

**Masterarbeit zur Erlangung des akademischen Grades
Diplom-Ingenieur**

**QUANTIFIZIERUNG
AEROBER, THERMOPHILER SPORENBILDNER
IN DER KARTOFFELFLOCKENPRODUKTION**

Eingereicht von Thomas Kinast Bakk. Techn.

Durchgeführt am
Department für Lebensmittelwissenschaft und –technologie
Abteilung für Lebensmittelqualitätssicherung der
Universität für Bodenkultur Wien

Betreut von Univ. Prof. Dipl.-Ing. Dr. Wolfgang Kneifel
und Mag. Simone Loos (Zuckerforschung Tulln)

Wien, Februar 2009

Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei der der Zuckerforschung Tulln GmbH, insbesondere bei Herrn Dr. Eduard Taufrazthofer, für das mir gegenüber erbrachte Vertrauen und die Finanzierung dieser Masterarbeit.

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Kneifel danke ich für die kompetente, freundliche und vor allem unkomplizierte universitäre Betreuung der Masterarbeit.

Besonderer Dank gebührt Frau Mag. Simone Loos für die freundschaftliche Unterstützung und Betreuung der Arbeit seitens der Zuckerforschung Tulln, sowie für die Hälfte ihres Büros und die viel investierte Zeit trotz vollen Terminkalenders.

Ein herzliches Dankeschön ergeht auch nach Gmünd an Herrn Ing. Erwin Korherr und Herrn Ernst Neulinger für die Unterstützung, die gute Zusammenarbeit und besonders für die unkomplizierte Abwicklung der Probenahmen.

Dem gesamten Team der Abteilung Mikrobiologie der Zuckerforschung Tulln danke ich für die freundliche Unterstützung und die gute Zusammenarbeit während meiner Arbeitszeit in Tulln.

Ein Dankeschön auch an Frau Dr. Beatrix Kögler für die Auswertung der API Tests.

Last but not least bedanke ich mich von ganzem Herzen bei meiner Freundin Angelika, die mir durch so manche Schreibblockade und Motivationsengpässe geholfen hat und mich während der gesamten Zeit immer unterstützt hat.

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	1
1.1	GESCHICHTE	1
1.2	WIRTSCHAFTLICHE BEDEUTUNG	2
1.3	ZUSAMMENSETZUNG	3
1.4	KARTOFFELFLOCKEN	4
1.4.1	<i>Technologie</i>	4
1.4.2	<i>Qualität</i>	5
1.5	DAS WERK GMÜND – AGRANA STÄRKE GMBH GMÜND.....	7
1.5.1	<i>Standort und Geschichte</i>	7
1.5.2	<i>Produktion</i>	7
1.6	CHARAKTERISTIKA VON BACILLEN	11
1.7	DIE ULTRASCHALLBEHANDLUNG IN DER LEBENSMITTELINDUSTRIE	12
2	PROBLEMSTELLUNG	14
3	MATERIAL UND METHODEN	15
3.1	PROBENAHMEN IM WERK GMÜND	15
3.2	FESTE UND FLÜSSIGE PROBEN	16
3.3	LUFTKEIMMESSUNG	17
3.4	ANALYSE DER WÖCHENTLICHEN PROBEN.....	18
3.5	SPORENKEIMZahlVERLAUF IM VORKOCHER	18
3.6	BESTIMMUNG DER TROCKENSUBSTANZ.....	19
3.7	ERFASSUNG DER KEIMENTWICKLUNG AUF DEN TROCKNUNGSWALZEN	19
3.8	MIKROSKOPIE	20
3.9	ULTRASCHALLBEHANDLUNG	20
3.10	CHEMISCHE HILFSSTOFFE	21
3.10.1	<i>Anti-Haft-Versuch</i>	22
3.10.2	<i>Wachstums- bzw. Hemmwirkungsversuch</i>	22
3.11	TEMPERATURPROFIL	23
3.12	KEIMZahlVERLAUF	24
3.13	IDENTIFIZIERUNG.....	24

