Delgado**). Die ausgedehnte Sammlung der anfallenden Betriebsdaten ermöglichte eine Simulation der Prozesskette sowie eine darauf aufbauende gesicherte Prozessführung der Feinerlegung von Schweinefleisch unter besonderer Berücksichtigung von Produkt- und Prozessvariationen. Die mittels Petri-Netzen erzielten Simulationsergebnisse dienten zunächst der Diagnose, Prognose und Optimierung der Feinerlegung. Darüber hinaus erwiesen sie sich als Grundbaustein einer vorausschauenden Kapazitätsplanung. Weitere zentrale Arbeiten befassten sich mit der Zerlegung an sich. Dazu wurden algorithmische und experimentelle Grundlagen zur Etablierung der Schnittführung mittels Roboter erarbeitet (**Teilprojekt 1, Gruppe Heinz**). Nach den Tests im Labor wurde der Roboter in die Zerlegebox (**Teilprojekt 3**) integriert. Die zuverlässige Positionierung und Fixierung des Fleischstückes bildete die essentielle Voraussetzung für eine korrekte Schnittführung. Im **Teilprojekt 2 (Gruppe Becker)** wurde für diese Aufgabe ein neuartiges Bildaufnahmesystem entwickelt, das die räumliche Lage und die Geometrie des Schinkens visuell erfasst, um 3D-Informationen zu gewinnen. Zusätzlich zu den Methoden der Oberflächenanalyse wurde im Rahmen von **Teilprojekt 2** ein Ultraschallsystem zur Tiefenanalyse entwickelt. Hierbei stand – zusätzlich zu der Erkennung der Lage der Knochen – die Detektion verborgener stofflicher Imperfektionen (z.B. Knochensplitter, Abszesse) im Mittelpunkt. Die Korrelation von Online-Daten mit Offline-Analysen erlaubte eine Referenzierung mit dem Zweck biochemischer,

mikrobiologischer sowie physikalischer (**Teilprojekt 6, Gruppe Schwägele**) und rechtlicher (**Teilprojekt 6, Gruppe Diepolder**) Bewertung.

Die im Rahmen von **Teilprojekt 4 (Gruppen Bolling/Schlüter/Hitzmann)** mit Hilfe von Autofluoreszenzsignaturen durchzuführenden Untersuchungen betrafen einerseits die bakterielle Oberflächenkontamination des zu bearbeitenden Fleischstückes. Andererseits ließen sich aus den diesbezüglichen Ergebnissen Randbedingungen für eine adaptive Schnittführung ableiten. Die im **Teilprojekt 5 (Gruppe Schmidt)** eingesetzte Raman-Spektroskopie ermöglichte es erstmalig, die Milchsäurebildung nach der Schlachtung nicht-invasiv zu bestimmen. Dadurch entfällt nicht nur die bisher invasive pH-Bestimmung; die Raman-Spektroskopie erlaubt zugleich die Erkennung von Fleischvarietäten, so zum Beispiel von PSE- bzw. DFD-Fleisch. Zu den Hauptaufgaben der Wissenschaftler im **Teilprojekt 6 (Gruppe Schwägele)** zählte, die in den **Teilprojekten 2, 4 und 5** zu entwickelnden innovativen Verfahren mit geeigneten Methoden der Offline-Analytik zu validieren. Auch wurde in **Teilprojekt 6** der Frage nachgegangen, inwieweit sich gegenwärtige Offline-Messmethoden für den Online-Einsatz in der automatisierten Fleischzerlegungskette eignen bzw. adaptieren lassen. Des Weiteren wurde in **Teilprojekt 6** die innovative Idee verfolgt, aus standardmäßig aufgenommenen Daten online nicht oder nur sehr schwer ermittelbare Informationen über Fleischcharakteristika zu extrahieren.

Die Integration der in den Teilprojekten entwickelten Sensorik und der Zerlegeinstrumente erfolgte innerhalb einer dafür entwickelten Zerlegebox (**Teilprojekt 3, Gruppe Majschak**), die eine gegenseitige Kontamination von Zerlegeprozess und Umgebung verhindert. Ein zusätzlicher Schwerpunkt in der Realisierung der Zerlegebox lag in der Erarbeitung und Erprobung einer für die Fleischverarbeitung geeigneten Reinigungsmethodik. Der Reinigungserfolg musste während der Entwicklung mittels geeigneter Methoden untersucht (**Teilprojekt 6, Gruppe Schwägele**) und auf die Einhaltung rechtlicher Anforderungen (**Teilprojekt 6, Gruppe Diepolder**) hin überprüft werden. Letzteres geschah auch im Rahmen des zu entwickelnden HACCP-Konzepts, das dann in die Datenbank als Standardprozedur Eingang fand (**Teilprojekt 1, Gruppe Delgado**).

Im Einzelnen verfolgten die Teilprojekte folgende Zielsetzungen:

Teilprojekt 1: Minimal Processing in der automatisierten Feinzerlegung von Schweinefleisch

Als Projekt mit zentraler Querschnittsfunktion bestand dessen Hauptziel darin, den Prozessschritt der Fleischfeinzerlegung hinsichtlich Energieeinsatz, Produktqualität und Ressourceneffizienz im Sinne des generalisierten Minimal Processing ganzheitlich zu optimieren. Hiermit ging die Aufgabe der Modellierung, Simulation, Optimierung und Automation des Zerlegeprozesses einher. Darüber hinaus zielte dieses Vorhaben auf die Entwicklung von Tools zur Kapazitätsplanung ab. Dies geschah mittels objektbasierter Referenz-Petri-Netze, die die Produktionslogistik ganzheitlich abzubilden vermögen. Des Weiteren widmete sich

dieses Teilprojekt zusätzlich der Entwicklung des Roboterkonzepts zur Bearbeitung der Fleischstücke sowie der Algorithmen zur Schnitfführung.

Teilprojekt 2: Physikalisches Imaging zur Struktur- und Texturerkennung bei der Fleischverarbeitung

Dieses Projektes zielte in erster Linie auf die Online-Gewinnung von Prozessinformation bei der Schinkenzerlegung ab. Dem diene eine synergetische Kombination der Detektion von Oberflächenstrukturvariationen mittels bildgebender optischer Verfahren und eine Analyse der tieferen Schichten über Ultraschalldetektionstechnik zur Abbildung der dreidimensionalen Schinkenstruktur. Überdies fand eine hochentwickelte und praxistaugliche Mustererkennung zur ganzheitlich orientierten Struktur- und Texturerkennung Verwendung. Hierzu gehörten neuartige rauschreduzierende Algorithmen, Merkmalsextraktion und Flankenerkennung unter Verwendung von intelligenten Scans.

Teilprojekt 3: Reinigungs- und hygieneorientiertes Maschinenkonzept zur ganzheitlichen Umsetzung von Minimal Processing in der Fleischverarbeitung

Dieses Teilprojekt setzte sich zunächst die Integration der Sensoren und Aktoren in die zu entwickelnde Positionier- und Handlungseinheit zum Ziel. Als entscheidend erwies sich die reinigungs- und hygienegerechte Ausführung der Zerlegebox unter besonderer Berücksichtigung des generalisierten Minimal Processings. Hierzu gehörte auch die erstmalige Realisierung einer automatischen Auslösung von Reinigungsschritten bei Überschreitung eines definierten Hygienekriteriums.

