

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)
im DIN Deutsches Institut für Normung e. V.

— Leerseite —

Deutsche Fassung

Lebensmittel

**Nachweis der Bestrahlung von Lebensmitteln mit Epifluoreszenz-
Filtertechnik/aerober mesophiler Keimzahl (DEFT/APC)
Screeningverfahren**

Foodstuffs —

Detection of irradiated food using Direct Epifluorescent
Filter Technique/Aerobic Plate Count (DEFT/APC) —
Screening method

Produits alimentaires —

Détection d'aliments ionisés en utilisant la technique
d'épifluorescence après filtration et dénombrement de la
flore aérobie sur milieu gélosé (DEFT/APC) —
Méthode par criblage

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 29. September 2001 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Österreich, Portugal, Schweden, Schweiz, Spanien, der Tschechischen Republik und dem Vereinigten Königreich.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	2
1 Anwendungsbereich	3
2 Normative Verweisungen	3
3 Prinzip	3
4 Chemikalien	3
5 Geräte	6
6 Probenahmeteknik	8
7 Durchführung	8
8 Auswertung	11
9 Grenzen des Verfahrens	12
10 Validierung	12
11 Untersuchungsbericht	12
Anhang A (informativ) Weitere Informationen über die Anwendbarkeit des Verfahrens	13
Anhang B (informativ) Praktisches Beispiel für die Berechnung des Mikroskopierfaktors	13
Anhang C (informativ) Fließschema des Verfahrens	14
Literaturhinweise	15

Vorwort

Diese Europäische Norm wurde vom CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Mai 2002, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Mai 2002 zurückgezogen werden.

Diese Europäische Norm wurde auf der Grundlage einer Verfahrensvorschrift erarbeitet, die sich aus einer von der Kommission der Europäischen Union (XII C.5) (BCR) unterstützten gemeinsamen Aktion ergab, sowie auf der Grundlage einer Screening-Untersuchung der Danish National Food Agency und der örtlichen dänischen Behörde für Umwelt und Lebensmittel, MLK FYN, Odense. Fachleute und Laboratorien aus EU- und EFTA-Ländern haben gemeinsam zur Entwicklung der Verfahrensvorschrift der gemeinsamen Aktion beigetragen.

WARNUNG — Bei der Anwendung dieser Europäischen Norm ist es möglich, dass gefährliche Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte angewendet werden. Diese Norm erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und vor der Anwendung festzulegen, welche einschränkenden Vorschriften gelten.

Die Anhänge A, B und C sind informativ.

Diese Norm enthält Literaturhinweise.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein mikrobiologisches Screeningverfahren zum Nachweis einer Bestrahlung von Kräutern und Gewürzen fest, wobei die Kombination der Epifluoreszenz-Mikroskopie von Filtern (direct epifluorescent filter technique, DEFT) und der aeroben mesophilen Keimzahl (aerobic plate count, APC) angewandt wird. Die DEFT/APC-Technik ist nicht spezifisch für eine erfolgte Bestrahlung, deshalb wird empfohlen, positive Befunde durch Anwendung eines genormten Verfahrens (z. B. EN 1788, prEN 13751) zum spezifischen Nachweis einer Bestrahlung des jeweiligen Lebensmittels zu bestätigen.

Dieses Verfahren wurde in Ringversuchen mit Kräutern und Gewürzen erfolgreich getestet [1] bis [5].

2 Normative Verweisungen

Diese Europäische Norm enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen nur zu dieser Europäischen Norm, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikation (einschließlich Änderungen).

ISO 4833, *Microbiology — General guidance for the enumeration of microorganisms — Colony count technique at 30 °C*.

ISO 7218, *Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examinations*.

