

Aus dem Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der  
Veterinärmedizin  
der Veterinärmedizinischen Universität Wien  
(Leiter: Univ. Prof. Dr. Michael Hess Dipl. ECPVS)

Abteilung für Hygiene und Technologie von Lebensmitteln  
(interimistischer Leiter: Univ. Prof. Dr. Martin Wagner Dipl. ECVPH)

## **Anwendung von atmosphärischem kaltem Plasma zur Bakterienreduktion auf Schneidbrettoberflächen**

Diplomarbeit

vorgelegt von

Florian Eschlböck

Wien, im November 2020

Betreuer

Ao. Univ. Prof. Dr. med. vet. Peter Paulsen Dipl. ECVPH

Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen

Gutachter

Dr. Beatrix Stessl

Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen

## **Inhaltsverzeichnis**

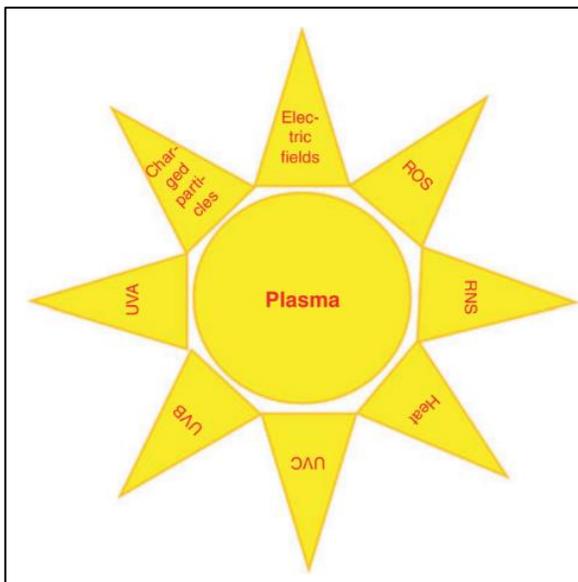
<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Was ist Plasma?	1
1.2 Arten von Plasma	2
1.3 Herstellung von kaltem atmosphärischem Plasma	3
1.4 Wirkmechanismen von kaltem atmosphärischem Plasma	3
1.5 Anwendungsgebiete von kaltem atmosphärischem Plasma	4
1.5.1 Anwendung in der Medizin	5
1.5.2. Anwendung in der Lebensmittelindustrie	6
1.6 Probleme der Behandlung mit kaltem atmosphärischem Plasma	7
1.7 <i>Listeria monocytogenes</i>	8
1.8 <i>Escherichia coli</i>	8
1.9 Fragestellung	10
<b>2. Material und Methode</b>	<b>11</b>
2.1 Probenoberflächen	11
2.2 Herstellung des Kontaminantencocktails (Inokulum)	11
2.3 Plasma-Erzeugung	11
2.4 Vorbereitung und Behandlung der Probenoberflächen	12
2.5 Mikrobiologische Untersuchung	14
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>15</b>
3.1. Ergebnisse Versuch 1	15
3.1.1 Ergebnisse für raue Oberflächen	15
3.1.2 Ergebnisse für glatte Oberflächen	17
3.2. Ergebnisse Versuch 2	20
3.2.1 Ergebnisse für raue Oberflächen	20
3.2.2 Ergebnisse für glatte Oberflächen	21
<b>4. Diskussion</b>	<b>23</b>
4.1 Wirkung auf raue Oberflächen	23
4.2 Wirkung auf glatte Oberflächen	24
4.3 Geräteeinstellungen	25

4.4 Einfluss der Temperaturänderungen	25
<b>5. Zusammenfassung und Summary</b>	<b>26</b>
5.1 Zusammenfassung	26
5.2 Summary	27
<b>6 Literaturverzeichnis</b>	<b>28</b>
<b>7. Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>34</b>
<b>8. Abbildung- und Tabellenverzeichnis</b>	<b>35</b>
8.1 Abbildungsverzeichnis	35
8.2 Tabellenverzeichnis	35

## 1. Einleitung

### 1.1 Was ist Plasma?

Weil ihn die Zusammensetzung von Plasma an jene des menschlichen Blutplasmas erinnerte, prägte Irving Langmuir den Begriff Plasma erstmals im Jahre 1928. Unter Plasma wird geladene, ionisierte gasförmige Materie verstanden, welche in der Physik als neuer vierter Aggregatzustand angesehen wird. Plasma wird aus einem Gas durch die Zufuhr von elektrischer oder thermischer Energie erzeugt (Heinlin et al. 2011). Genauer gesagt werden durch die Energiezufuhr aus den im Trägergas enthaltenen Molekülen und Atomen die Elektronen gelöst. Es kommt zu einer Umstrukturierung der Teilchen und die dabei wird Energie in Form von Wärme und UV-Strahlung abgegeben. Die elektrische Leitfähigkeit ist durch die freiwerdenden Elektronen gegeben (Tendero et al. 2006). In Plasma laufen über 200 chemische Reaktionen ab, in denen unter anderem reaktive Sauerstoff- ( $O$ ,  $O_3$ ,  $H_2O_2$ ...) und Stickstoffverbindungen ( $NO$ ,  $NO_2$ ...) sowie Radikale gebildet werden (Misra et al. 2017).



**Abb. 1:** Bestandteile von Plasma, entnommen aus Heinlin et al. (2011), Abkürzungen: RNS... Reaktive Stickstoffverbindungen, ROS ... reaktive Sauerstoffverbindungen.

Plasma kann nicht nur künstlich erzeugt werden, vielmehr ist es im ganzen Universum verbreitet. Es wird angenommen, dass über 99 % der sichtbaren Bestandteile des Universums auf natürlich entstehendes Plasma zurückgeführt werden können (Heinlin et al. 2010). In Abb. 1. sind die wichtigsten Bestandteile von Plasma abgebildet.

## **1.2 Arten von Plasma**

Grundsätzlich muss zwischen thermischem und nicht-thermischem (kaltem) Plasma unterschieden werden. Der physikalische Hintergrund liegt darin, dass bei thermischem Plasma alle Teilchen des Trägergases ionisiert werden, wohin gegen bei kaltem Plasma zum Großteil die Energie nur über die Elektronen geleitet wird. Bei der Ionisierung erwärmen sich die Teilchen, dabei können die Elektronen einzeln Temperaturen von mehreren tausend Grad Celsius aufweisen. Da diese aber im Vergleich mit den anderen Teilchen eine nur sehr geringe Masse aufweisen, erwärmt sich das Gas nur gering (Pankaj et al. 2018). Das bei Normaldruck erzeugte nicht-thermische Plasma wird als atmosphärisches kaltes Plasma bezeichnet (ACP). Dabei wird an zwei voneinander entfernte Elektroden Hochspannung angelegt und in dem elektrischen Feld zwischen den Elektroden kommt es zur Plasmabildung in dem dazwischenliegenden Gas. ACP kann nach der Produktionsweise in drei Typen unterteilt werden. Direktes Plasma verwendet die Haut bzw. eine andere nicht dem Gerät zugehörige Matrix als zweite Elektrode. Klassische „dielectric-barrier-discharge“ (DBD) Geräte sind ein Beispiel dafür. Indirektes Plasma wird hingegen durch zwei dem Gerät zugehörigen Elektroden erzeugt. Das entstehende Plasma wird durch ein Trägergas an die zu behandelnde Oberfläche geleitet. Es gibt viele verschiedene Gerätetypen wie z.B. „atmospheric pressure plasma jet“ (APPJ). Die dritte in der Praxis sehr bedeutende Methode ist das Hybrid Plasma, dabei werden direktes und indirektes Plasma kombiniert. Dabei wird der Bereich, auf dem ACP eingesetzt, wird keiner Spannung ausgesetzt. Es wird durch eine geerdete Metallplatte, die einen geringeren Widerstand als das behandelte Material bzw. Gewebe aufweist, ergänzt. Die entstehende Spannung und der damit einhergehende Stromfluss erfolgt durch die Metallplatte und nicht mehr durch das Objekt (Kong et al. 2009).

### 1.3 Herstellung von kaltem atmosphärischem Plasma

Neben den verschiedensten Geräten zur ACP Herstellung, wie z.B. dielectric-barrier discharge (DBD), atmospheric pressure plasma jet (APPJ), plasma pencil und plasma pen, können auch unterschiedliche Trägergase, wie etwa Luft, Stickstoff aber auch Gase wie Argon, Helium und Heliox (Gemisch aus Helium und Sauerstoff), zum Einsatz kommen (Hoffmann et al. 2013).

Das System der dielectric-barrier discharge (DBD) besteht aus zwei flachen gegenüberliegenden Metallplatten, mit einer dielektrischen Beschichtung, zwischen welchen sich das Trägergas befindet. Während eine Metallplatte geerdet ist, wird die andere an ein Hochspannungssystem angeschlossen. Durch die hohe Spannung wird das Trägergas ionisiert (Hoffmann et al. 2013). Einerseits haben DBD Plasma Systeme den Vorteil, dass sie größere Fläche bearbeiten können. Andererseits muss die behandelte Oberfläche glatt sein, um eine gut wirkende Plasmafunktion zu gewährleisten. Um die Vorteile von mehreren Systemen ausnützen zu können, gibt es schon einige Versuche mit kombinierten Plasmageräten (Kong et al. 2009).

Von Schütze et al. (1998) wurde erstmals ein APPJ System beschrieben. Dieses System setzt sich aus zwei konzentrisch angeordneten Elektroden zusammen. Zwischen diesen wird ein Gasfluss aus einem Gemisch von Sauerstoff, Helium und weiteren Gasen erzeugt (Schütze et al. 1998).

Mit Plasma „jets“ können nur sehr kleine Flächen, die auch eine rauere Oberfläche (Unebenheiten bis Millimeter) haben können, jedoch sehr intensiv behandelt werden. Größere Flächen können aber gleichzeitig behandelt werden, wenn mehrere solcher Jets zur Anwendung kommen (Kong et al. 2009).

### 1.4 Wirkmechanismen von kaltem atmosphärischem Plasma

Die antibakterielle Wirkung von ACP kann auf fünf Mechanismen zurückzuführen sein: Wärme, geladene Teilchen, reaktive Produkte, elektrische Felder und UV-Licht (Deng et al. 2006).

Grundsätzlich muss zwischen der Wirkung auf prokaryotische und eukaryotische Zellen unterschieden werden. Im Vordergrund steht hier die Wirkung auf prokaryotische Zellen, die sich hauptsächlich durch UV-Strahlung, ROS und RNS erklären lässt. UV-Strahlung mit einer Wellenlänge von um die 260 nm wirkt störend auf die Genexpression. Einerseits richtet UV-

Strahlung direkt durch Abgabe von Energie in den Zellen Schäden an. Andererseits wird durch indirekten Umbau von DNA-Molekülen die Genexpression gestört. Dies kann Mutationen oder sogar den Zelltod hervorrufen (Fridman et al. 2008; Kong et al. 2009). Die genaue Wirkung der reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen ist noch zum Großteil unerforscht. Es wird vermutet, dass diese Verbindungen Zellwandschädigungen und Lipidoxidation verursachen. Eine zentrale Rolle scheint Ozon in der antimikrobiellen Wirkung von ACP zu haben (Kong et al. 2009; Misra und Jo 2017; Thanomsub et al. 2002).

In Tab. 1 sind die wichtigsten bekannten biochemischen Vorgänge auf zellulärer Eben aufgelistet.