4	ERGEBNISSE	25
4.1	27. MAI: FESTE UND FLÜSSIGE PROBEN	25
4.2	29. MAI: LUFTKEIMMESSUNG.....	27
4.3	10. JUNI: FESTE PROBEN UND LUFTKEIMMESSUNG.....	29
4.4	18. JUNI: FESTE UND FLÜSSIGE PROBEN	33
4.5	18. JUNI: LUFTKEIMMESSUNG	35
4.6	18. AUGUST: FESTE UND FLÜSSIGE PROBEN	37
4.7	1. SEPTEMBER: FESTE PROBEN.....	39
4.8	1. SEPTEMBER: LUFTKEIMMESSUNG.....	43
4.9	ANALYSE DER WÖCHENTLICH GEZOGENEN PROBEN	49
4.10	ENTWICKLUNG DER SPORENKEIMZAHL IM VORKOCHER.....	52
4.11	BESTIMMUNG DER TROCKENSUBSTANZ.....	54
4.12	BERECHNUNG DER KONZENTRIERUNG AUF DEN TROCKNUNGSWALZEN	55
4.13	MIKROSKOPIE	58
4.14	ULTRASCHALLVERSUCHE.....	59
4.15	CHEMISCHE HILFSSTOFFE	63
4.15.1	<i>Anti-Haft-Versuche</i>	63
4.15.2	<i>Wachstumsversuch</i>	64
4.16	TEMPERATURPROFIL	67
4.17	KEIMZAHLVERLAUF DER ANREICHERUNGEN	69
4.18	IDENTIFIZIERUNG VON ISOLATEN.....	70
4.19	ZUSAMMENFASSUNG DER KEIMZAHLEN.....	71
4.19.1	<i>Luftkeimmessungen</i>	71
4.19.2	<i>Feste und flüssige Proben</i>	73
5	DISKUSSION	75
5.1	LUFTKEIMBELASTUNG.....	75
5.2	FESTE UND FLÜSSIGE PROBEN	76
5.3	KONZENTRIERUNGSVORGÄNGE AUF DEN TROCKNUNGSWALZEN	78
5.4	ENTWICKLUNG DER SPORENKEIMZAHL IM VORKOCHER.....	78
5.5	ULTRASCHALLBEHANDLUNG ZUR INAKTIVIERUNG DER SPORENBILDNER.....	79
5.6	ANWENDUNG CHEMISCHE HILFSSTOFFE	80
5.7	EINFLUSS VERSCHIEDENER TEMPERATURBEHANDLUNGEN AUF DAS BAKTERIENWACHSTUM	81
5.8	IDENTIFIZIERUNG VON ISOLATEN.....	82

6	SCHLUSSFOLGERUNGEN	83
	ZUSAMMENFASSUNG.....	85
	ABSTRACT.....	87
	TABELLENVERZEICHNIS.....	88
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	90
	LITERATURVERZEICHNIS.....	92

1 Einleitung

Die Kartoffel (*Solanum tuberosum*) zählt auf Grund ihrer wirtschaftlichen Bedeutung sowie ihren ernährungsphysiologischen Eigenschaften zu den Grundnahrungsmitteln und ist heute nach Mais, Weizen und Reis weltweit die viertwichtigste Kulturpflanze. Neben Tomate, Paprika und Tabak gehört sie zur Familie der Nachtschattengewächse (*Solanaceae*). Mit *Solanum andigena* und *Solanum tuberosum* existieren zwei Unterarten, von denen allerdings nur *S. tuberosum* kultiviert und wirtschaftlich genutzt wird. Heute sind weltweit ca. 3000 Sorten bekannt, von denen 700 in Europa registriert und 60 laut Saatgutgesetz in Österreich zugelassen sind (ZFT, 2008).

1.1 Geschichte

Ursprünglich stammt die Kartoffel aus dem Gebiet der südamerikanischen Anden, wo sie seit ca. 8000 v. Chr. verwendet wurde. Ab ca. 1100 v. Chr. waren die Inkas die ersten, welche die Kartoffel auf Feldern kultivierten. Erst nach der Eroberung des Inkareiches durch die Spanier im 16. Jahrhundert kam die Kartoffel nach Europa. Die erste schriftliche Erwähnung in Österreich erfolgte 1620 im Stift Seitenstetten (ZFT, 2008). Anfänglich hauptsächlich als Zierpflanze verwendet, gewann die Kartoffel erst ab dem 18. Jahrhundert als Nahrungsmittel an Bedeutung. Ein rascher Aufstieg zum Volksnahrungsmittel folgte, der vor allem durch den ertragreichen Anbau in fast allen europäischen Ländern begründet ist. Wie groß die Bedeutung der Kartoffel für die Ernährung damals war, zeigt sich besonders in den großen Hungersnöten in Irland Mitte des 19. Jahrhunderts, die durch die Kraut- und Knollenfäule ausgelöst wurden.