Teilprojekt 4: Differenzierung von Autofluoreszenzsignaturen zur Online-Erfassung bakterieller Kontaminanten in der automatisierten Fleischzerlegung

Dieses Projekt zielte auf das adaptive Management von bakteriellen Kontaminationen bei Fleischpartien ab, welches einen intrinsischen Bestandteil des verfolgten Minimal-Processing-Konzepts bildete. In diesem Kontext eröffnete die Fluoreszenzspektroskopie Möglichkeiten zur nicht-invasiven Detektion von bakteriellen Erregern. Zur Auswertung charakteristischer Merkmale von Kontaminanten auf den Schinken dienten fortgeschrittene Verfahren der Mustererkennung.

Teilprojekt 5: Grundlagenuntersuchungen zur Raman-Sensorik für eine automatisierbare Beurteilung der Fleischqualität in der Prozesskette

Auch dieses Teilprojekt hatte zum Ziel, Informationen zu liefern, welche die Umsetzung des generalisierten Minimal Processing bei der Feinerlegung von Schinken überhaupt erst ermöglichten. Im Kern stand die Überprüfung der Raman-Spektroskopie als Fingerprint-Methode zur Online-Bestimmung der Fleischqualität. Die Bildung von Milchsäure führt *post mortem* zu einem Absinken des pH-Wertes, wobei Kinetik und Konzentration die Entscheidungskriterien zur Erkennung der Fleischabweichungen PSE und DFD liefern. Demgemäß bestand erhebliches Interesse an einer berührungslosen Raman-Messung, die sich in eine automatisierte Prozesskette einbeziehen lässt.

Teilprojekt 6: Entwicklung von Analysemethoden zur Etablierung einer online-fähigen Beurteilung von Fleisch

Dieses Projekt beabsichtigte zum generalisierten Minimal Processing dadurch beizutragen, dass es potentiell online-fähigen Verfahren durch Validierung mittels Referenzanalytik zur Etablierung verhilft. Es handelt sich dabei um ultraschallbasierte Diagnosesysteme sowie Sensoren zur Bestimmung mikrobieller Kontaminationen durch Autofluoreszenzsignaturen und Milchsäurebildung nach der Schlachtung durch Raman-Spektroskopie. Des Weiteren setzte sich dieses Vorhaben mit einem neuartigen Ansatz zur Online-Bestimmung der Fleischfarbe und der Schätzung des Wasserbindungsvermögens des Fleisches auseinander. Nicht zuletzt trug dieses Vorhaben ganz wesentlich zur Umsetzung der automatisierten Fleischzerlegung nach dem Prinzip des Minimal Processing durch Erarbeitung, Umsetzung und Optimierung eines HACCP-Konzeptes unter besonderer Berücksichtigung der rechtlichen Bewertung bei.

Die Ergebnisse in der Übersicht

Die erzielten Ergebnisse belegen auch im Detail die Gültigkeit der oben erwähnten formulierten Arbeitshypothese, dass sich das angestrebte generalisierte Minimal Processing nur mittels eines hohen Automatisierungsgrades und einer hoch entwickelten Informationsauswertung umsetzen lässt. Die Feinzerlegung des Fleisches wirft nämlich Fragestellungen auf, deren Komplexität sich nicht zuletzt darin begründet, dass völlig unterschiedliche Themengebiete engverschachtelt ineinander greifen. Für die automatisierte Fleischverarbeitung mittels Roboter gilt es, auf der Ebene des Produktes die materielle Konstitution des Fleisches geometrisch und physikochemisch detailgetreu zu charakterisieren. Hierzu hat dieses Clusterprojekt ein Instrumentarium der Online-Prozessbeobachtung kreiert, welches auch im internationalen Vergleich Maßstäbe setzt. Im Sinne des generalisierten Minimal Processing liefert eine möglichst ganzheitliche Prozessbeobachtung schlichtweg eine unerlässliche Grundlage zur Optimierung des Material- und Energieflusses. So lassen sich etwa aus der Bestimmung der Fleischqualität und des Hygienezustandes vor der Zerlegung in der automatisierten Innenlogistik frühzeitig Dispositionen treffen, ohne Ressourcen völlig unnötig zu beanspruchen. Aber auch eine priorisierende Zerlegung aufgrund von Prozess- und Produktparametern (etwa Temperatur oder Fettgehalt) lässt sich durch eine umfassende Prozessbeobachtung logistisch mit minimalen Ressourcen bewältigen. Dies schafft zugleich wesentliche Grundlagen zu einer bisher nicht realisierten Lagerhaltung minimaler materieller und energetischer Flüsse.

Das geschaffene Diagnoseinstrumentarium umfasst die dreidimensionale Online-Erfassung der äußeren Schinkentopologie, der Lage von Knochen und Faszen sowie die Detektion von Fleischimperfectionen (wie Abszessen). Dazu dienen – auch algorithmisch – hochentwickelte bildgebende Verfahren. Mit dem erstmaligen Einsatz der Raman-Spektroskopie kommt ein nicht-invasives,

optisches Charakterisierungswerkzeug zum Einsatz, dessen Potentiale in der Lebensmittelverarbeitung bisher völlig unerkannt geblieben sind. Mit überaus beeindruckender Zuverlässigkeit und Praxistauglichkeit erweist es sich als probate Diagnose- und Prognosemethode für so unterschiedliche Größen wie pH-Wert, Fleischqualität, Tropfsaftverlust) und Fleischfestigkeit. Als weiteres nicht-invasives Diagnoseverfahren hat dieses Clusterprojekt die Ansätze verfolgt, Fluoreszenzmethoden zur Bestimmung des Hygienezustandes des Fleisches und der Zerlegebox einzusetzen.

Ebenfalls in der Fleischwirtschaft erstmalig eingesetzte Referenz-Petri-Netze (RPN) bilden den informationstechnologischen Kern der automatisierten, roboterbasierten Feinerlegung. Sie bieten einzigartig gute Möglichkeiten, die Komplexität des Zerlegungsprozesses zu modellieren, zu simulieren und im Sinne des generalisierten Minimal Processing zu optimieren. Dabei berücksichtigen die RPN so unterschiedliche Informationen wie den minimalen Energieeinsatz und die optimale Schnittbahnführung für den Roboter sowie die Fleischqualität und das HACCP-Konzept andererseits.

Als Highlights der durchgeführten Arbeiten lassen sich hervorheben:

Teilprojekt 1: Minimal Processing in der automatisierten Feinerlegung von Schweinefleisch

Durch die Möglichkeit, Datenbankeinträge aus den Petri-Netzen auszuführen und damit Zustandsänderungen der Anlage auszulösen, können die Petri-Netze nicht nur zur Abbildung der Stoff- und Energieströme sowie der Simulation alternativer Prozessplanung eingesetzt werden, sondern auch direkt die Ablaufsteuerung der Anlage übernehmen. Die Netze erweisen sich somit als ein optimales Abbildungs- und Automatisierungsmedium der in der SPS realisierten Zustandsmaschine. Der Ansatzpunkt des ganzheitlichen Minimal Processing in der Automatisierung fußt in dieser Dualität der Petri-Netze als Automatisierungs- und Simulationswerkzeug. Die Netze haben Zugriff auf dieselben „Schalter“ und „Ist“-Zustände wie beispielsweise die ebenfalls entwickelte Handsteuerung (Web-Applikation) und auch die Konfigurationsparameter in der Datenbank wie Drehmomente und Motorgeschwindigkeiten. Es kann also ein Optimierungszyklus aus Simulation an der „virtuellen Anlage“ und Validierung zur Anpassung der Anlagenparameter im Sinne des Minimal Processing durchgeführt werden.