**Tab. 1:** Wirkung von Plasma auf Zellbestandteile, modifiziert nach Misra und Jo (2017)

<b>Zellbestandteil</b>	<b>Vorgang</b>
Proteine und Enzyme	Denaturierung Aminosäurenoxidation Enzyminaktivierung
Zellwand	Aufbrechen von Verbindungen Erosion durch Radikale Oberflächenzerstörung
Zellmembran	Zerstörung und Zusammenhangstrennungen → passierbar für Radikale
Nukleinsäuren	Schäden an DNA und RNA Verringerung der Zellteilungen
Fette und Fettsäuren	Lipidoxidation

### **1.5 Anwendungsgebiete von kaltem atmosphärischem Plasma**

Kaltes atmosphärisches Plasma findet aufgrund seiner Eigenschaften in vielen unterschiedlichen Gebieten Anwendung. Die Tatsache, dass für die Behandlung mit ACP kein Wasser benötigt wird,

stellt für Sterilisationsprozesse einen sehr großen Vorteil dar (Ziuzina et al. 2014). Die Anwendung von ACP zur Sterilisation erfolgt also trocken und ohne chemisch toxische Substanzen (Deilmann et al. 2008). Ein weiterer wesentlicher Punkt, der für die Verwendung von ACP spricht, ist unter anderem die Möglichkeit es auf temperaturempfindlichen Oberflächen anzuwenden.

Gerade das kalte atmosphärische Plasma hat großes Interesse in der Medizin hervorgerufen. In der Medizin wird es u.a. für Wundversorgung, Krebstherapien und insbesondere im Bereich der Dermatologie angewendet. Neben der Anwendung auf Gewebe wird ACP auch zur Sterilisierung von z.B. Implantaten und chirurgischem Besteck verwendet. Im Bereich der Lebensmittelindustrie wird ACP ebenso intensiv erforscht, dabei wird es vor allem zur Desinfizierung von Verpackungsmaterialien, Geräten und von Produktoberflächen selbst verwendet (Bernhardt et al. 2019; Fridman et al. 2008; Kong et al. 2009; Mir et al. 2016; Woedtke et al. 2014).

### **1.5.1 Anwendung in der Medizin**

Es wurden schon ACP Geräte für Forschungszwecke entwickelt, aber bis 2019 wurden nur drei ACP Geräte zur Anwendung zugelassen. Da viele unterschiedliche Geräte in der Forschung verwendet wurden ist es schwierig die Ergebnisse der unterschiedlichen Untersuchungen objektiv zu bewerten. 2016 wurde daher eine DIN SPEC 91315 von Mann et al. 2016 für die allgemeinen Anforderungen an ACP Geräten in der Medizin veröffentlicht, damit ist ein wichtiger Schritt für die weitere Entwicklung von medizinischen ACP Geräten getan (Mann et al. 2016, Bernhardt et al. 2019).

Die Anwendungsmöglichkeiten von ACP in der Medizin sind umfassend, in den letzten Jahren lag der Forschungsschwerpunkt jedoch in der Dermatologie. Daeschlein et al. (2012a) haben bei der Untersuchung von Keimzahlen von Fingerspitzen gesunder Testpersonen eine deutliche Reduktion durch die Behandlung mit sowohl DBD als auch APPJ Geräten feststellen können. Bei der Untersuchung der Mikrobiota auf Fingerspitzen wurden keine resistenten Keime detektiert, auch Unverträglichkeiten oder sonstige Nebenwirkungen durch die Behandlung mit ACP wurden dabei nicht festgestellt. Daeschlein et al. (2012a) sehen daher in ACP großes Potential zur zukünftigen Hautdesinfektion (Daeschlein et al. 2012a). Ebenso konnten sie in vitro eine deutliche Reduktion der meisten klinisch relevanten hautpathogenen Mikroorganismen durch ACP Behandlungen nachweisen (Daeschlein et al. 2012b).

Ein weiteres wichtiges Anwendungsgebiet ist die unterstützende Behandlung bei Wundheilungsstörungen, die aufgrund von bakteriellen Infektionen einhergehen. Mohd-Nasir et al. (2016) haben die Reduktion von drei Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MRSA) und vier *Pseudomonas aeruginosa* Isolaten, zwei Bakterien die häufig auf infizierten Wunden vorkommen, durch ACP untersucht. Ihre Ergebnisse zeigen eine Reduktion von 9 log sowohl bei *P. aeruginosa* als auch bei MRSA. (Mohd-Nasir et al. 2016). In Mäusen konnte eine Beschleunigung der Wundheilung festgestellt werden (Arndt et al. 2013; Schmidt et al. 2017). In humanen Zelllinien wurde in vitro eine kürzere Zellregeneration und am Patienten eine raschere Wundheilung beobachtet (Arndt et al. 2013; Heinlin et al. 2013).

Forschergruppen untersuchen weiters die Anwendungsmöglichkeiten von ACP zur Tumorbehandlung (Graves 2014; Keidar et al. 2011; Keidar et al. 2013).

### **1.5.2. Anwendung in der Lebensmittelindustrie**

In der Lebensmittelproduktion findet ACP seine experimentelle Anwendung am Produkt und auf Verpackungsebene (Mir et al. 2016).

Außerdem liegen zur Behandlung von Eischalen Berichte über erfolgreiche Keimzahlreduktionen vor (Moritz et al. 2017; Ragni et al. 2010). So konnte in einer Studie eine Reduktion von bis zu 4,5 log koloniebildende Einheiten/Eischale (kbE) von *Salmonella enteritidis* und *Salmonella typhimurium* gezeigt werden (Ragni et al. 2010).

Für die ACP Anwendung auf Milchprodukten liegen wenige Studien vor. Coutinho et al. 2018 präsentieren in einer Übersichtsarbeit einige Vor- und Nachteile. Die Autoren stehen dem Einsatz von ACP noch kritisch gegenüber. Aufgrund der Lipidoxidationen und möglicher Auswirkungen auf sensorische Attribute der Produkte besteht noch Forschungsbedarf hinsichtlich sensorischer Aspekte, möglicher Nährstoffverluste und der Lagerfähigkeit der Milchprodukte (Coutinho et al. 2018).

Darüber hinaus konnte bereits unter anderem bei Früchten (Lacombe et al. 2015; Misra et al. 2014; Niemira und SITES 2008), Nüssen (Basaran et al. 2008; Deng et al. 2007) ein antimikrobieller und fungizider Effekt beobachtet werden.

Intensiv wird die Anwendung von ACP auf Fleisch und Fleischerzeugnissen erforscht. Hier gibt es sehr unterschiedliche Angaben zur Wirksamkeit auf diesen Produkten. Wobei die meisten Autoren wiederum auf die Vielzahl unterschiedlicher Gerätetypen und die grundlegenden Unterschiede der Produkteigenschaften, von Frischfleisch bis hin zu hoch verarbeiteten Fleischerzeugnissen, verweisen. Die Anwendung unter bestmöglicher Erhaltung der Produkteigenschaften ist von größtem Interesse für alle Forschungsgruppen (Han et al. 2016; Lee et al. 2011; Noriega et al. 2011; Rød et al. 2012; Ulbin-Figlewicz et al. 2015).

Ein weiterer wichtiger Aspekt in der Lebensmittelindustrie sind die mit Lebensmittel in Kontakt tretenden Oberflächen, Werkzeuge und Verpackungen. In lebensmittelverarbeitenden Betrieben spielen Werkzeuge, die in direktem Kontakt mit den Lebensmitteln kommen, eine wichtige Rolle bei der Verbreitung von Krankheitserregern (Bauer et al. 2017; Leipold et al. 2010).

### **1.6 Probleme der Behandlung mit kaltem atmosphärischem Plasma**

Laut einem Gutachten der Deutschen Forschungsgemeinschaft aus dem Jahre 2012 ist die derzeitige Forschung momentan noch nicht so weit, um ACP behandelte Lebensmittel zum menschlichen Verzehr freizugeben. Die Abläufe, die auf Lebensmittel zur Inaktivierung von Mikroorganismen stattfinden, und die in Verbindung damit möglicherweise im Lebensmittel entstehenden Stoffe, sind noch nicht ausreichend hinsichtlich ihrer gesundheitlichen Relevanz erforscht. Ein großes Problem sehen die Autoren darin, dass es keine standardisierten Prozessparameter für die Behandlung mit ACP gibt. Als Ziel für die nächsten Jahre sehen sie, dass einheitliche Prozessparameter gefunden werden. Weiters sollten alle erforschten physikalischen, chemischen, biochemischen und mikrobiologischen Veränderungen an den behandelten Lebensmitteln berücksichtigt werden (DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft 2012). Außerdem sehen andere Autoren einen dringenden Aufholbedarf in der rechtlichen Regelung von Lebensmitteln, die mit ACP behandelt worden sind. Die Stellung von mit ACP oberflächenbehandelten Lebensmitteln sollte auf europäischer Ebene geregelt werden, da die derzeit gültigen Rechtsvorschriften keine eindeutige Regelung erkennen lassen (New Food Magazine <https://www.newfoodmagazine.com/article/98462/food-irradiation-legislation-in-the-eu/> Zugriff: 05.07.2021).

### **1.7 *Listeria monocytogenes***

Bei Listerien handelt es sich um kurze Gram positive stäbchenförmige Bakterien. *Listeria monocytogenes* ist die bei weitem relevanteste für Erkrankungen beim Menschen. Die durch sie hervorgerufene Krankheit, die Listeriose, kann sich durch viele unterschiedliche Symptome manifestieren, von eitrigen Meningoenzephalitiden bis hin zu Früh- bzw. Fehlgeburten bei Infektionen von schwangeren Frauen, in der Schweiz 2005, wird berichtet (Krämer 2011). Obwohl die meisten Listerien bei der Magenpassage durch ihre Säureempfindlichkeit abgetötet werden, erfolgt bei bis zu 99 % der Fälle die Infektion über die Nahrungsaufnahme (Krämer 2011; Kurpas et al. 2018). Listeriose kann bei Menschen in bis zu 20 bis 30 % der Fälle tödlich enden. Schwangere, Neugeborene, immunsupprimierte Personen und Senioren haben das größte Risiko an einer Listeriose zu erkranken (Jordan und McAuliffe 2018). In Österreich wurden im Jahr 2020 40 laborbestätigte Fälle an invasiver Listeriose gemeldet, wobei 12 Personen daran verstarben (AGES <https://www.ages.at/themen/krankheiteserreger/listerien/> Zugriff: 05.07.2021). Zwischen 2009 und 2010 hat ein Listeriose Ausbruch in Österreich und Deutschland für großes mediales Aufsehen gesorgt. Dabei sind durch kontaminierte Quargel insgesamt 35 Personen an Listeriose erkrankt, wobei 25 der Fälle in Österreich aufgetreten sind. Es sind acht Personen an den Folgen der Infektion verstorben (Pichler et al. 2011). Neben dem Menschen sind ebenso Tiere, insbesondere intensiv gehaltenes Nutzvieh, für Infektionen empfänglich (Krämer 2011).