Mit steigendem Einkommen hat die Kartoffel in Europa allerdings immer mehr an Bedeutung verloren. Vor 100 Jahren betrug der Pro-Kopf-Verbrauch in Deutschland noch über 250 kg, vor 50 Jahren ca. 150 kg und 2005 etwa 70 kg (BLFL, 2007). In ärmeren Ländern jedoch zählt die Kartoffel noch heute zu den Hauptnahrungsmitteln der Bevölkerung.

1.2 Wirtschaftliche Bedeutung

2005 wurden weltweit 320 Millionen Tonnen Kartoffeln mit einem Marktwert von ca. 6 Mrd. \$ geerntet. Damit hat sich seit 1980 die produzierte Menge verdoppelt und der Marktwert vervierfacht.

Der größte Kartoffelproduzent 2005 war China mit 72 Mio. t, gefolgt von Russland mit 37 Mio. t und Indien mit 26 Mio. t. Ungefähr zwei Drittel der geernteten Knollen werden von Menschen in frischer oder verarbeiteter Form zur Nahrungsaufnahme konsumiert. Den höchsten Pro-Kopf-Verbrauch 2005 hatte Weißrussland mit 181 kg. (UNESCO, 2008)

Vor allem in den entwickelten Industriestaaten steigt der Verbrauch von verarbeiteten Kartoffelprodukten stetig an. Während 1965 nur 6,4 % der pro Kopf verbrauchten Kartoffeln in Deutschland auf Veredelungsprodukte entfielen, waren es im Jahr 2000 bereits 45,8 % (UHLMANN et al, 2003).

2005 betrug der Pro-Kopf-Verbrauch von Kartoffeln in Österreich 53,6 kg, was innerhalb der 27 EU-Mitgliedsstaaten den 4. niedrigsten Wert darstellt (BLFL, 2007). Allerdings trägt die Kartoffel mit einem Produktionswert von ca. 70 Millionen Euro wesentlich zum landwirtschaftlichen Einkommen in Österreich bei (AMA, 2008). Auf eine Anbaufläche von 22.675 ha wurden 2007 in Österreich 668.755 t Kartoffeln geerntet (BMLFUW, 2008). Davon wurden 13.016 t zu Kartoffeldauerprodukten (KDP) verarbeitet (AGRANA, 2008a). 195.371 t wurden der Stärkeproduktion zugeführt (BMLFUW, 2008).

Neben der Nahrungsmittelindustrie findet die Kartoffel und vor allem die daraus gewonnene Kartoffelstärke auch in anderen Industriebereichen vielfältige Anwendungen. Beispiele sind die Bau-, Papier-, Kosmetik- und Textilindustrie.

1.3 Zusammensetzung

Die Zusammensetzung der Kartoffelknolle ist genetisch bedingt und somit sortenabhängig. Sie unterliegt allerdings auch äußeren Einflüssen wie Klima, Düngung, Krankheiten, Lagerbedingungen und Bodenverhältnissen. Die Hauptbestandteile der Knolle sind Wasser mit 76 %, Stärke mit durchschnittlich 18 – 20 % und Proteine mit ca. 2 % der Frischsubstanz (siehe Abbildung 1; ZFT, 2008). Unter den Minorbestandteilen sind weitere Polysaccharide wie Cellulose, Hemicellulose, Glucose, Fructose und Saccharose sowie Vitamine und Mineralien - vor allem Kalium und Phosphor - zu finden.

Die hohe biologische Wertigkeit der Proteine, die gute Nährstoffdichte vieler, vor allem wasserlöslicher Vitamine sowie ein geringer Kaloriengehalt (65 – 90 Kcal/100g) bei hohem Sättigungsgrad machen die Kartoffel zu einem ausgesprochen gesunden Lebensmittel (SCHUHMANN, 2005).