Bezüglich der tatsächlichen Zerlegung des Schinkens wurden die Simulationen der Roboterbewegungen am realen Schinken getestet. In der Erprobungsphase wurden die für jeden Schinken individuell erforderlichen Schnittbahnen, die sich jeweils aus der äußeren Form und der Lage der Knochen und Faszien ergeben, aus den Daten der Computertomographie (**Teilprojekt 6**) für einzelne Schinken berechnet.

Die Koordinaten für die Bewegung des Roboters wurden entsprechend den Schnitten entlang der Knochen bestimmt und die Roboterbewegungen ausge-

führt (zum Beispiel Freischneiden des unteren Bereichs des Schlossknochens). Analog wurden darüber hinaus weitere Schnitte, die für die Zerlegung des Hinterschinkens in die wertgebenden Teile Ober- und Unterschale, Nuss und Hüftstück erforderlich sind, als Bewegungen des Roboters programmiert und die Zerlegung zunächst stückweise umgesetzt.

Teilprojekt 2: Physikalisches Imaging zur Struktur- und Texturerkennung bei der Fleischverarbeitung

Das zur Online-Erkennung der äußeren Fleischtologie entwickelte Stereokamerasystem besteht aus zwei achsenparallel montierten Farbkameras mit CCD-Sensoren, welche Aufnahmen des definiert rotierenden Schinkens um 360° mit einer Schrittweite von 9° ermöglichen. Dabei ermöglicht eine pixelbasierte Korrespondenzanalyse die Disparität der korrespondierenden Bildpunkte und kann somit ein Tiefenbild berechnen, bei welchem Farbtöne den Abstand der Fleischpartie zu der Stereokamera kodieren. Nach vorgenommener Validierung des Stereokamerasystems mit einem Testobjekt liegt eine Standardabweichung von ± 3 mm vor. Die bildtechnische Auswertung der aufgenommenen Bilder hinsichtlich der Oberflächenkrümmung ermöglicht eine zuverlässige Kategorisierung in rechte und linke Schinken. Eine weitere Auswertung liefert grundlegende Informationen zu Bereichen besonderer Relevanz (*Regions of Interest; ROIs*) für die anschließende Tiefendiagnose des Schinkens. Hierzu gehören die Lage von Kniescheibe und Faszien zwischen Oberschale und Unterschale, Nuss und Oberschale sowie Nuss und Unterschale.

Bei dem verwendeten Ultraschallsystem handelt es sich um einen Sonographen im digitalen B-Mode. Um Rauschartefakte zu reduzieren, dient eine neuartige Filterung auf der Grundlage eines anisotropen LATTICE-BOLTZMANN-Verfahrens. Bei der Detektion der ossalen Strukturen liegt die mittlere Abweichung bei $1,00 \pm 0,45$ Pixel und bei ca. $0,3 \pm 0,14$ mm. Die Faszien-detektion auf der Grundlage eines Schwellenwertverfahrens überrascht mit großen Unterschieden in der sonographischen Erfassbarkeit. Die automatische Abszessdetektion basiert auf der hypoechogenen Ausprägung von Abszessen im Ultraschallbild und der typischen kugelförmigen Struktur, welche durch die Exzentrizität ausgedrückt wird.

Teilprojekt 3: Reinigungs- und hygieneorientiertes Maschinenkonzept zur ganzheitlichen Umsetzung von Minimal Processing in der Fleischverarbeitung

Die Highlights dieses Teilprojektes betreffen das nach Gesichtspunkten des Minimal Processing vorzunehmende systematische Design der Beobachtungs- und Schnittreihenfolge sowie des Maschinenkonzeptes inkl. der Online-Bestimmung des Hygienezustandes. Die Beobachtungsreihenfolge beinhaltet (i) die automatisierte Einteilung des Verarbeitungsgutes in linken und rechten Schinken, (ii) die Erstellung eines digitalen Abbildes der Schinkenoberfläche aus dreidimensionalen Koordinaten, (iii) die Ermittlung der ungefähren Lage weiterer wichtiger Gewebsregionen (Kniescheibe und Schlossknochen) und (iv) die Detektion der inneren Gewebestruktur (Lage der Knochen und Faszien) mittels Ultraschall zur

Berechnung der Schnittbahnen. Im Sinne des Minimal Processing soll die Schnittreihenfolge zu möglichst wenigen Schnitt- und Handlingvorgängen führen. Dabei hat es sich als vorteilhaft erwiesen, die Anschnitte am Schwanz- und Schlossknochen sowie die Anschnitte entlang der Faszien zuerst durchzuführen. Hieran schließt sich in der Reihenfolge die Auslösung der Oberschale, Nuss, Unterschale und Hüftstück an. Diese vier wertgebenden Fleischteile werden durch Trennen entlang der Faszien und Trennschnitte vom Röhrenknochen ausgelöst.

Das Maschinenkonzept geht zunächst von einer zentralen schwenkbaren Fixiereinheit mit vier peripheren Bearbeitungsstationen in jeweils 90°-Schritten aus. Ein optisch abgeschirmtes Sensormodul beherbergt die Kontaminations- und Topologiedetektionseinheiten. Das in 90° hierzu angeordnete Zerlegemodul besteht aus zwei 6-Achs-Industrierobotern, welche zunächst Diagnoseaufgaben dienen. Der Handlingsroboter führt den Raman-Sensor und der Schneidroboter den Ultraschallsensorkopf. Die hier erhaltenen Informationen ergeben in einem ersten Schritt eine automatisierte Aussage zur Qualität des Fleisches und somit zu deren Zerlegung oder Ausschleusung. Darüber hinaus ermöglichen sie die Berechnung optimaler Schnittbahnen.

Die Diagnose des Hygienestatus der Zerlegebox geht auf eine neuartige, fluoreszenzbasierte Messtechnik zurück, welche den Reinigungsverlauf sowohl orts- als auch zeitaufgelöst auswertet.

Teilprojekt 4: Differenzierung von Autofluoreszenzsignaturen zur Online-Erfassung bakterieller Kontaminanten in der automatisierten Fleischzerlegung

Die Bestimmung der Ausgangssituation der bakteriellen Kontamination von Hinterschinken geschah mittels MALDI-TOF-MS. Diesen Untersuchungen lagen die auf Selektivnährmedien und dem Universalnährmedium am häufigsten vorkommenden Kolonien zugrunde: *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Shewanella putrefaciens*, *Microbacterium oxydans*, *Staphylococcus sciuri*, *Brevibacterium casei*, *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii*, *Comamonas kerstersii*, *Cellulosimicrobium cellulans*, *Corynebacterium falsenii*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Micrococcus luteus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Macrococcus caseolyticus*, *Staphylococcus pasteurii*, *Penicillium chrysogenum*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida zeylanoides* und *Brevundimonas vesicularis*.

Die Messung der Autofluoreszenzsignale dieser untersuchten Bakterien zeigte sowohl auf Einzelzellebene (in der Durchflusszytometrie) als auch in Suspension (in der Fluoreszenzspektroskopie) Unterschiede in der Intensität im Verlauf der verschiedenen Wachstumsstadien. Mit Hilfe der Durchflusszytometrie gelang es, auch in dem für Protoporphyrine charakteristischen Wellenlängenbereich deutliche Autofluoreszenzsignaturen auf Einzelzellebene aufzunehmen.