### **1.8 *Escherichia coli***

Bei *Escherichia coli* handelt es sich um ein Gram negatives stäbchenförmiges Bakterium. Es ist das am häufigsten vorkommende als Kommensale lebendes Bakterium im menschlichen und tierischen Darm. Neben seiner Funktion als Darmkommensale ist es aber auch einer der wichtigsten pathogenen Keime. Grundsätzlich erfolgte die Einteilung von *E. coli* in unterschiedliche Serovartypen aufgrund der O und H Antigene. Heute erfolgt eine noch spezifischere Untersuchung durch Bestimmung bestimmter Virulenzfaktoren. Weiters kann zwischen intestinalen und extraintestinalen *E. coli* unterschieden werden (Niemera et al. 2018). In der Lebensmittelindustrie sind naturgemäß die intestinalen *E. coli* von Bedeutung, und hier vor allem enterohämorrhagische *E. coli* (EHEC). Die meisten EHEC Stämme, shigatoxin-bildende *E. coli* (STEC) bzw. verotoxin-bildende *E. coli* (VTEC), sind in der Lage Shigatoxin zu produzieren, was sie zu den virulenten *E.coli* macht. EHEC wird oft mit mangelhafter Küchenhygiene und

lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen in Verbindung gebracht. Ebenso von großer Bedeutung sind enteropathogene *E. coli* (EPEC), die oftmals Durchfallerkrankungen bei Kindern verursachen können (Allocati et al. 2013; Kaper et al. 2004). *E. coli* kommt ebenso häufig bei Tieren vor und besitzt hohes zoonotisches Potenzial. Insbesondere intensiv gehaltene Nutztiere haben oft mit Infektion durch pathogene *E. coli* zu kämpfen, wobei hier vor allem die aviären pathogenen *E. coli* (APEC) bei Nutzgeflügel eine Rolle spielen. Insbesondere Wiederkäuer wurden als natürliches Erregerreservoir, häufig ohne klinische Symptomatik, beschrieben. Nahrungsmittel von Nutztieren können so in die Lebensmittelkette eingebracht werden. Zusätzlich werden immer öfter auf antibiotische Wirkstoffe resistente *E. coli* Stämme gefunden (Davies und Wales 2019; Bandyopadhyay und Samanta 2020). Dadurch gerät die Landwirtschaft und vor allem auch die Veterinärmedizin immer mehr unter Druck (Allocati et al. 2013; Caprioli et al. 2005; Szmolka und Nagy 2013). Neben Lebensmittel tierischen Ursprungs können auch pflanzliche Lebensmittel mit *E. coli* kontaminiert sein. Besonders Rohkostprodukte wie Gemüse und verzehrfertige („ready-to-eat“) Produkte stellen oftmals große Gefahr für den Konsumenten dar (EFSA 2011).

In Österreich wurden im Jahr 2019 286 Infektionen mit VTEC durch Laboruntersuchungen bestätigt. Die Zahl der Infektionen stieg in Österreich in den letzten Jahren stark an. 2017 wurden 275 Fälle und 2018 sogar 310 Fälle bestätigt. Bis 2015 wurden aber nie mehr als 130 Fälle pro Jahr beobachtet (AGES <https://www.ages.at/themen/krankheitserreger/escherichia-coli-inklusive-verotoxin-bildende-e-coli-vtec/> Zugriff: 14.10.2020).

## 1.9 Fragestellung

Das Ziel dieser Arbeit war es die Hypothese „kaltes atmosphärisches Plasma kann die Bakterienzahl auf Kunststoff-Schneidbrettern verringern“ zu testen.

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob im Vergleich mit unbehandelten Kontrollen Reduktionen der Keimzahlen ( $> 1$  log Einheit) von *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua* und zwei Isolaten von *E. coli* auf einem Kunststoffschneidbrett aus Polyethylen mit der Behandlung von ACP erzielt werden können. Leipold et. al. (2009) konnten Reduktionen von bis zu 5 log Einheiten von *Listeria innocua* mit einem DBD Plasmagerät auf einem Messer (Metall) einer Wurstschneidmaschine zeigen. Mit dem auf dem Institut für Fleischhygiene der Veterinärmedizinischen Universität Wien befindlichen ACP Gerät (DBD) konnten schon in vorangegangenen Versuchen Keimzahlreduktionen auf Verpackungsmaterial nachgewiesen werden (Bauer et al. 2017).

## **2. Material und Methode**

### **2.1 Probenoberflächen**

Es wurden Oberseiten und Unterseiten von gebrauchten Kunststoffschneidbrettern (Polyethylen; Fa. Bertsch-Laska, Wien) verwendet. Die Oberseiten (raue Oberflächen) wiesen, wie es in Produktionsbetrieben üblich ist, Gebrauchsspuren auf (Kerben bis zu 0,5 mm Tiefe). Die Unterseiten (glatte Oberflächen) entsprachen neuwertigen Oberflächen.

### **2.2 Herstellung des Kontaminantencocktails (Inokulum)**

Um die Oberflächen gezielt kontaminieren zu können, wurden zuerst die folgenden Isolate für 24 h bei 37 °C angezüchtet: *E. coli* (NCTC 9001 und ATCC 11303), *Listeria monocytogenes* (NCTC11994 und Eigenisolat Nr. 17001), *Listeria innocua* (Eigenisolate Nr. 16777, 16908-2). Für *E. coli* wurde gepuffertes Peptonwasser (Oxoid CM1049; Oxoid, Basingstoke, UK) und für *Listeria* wurde Brain Heart Infusion (BHI) (Merck 110493; Merck, Darmstadt, D) als Medium zur Anzucht verwendet. Die 24-Stunden-Kulturen wurden in 0,89%iger steriler Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt. Von diesen Suspensionen wurden die Keimdichten durch Anlegen von dezimalen Verdünnungsreihen in Kochsalz-Pepton-Lösung (MRD, Oxoid CM0733) und Ausplattieren von je 0,1 ml auf Plate-Count Agar (Merck 105463) nach Bebrütung bei 37 °C, für 24 h bestimmt. Die 1:10 Suspensionen wurden zwischenzeitlich bei 0–2 °C aufbewahrt. Unter Berücksichtigung der ermittelten Keimdichten wurden die Suspensionen auf ca. 6 log kbE/ml für *Listerien* und *E. coli* eingestellt. Die Einzelkulturen wurden gemischt und damit die Proben inokuliert (100 µl).

### **2.3 Plasma-Erzeugung**

Das für die Versuche verwendete kalte Plasma wurde unter Normaldruck aus Luft produziert. Das Gerät zur Plasmaerzeugung setzte sich aus einem Netzgerät, einem Hochspannungstransformator und den Plasmaelektroden zusammen. Das Netzgerät (Gwinstek programmable DC power supply PSP-603) diente zum stufenlosen Verstellen der Stromstärke (bis 3,5 A) und der Spannung (bis 60 V, Gleichspannung). Die Elektroden bestanden aus einem gelochten Edelstahlblech und einer Kupferplatte und waren durch eine Glimmerschicht als

Dielektrikum getrennt („dielectric-barrier-discharge“). Die Elektrodenfläche betrug  $8 \times 8 \text{ cm}^2$ . Das Gerät ist ein Prototyp der University of Liverpool und wurde von Bauer et al. (2017) genauer beschrieben. Stromstärke und Spannung in Hochspannungskreis wurden mit einem Oszilloskop (Agilent technologies digital storage oscilloscope DSO 1052B) mittels entsprechender Tastköpfe und Stromwandler kontinuierlich gemessen, dabei wurde insbesondere auf Abweichungen der Kurven von der Sinusform geachtet, um Funkenüberschläge zwischen den Elektroden und damit eine Unterbrechung der Plasmaerzeugung erkennen zu können.

Die Versuche wurden mit zwei unterschiedlichen Geräteeinstellungen durchgeführt. In Tab. 2 sind die für die Versuche verwendeten Geräteeinstellungen dargestellt. Der Abstand der Plasmaelektrode von den zu behandelnden Flächen betrug 15 mm. Alle Versuche wurden mit einer Behandlungszeit von fünf Minuten durchgeführt.

**Tab. 2:** Geräteeinstellungen für die Cold Plasma Erzeugung, nach Bauer et al. (2017)

	Eingang (Netzteil; Gleichspannung)		Ausgang Hochspannungsteil	
	Spannung ( $V_{in}$ )	Leistungs- aufnahme ( $W_{in}$ )	Ausgangs- Spannung ( $V_{pp}$ )	Abgabe- leistung ( $P_{out}$ )
High Power, „H“	31,70 V	~29,9 W	~9,44 kV	25 W
Low Power, „L“	25,68 V	~20,7 W	~8,16 kV	18 W

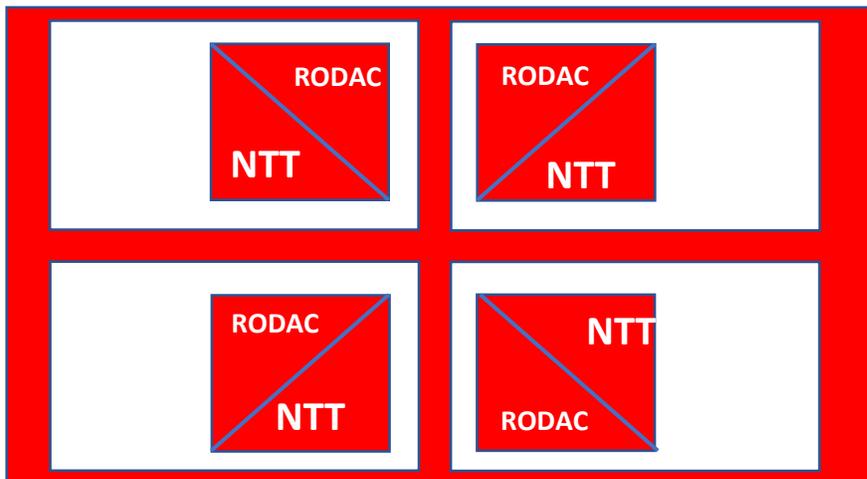
## 2.4 Vorbereitung und Behandlung der Probenoberflächen

Die Schneidbretter wurden bei  $90 \text{ }^\circ\text{C}$  in einem Labor-Geschirrspüler Miele G7883 (Miele, Gütersloh, D) gewaschen und anschließend luftgetrocknet. Auf die gewaschenen Schneidbretter wurden je vier Teflonschablonen, mit einer vordefinierten  $10 \times 10 \text{ cm}$  großen Öffnung, aufgelegt und durch Klebeband fixiert. Dadurch entstanden vier zu beprobende Felder mit je  $100 \text{ cm}^2$ . Diese wurden wiederum durch eine Diagonale getrennt. Die schematische Anordnung der Felder ist in Abb. 2 illustriert. Die diagonal verlaufende Trennlinie wurde so gewählt, dass bei den rauen Oberflächen die beiden entstandenen Dreiecke in etwa die gleichen Gebrauchspuren aufwiesen. In die entstandenen acht Flächen wurden je  $0,1 \text{ ml}$  des zuvor hergestellten Inokulums (siehe Kapitel 2.2) aufgebracht und mit einem sterilen Drigalskispatel auf einer Fläche von ca.  $10 \text{ cm}^2$

verteilt. Das aufgebrauchte Inokulum war mit dem Spatel gut verteilbar und es wurde die Oberfläche gleichmäßig benetzt.

Bei Versuch 1 wurde ein Feld als Kontrolle inokuliert und nach zwei Minuten Einwirkzeit ohne ACP Behandlung beprobt. Die anderen drei Felder wurden inokuliert und nach zwei Minuten Einwirkzeit je fünf Minuten mit ACP behandelt und anschließend beprobt.