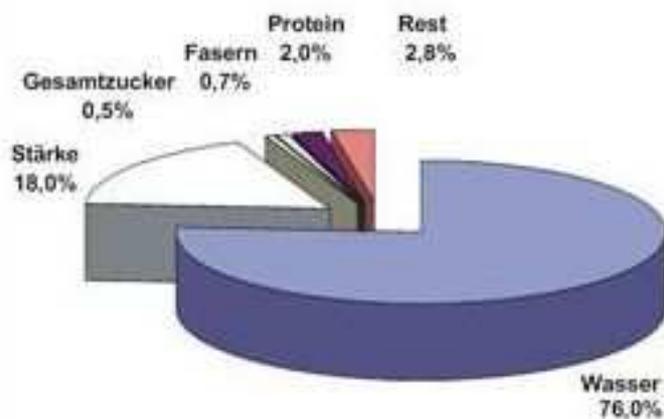


Abbildung 1: Durchschnittliche Zusammensetzung der Kartoffelknolle (Quelle: ZFT, 2008)

1.4 Kartoffelflocken

Das wichtigste Kartoffeldauerprodukt für die Nahrungsmittelindustrie stellen die Kartoffel- oder Püreeflocken dar. Dabei handelt es sich um eine lagerfähige Form der Kartoffel, die durch beinahe vollständigen Wasserentzug hergestellt wird. Alle anderen Inhaltsstoffe sowie die charakteristischen Eigenschaften der Kartoffel wie Farbe, Geruch, Geschmack und Nährwert sollen so vollständig wie möglich erhalten bleiben.

In der Lebensmittelindustrie finden Kartoffelflocken vor allem in Convenience Produkten wie Kartoffelpüree und Kartoffelteig oder in der Weiterverarbeitung zu Kroketten und Pommes frites Anwendung. Auf Grund ihrer schwachen geschmacksgebenden Eigenschaften werden sie in vielen Lebensmitteln zur Bindung von freiem Wasser eingesetzt, was zur Erhöhung der Viskosität und zur Verlängerung der Haltbarkeit dieser Produkte führt. Besonders bei der Herstellung von Gläschenkost von Kleinkindern wird diese Eigenschaft der Flocken genutzt (AGRANA, 2008b).

1.4.1 Technologie

Zur Kartoffelflockenproduktion werden gewaschene und geschälte rohe Kartoffeln in Scheiben geschnitten, im Wasserbad vorgekocht, gekühlt, mit Dampf gekocht und gemust. Eventuelle Zusätze werden dem Kartoffelbrei nach dem Musen beigemischt. Anschließend erfolgt die Trocknung des Breis auf mit Dampf beheizten Walzen. Der so entstandene Kartoffelfilm wird zu Flocken zerkleinert und unter Stickstoffatmosphäre gelagert bzw. abgepackt (KING et al., 2007).

1.4.2 Qualität

Neben einwandfreiem Geruch, Geschmack und optimaler Farbe ist ein Restwassergehalt von 5 bis 8 % einer der wichtigsten physikalischen bzw. sensorischen Qualitätskriterien der fertigen Kartoffelflocken. Enthalten die Flocken mehr als ca. 10 % Wasser, werden der mikrobielle Verderb sowie das Ranzigwerden der Flocken beschleunigt und die Haltbarkeit verkürzt. Weiters dürfen sich weder schwarze Stücke von den Kartoffeln noch metallische oder sonstige Feststoffe in den Flocken befinden. Das Schüttgewicht sollte ca. 350 g/L betragen. Bei verpackten Produkten ist der Restsauerstoff ein weiterer wichtiger Qualitätsparameter. Dieser sollte 3,5 % nicht übersteigen, da die Kartoffelflocken bei längerer Lagerung unter Sauerstoffeinwirkung schnell ranzig werden. (AGRANA, 2008b)

Chemische Substanzen wie Schwermetalle, Mycotoxine und Spritzmittel müssen unter den jeweiligen Nachweisgrenzen liegen.

Die von KING et al. (2007) beschriebenen mikrobiologischen Anforderungen an Kartoffelflocken in den USA sind in Tabelle 1 angeführt.