Mit dem verwendeten bildgebenden System erweist sich eine ortsaufgelöste Messung der bakteriellen Belastung von Schweinefleischoberflächen als prinzipiell möglich. Mit einer Diagnosezeit von 2 s kann auch eine Onlinefähigkeit

für ein Minimal Processing dargestellt werden, jedoch liegt das Detektionslimit bisher über den gewünschten 3 Log KbE/cm².

Teilprojekt 5: Grundlagenuntersuchungen zur Raman-Sensorik von Lactat für eine automatisierbare Beurteilung der Fleischqualität in der Prozesskette

Die Raman-Spektren von Fleisch spiegeln den Stoffwechselzustand der untersuchten Muskelzellen wider. Insbesondere die pH-abhängigen Peaks der endständigen Phosphatgruppe geben mit hoher Genauigkeit Auskunft über den pH-Wert. Zusätzlich beinhaltet das Raman-Spektrum Informationen über die Konzentration der wichtigsten Komponenten des Energiestoffwechsels wie Lactat, Glycogen, Phosphokreatin, Kreatin, Adenosintriphosphat (ATP) und Inosinmonophosphat. Dieser spektrale Fingerabdruck des Metabolismus erlaubt, verschiedene Fleischqualitäten schon frühzeitig zu unterscheiden. So korreliert der beschleunigte Stoffwechsel der Qualitätsabweichung PSE mit charakteristischen, sicher erkennbaren Unterschieden im Raman-Spektrum. Zudem bestimmen die Stoffwechselforgänge im Fleisch die Qualitätsparameter pH₂₄, Farbe, Tropfsaftverlust und Scherkraft. Mit den im Raman-Spektrum enthaltenen Informationen lassen sich diese Parameter mit hoher Genauigkeit schon 1-2 h nach der Schlachtung vorhersagen. Die Vorhersage des Tropfsaftverlustes und der Scherkraft erweist sich in der Genauigkeit sogar als vergleichbar mit der klassischen Referenzmessung. Die durchgeführten Untersuchungen belegen in eindrucksvoller Form, dass Raman-Spektroskopie ein einzigartiges Potential zur automatisierbaren Qualitätssortierung von Frischfleisch und zur Bestimmung von wichtigen Qualitätsparametern schon am Schlachtband mit einer schnellen und nicht-invasiven Messung bietet.

Teilprojekt 6: Entwicklung von Analysemethoden zur Etablierung einer online-fähigen Beurteilung von Fleisch

Dieses Vorhaben erzielte systematische Ergebnisse zur Evaluierung der Online-Tauglichkeit bestehender und neuer Diagnoseverfahren zwecks Prüfung der Qualitätsmerkmale von Fleisch im Hinblick auf eine weitere Automatisierung der Prozesskette. Hierzu gehört als essentielles Ergebnis die Bereitstellung eines erprobten, hinsichtlich seiner Funktionalität einzigartigen Multiparameter-Testensors zur Sortierung der Fleischqualität. Als Basis der Evaluierung dieses Sensors dient der „Modelldatensatz Schinken“, der aus zehn experimentell ermittelten Qualitätsparametern mit Referenzmethoden und neuen, potenziell online-tauglichen Verfahren an 181 Schinken besteht. Die in der Stichprobe des Modelldatensatzes auftretenden Qualitäten lassen sich in acht verschiedene Gruppen teilen. Dies bildet die Basis für ein Fließschema, welches anhand der Offline-Referenzwerte pH₄₅ (pH-Wert 45 min p.m.), pH₂₄ (pH-Wert 24 h p.m.), L*-Wert (Helligkeit des Fleisches) und Tropfsaftverlust alle Proben automatisch in die Qualitätsgruppen sortiert. In diesem Kontext liefern Raman-Daten im Vergleich zu den anderen Diagnoseverfahren deutlich bessere Korrelationen. Diese Aussage trifft sowohl den pH-Wert als auch den Tropfsaftverlust. Dies ermög-

licht eine schnelle, nicht-invasive Einteilung der Proben in die Fleischqualitätsgruppen mit extremen Abweichungen (PSE- und DFD-Fleisch). Dabei besitzt die Raman-Spektroskopie eine hohe Praxistauglichkeit, wie ein Feldversuch mit 150 Schinken eindrucksvoll belegt hat. Das unter besonderer Berücksichtigung des generalisierten Minimal Processing für den Gesamttablauf der Zerlegung erstellte *Hazard Analysis and Critical Control Points* (HACCP)-Konzept rundet die Praxistauglichkeit ab.

Wirtschaftliche Bedeutung

Die Lebensmittelindustrie ist traditionell stark geprägt von kleinen und mittleren Unternehmen (KMU). Im Jahr 2012 betrug der Umsatz der Branche 169,3 Mrd. € (BVE-Broschüre „Ernährungsindustrie 2013“) und wurde von rund 5.970 Betrieben mit 555.000 Mitarbeitern erzielt, wobei 95 % der Betriebe kleine und mittelständische Unternehmen sind. Der Anteil kleiner Unternehmen, insbesondere bei Herstellern von Massenprodukten, nimmt jedoch aufgrund der kleinen Deckungsbeiträge kontinuierlich ab.

Laut Bundesverband der deutschen Fleischwarenindustrie (www.bvdf.de) und Statistischem Bundesamt (www.destatis.de) wurden in der Bundesrepublik im Jahr 2012 ca. 8,77 Mio. t Fleisch (davon ca. 5,5 Mio. t Schweinefleisch) erzeugt. Die Anzahl der Schlachtungen lag bei Schweinen bei 58,2 Mio. Tieren. In der Schlachtung (ohne Geflügel) und in der Fleischverarbeitung waren 2012 ca. 83.000 Beschäftigte in 1.260 Betrieben tätig und erwirtschafteten einen Umsatz von 36,7 Mrd. € (Statistisches Bundesamt). Pro Kopf wurden 2011 ca. 61 kg Fleisch verbraucht, dabei entfielen über 39,3 kg allein auf Schweinefleisch (Gewerkschaft Nahrung-Genuss-Gaststätten, Branchenbericht 2012 „Schlachten und Fleischverarbeitung“).

Die Umsetzung und Weiterentwicklung der im Rahmen des Clusterprojektes erarbeiteten Ergebnisse, Erkenntnisse und vorgeschlagenen Maßnahmen wird insbesondere durch Unternehmen aus dem Maschinenbau, der Sensorentwicklung, der Informationstechnologie und der Automatisierung erfolgen. Die Nahrungsmittelmaschinen- und Verpackungsmaschinenindustrie gehört mit einem Produktionsvolumen von 11,39 Mrd. € (2012) zu den größten Fachzweigen im deutschen Maschinenbau. 600 Unternehmen mit etwa 58.000 Beschäftigten sind in diesem Sektor tätig. Dabei stellt die Fleischverarbeitungsindustriemittelindustrie mit einem Produktionsvolumen von 845 Mio. € die größte Teilbranche dar. Die Bedeutung dieser Teilbranche zeigt sich auch am Export. Hier liegt der Welthandelsanteil bei über 30 %.

Die Erarbeitung einer neuartigen Zerlegetechnik für Fleisch, inkl. der Entwicklung der dazu notwendigen, hochinnovativen Sensor- und Automatisierungstechnik, bietet diesen Unternehmen die Chance, ihre Marktstellung durch innovative und spezielle Produkte zu sichern und auszubauen sowie den Export zu sichern.