Der Versuch zwei wurde je mit zwei Kontrollen und zwei ACP behandelten Probenfeldern pro Schneidbrett (5 Bretter mit rauen und 2 mit glatten Oberflächen) durchgeführt. Zusätzlich wurde bei Versuch 2 auf das Verwenden von Teflonschablonen verzichtet, da sich in Versuch 1 gezeigt hatte, dass die inokulierten Flächen nach fünf Minuten Einwirkzeit immer noch gut abgrenzbar waren. Mit dem Infrarotthermometer testo 831 (testo AG, Lenzkirch, D) wurde bei Versuch 2 zusätzlich die Oberflächentemperatur der beiden mit ACP behandelten Flächen unmittelbar vor und nach der Behandlung gemessen. Ansonsten wurden alle Vorgänge von Versuch 1 beibehalten.



**Abb. 2:** Probenflächen an den Schneidbrettern und Angabe der Probennameverfahren

Rot ... Schneidbrettfläche; weiß ... Teflonschablone; NTT... Nass-Trocken Tupfertechnik; RODAC ... Agarkontaktverfahren

## 2.5 Mikrobiologische Untersuchung

Die Probennahme erfolgte mit der Nass-Trocken-Tupfertechnik (NTT) und dem RODAC-Agarkontaktverfahren (unter Anwendung des Count-tact Applikators; Biomerieux, Marcy l'Etoile, F), s.a. Abb. 2. Für das NTT wurde die Probenfläche mit je einem mit MRD angefeuchtetem und einem trockenen Tupfer (Steriltupfer mit Holzstiel und kleinem Baumwollkopf; Herenz, Hamburg, D) unter drehenden Bewegungen abgerieben und die beiden Tupferköpfe dann in 10 ml MRD 60 sec. mit dem Vortex (IKA VF2; Janke&Kunkel, Staufen, D) geschüttelt und dann dezimale Verdünnungsreihen in MRD angelegt. Zur Bestimmung von *E. coli* wurde VRBD Agar (Merck 110275) und für Listerien Oxoid-Chromogenic-Listeria-Agar (OCLA) (Oxoid CM1084) im Oberflächenspatelverfahren beimpft und die Kolonien nach 24 h Bebrütung bei 37 °C (VRBG) bzw. 48 h bei 37 °C (OCLA) gezählt. Die Ergebnisse wurden in koloniebildenden Einheiten/cm<sup>2</sup> (kbE/cm<sup>2</sup>) angegeben und in Diagrammen dargestellt. Die Ergebnisse der RODAC Agarplatten (VRBG und PCA) wurden in Kolonien/RODAC Agarplattenfläche angegeben und in Tabellen eingetragen (siehe Kap. 3); zu beachten ist dabei, dass dieselbe Fläche zuerst mit dem Gesamtkeimzahl- und dann mit dem Enterobakterien Nährboden beprobt wurde. Da aus Vorversuchen bekannt war, dass die Probenflächen nach der 90 °C Reinigung praktisch keimfrei sind, konnte zur Bestimmung der *E. coli* der an sich unselektivere Enterobakterien Nährboden VRBD verwendet werden. Bei der Zählung der Listerien wurde auf das Verhältnis hofbildender zu nicht-hofbildenden Kolonien geachtet. Ergebnisse unterhalb der Nachweisgrenze des NTT wurden wie eine Keimzahl von 9/cm<sup>2</sup> bzw. 0,95 log kbE/cm<sup>2</sup> gewertet. Die Ergebnisse wurde nur deskriptiv-statistisch ausgewertet, und beurteilt, ob eine Reduktion der Keimzahlen um zumindest den Faktor 10, d.h. 1 log-Stufe erzielbar war.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Ergebnisse Versuch 1

##### 3.1.1 Ergebnisse für raue Oberflächen

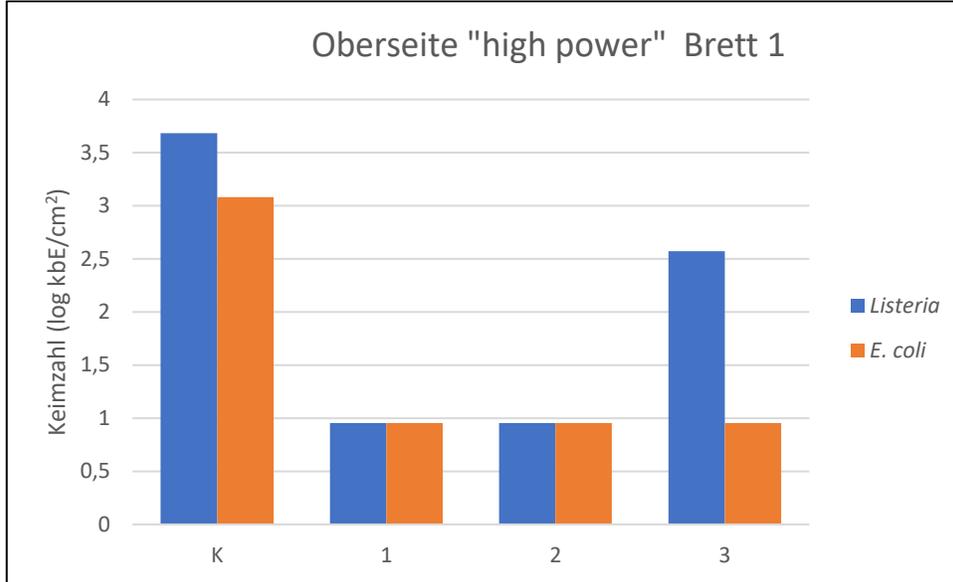
Bei Brett 1 (raue Oberfläche) wurden die in Tab. 3 und Abb. 3 dargestellten Ergebnisse erhalten. Sowohl mit dem NTT (Abb. 3) als auch mit dem RODAC Agarkontaktverfahren (Tab. 3) ergab sich ein Unterschied zwischen der Kontrollprobe K und den drei ACP behandelten Proben.

Bei der Beprobung mittels RODAC Agarkontaktverfahren war eine Bakterienreduktion bei 2 der 3 Proben sehr deutlich ausgeprägt. Bei der Probennahme mittels NTT zeigten sich bei allen drei Probenfeldern Reduktionen von *E. coli* von  $>2,13 \log \text{ kbE/cm}^2$ . Die Keimzahl der Listerien wurde bei den Feldern eins und zwei um je  $>2,73 \log \text{ kbE/cm}^2$ , bei Feld drei um  $1,11 \log \text{ kbE/cm}^2$ , verringert.

**Tab. 3:** Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der Kontrollfläche K und von drei Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz.

	RODAC Gesamtkeimzahl Kolonien/Gesamtfläche	RODAC <i>E. coli</i> Kolonien/Gesamtfläche
K	Rasen	Rasen
1	3	1
2	4	3
3	130	5

Rasen: konfluierende Kolonien, nicht auswertbar

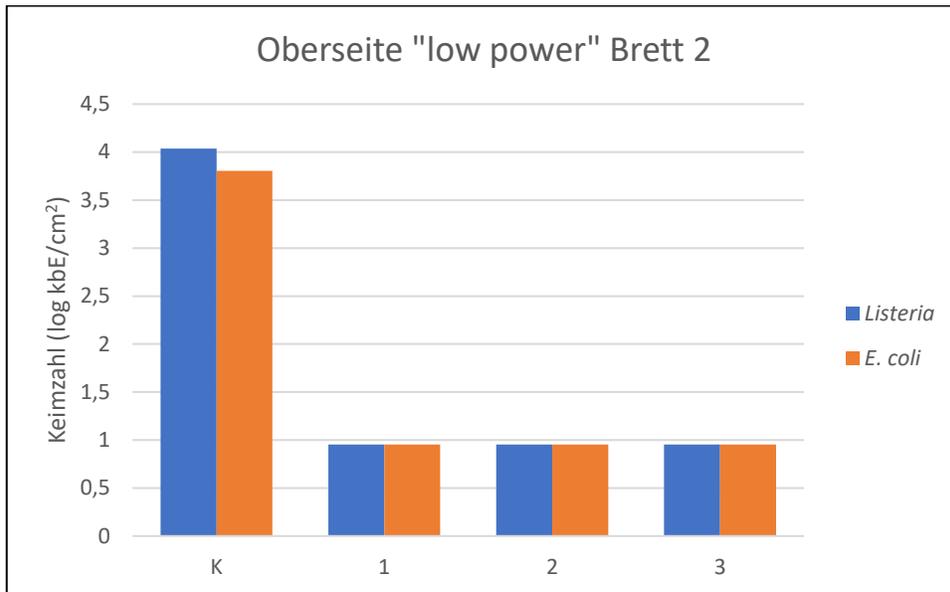


**Abb. 3:** Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in log kbE/cm<sup>2</sup>) der Kontrollfläche K und von drei Probenflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfer-Verfahren. Ergebnisse unter der Nachweisgrenze von 1 log sind als 0,95 log dargestellt.

Bei Brett 2 wurde die raue Oberseite mit „high power“ ACP behandelt. Im Vergleich zum Kontrollfeld K konnte ebenfalls eine deutliche Reduktion der Keimzahlen mit dem RODAC Agarkontaktverfahren (Tab. 4) und der NTT (Abb. 4) festgestellt werden. Auf allen drei behandelten Probenflächen waren die Keimzahlen unter der Nachweisgrenze des NTT-Verfahrens, was Reduktionen von Listerien >3,08 log kbE/cm<sup>2</sup> und von *E. coli* >2.85 log kbE/cm<sup>2</sup> entsprach.

**Tab. 4:** Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der Kontrollfläche K und von 3 Probenflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz; Ergebnisse unter der Nachweisgrenze von 1 log sind als 0,95 log dargestellt.

	RODAC Gesamtkeimzahl Kolonien/Gesamtfläche	RODAC <i>E. coli</i> Gesamtkeimzahl Kolonien/Gesamtfläche
K	Rasen	Rasen
1	14	1
2	7	2
3	35	3



**Abb. 4:** Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in log kbE/cm<sup>2</sup>) der Kontrollfläche K und von 3 Probestellen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „low power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfer-Verfahren. Ergebnisse unter der Nachweisgrenze von 1 log sind als 0,95 log dargestellt

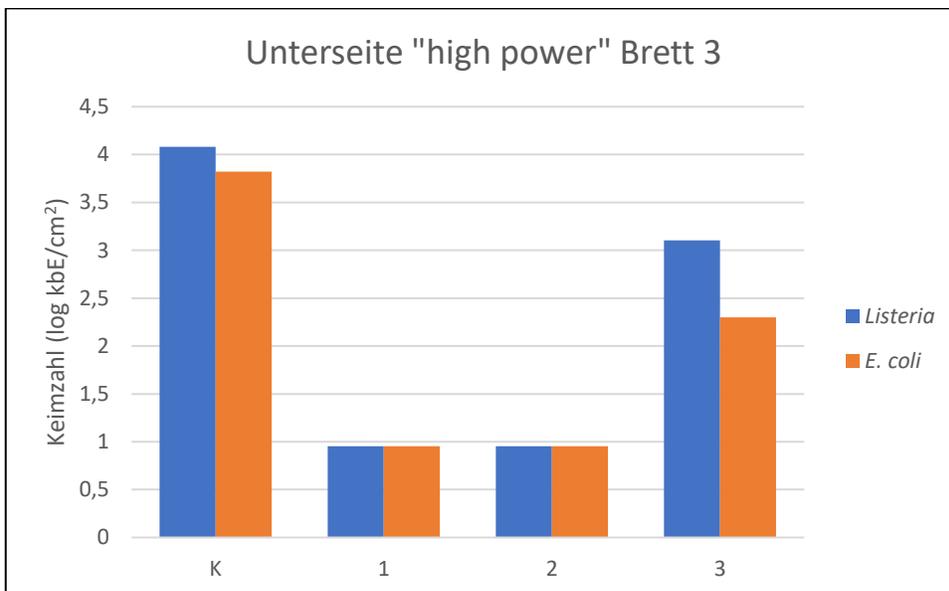
### 3.1.2 Ergebnisse für glatte Oberflächen

Das aufgebrachte Inokulum war mit dem Spatel verteilbar, es wurde die Oberfläche aber nicht gleichmäßig benetzt, sondern es bildeten sich Flüssigkeitstropfen.