Tabelle 1: Anforderungen an Kartoffelflocken in den USA (KING et al., 2007)

Coliforme Keime	< 10 KbE/g
Escherichia coli	nicht nachweisbar
Staphylococcus aureus	nicht nachweisbar
Salmonellen	nicht nachweisbar
Aerobe Gesamtkeimzahl	< 10 ⁴ KbE/g

Auf Grund des niedrigen Wassergehaltes und des Pasteurisierungseffektes während der Trocknung sind Kartoffelflocken mikrobiologisch sehr stabil. Kontaminationen sind hauptsächlich von bakteriellen Sporenbildern zu erwarten. Im Gegensatz zu den vegetativen Zellen überleben Bakteriosporen wegen ihrer Resistenz gegenüber Hitze und Austrocknung sowohl den Trocknungsprozess als auch die Lagerung unter

Stickstoffatmosphäre und können deshalb im Endprodukt gefunden werden. (KING et al., 2007)

Durch das Vorhandensein von Sporen in Produkten, welche vom Endverbraucher zubereitet und alsbald verzehrt werden, besteht für den Konsumenten keine Gefahr. Probleme können auftreten, wenn die Flocken zur Wasserbindung in der Kindernährmittelherstellung verwendet werden. Im Produktionsprozess wird die Gläschenkost durch einen Pasteurisierungsschritt haltbar gemacht, jedoch nicht sterilisiert. Durch die Pasteurisation werden vegetative Zellen abgetötet, die mit den Kartoffelflocken in das Gläschen eingebrachten Bakteriensporen verbleiben allerdings im Endprodukt. Bei korrekter Lagerung stellen die Sporen keine Gefahr für die Konsumenten dar. Zu Problemen kann es jedoch kommen, wenn die Gläschen über einen längeren Zeitraum an sehr warmen Orten gelagert werden. Dies ist vor allem in südlichen Ländern häufig der Fall. Die Sporen beginnen auszukeimen und auf Grund des guten Nährstoffangebotes im Gläschen vermehren sich die vegetativen Zellen sehr schnell. Stoffwechselprodukte der Bakterien bewirken, dass sich der Sicherheitsverschluss der Gläschen öffnet und beim Eindrücken des Schraubverschlusses ein Klacken zu hören ist.

Auch bei warm gehaltenen Gerichten, welche Kartoffelflocken enthalten, kann es durch das Auskeimen der Sporen und Vermehrung der Bakterien zum mikrobiellen Verderb kommen.

KING et al. (2007) untersuchten sowohl Kartoffelflocken als auch daraus hergestellte und warm gehaltenen Fertigprodukte auf die Anwesenheit von *Bacillus cereus*. In bis zu 40 % der Kartoffelflockenproben konnte *B. cereus* nachgewiesen werden. Die Keimzahlen lagen alle unter 10^3 KbE/g. In Fertigprodukten, die bei einer Temperatur unter 60°C warm gehalten wurden, stieg die Keimzahl von *B. cereus* innerhalb von 6 Stunden auf 10^5 KbE/g. Neben *B. cereus* konnten in allen Proben auch *Bacillus licheniformis* und *Bacillus subtilis* nachgewiesen werden.

Die durchschnittliche Keimzahl von *B. cereus* in Kartoffelflocken wird auch von DOAN et al. (2000) mit 10^2 bis 10^3 KbE/g angegeben. TURNER et al. (2006) analysierten das Auftreten von *B. cereus* in Kartoffelflocken und daraus hergestellten Fertigprodukten in Neuseeland. Die höchste in den Flocken gefundene Keimzahl von *B. cereus* beträgt 370 KbE/g. Bei 42°C warm gehaltenen Kartoffelfertigprodukten erreicht die Keimzahl nach 6 Stunden auch hier 10^6 KbE/g.

1.5 Das Werk Gmünd – Agrana Stärke GmbH Gmünd

1.5.1 Standort und Geschichte

Die Stadt Gmünd liegt im niederösterreichischem Waldviertel direkt an der Grenze zur tschechischen Republik. Dieses Gebiet eignet sich auf Grund der Witterungsverhältnisse und Bodenbeschaffenheiten ideal zum Kartoffelanbau, der dort seit dem frühen 18. Jahrhundert betrieben wird. Eine Produktionsstätte zur Kartoffelverarbeitung wurde bereits in der Zwischenkriegszeit geplant, allerdings konnte das Werk erst 1940 die Produktion aufnehmen. Seit damals werden in Gmünd neben Kartoffeldauerprodukten auch Kartoffelstärke, modifizierte Stärken und Stärkeverzuckerungsprodukte hergestellt (HUTTERER, 1978).