Aims and Results of the Cluster Project (Summary)

Background

Process chains in food production are increasingly situated between the conflicting priorities of customer acceptance, product quality, degree of automation, business administration resp. economy and process ecology. Nevertheless holistic approaches to a generalized minimal processing are still lacking. This does not only concern a gentle treatment of the product with the aim of avoiding undesired process effects and sustaining natural food with high nutritional value. In fact the minimal processing also includes a comprehensive consideration of all relevant flows concerning product, resources, energy and information in order to minimise the use of operational resources as well as the impact on the environment while fully protecting food safety and economy.

Consistently implementing the objective of minimal processing pursued within this cluster, accordingly requires an automated production logistics, which holistically

- realises a physical, biochemical and microbiological product and process monitoring
- adjusts the flows of matter, energy and biological activity based on process diagnoses and prognoses derived from these monitoring results and
- allows the efficient, product-adaptive use of processing procedures and tools with special emphasis on maximum use of valuable ingredients at optimum hygienic status.

Studies concerning the holistic minimal processing in automated process chains within food processing are still lacking completely. This has been motivating the presented DFG/AiF-cluster to examine the feasibility of this holistic approach using the process of deboning resp. butchering meat. At that, automated first cuts of pre-butchering resp. pre-deboning meat, is state of the art. In contrast, the secondary cuts of deboning pork for the production of ham is currently still mainly realised in manual mode due to the absence of options in automation. This concerns in particular the release of high-quality pieces of meat during deboning. The maxim is, from an economic point of view, the largely extraction of all valuable components with lowest possible losses or contamination, for example by bone fragments. In respect of legal requirements each food entrepreneur accounts for the safety and quality of the food (Article 17 paragraph 1 of the EC Basic Regulation (Regulation (EC) No 178/2002), Regulation (EC) No 852/2004) and, according to the law of product liability, has to take liability for defective products.

Within the manual deboning resp. cutting, the production factors labour and human knowledge take a key role. The staff divides the pieces of meat, at the same time assesses the quality, sorts the pieces based on that assessment and determines further use. In the course of this also a visual inspection of the pieces takes place with regard to adverse tissue changes, such as found in abscesses, and other quality defects. This physically strenuous activity proves to be on the one hand monotonous, as always identical operations arise. On the other hand, the variability of individual pieces requires each an individual selection of the optimal cut. This is aggravated by the fact that, for reasons of hygiene, the working temperature ranges very low values, usually below 12°C. The core guiding principle of automation comprising the physical relief of humans provides further motivation for the research in this cluster.

The currently low level of automation in commercial plants is based not least in the physico-chemical complexity of the meat, which at the same time aggravates the acquisition of information by product and process monitoring. Thus possible errors during manual meat cutting resp. deboning and classification into different quality levels, lead to a waste of resources. This waste specifically concerns staff, utilities and auxiliaries, storage and production areas as well as energy. In addition to these obvious optimisation potentials in the added value and yield increase, further ones are given in the minimisation of necessary cleaning cycles. Not least the use of adequate meat quality minimises the time being required for processing, which also affects the freshness of the product and thus the customer acceptance.

The stated facts clearly show that the implementation of a generalised minimal processing in the process chains of meat processing, thematised within this cluster, requires the consideration of all key elements of the material, energy and information flows. Minimal processing further involves keeping the biological activity of the meat as a measure of its freshness to a maximum and those of the undesired microorganisms to a minimum.

In this context, the realisation initially and mandatory requires a plant of sufficiently high degree of automation. Nevertheless the boundary conditions previously mentioned are also indicative of the most difficult challenges of such an innovative solution. The detection of the high levels of structural variations in the local distributions of biological materials (such as meat tissue and bone) and quality defects (for example tissue changes and clots of blood) must be done accurately and reliably. The discharge processes of low-quality parts, that have to be initiated subsequently, have to be realised automatically and with the use of energy being as low as possible. Of course, a guaranteed functionality of automation must be present even at the applied low temperatures. The entire construction of the separation resp. deboning plants however has to fulfill the demands on machines for the food-related hygienic design and cleanability as the basic building blocks of the Hazard Analysis and Critical Control Points (HAC-CP) Concept being required for preventive hazard defence and self-monitoring.

Working hypothesis, organisation and aims of the cluster project

These afore-mentioned aspects lead to the working hypothesis that the intended generalised minimal processing can be realised only by a high degree of automation and a highly developed information analysis. The pursuance of this hypothesis requires an interdisciplinary collaboration in closely meshed interconnection from which the scientific and technical additional value of the cluster compared to isolated individual projects emerges likewise. The product, energy and information flows resulting from and during the deboning resp. butchering of meat, most widely characterise the organisation within this present cluster as well as the interactions between the individual sub-projects.

The basis of the cluster is provided by the establishment of a database that combines all arising raw data or data being already pre-processed within the individual sub-project and then analyses them regarding the information being necessary for each partner (**sub-project 1, group Delgado**). The extensive collection of incoming operational data allows a simulation of the process chain as well as an ensured and secure process control of the deboning resp. butchering of pork meat based thereon and with special consideration of product and process variations. The simulation results obtained by means of Petri nets first serve the diagnosis, prognosis and optimisation of deboning resp. butchering. Moreover, they turn out to be the basic building block of a proactive capacity planning. Other major works are concerned with the deboning resp. butchering or cutting itself. For this purpose, algorithmic and experimental fundamentals for the establishment of the deboning resp. butchering or cutting strategy by means of robots were developed (**sub-project 1, group Heinz**). After the tests in the laboratory, the robot has been integrated into the *Zerlegebox* resp. fixation and deboning unit (**sub-project 3**). The reliable positioning and fixation of the piece of meat constitute essential prerequisites for the correct deboning resp. butchering or cutting. For this task **sub-project 2 (group Becker)** developed a novel imaging system that captures the spatial position and the geometry of the ham visually to obtain 3D information. In addition to the methods of surface analysis, **sub-project 2** realised an ultrasonic system for depth analysis. In this case – in addition to the identification of the position of the bones – the detection of hidden material imperfections (for example bone splinters, abscesses) is central. The correlation of online data with offline analysis allows referencing with the purpose of biochemical, microbiological and physical (**sub-project 6, group Schwägele**) and regulatory (**sub-project 6, group Diepolder**) evaluation.

The investigations to be carried out within **sub-project 4 (groups Bolling/Schlüter/Hitzmann)** using autofluorescent signatures concern on the one hand the bacterial contamination of the surface of the processed piece of meat. On the other hand boundary conditions for an adaptive deboning resp.

butchering or cutting can be derived from the related results. The Raman spectroscopy used within **sub-project 5 (group Schmidt)** enables the determination of the formation of metabolic products (such as lactic acid) after the slaughter for the first time non-invasively. This eliminates not only the up to now invasive determination of pH, but at the same time it allows the detection of meat varieties, such as PSE or DFD meat. The validation of the innovative processes, being developed within **sub-projects 2, 4 and 5**, using suitable methods of offline analysis, belongs to the main tasks of **sub-project 6 (group Schwägele)**. **Sub-project 6** also considers the question whether and to which extend the current offline measurement methods are suitable resp. adaptable for online use in the automated meat deboning resp. butchering or cutting chain. Furthermore **sub-project 6** pursues the innovative idea to extract information on meat characteristics of default recorded data, which are not or just very difficult to identify online.