Bei Brett 3 wurde die Unterseite (glatte Oberfläche) mit „high power“ behandelt. Dabei konnte bei der Gesamtkeimzahl mit der RODAC Agarkontaktmethode keine Veränderung festgestellt werden. Sehr wohl wurde allerdings eine Reduktion der *E. coli* Keimzahl mittels der RODAC Agarkontaktmethode beobachtet (Tab. 5). Die Beprobung mittels NTT Verfahrens zeigte bei Feld 1 und 2 bei den Listerien und *E. coli* eine deutliche Reduktion. Es wurde bei *E. coli* eine Reduktion von >2,87 log kbE/cm<sup>2</sup> und den Listerien von >3,13 log kbE/cm<sup>2</sup> festgestellt. Bei Feld drei wurde eine nicht so deutliche, bei den Listerien 0,98 log kbE/cm<sup>2</sup> und den *E. coli* 1,52 log kbE/cm<sup>2</sup>, Verringerung erzielt (Abb. 5).

**Tab. 5:** Kunststoffschneidbrett, glatte Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der Kontrollfläche K und von 3 Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz

	RODAC Gesamtkeimzahl Kolonien/Gesamtfläche	RODAC <i>E. coli</i> Kolonien/Gesamtfläche
K	Rasen	Rasen
1	Rasen	1
2	Rasen	0
3	Rasen	4

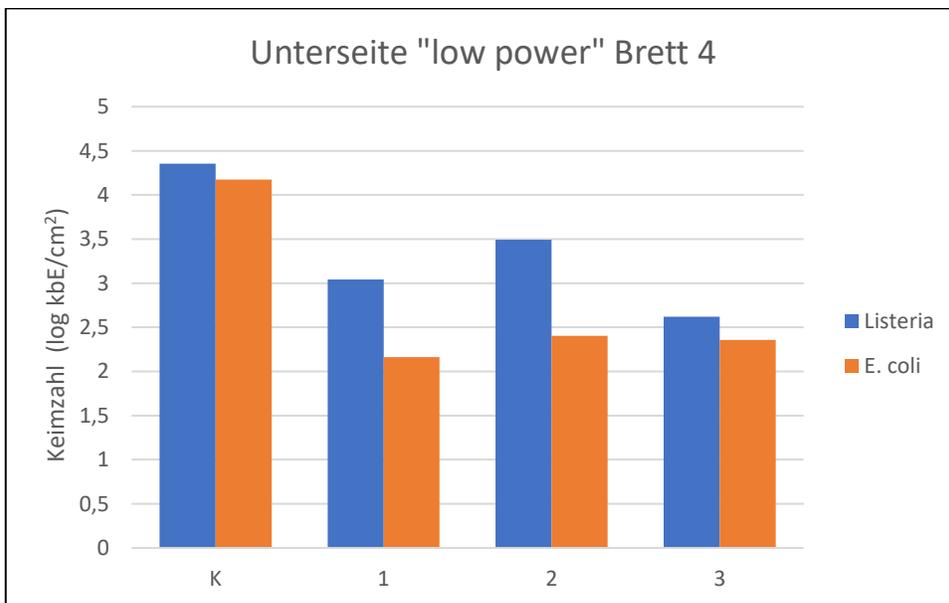


**Abb. 5:** Kunststoffschneidbrett, glatte Oberfläche, Keimzahlen (in log kbE/cm<sup>2</sup>) der Kontrollfläche K und von 3 Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfer-Verfahren. Ergebnisse unter der Nachweisgrenze von 1 log sind als 0,95 log dargestellt.

Bei Brett 4 konnte einerseits keine Reduktion der Gesamtkeimzahl mit dem RODAC Agarkontaktverfahren beobachtet werden, andererseits sehr wohl bei allen RODAC Platten mit *E. coli* (Tab. 6). Die Ergebnisse der NTT zeigten im Vergleich zur Kontrolle sowohl bei den *Listeria* als auch den *E. coli* eine deutliche Verringerung von 0,9–1,8 log bzw. bis zu 2 log Einheiten (Abb. 6).

**Tab. 6:** Kunststoffschneidbrett, glatte Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der Kontrollfläche K und von drei Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „low power“, 15 mm Distanz.

	RODAC Gesamtkeimzahl Kolonien/Gesamtfläche	RODAC <i>E.coli</i> Kolonien/Gesamtfläche
K	Rasen	Rasen
1	Rasen	10
2	Rasen	3
3	Rasen	10



**Abb. 6:** Kunststoffschneidbrett, glatte Oberfläche, Keimzahlen (in log kbE/cm<sup>2</sup>) der Kontrollfläche K und von 3 Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „low power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfertechnik.

### 3.2. Ergebnisse Versuch 2

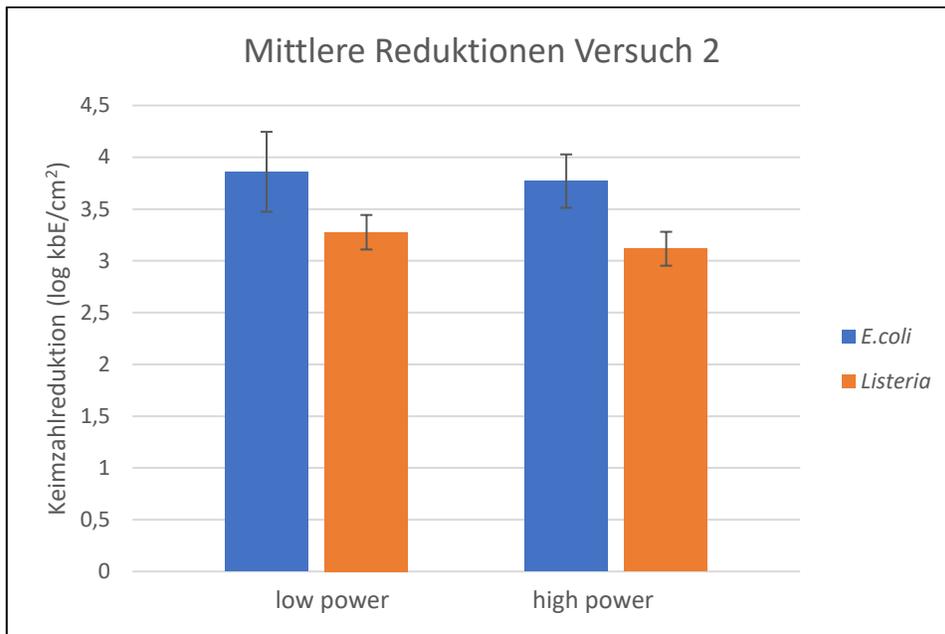
#### 3.2.1 Ergebnisse für raue Oberflächen

Auch bei Versuch 2 konnten die rauen Oberflächen mit dem Inokulum gleichmäßig benetzt werden.

Bei Versuch 2 wurden Reduktionen von *E. coli* bis unter die Nachweisgrenze bei den Schneidbrettern 1–5 mit dem NTT nachgewiesen. Bei den Brettern 1,3,4 und 5 wurden Reduktionen von *Listeria* ebenfalls bis unter die Nachweisgrenze beobachtet, einzig bei Brett 2 wurde eine Keimzahl von 10 Listerien/cm<sup>2</sup> ermittelt. Es wurden Reduktionen von *Listeria* von 3,04 bis 3,49 log kbE/cm<sup>2</sup> mit „low power“, und von 2,92 bis 3,32 log kbE/cm<sup>2</sup> mit „high power“ erreicht. Bei *E. coli* konnten mit „low power“ Reduktionen von 3,17 bis 4,09 log kbE/cm<sup>2</sup> und mit „high power“ von 3,39 bis 4,04 log kbE/cm<sup>2</sup> festgestellt werden. In Abb. 7 sind die mittleren Reduktionen mit den Standardabweichungen dargestellt. Bis auf die mit „low power“ behandelte Probe von Schneidbrett 1 war bei allen RODAC Agarplatten sowohl bei der Gesamtkeimzahl als auch bei den *E. coli* eine Reduktion zu sehen. Die Ergebnisse der RODAC Agarkontaktmethode sind in Tab. 7 dargestellt. Die Ergebnisse für die Kontrollfelder sind in dieser Tabelle nicht enthalten, da auf jeder Platte die Ergebnisse zu zahlreich zum Zählen waren.

**Tab. 7:** Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der fünf Schneidbretter nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „low power“ bzw. „high power“, 15 mm Distanz.

Brett	„Low power“		„High power“	
	RODAC Gesamtkeimzahl Kolonien/Gesamtfläche	RODAC <i>E. coli</i> Kolonien/Gesamtfläche	RODAC Gesamtkeimzahl Kolonien/Gesamtfläche	RODAC <i>E. coli</i> Kolonien/Gesamtfläche
1	Rasen	16	5	3
2	8	8	145	100
3	150	80	76	45
4	8	4	8	35
5	1	60	1	1



**Abb. 7:** Kunststoffschneidbretter, raue Oberflächen, mittlere Reduktionen der Keimzahlen (log kbE/cm<sup>2</sup>) mit Standardabweichung, der Probenfelder im Vergleich zu den Kontrollen, 5 min. ACP Behandlungszeit mit „low power“ bzw. „high power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfer-Verfahren.

### 3.2.2 Ergebnisse für glatte Oberflächen

Das aufgebrachte Inokulum war mit dem Spatel verteilbar, es wurde die Oberfläche aber nicht gleichmäßig benetzt, sondern es bildeten sich Flüssigkeitströpfchen.

Alle mit dem NTT gefundenen Keimzahlen bei Brett 6 lagen wiederum unterhalb der Nachweisgrenze. Im Vergleich mit den Kontrollfeldern wurden Reduktionen bei *E. coli* von 4,59 log kbE/cm<sup>2</sup> und 4,61 log kbE/cm<sup>2</sup> mit „low power“ ACP Behandlung, und von 4,51 log kbE/cm<sup>2</sup> und 4,72 log kbE/cm<sup>2</sup> mit „high power“ ACP Behandlung beobachtet. Die Keimzahl von *Listeria* konnte mit „low power“ ACP Behandlung um 3,45 log kbE/cm<sup>2</sup> bzw. 3,53 log kbE/cm<sup>2</sup> reduziert werden. Mit „high power“ ACP Behandlung wurden Verringerungen von 3,22 log kbE/cm<sup>2</sup> und 3,65 log kbE/cm<sup>2</sup> erzielt. Bei allen RODAC Platten, sowohl bei der Gesamtkeimzahl als auch bei den *E. coli*, wurde Rasenwachstum festgestellt.