3 Prinzip

Grundlage des Verfahrens ist der Vergleich der APC-Keimzahl mit der durch die DEFT erhaltenen Keimzahl. Die Keimzahl aus dem APC ergibt die Anzahl lebensfähiger Mikroorganismen nach einer möglichen Bestrahlung, und die DEFT-Zahl weist auf die Gesamtzahl der in der Probe vorhandenen Mikroorganismen, einschließlich der nicht lebensfähigen, hin. Die Differenz zwischen der DEFT-Keimzahl und der APC-Keimzahl in Gewürzen, die mit Bestrahlungsdosen zwischen 5 kGy und 10 kGy behandelt worden sind, beträgt in der Regel etwa 3 bis 4 oder mehr logarithmische Einheiten. Ähnliche Differenzen zwischen der DEFT-Keimzahl und der APC-Keimzahl können auch durch andere Behandlungen der Lebensmittel bewirkt werden, die das Absterben der Mikroorganismen hervorrufen, z. B. Hitze; deshalb muss ein positiver Befund abgesichert werden.

Ein definiertes Probenvolumen wird unter reduziertem Druck durch ein Membranfilter filtriert, um die Mikroorganismen auf dem Filter zu konzentrieren. Die Mikroorganismen werden mit einem Fluorochrom, Acridinorange (AO), gefärbt, was zu einer orangefarbenen und gelborangefarbenen Fluoreszenz unter Beleuchtung mit Blaulicht bei 450 nm bis 490 nm führt. Diese Mikroorganismen werden unter Anwendung eines Epifluoreszenzmikroskops gezählt, was die DEFT-Keimzahl ergibt. Mikroorganismen, die vor der Bestrahlung nicht lebensfähig waren, zeigen hingegen eine grüne Fluoreszenz und werden nicht gezählt. Parallel wird die APC-Keimzahl aus einem zweiten Anteil der gleichen Untersuchungsprobe bestimmt [6] bis [10].

4 Chemikalien

4.1 Allgemeines

Bei der Untersuchung sind analysenreine Chemikalien zu verwenden. Alle bei der Keimzählung nach der DEFT- und APC-Technik verwendeten Reagenzien sollten durch Membranfiltration unter Verwendung von Membranfiltern von 0,2 µm Porenweite oder durch Autoklavieren sterilisiert werden.

4.2 Pepton-Natriumchlorid-Verdünnungslösung

4.2.1 Zusammensetzung

Natriumchlorid	8,5 g
Pepton	1,0 g
destilliertes oder demineralisiertes Wasser	1 000 ml

4.2.2 Herstellung

Die Bestandteile werden in Wasser gelöst. Der pH-Wert ist bei Bedarf so einzustellen, dass der endgültige pH-Wert bei 20 °C bis 25 °C nach dem Sterilisieren $7,2 \pm 0,2$ beträgt. Die Lösung wird 15 min im Autoklaven (5.13) bei $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ sterilisiert. Die Verdünnungslösung darf in einer Glasflasche bei 4 °C bis 6 °C bis zu 2 Wochen aufbewahrt werden.

4.3 Pufferlösung, pH = 3,0

4.3.1 Citronensäure-Lösung, Stoffmengenkonzentration $c(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}) = 0,1 \text{ mol/l}$

4.3.1.1 Zusammensetzung

Citronensäure-Monohydrat	21 g
destilliertes oder demineralisiertes Wasser	1 000 ml

4.3.1.2 Herstellung

Das Citronensäure-Monohydrat wird in Wasser gelöst. Die Lösung darf in einer sterilisierten Glasflasche bei 4 °C bis 6 °C bis zu 3 Monaten aufbewahrt werden.

4.3.2 Natriumhydroxid-Lösung, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$

4.3.2.1 Zusammensetzung

Natriumhydroxid	4,0 g oder
Natriumhydroxid-Lösung, 1 mol/l	100 ml
destilliertes oder demineralisiertes Wasser	900 ml

4.3.2.2 Herstellung

Das Natriumhydroxid wird in Wasser gelöst oder die Natriumhydroxid-Lösung wird mit Wasser verdünnt. Die Lösung darf in einer Glasflasche bei 4 °C bis 6 °C bis zu 3 Monaten aufbewahrt werden.