The integration of the sensors and deboning resp. butchering or cutting instruments developed in the sub-projects takes place within a *Zerlegebox* resp. fixation and deboning unit to be developed and built for this specific purpose (**sub-project 3, group Majschak**), which prevents cross-contamination of deboning resp. cutting process and environment. An additional focus in the implementation of the *Zerlegebox* resp. fixation and deboning unit is the development and testing of a cleaning methodology suitably matched to meat. The success of cleaning must to be investigated during the development using suitable methods (**sub-project 6, group Schwägele**) and checked on compliance with regulatory legal requirements (**sub-project 6, group Diepolder**). The latter also happens as part of the HACCP concept to be developed, which then can be used as input in the database as a default procedure (**sub-project 1, group Delgado**).

In particular, the sub-projects pursue the following aims:

Sub-project 1: Automated Minimal Processing in the robot-based deboning of pork meat

As a project with central cross-sectional function its main aim is to holistically optimise the process step of meat deboning in terms of energy use, product quality and resource-efficiency in the sense of a generalised minimal processing. This is associated with the task of modelling, simulation, optimisation and automation of the deboning resp. butchering or cutting process. In addition, this project aims at the development of tools for capacity planning. This is done using object-based reference Petri nets which are capable of figuring production logistics holistically. Furthermore, this sub-project additionally dedicates to the development of the robot-based approach for processing the meat pieces as well as of the algorithms for deboning resp. cutting.

Sub-project 2: Physical imaging for structure and texture recognition in meat processing

This sub-project first of all aims for the online extraction of process information in the ham deboning resp. cutting. Therefore serves a synergistic combination of the detection of variations in surface structure by optical imaging methods and an analysis of the deeper layers using ultrasonic detection technique for imaging the three-dimensional structure of ham. Moreover a sophisticated and practical pattern recognition for holistically oriented structure and texture recognition finds use. This includes novel noise reducing algorithms, feature extraction and edge detection using intelligent scans.

Sub-project 3: Cleaning and hygiene-oriented machine concept for the automatic deboning of pork ham

Initially, this sub-project aims at the integration of sensors and actuators within the positioning, fixation and handling unit (*Zerlegebox*), which has to be developed. A cleanable and hygienic design of the *Zerlegebox* resp. fixation and deboning unit with special consideration of the generalised minimal processing proves to be crucial. This also includes the first-time realisation of an automatic triggering of purification steps when exceeding a defined hygiene criterion.

Sub-project 4: Differentiation of autofluorescent signatures for online detection of bacterial contaminants in automatic deboning of meat

This sub-project aims at the adaptive management of bacterial contamination in meat parts, which gives an intrinsic part of the pursued concept of minimal processing. Within this context fluorescence spectroscopy opens up possibilities for non-invasive detection of bacterial pathogens. Advanced methods of pattern recognition are being used for the evaluation of characteristic features of contaminants on the ham.

Sub-project 5: Fundamental studies on Raman sensor technology for automated evaluation of meat quality within the process chain

Again, this sub-project aims at delivering informations which make the implementation of the generalised minimal processing in the deboning of ham possible in the first place. At its heart, the examination of Raman spectroscopy as a fingerprint method for on-line determination of meat quality is located. The formation of lactic acid leads to a decrease in the pH *post mortem* (*p.m.*), with kinetics and concentration providing the decision criteria for detection of meat deviations PSE and DFD. Accordingly, there is considerable interest in a non-contact Raman measurement which can be included in an automated process chain.

Sub-project 6: Development of analytical methods for online assessment of meat quality

This sub-project intends to contribute to generalised minimal processing thereby that it helps providing the establishment of potentially online-enabled methods

by validation using reference analysis. These methods involve ultrasound-based diagnostic systems and sensors for determination of microbial contamination by autofluorescent signatures and for lactic acid formation after slaughter by Raman spectroscopy. Furthermore, this project discusses a novel approach for online determination of meat color and the estimation of the water-binding capacity of meat. Not least this project significantly contributes to the implementation of automated meat deboning resp. cutting according to the principle of minimal processing by development, implementation and optimisation of a HACCP concept with particular attention to the legal evaluation resp. assessment.

Overview of the results

The results obtained demonstrate in detail the validity of the above formulated hypothesis that the intended generalised minimal processing can be implemented only by a high degree of automation and a highly developed information analysis. The deboning of the meat namely raises questions which complexity is not least based on the fact that completely different topics and ranges of subjects are closely nested within each other. For automated meat processing by robot at the level of the product, it is important to characterise the material constitution of the meat geometrically and physico-chemically detailed. For this purpose this cluster has created a set of tools of online process monitoring, which sets standards also as compared to international standards. According to the generalised minimal processing, a process monitoring as holistically as possible simply is an indispensable basis for the optimisation of material and energy flows. Thus early dispositions in automated internal logistics can be made from the determination of meat quality and hygienic condition prior to deboning resp. cutting, without absolutely unnecessarily using resources. But also a prioritized deboning due to process and product parameters (such as temperature or fat content) can be overcome logistically with minimal resources through a comprehensive process monitoring. This creates at the same time substantial fundamentals for a previously not realised storage of minimal material and energy flows.

The established diagnostic tools include the three-dimensional online detection of the outer ham topology, the location of bone and fascia as well as the detection of meat imperfections (like abscesses). For this purpose – even algorithmically – sophisticated imaging techniques are used. With the first-time use of Raman spectroscopy a non-invasive optical characterisation tool is used, which potential in this kind of food processing has remained completely unrecognized so far. With eminently impressive reliability and practical capability, it proves to be a probate diagnostic and prognostic method for such diverse parameters as pH value, meat quality, drip loss and strength. As another non-invasive diagnostic method this cluster has followed the approaches of using fluorescence methods for the determination of the the hygienic status of the meat and of the *Zerlegebox* resp. fixation and deboning unit.

Reference Petri nets (RPN), also implemented in the meat industry for the first time, form the information technological core of the automated, robot-based deboning process. They offer uniquely good ways to model, simulate and optimise the complexity of the deboning process in the sense of a generalised minimal processing. The RPN consider such diverse information as the minimal use of energy and the optimal cutting path management for the robot as well as the quality of meat and the HACCP concept on the other hand.

The following results of the work having been carried out can be highlighted:

Sub-project 1: Automated Minimal Processing in the robot-based deboning of pork meat

With the ability to perform database entries from the Petri nets and thus trigger state changes of the system, the Petri nets can be used not only for mapping the material and energy flows as well as simulating alternative process planning, but also directly take over the automatic sequence control of the plant. Thus the nets prove to be an optimal representation and automation tool of the state machine realised in the PLC. The starting point of a holistic minimal processing in automation is based on this duality of the Petri nets as automation and simulation tool. The nets have access to the same “switches” and “actual conditions” such as the also developed manual control (web application) and well as to the configuration parameters in the database like torques and engine speeds. Thus, an optimisation cycle can be performed of simulation at the „virtual plant“ and validation for adaptation of the system parameters in the sense of the minimal processing.

Concerning the actual deboning resp. cutting of the ham, first, the simulations of the robot’s movements have been tested on the real ham. The implementation of the automated deboning according to the developed and defined procedure required the movement of the cutting tool (knife) by the robot along three-dimensional paths through the ham. A second robot was used to open the cuts by defined pulling on meat parts around the cuts. Additionally, the robot was used to hold separated pieces of the ham and put them on pre-defined places.

The cutting curves and paths had to be calculated for the individual ham, because each ham has its special shape and location of bones. This task was first carried out based on images obtained by computer tomography (CT) of the ham calculating a 3D model of the outer ham shape and a second model to describe the location of the bones. Both models can be applied to calculate the required cutting paths for the single ham which has to be carried out by the robot. This procedure was finally tested on different ham.