Einerseits konnte bei Brett sieben bei allen mit „high power“ ACP behandelten Feldern mit dem NTT keine bzw. nur eine sehr geringe Reduktion von *Listeria* und *E. coli* festgestellt werden. Die

Verringerung der Keimzahl von *E. coli* betrug auf beiden behandelten Feldern nur 0,12 log kbE/cm<sup>2</sup> und 0,62 log kbE/cm<sup>2</sup>. Auf einem beprobten Feld wurde sogar eine höhere Keimzahl von *Listeria* gefunden, als auf der zugehörigen Kontrolle. Andererseits ließen sich bei den Probenfeldern mit „low power“ ACP Behandlung Keimzahlreduktionen, bei den *E. coli* von 3,22 log kbE/cm<sup>2</sup> und 4,74 log kbE/cm<sup>2</sup> bzw. bei *Listeria* 1,75 log kbE/cm<sup>2</sup> und 3,48 log kbE/cm<sup>2</sup>, nachweisen. Auch auf allen genommenen RODAC Platten konnte keine Reduktion (=Rasenwachstum) beobachtet werden.

### **3.2.3 Ergebnisse der Temperaturmessungen**

Die Oberflächentemperatur betrug vor Beginn der ACP Exposition 23,0–23,9°C und unmittelbar nach Ende der fünfminütigen ACP Exposition 28,1–29,2°C.

## 4. Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es die antibakteriellen Effekte von kaltem atmosphärischem Plasma auf lebensmittelberührenden Oberflächen zu zeigen. Bei insgesamt 86 % der Proben mittels NTT konnte eine Keimzahlreduktion, > 1 log, festgestellt werden. Bei den Proben des RODAC Agar Kontaktverfahrens konnte eine Reduktion bei 84 % der Proben beobachtet werden. Bei allen untersuchten Proben, bis auf Brett 7, konnten bei 100 % der Proben von *E. coli* Reduktionen, >1 log und bis zu 4,72 log, festgestellt werden. Diese eigenen Ergebnisse erweitern Literaturangaben: Li et. al. (2012) berichten von einer Reduktion von *E. coli* von 5 log-Stufen, bei einer Einwirkzeit von 30 sec. Auch Liao et al. 2018 berichten von einer Reduktion > 4 log von *E. coli* mit einem DBD ACP Gerät in Apfelsaft und Gurol et al. 2012 konnten Reduktionen >3 log von *E. coli* in Milch beobachten (Liao et al. 2018; Gurol et al. 2012). Mit Plasma-Jet Geräten war sogar eine Inaktivierung von in Biofilmen geschützten Salmonellen nachweisbar. (Niemira et al. 2014). Bei *Listeria* konnten Reduktionen von bis zu 3,64 log in 90 % der Proben ermittelt werden. Wobei nicht zwischen *L. innocua* und *L. monocytogenes* unterschieden wurde. Diese Ergebnisse finden sich an anderen Arbeiten auch beschrieben: Patange et al. 2019 beschreiben eine signifikante Reduktion durch die ACP Behandlung von *Listeria monocytogenes* Kulturen (Patange et al. 2019). Es scheinen aber viele unterschiedliche Faktoren auf die effektive Wirkung von ACP Einfluss zu haben, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse erschwert (Csadek et al. 2021). Die Ergebnisse haben unsere Erwartungen erfüllt und die antimikrobielle Wirkung von ACP auf Schneidbrettern gezeigt, wobei für den Einsatz von ACP in der Praxis noch weitere Untersuchungen durchgeführt werden müssen.

### 4.1 Wirkung auf raue Oberflächen

Einerseits könnte durch die Oberflächenvergrößerung der rauen Oberseite, bedingt durch die vielen Kerben, die Effektivität der ACP gesteigert werden, andererseits kann die Wiederfindung der Bakterien durch die Vertiefungen durch die NTT oder das RODAC Agarkontaktverfahren verringert sein. Allerdings konnte bei allen ACP behandelten, sowohl mit „low power“, als auch „high power“, Flächen auf den rauen Oberflächen ein keimzahlreduzierender Effekt (>1 log Einheit) auf *E. coli* und *Listeria* beobachtet werden. Bis auf eine Verringerung von *Listeria* bei

Versuch 1 (Brett 2, Feld 3) mit „high power“ ACP Behandlung um  $1,11 \log \text{ kbE/cm}^2$ , wurden sogar stets Reduktionen über  $2,13 \log \text{ kbE/cm}^2$  erzielt. Im Vergleich mit den anderen RODAC Platten von Versuch 1 wies die RODAC-Gesamtkeimzahlagarplatte (Brett 2, Feld 3) eine höhere Keimzahl auf, während die *E. coli* Zahl ähnlich denen der anderen beiden Felder auf Brett 2 war. Dies spricht eher dafür, dass auf diesem Feld der keimzahlreduzierende Effekt tatsächlich geringer war, als auf den anderen Feldern. Der antibakterielle Effekt der ACP Behandlung auf rauen Oberflächen war bei Versuch 2 auf den Schneidbrettern 1–5 noch deutlicher. Nur ein Feld wies eine nachweisbare, dennoch um  $3,23 \log \text{ kbE/cm}^2$  niedrigere, Keimzahl von *L. innocua* und *L. monocytogenes* nach vorangegangener ACP Behandlung auf. Es wurden sogar Reduktionen bis über 4 log Einheiten bei *E. coli* und bis 3,5 log Einheiten bei *Listeria* erzielt. Die Ergebnisse der RODAC Agarkontaktmethode bestätigten zumeist die durch das NTT beobachteten Keimzahlreduktionen. Die doch sehr schwankenden Ergebnisse der RODAC Agarkontaktmethode sind wohl auf die schon besprochenen Oberflächeneigenschaften (Kerben bis 0,5 mm Tiefe) zurückzuführen. Obwohl ein standardisierter Abklatsch durch den Count-tact Applikator gegeben war, können auch individuelle Fehlerquellen, wie z.B. schiefes Aufsetzen, Verrutschen während dem Aufsetzen, etc., nicht ausgeschlossen werden. Zusammenfassend lässt sich durch die Ergebnisse sagen, dass ein sehr guter antibakterieller Effekt, der über unseren Erwartungen lag, von ACP auf rauen Kunststoffschneidbrettoberflächen beobachtet wurde. Im Gegensatz zu den glatten Oberflächen war das Inokulum gleichmäßiger und als dünner Film verteilt, was wahrscheinlich die Wirkung der Plasma-Gasspezies verbessert hat, da die Diffusionsstrecke zu den Bakterien kürzer ist.

#### **4.2 Wirkung auf glatte Oberflächen**

Die mittlere Reduktion bei *E. coli* lag um 1,38 log höher als bei *Listeria*, dies könnte mit der erhöhten Kontrollkeimzahl von *E. coli* der Felder, die um ca. diesen Wert höher lag, zusammenhängen. Die Oberflächenstruktur der behandelten Oberflächen scheint maßgebend für die Wirksamkeit von ACP zu sein. Glatte Oberflächen können prinzipiell besser und effektiver mit ACP behandelt werden. Bei Versuch 2 auf dem Schneidbrett 7 konnte mit „high power“ ACP Behandlung keine eindeutige Reduktion, immer  $<0,63 \log \text{ kbE/cm}^2$ , erzeugt werden. Im Vergleich mit anderen Arbeiten war das sehr überraschend. Eine mögliche Erklärung ist, dass das Inokulum

nicht als dünner Film vorlag, sondern als freie größere Tröpfchen. Die Diffusionsstrecke für die Plasma-Gasspezies war dadurch länger. Die weitere Strecke könnte einerseits zur vorzeitigen Inaktivierung der reaktiven Spezies und andererseits zum nicht Erreichen des Wirkungsortes führen. In anderen Arbeiten wird dieses Problem durch die Erzeugung von Plasma aktiviertem Wasser umgangen, in dem das Wasser auch als Trägersubstanz für die reaktiven Bestandteile von ACP dient (Thirumdas et al. 2018). Andererseits könnte durch einen Bedienungsfehler des ACP Gerätes oder Probleme bei der Probennahme diese Ergebnisse zustande gekommen sein.

#### **4.3 Geräteeinstellungen**

Die Geräteeinstellung zeigte bei uns keinen deutlichen Unterschied auf die antimikrobielle Wirkung der ACP Behandlung. Bauer et al. (2017) haben gezeigt, dass bei „low power“ Ozon ( $O_x$ ) und bei „high power“ reaktive Stickstoff-Sauerstoff-Verbindungen ( $N_xO_x$ ) dominieren. Obwohl in der Literatur beschrieben ist, dass beide reaktiven Verbindungsgruppen unterschiedliche Wirksamkeit auf Gram positive und Gram negative Bakterien haben (Bauer et al. 2017; Lis et al. 2018), konnte bei uns kein Unterschied festgestellt werden.

#### **4.4 Einfluss der Temperaturänderungen**

Die durchschnittliche Erwärmung der Schneidbrettoberflächen um 5 °C wird keinen Effekt auf die Mikroorganismen haben. Dennoch ist die Eigenschaft, dass sich die behandelte Oberfläche nur gering erwärmt ein weiterer großer Vorteil der ACP Behandlung. Einige Autoren sehen dies als Schlüsseleigenschaft für die Verwendung von ACP in der Praxis.

## 5. Zusammenfassung und Summary

### 5.1 Zusammenfassung

Das Ziel dieser Diplomarbeit war es einen Keimzahl reduzierenden Effekt durch die Behandlung mit atmosphärischem kaltem Plasma nachzuweisen. Es wurde das auf dem Institut für Fleischhygiene der Veterinärmedizinischen Universität Wien befindliche Plasma Gerät, ein dielektrisches Barriere Entladungssystem, für die Versuche verwendet. Dafür wurden raue und glatte Oberflächen von Kunststoffschneidbrettern mit Isolaten von *E. coli* und *L. innocua* und *L. monocytogenes* inokuliert. Die Oberflächen wurden anschließend mit zwei unterschiedlichen Geräteeinstellungen („high power“ zur Erzeugung eines  $N_xO_x$ -dominierten Plasmas und „low power“ zur Erzeugung eines  $O_x$ -dominierten Plasmas) behandelt. Nach der Behandlung wurden die Oberflächen mittels RODAC Agarkontaktverfahren und Nass-Trocken-Tupfverfahren beprobt. Zusätzlich wurde bei allen Proben die Oberflächentemperatur vor und nach der Behandlung erfasst.

Bei 86 % der Proben konnten ein keimzahlreduzierender Effekt, größer als 1 log, beobachtet werden. So konnten mit der low power Behandlung durchschnittliche Reduktionen bei *E. coli* um 3,86 log kbE/cm<sup>2</sup> und bei *Listeria* um 3,28 log kbE/cm<sup>2</sup> erzielt werden. Die Behandlung mit „high power“ reduzierte *E. coli* durchschnittlich um 3,77 log kbE/cm<sup>2</sup> und *Listeria* um 3,12 log kbE/cm<sup>2</sup>. Die Bakterienreduktionen bei rauen Oberflächen waren höher als bei glatten Oberflächen. Die plausibelste Erklärung ist die auf den glatten Oberflächen beobachtete Tröpfchenbildung des Inokulums, wobei die Geometrie der Tröpfchen für die eingeschlossenen Bakterien schützend wirkt.

Bei den Temperaturmessungen zeigten sich eine durchschnittliche Erwärmung der Oberflächen um 5 °C. Die bereits vielfach beschriebene antimikrobielle Wirkung von kaltem Plasma konnte in dieser Diplomarbeit ebenso beobachtet und bestätigt werden. Die Anwendung von kaltem Plasma scheint jedoch noch nicht gänzlich ausgereift zu sein und für den Einsatz in der Praxis werden noch viele weitere Untersuchungen notwendig sein.

## 5.2 Summary

### **Reductions of bacterial numbers on cutting boards by application of Atmospheric Cold Plasma**

The aim of this diploma thesis was to investigate the antimicrobial effects of atmospheric cold plasma treatment. The atmospheric cold plasma device, which is available at the Institute of Meat Science of the Vetmeduni Vienna, was used for the tests. The device is a dielectric barrier discharge type. For the tests rough and smooth surfaces of plastic cutting boards were inoculated with strains of *E. coli* and *L. innocua* and *L. monocytogenes*. Afterwards the samples were treated with two different device settings (“high power” for N<sub>x</sub>O<sub>x</sub>-dominated plasma and “low power” for O<sub>x</sub>-dominated plasma) exposure time was 5 minutes. After the treatment the surfaces were sampled by the RODAC agar contact method and wet-dry-swab technique. Furthermore, temperatures of all surfaces were measured before and after the treatment.

In 86% of all samples an antimicrobial effect of the treatment, more than 1 log, was observed. In the second test series the treatment with the device setting “low power” effectuated an average reduction of *E. coli* of 3,86 log cfu/cm<sup>2</sup> and for *Listeria* of 3,28 log cfu/cm<sup>2</sup>. Treatment with the “high power” setting yielded average reductions of bacterial numbers of 3,77 log cfu/cm<sup>2</sup> for *E. coli* and 3,12 log cfu/cm<sup>2</sup> for *Listeria*. There was a tendency for more pronounced reductions on rough as compared to smooth surfaces. Since the inoculum formed small droplets on smooth surfaces, these droplets might have protected the closed bacteria from the plasma gas species.

The mean increase of the temperature was 5 °C on the surfaces after treatment. The antimicrobial effect of atmospheric cold plasma treatment has already been described by many scientists. In this diploma thesis the results also indicate a good antimicrobial effect, yet for the use in the field many limiting factors have to be improved by more research.

## 6 Literaturverzeichnis

AGES, Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit. 05.07.2021. <https://www.ages.at/themen/krankheitserreger/listerien/> (Zugriff 05.07.2021).

AGES, Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit. 02.09.2020. <https://www.ages.at/themen/krankheitserreger/escherichia-coli-inklusive-verotoxin-bildende-e-coli-vtec/> (Zugriff 14.10.2020).

Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C. 2013. Escherichia coli in Europe: an overview. *International journal of environmental research and public health*, 10 (12): 6235–6254. DOI 10.3390/ijerph10126235.

Arndt S, Unger P, Wacker E, Shimizu T, Heinlin J, Li Y-F, Thomas HM, Morfill GE, Zimmermann JL, Bosserhoff A-K, Karrer S. 2013. Cold atmospheric plasma (CAP) changes gene expression of key molecules of the wound healing machinery and improves wound healing in vitro and in vivo. *PLoS one*, 8 (11): e79325. DOI 10.1371/journal.pone.0079325.

Bandyopadhyay S, Samanta I. 2020. Agri-Food Chain and Companion Animals as a Re-emerging Menace in Post-COVID Epoch: Low-and Middle-Income Countries Perspective and Mitigation Strategies. *Front. Vet. Sci.*, 7: 620. DOI 10.3389/fvets.2020.00620

Basaran P, Basaran-Akgul N, Oksuz L. 2008. Elimination of *Aspergillus parasiticus* from nut surface with low pressure cold plasma (LPCP) treatment. *Food microbiology*, 25 (4): 626–632. DOI 10.1016/j.fm.2007.12.005.

Bauer A, Ni Y, Bauer S, Paulsen P, Modic M, Walsh JL, Smulders FJM. 2017. The effects of atmospheric pressure cold plasma treatment on microbiological, physical-chemical and sensory characteristics of vacuum packaged beef loin. *Meat science*, 128: 77–87. DOI 10.1016/j.meatsci.2017.02.003.

Bernhardt T, Semmler ML, Schäfer M, Bekeschus S, Emmert S, Boeckmann L. 2019. Plasma Medicine: Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma in Dermatology. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019: 3873928. DOI 10.1155/2019/3873928.

Caprioli A, Morabito S, Brugère H, Oswald E. 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary research*, 36 (3): 289–311. DOI 10.1051/vetres:2005002.

Coutinho NM, Silveira MR, Rocha RS, Moraes J, Ferreira MVS, Pimentel TC, Freitas MQ, Silva MC, Raices RSL, Ranadheera CS, Borges FO, Mathias SP, Fernandes FAN, Rodrigues S, Cruz AG. 2018. Cold plasma processing of milk and dairy products. *Trends in Food Science & Technology*, 74: 56–68. DOI 10.1016/j.tifs.2018.02.008.

Csadek I, Paulsen P, Bak K, Smulders F. Application of atmospheric pressure cold plasma (ACP) on meat and meat products I. Effects on the bacterial surface flora. *Fleischwirtschaft*. 2021; 101(4): 96-104.

Daeschlein G, Scholz S, Ahmed R, Woedtke T von, Haase H, Niggemeier M, Kindel E, Brandenburg R, Weltmann K-D, Juenger M. 2012a. Skin decontamination by low-temperature atmospheric pressure plasma jet and dielectric barrier discharge plasma. *The Journal of hospital infection*, 81 (3): 177–183. DOI 10.1016/j.jhin.2012.02.012.

Daeschlein G, Scholz S, Arnold A, Podewils S von, Haase H, Emmert S, Woedtke Tv, Weltmann K-D, Jünger M. 2012b. In Vitro Susceptibility of Important Skin and Wound Pathogens Against Low Temperature Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) and Dielectric Barrier Discharge Plasma (DBD). *Plasma Processes and Polymers*, 9 (4): 380–389. DOI 10.1002/ppap.201100160. (b)

Davies R, Wales A. 2019. Antimicrobial Resistance on Farms: A Review Including Biosecurity and the Potential Role of Disinfectants in Resistance Selection. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 18 (3): 753-774. DOI 10.1111/1451-4337.12438

Deilmann M, Halfmann H, Bibinov N, Wunderlich J, Awakowicz P. 2008. Low-pressure microwave plasma sterilization of polyethylene terephthalate bottles. *Journal of food protection*, 71 (10): 2119–2123.

Deng S, Ruan R, Mok CK, Huang G, Lin X, Chen P. 2007. Inactivation of *Escherichia coli* on almonds using nonthermal plasma. *Journal of food science*, 72 (2): M62-6. DOI 10.1111/j.1750-3841.2007.00275.x.

Deng X, Shi J, Kong MG. 2006. Physical Mechanisms of Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores Using Cold Atmospheric Plasmas. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 34 (4): 1310–1316. DOI 10.1109/TPS.2006.877739.

DFG Deutsche Forschungsgemeinschaft. 2012. [http://www.dfg.de/download/pdf/dfg\\_im\\_profil/reden\\_stellungnahmen/2012/sklm\\_plasmastellungnahme\\_120525.pdf](http://www.dfg.de/download/pdf/dfg_im_profil/reden_stellungnahmen/2012/sklm_plasmastellungnahme_120525.pdf).

EFSA. 2011. Urgent advice on the public health risk of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in fresh vegetables. *EFSA Journal*, 9 (6): 2274. DOI 10.2903/j.efsa.2011.2274.

Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets VN, Fridman A. 2008. Applied Plasma Medicine. *Plasma Processes and Polymers*, 5 (6): 503–533. DOI 10.1002/ppap.200700154.

Graves DB. 2014. Reactive Species from Cold Atmospheric Plasma: Implications for Cancer Therapy. *Plasma Processes and Polymers*, 11 (12): 1120–1127. DOI 10.1002/ppap.201400068.

- Guroi C, Ekinci FY, Aslan N, Korachi M. 2012. Low Temperatur Plasma for decontamination of *E. coli* in milk. *International journal of food microbiology*, 157 (1): 1-5. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.02.016
- Han L, Ziuzina D, Heslin C, Boehm D, Patange A, Sango DM, Valdramidis VP, Cullen PJ, Bourke P. 2016. Controlling Microbial Safety Challenges of Meat Using High Voltage Atmospheric Cold Plasma. *Frontiers in microbiology*, 7: 977. DOI 10.3389/fmicb.2016.00977.
- Heinlin J, Isbary G, Stolz W, Morfill G, Landthaler M, Shimizu T, Steffes B, Nosenko T, Zimmermann J, Karrer S. 2011. Plasma applications in medicine with a special focus on dermatology. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 25 (1): 1–11. DOI 10.1111/j.1468-3083.2010.03702.x.
- Heinlin J, Morfill G, Landthaler M, Stolz W, Isbary G, Zimmermann JL, Shimizu T, Karrer S. 2010. Plasma medicine: possible applications in dermatology. *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG*, 8 (12): 968–976. DOI 10.1111/j.1610-0387.2010.07495.x.
- Heinlin J, Zimmermann JL, Zeman F, Bunk W, Isbary G, Landthaler M, Maisch T, Monetti R, Morfill G, Shimizu T, Steinbauer J, Stolz W, Karrer S. 2013. Randomized placebo-controlled human pilot study of cold atmospheric argon plasma on skin graft donor sites. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 21 (6): 800–807. DOI 10.1111/wrr.12078.
- Hoffmann C, Berganza C, Zhang J. 2013. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. *Medical gas research*, 3 (1): 21. DOI 10.1186/2045-9912-3-21.
- Jordan K, McAuliffe O. 2018. *Listeria monocytogenes* in Foods. *Advances in food and nutrition research*, 86: 181–213. DOI 10.1016/bs.afnr.2018.02.006.
- Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviews. Microbiology*, 2 (2): 123–140. DOI 10.1038/nrmicro818.
- Keidar M, Shashurin A, Volotskova O, Ann Stepp M, Srinivasan P, Sandler A, Trink B. 2013. Cold atmospheric plasma in cancer therapy. *Physics of Plasmas*, 20 (5): 57101. DOI 10.1063/1.4801516.
- Keidar M, Walk R, Shashurin A, Srinivasan P, Sandler A, Dasgupta S, Ravi R, Guerrero-Preston R, Trink B. 2011. Cold plasma selectivity and the possibility of a paradigm shift in cancer therapy. *British journal of cancer*, 105 (9): 1295–1301. DOI 10.1038/bjc.2011.386.