Sub-project 2: Physical imaging for structure and texture recognition in meat processing

The stereo camera system being developed for the online detection of the external topology of the meat consists of two axially parallel installed color cameras with CCD sensors, which enables images of the defined rotating ham of 360° in

increments of 9°. In the course of this, a pixel-based analysis of correspondence allows to calculate the disparity of the corresponding pixels and thus a depth image, in which the shades of colour code the distance between meat section and stereo camera. After completion of the validation of the stereo camera system with a test object, a standard deviation of ± 3 mm is received. The technical image evaluation of the recorded images in terms of surface curvature allows for a reliable categorisation into right and left ham. Further evaluation provides basic information on areas of specific relevance (Regions of Interest; ROIs) for subsequent in-depth diagnosis of the ham. These include the position of the patella and fascia between the gammon slipper and gammon piece, nut and gammon slipper and nut and gammon piece.

The ultrasonic system used is a sonograph in the digital B-mode. In order to reduce noise artefacts, a novel filtering is used based on an anisotropic lattice Boltzmann method. Within the detection of the osseous (bony) structures, the average deviation is 1.00 ± 0.45 pixels and about 0.3 and ± 0.14 mm. The detection of the fascia based on a threshold method surprised with wide differences in the sonographic detectability. The automatic detection of abscesses is based on hypochoic occurrence of abscesses in the ultrasound image and the typical spherical structure which is expressed by the eccentricity.

Sub-project 3: Cleaning and hygiene-oriented machine concept for the automatic deboning of pork ham

The highlights of this sub-project are related to the systematic design of monitoring and cutting sequence as well as of the machine concept including the online determination of hygienic conditions, all being carried out in accordance with aspects of the minimal processing. The monitoring sequence includes (i) the automated classification of the material to be processed in left or right ham, (ii) the generation of a digital image of the ham surface from three-dimensional coordinates, (iii) the determination of the approximate location of other important tissue regions (patella and pelvic bone i.e. *Schlossknochen*) and (iv) the detection of the internal tissue structure (position of the bones and fascia) using ultrasound to calculate the cutting paths. For the purpose of minimal processing the cutting sequence should lead to as few cutting and handling operations as possible. It has e.g. proven to be advantageous to carry out the incisions at the tail and pelvic bone (i.e. *Schlossknochen*) as well as those along the fascia first. This is followed by the release of the gammon slipper, nut, gammon piece and top rump. These four value-giving parts of meat are released by separation along the fascia and cuts separating the meat from the long bone (i.e. *Röhrenknochen*).

The machine concept is initially based on a central swivelling fixation unit with four peripheral processing stations in increments of 90°. An optically shielded sensor module houses the contamination and topology detection units. The thereto perpendicularly arranged deboning module (*Zerlegebox*, i.e. deboning resp. cutting unit) consists of two 6-axis industrial robots, which initially serve for diagnos-

tic tasks. The handling robot performs the Raman sensor and the cutting robot the ultrasonic sensor head. The information obtained result in a first step in an automated statement on the quality of the meat and thus in their cutting resp. deboning or rejection. In addition, they allow the calculation of optimal cutting paths.

The diagnosis of the hygienic status of the *Zerlegebox*, i.e. deboning resp. cutting unit, are based on a novel fluorescence-based measurement technology, which evaluates the cleansing progress resolved both spatially and temporally.

Sub-project 4: Differentiation of autofluorescent signatures for online detection of bacterial contaminants in automatic deboning of meat

The determination of the initial situation of bacterial contamination of the ham was done by MALDI-TOF-MS. These studies were based on the colonies most frequently occurring on selective media and the universal culture medium: *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus*, *Shewanella putrefaciens*, *Microbacterium oxydans*, *Staphylococcus sciuri*, *Brevibacterium casei*, *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii*, *Comamonas kerstersii*, *Cellulosimicrobium cellulans*, *Corynebacterium falsenii*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Micrococcus luteus*, *Brochothrix thermosphacta*, *Macrococcus caseolyticus*, *Staphylococcus pasteurii*, *Penicillium chrysogenum*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida zeylanoides* and *Brevundimonas vesicularis*.

Measuring the auto-fluorescence signals of the tested bacteria showed differences in intensity in the course of different stages of growth both on the level of single cells (by flow cytometry) or in suspension (by fluorescence spectroscopy). Using flow cytometry, it was possible to detect autofluorescent signatures on the level of single cells in wavelength range being characteristic for and distinctive of protoporphyris.

The diagnostic imaging system principally arises to allow a spatially resolved measurement of bacterial load on pork surfaces. With 2s time of diagnosis, an online capability for a minimal processing can be depicted, but hither to the detection limit is higher then the desired 3 log CFU/cm².

Sub-project 5: Fundamental studies on Raman sensor technology for automated evaluation of meat quality within the process chain

Raman spectra of meat reflect the metabolic state of the examined muscle cells. In particular, the pH-dependent peaks of the terminal phosphate group provide information about the pH with high accuracy. Additionally the Raman spectrum contains information about the concentration of the main components of the energy metabolism, such as lactate, glycogen, phosphocreatine, creatine, adenosine triphosphate (ATP) and inosine monophosphate. This spectral fingerprint of metabolism allows distinguishing different qualities of meat already at an early stage. Thus the accelerated metabolism of the quality deviation PSE correlates with characteristic, reliably detectable differences in the Raman spectrum. In addition, the metabolic processes in the meat determine the quality param-

ters pH_{24} , color, drip loss and shear force. With the information contained in the Raman spectrum, these parameters can be predicted with high accuracy as early as 1-2 h after slaughter. The prediction of drip loss and shear force even proves to be comparable in accuracy with the error of the classical reference measurement. The investigations carried out impressively show that Raman spectroscopy offers a unique potential for automated quality sorting of fresh meat and for the determination of important quality parameters already on the slaughter line with a fast and non-invasive measurement.

Sub-project 6: Development of analytical methods for online assessment of meat quality

This sub-project provides systematic results evaluating the online capability of existing and of new diagnostic procedure for examination of the quality characteristics of meat with respect to further automate the process chain. This includes as an essential result the provision of a proven, unique in terms of its functionality, multi-parameter test sensor for sorting the meat quality. The "model data set ham", referred to 181 ham, which consists of ten experimentally determined quality parameters with reference methods and new, potentially online-capable methods, serves as basis for the evaluation of this sensor. The qualities occurring in the "model data set" can be divided into eight different groups. This is the basis for a flow diagram, which automatically sorts all samples into quality groups by means of the off-line reference values pH_{45} (pH after 45 min *p.m.*), pH_{24} (pH-value after 24 h *p.m.*), the L*value (lightness of the meat) and drip loss. Within this context the Raman data provide significantly better correlations compared to other diagnostic techniques. This statement applies to both the pH and the drip loss. This allows for rapid, non-invasive classification of the samples into those meat quality groups with extreme deviations (PSE and DFD). As a field trial with 150 ham has impressively demonstrated, the Raman spectroscopy holds a high level of practicality.

The Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) Concept, which has been developed for the entire process of the deboning resp. cutting process and with special consideration of the generalised minimal processing, completes the practicality.

Economic significance

The food industry has traditionally been strongly dominated by small and medium-sized enterprises (SMEs). In 2012, the turnover of the branch amounted to € 163.3 billion (*BVE- Broschüre „Ernährungsindustrie 2013“*) and was scored by approximately 5,970 companies with 550,000 employees, from which 95% of the companies are small and medium-sized. The quota of smaller companies in particular concerning manufacturers of mass products steadily decreases because of the small profit margins.