- Kong MG, Kroesen G, Morfill G, Nosenko T, Shimizu T, van Dijk J, Zimmermann JL. 2009. Plasma medicine: an introductory review. *New Journal of Physics*, 11 (11): 115012. DOI 10.1088/1367-2630/11/11/115012.
- Krämer J. 2011. *Lebensmittel-Mikrobiologie*. 48 Tabellen. Sechste., völlig überarb. Aufl. Stuttgart: Ulmer, 408.
- Kurpas M, Wieczorek K, Osek J. 2018. Ready-to-eat Meat Products As a Source of *Listeria monocytogenes*. *Journal of veterinary research*, 62 (1): 49–55. DOI 10.1515/jvetres-2018-0007.
- Lacombe A, Niemira BA, Gurtler JB, Fan X, SITES J, Boyd G, Chen H. 2015. Atmospheric cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes. *Food microbiology*, 46: 479–484. DOI 10.1016/j.fm.2014.09.010.
- Lee HJ, Jung H, Choe W, Ham JS, Lee JH, Jo C. 2011. Inactivation of *Listeria monocytogenes* on agar and processed meat surfaces by atmospheric pressure plasma jets. *Food microbiology*, 28 (8): 1468–1471. DOI 10.1016/j.fm.2011.08.002.
- Leipold F, Kusano Y, Hansen F, Jacobsen T. 2010. Decontamination of a rotating cutting tool during operation by means of atmospheric pressure plasmas. *Food Control*, 21 (8): 1194–1198. DOI 10.1016/j.foodcont.2010.02.006.
- Li F, Shimizu T, Zimmermann J, Morfill G. 2012. Cold Atmospheric Plasma for Surface Disinfection. *Plasma Processes Polymers* 9(6), 585–589
- Liao X, Li J, Muhammad A, Suo Y, Chen S, Ye X, Lui D. 2018. Application of a Dielectric Barrier Discharge Atmospheric Cold Plasma (DBD-Acp) for *Escherichia Coli* Inactivation in Apple Juice. *Journal of food science*, 83 (2): 401-408. DOI 10.1111/1750-3841.14045
- Lis K, Boulaaba A, Li Y, Kehrenberg C, Zimmermann J, Klein G, Ahlfeld B. 2018. Inactivation of *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on ham with nonthermal atmospheric pressure plasma. *PLoS ONE* 13(5), e0197773
- Mann MS, Tiede R, Gavenis K, Daeschlein G, Bussiahn R, Weltmann K-D, Emmert S, Woedtker Tv, Ahmed R. 2016. Introduction to DIN-specification 91315 based on the characterization of the plasma jet kINPen® MED. *Clinical Plasma Medicine*, 4 (2): 35–45. DOI 10.1016/j.cpme.2016.06.001.
- Mir SA, Shah MA, Mir MM. 2016. Understanding the Role of Plasma Technology in Food Industry. *Food and Bioprocess Technology*, 9 (5): 734–750. DOI 10.1007/s11947-016-1699-9.
- Misra NN, Jo C. 2017. Applications of cold plasma technology for microbiological safety in meat industry. *Trends in Food Science & Technology*, 64: 74–86. DOI 10.1016/j.tifs.2017.04.005.

- Misra NN, Patil S, Moiseev T, Bourke P, Mosnier JP, Keener KM, Cullen PJ. 2014. In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of strawberries. *Journal of Food Engineering*, 125: 131–138. DOI 10.1016/j.jfoodeng.2013.10.023.
- Mohd Nasir N, Lee BK, Yap SS, Thong KL, Yap SL. 2016. Cold plasma inactivation of chronic wound bacteria. *Archives of biochemistry and biophysics*, 605: 76–85. DOI 10.1016/j.abb.2016.03.033.
- Moritz M, Wiacek C, Koethe M, Braun PG. 2017. Atmospheric pressure plasma jet treatment of *Salmonella* Enteritidis inoculated eggshells. *International journal of food microbiology*, 245: 22–28. DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2017.01.004.
- New Food Magazine, <https://www.newfoodmagazine.com>, <https://www.newfoodmagazine.com/article/98462/food-irradiation-legislation-in-the-eu/>, 21.06.2018, (Zugriff 05.07.2021)
- Niemira BA, Sites J. 2008. Cold Plasma Inactivates *Salmonella* Stanley and *Escherichia coli* O157:H7 Inoculated on Golden Delicious Apples. *Journal of food protection*, 71 (7): 1357–1365. DOI 10.4315/0362-028X-71.7.1357.
- Niemera BA, Boid G, Sites J. 2014. Cold plasma rapid decontamination of food contact surfaces contaminated with *Salmonella* biofilms. *Journal of Food Science* 79(5), 917–922.
- Niemera BA, Boyd G, Sites J. 2018. Cold Plasma Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 Biofilms. *Front. Sustain. Food Syst.* 2:47. DOI 10.3389/fsusfs.2018.00047
- Noriega E, Shama G, Laca A, Díaz M, Kong MG. 2011. Cold atmospheric gas plasma disinfection of chicken meat and chicken skin contaminated with *Listeria innocua*. *Food microbiology*, 28 (7): 1293–1300. DOI 10.1016/j.fm.2011.05.007.
- Pankaj S, Wan Z, Keener K. 2018. Effects of Cold Plasma on Food Quality: A Review. *Foods* (Basel, Switzerland), 7 (1) DOI 10.3390/foods7010004
- Patange A, O'Byrne C, Boehm D, Cullen PJ, Keener K, Bourke P. 2019. The Effect of Atmospheric Cold Plasma on Bacterial Stress Responses and Virulence Using *Listeria monocytogenes* Knockout Mutants. *Front. Microbiol.*, 10:2841. DOI 10.3389/fmicb.2019.02841
- Pichler J, Appl G, Pietzka A, Allerberger F. 2011. Lessons to be learned from an Outbreak of Foodborne Listeriosis, Austria 2009-2010. *Food Protection Trends*, 31 (5): 268–273.
- Ragni L, Berardinelli A, Vannini L, Montanari C, Sirri F, Guerzoni ME, Guarneri A. 2010. Non-thermal atmospheric gas plasma device for surface decontamination of shell eggs. *Journal of Food Engineering*, 100 (1): 125–132. DOI 10.1016/j.jfoodeng.2010.03.036.

- Rød SK, Hansen F, Leipold F, Knøchel S. 2012. Cold atmospheric pressure plasma treatment of ready-to-eat meat: inactivation of *Listeria innocua* and changes in product quality. *Food microbiology*, 30 (1): 233–238. DOI 10.1016/j.fm.2011.12.018.
- Schmidt A, Bekeschus S, Wende K, Vollmar B, Woedtke Tv. 2017. A cold plasma jet accelerates wound healing in a murine model of full-thickness skin wounds. *Experimental dermatology*, 26 (2): 156–162. DOI 10.1111/exd.13156.
- Schütze A, Jeong JY, Babayan SE, Park J, Selwyn GS, Hicks RF. 1998. The atmospheric-pressure plasma jet: a review and comparison to other plasma sources. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 26 (6): 1685–1694. DOI 10.1109/27.747887.
- Szmolka A, Nagy B. 2013. Multidrug resistant commensal *Escherichia coli* in animals and its impact for public health. *Frontiers in microbiology*, 4: 258. DOI 10.3389/fmicb.2013.00258.
- Tendero C, Tixier C, Tristant P, Desmaison J, Leprince P. 2006. Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 61 (1): 2–30. DOI 10.1016/j.sab.2005.10.003.
- Thanomsub B, Anupunpisit V, Chanphetch S, Watcharachaipong T, Poonkhum R, Srisukonth C. 2002. Effects of ozone treatment on cell growth and ultrastructural changes in bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 48: 193–199.
- Thirumdas R, Kothakota A, Annapure U, Siliveru K, Blundell R, Gatt R, Valdramidis V. 2018. Plasma activated water (PAW): Chemistry, physicochemical properties, applications in food and agriculture. *Trends in Food Science & Technology*, 77: 21-31. DOI 10.1016/j.tifs.2018.05.007
- Ulbin-Figlewicz N, Brychcy E, Jarmoluk A. 2015. Effect of low-pressure cold plasma on surface microflora of meat and quality attributes. *Journal of food science and technology*, 52 (2): 1228–1232. DOI 10.1007/s13197-013-1108-6.
- Woedtke T von, Metelmann H-R, Weltmann K-D. 2014. Clinical Plasma Medicine: State and Perspectives of in Vivo Application of Cold Atmospheric Plasma. *Contributions to Plasma Physics*, 54 (2): 104–117. DOI 10.1002/ctpp.201310068.
- Ziuzina D, Patil S, Cullen PJ, Keener KM, Bourke P. 2014. Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Listeria monocytogenes* inoculated on fresh produce. *Food microbiology*, 42: 109–116. DOI 10.1016/j.fm.2014.02.007.

## 7. Abkürzungsverzeichnis

Abb. Abbildung

ACP atmosphärisches Kaltes Plasma (atmospheric cold plasma)

APPJ Atmospheric Cold Plasma Pressure Jet

cfu colony-forming unit

DBD Dielektrische Barriereentladung (dielectric barrier discharge)

kbE koloniebildende Einheit

NTT Nass-Trocken-Tupfertechnik

RNS reaktive Stickstoffspezies (reactive nitrogen species)

ROS reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species)

Tab. Tabelle

## 8. Abbildung- und Tabellenverzeichnis

### 8.1 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Bestandteile von Plasma, entnommen aus Heinlin et al. (2011), RNS... Reaktive Stickstoffverbindungen, ROS ... reaktive Sauerstoffverbindungen.

Abb. 2: Probeflächen an den Schneidbrettern und Angabe der Probennamerverfahren

Abb. 3: Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in log kbE/cm<sup>2</sup>) der Kontrollfläche K und von drei Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfer-Verfahren. Ergebnisse unter der Nachweisgrenze von 1 log sind als 0,95 log dargestellt.

Abb. 4: Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in log kbE/cm<sup>2</sup>) der Kontrollfläche K und von 3 Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „low power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfer-Verfahren. Ergebnisse unter der Nachweisgrenze von 1 log sind als 0,95 log dargestellt

Abb. 5: Kunststoffschneidbrett, glatte Oberfläche, Keimzahlen (in log kbE/cm<sup>2</sup>) der Kontrollfläche K und von 3 Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfer-Verfahren. Ergebnisse unter der Nachweisgrenze von 1 log sind als 0,95 log dargestellt.

Abb. 6: Kunststoffschneidbrett, glatte Oberfläche, Keimzahlen (in log kbE/cm<sup>2</sup>) der Kontrollfläche K und von 3 Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „low power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfertechnik.

Abb. 7: Kunststoffschneidbretter, raue Oberflächen, mittlere Reduktionen der Keimzahlen (log kbE/cm<sup>2</sup>) mit Standardabweichung, der Probenfelder im Vergleich zu den Kontrollen, 5 min. ACP Behandlungszeit mit „low power“ bzw. „high power“, 15 mm Distanz; Nass-Trocken-Tupfer-Verfahren.

### 8.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Wirkung von Plasma auf Zellbestandteile, modifiziert nach Misra und Jo (2017)

Tab. 2: Geräteeinstellungen für die Cold Plasma Erzeugung, nach Bauer et al. (2017)

Tab. 3: Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der Kontrollfläche K und von drei Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz.

- Tab. 4: Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der Kontrollfläche K und von 3 Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz; Ergebnisse unter der Nachweisgrenze von 1 log sind als 0,95 log dargestellt.
- Tab. 5: Kunststoffschneidbrett, glatte Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der Kontrollfläche K und von 3 Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „high power“, 15 mm Distanz
- Tab. 6: Kunststoffschneidbrett, glatte Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der Kontrollfläche K und von drei Probeflächen nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „low power“, 15 mm Distanz.
- Tab. 7: Kunststoffschneidbrett, raue Oberfläche, Keimzahlen (in Kolonien/Fläche RODAC Nährboden) der fünf Schneidbretter nach 5 min. Einwirkzeit von ACP, „low power“ bzw. „high power“, 15 mm Distanz.