According to *Bundesverband der deutschen Fleischwarenindustrie* (Federal Association of the German Meat Industry, www.bvdf.de) and the *Statistisches Bundesamt* (Federal Statistical Office, www.destatis.de) there were about 8.77 million tons of meat (including approximately 5.5 million tons of pork) generated resp. produced in the Federal Republic of Germany within 2012. The number of slaughter amounted to 58.2 million for pigs. In the slaughter (excluding poultry) and meat processing approximately 83,000 workers were employed in 1,260 establishments and achieved a turnover of € 36.7 billion (Federal Statistical Office). In 2011, about 61 kg of meat were consumed per capita, accounted for about 39.3 kg just on pork (*Gewerkschaft Nahrung-Genuss-Gaststätten, Branchenbericht 2012 "Schlachten und Fleischverarbeitung"*).

The implementation of the results developed within the project as well as the proposed measures will be carried out in particular by companies in branches like mechanical engineering, sensor development, information technology and automation. The industry of food processing machinery and food packaging machinery is, with a production volume of € 11.39 billion (2012), one of the largest trade sectors resp. branches within the German engineering. 600 companies with about 58,000 employees are active herein. With a production volume of € 845 million, the industry of meat processing machinery represents the largest sub-sector resp. sub-branch. The importance of this sub-sector is also reflected in its export. Here, the global market share amounts to more than 30 %.

The development of a novel technique for the deboning resp. butchering or cutting of meat, including the development of thereto required, highly innovative sensor and automation technology, offers these companies the opportunity to secure and expand their market position as well as to secure the export my means of innovative and specialised products.

Publikationen aus dem Clusterprojekt (Auswahl)*

- [1] Bauer, A., Petzet, A., Schwägele, F., Scheier, R. und Schmidt, H.: Towards an online assessment of meat quality in pork. In: Proc. 59th Intern. Congr. Meat Sci. Technol. (ICoMST) 2013, Ege University Izmir, Food Engineering Dep., Paper S7B-20, 1-5 (2013).
- [2] Bolling, J., Fröhling, A., Durek, J. und Ghadiri, A.: Am Anfang steht das Erkennen – Kontaminations- und Qualitätserkennung bei Fleisch. Forschungsreport 1, 44-47. (2013).
- [3] Bolling, J., Fröhling, A., Durek, J., Schlüter, O., Paquet-Durand, O. und Hitzmann, B.: Kontaminationsmonitoring in der Fleischerlegung mittels Autofluoreszenzsignaturen. Fleischwirt. 93 (3), 114-117 (2013).
- [4] Delgado, A., Heinz, V., Xie, Q., Franke, K., Groß, F., Hupfer, S. und Nagel, M.: Automatisiertes Minimal Processing in der roboterbasierten Feinerlegung von Schweinefleisch. Fleischwirt. 93 (6), 170-174 (2013).
- [5] Durek, J., Becker, T., Bolling, J., Diepolder, H., Heinz, V., Hitzmann, B., Majschak, J.-P., Schlüter, O., Schmidt, H., Schwägele, F. und Delgado, A.: Minimal Processing an automatisierten Prozessketten der Fleischverarbeitung. Eine Fallstudie am Beispiel der Feinerlegung von Schweinefleisch (Schinken). Fleischwirt. 91 (4), 102-105 (2011).
- [6] Fecht, N.: Online-Qualitätserfassung in der Fleischverarbeitung. VDMA-Nachrichten 90 (3), 66-72 und Robot 214 (9), 43-45 (2013).
- [7] Fröhling, A., Durek, J., Schnabel, U., Ehlbeck, J., Bolling, J. und Schlüter, O.: Indirect plasma treatment of fresh pork: Decontamination efficiency and effects on quality attributes. Inn. Food Sci. Emerg. Technol. 16, 381-390 (2012).
- [8] Geier, D., Hussein, W.B., Hussein, M.A. und Becker, T.: Physikalisches Imaging zur Struktur- und Texturerkennung bei der Fleischverarbeitung. Fleischwirt. 93 (2), 82-85 (2013).
- [9] Hussein, W.B., Moaty, A.A., Hussein, M.A. und Becker, T.: A novel edge detection method with application to the fat content prediction in marbled meat. Patt. Recog. 44, 2959-2970 (2011).
- [10] Mauermann, M., Lange, S. und Martin, A.: Maschinenkonzept für die maschinelle Feinerlegung von Schinken. Fleischwirt 93 (7), 85-88 (2013).
- [11] Petzet, A., Scheier, R., Octoviani, A., Bauer, A., Hammon, A., Diepolder, H. und Schmidt H.: Entwicklung von Analysemethoden zur Etablierung einer online-fähigen Beurteilung der Fleischqualität. Fleischwirt. 93 (5), 84-87 (2013).

* Stand: Januar 2014

- [12] Scheier, R. und Schmidt H.: Non-invasive pH measurement early post mortem in porcine *M. semimembranosus* using Raman spectroscopy. 58th Intern. Congr. Meat Sci. Technol. 157, 1-4 (2012).
- [13] Scheier, R. und Schmidt, H.: Measurement of the pH value in pork meat early postmortem by Raman spectroscopy. Appl. Phys. B 111, 289-297 (2013).
- [14] Scheier, R., Bauer, A. und Schmidt H.: Early post mortem prediction of meat quality traits of porcine *M. semimembranosus* using a prototype Raman system. Food Bioproc. Technol. (2014) accept.
- [15] Scheier, R., Köhler, J. und Schmidt H.: Identification of the early post mortem metabolic state of porcine *M. semimembranosus* using Raman spectroscopy. Vib. Spectr., DOI 10.1016/j.vibspec.2013.10.001 (2013) in press.
- [16] Scheier, R., Nache, M., Agarkov, N., Hitzmann, B. und Schmidt, H.: Raman-Sensorik zur automatisierbaren Beurteilung der Fleischqualität. Fleischwirt. 93 (4), 170-174 (2013).
- [17] Scheier, R., Paquet-Durand, O., Schmidt, H. und Hitzmann, B.: Nicht-invasive pH-Messung mittels Ramanspektroskopie. Verarbeitungsmasch. Verpackungstechn., VVD 2012, ISBN 978-3-86780-272-7, 501-518 (2012).
- [18] Scheier, R., Petzet, A., Bauer, A. und Schmidt, H.: Hand-held Raman system for an early post mortem detection of pH and drip loss of pork meat. In: Proc. 59th Intern. Congr. Meat Sci. Technol. (ICoMST) 2013, Ege University Izmir, Food Engineering Dep., Paper O-20, 1-5 (2013).
- [19] Schmidt, A., Scheier, R., Octoviani, A., Agarkov, N. und Petzet, A.: Neue Ergebnisse zur Bestimmung der Qualität von Schweinefleisch mittels Raman-Spektroskopie. Mittbl. Fleischforsch. Kulmbach 51 (198), 219-225 (2012).
- [20] Schmidt, H., Scheier, R., Octoviani, A., Agarkov, N. und Petzet A.: Bestimmung der Qualität von Schweinefleisch mittels Raman-Spektroskopie. Rundsch. Fleischhyg. Lebensmittelüberw. 65, 17-19 (2013).

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148 · 53175 Bonn
Telefon: +49 228 3079699-0
Telefax: +49 228 3079699-9
E-Mail: fei@fei-bonn.de

Weiterführende Informationen:
www.fei-bonn.de

Copyright ©2014
Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn

ISBN 978-3-925032-52-3