1.5.2 Produktion

Im Werk Gmünd, der einzigen Kartoffelflockenproduktion in Österreich, werden täglich ca. 80 t frische Kartoffeln zu 15 t Kartoffelflocken verarbeitet. Bei einer Kampagnendauer von ca. 280 Tagen beläuft sich die Jahresproduktion auf etwa 4000 t.

Zur Herstellung der Kartoffelflocken werden hauptsächlich die Kartoffelsorten *Ditta* und *Hermes* eingesetzt. Diese beiden Sorten zeichnen sich besonders durch ihre lange Lagerfähigkeit, gute Verarbeitbarkeit, gelbe Fleischfarbe und ihren guten Geschmack aus. Weiters besitzen beide Resistenzen gegenüber der Knollenfäule und anderen Kartoffelkrankheiten (AGRANA, 2008b).

Zum Großteil stammen die Kartoffeln aus konventionellem, österreichischem Anbau. Der gesamte Bedarf an Kartoffelflocken für den Einzelhandel sowie an Industrieflocken in Österreich wird damit abgedeckt.

Die im Vergleich zu anderen Herstellern kleine Produktionsanlage ermöglicht es jedoch, auch Kartoffelflocken aus rein biologischem Anbau zu produzieren. Obwohl die Herstellung dieser Bio-Kartoffelflocken ohne Zusatzstoffe mit großem logistischem Aufwand verbunden ist, ergibt sich für das Werk dadurch ein großer Wettbewerbsvorteil. Alle 5 großen europäischen Kindernährmittelhersteller produzieren ausschließlich mit Kartoffelflocken aus Gmünd. Weiters ist das Werk Gmünd in ganz Österreich, Frankreich und Deutschland der einzige auf dem Markt befindliche Anbieter von Bio-Kartoffeldauerprodukten (AGRANA, 2008b).

Die angelieferten Kartoffeln werden in zwei großen Hallen möglichst trocken und dunkel gelagert. Über Belüftungsschächte wird für ausreichende Luftzufuhr gesorgt, um das Faulen der Knollen zu verhindern. Zur Beleuchtung der Hallen wird grünes Licht eingesetzt. Damit wird das Bilden von Austrieben verlangsamt.

Von den Hallen werden die Kartoffeln über einen Schwemmwasserkreislauf in das Produktionsgebäude zur Kartoffelwäsche geschwemmt. Dort werden das Schwemmwasser und noch an den Knollen anhaftende Erde durch mehrere Waschschriffe abgetrennt. Anschließend kommen die gewaschenen Kartoffeln in einen der Kartoffelbunker.

Über Förderbänder erfolgt der Transport der Kartoffeln zum Dämpfer. In der Dampfbirne werden die Kartoffeln für kurze Zeit mit einem Druck von 18 bar beaufschlagt. Danach erfolgt eine möglichst schnelle Entspannung. Dabei wird der Dampf in eigenen Entspannungsgefäßen aufgefangen. Durch diesen explosionsartigen Druckablass springt die Schale auf und hebt sich etwas von der Kartoffel ab. Im anschließenden Bürstenband wird die Schale durch rotierende Bürsten vollständig entfernt. Der durch diesen Prozessschritt bedingte Schälverlust beträgt ca. 15 – 16 %.

Die geschälten Kartoffeln werden in Scheiben geschnitten. Eine vollautomatische Sortieranlage entfernt Scheiben mit großen schwarzen Anteilen durch Druckluft aus dem Prozess. Danach werden die Scheiben im Wasserbad bei ca. 80°C vorgekocht. Anschließend erfolgt die Rückkühlung auf ca. 20°C. Eine Schnecke transportiert die vorgekochten Scheiben im Gleichstrom mit kaltem Wasser durch den Kühler. Das Werk Gmünd verfügt über 3 eigenständige Vorkocher-Kühler-Linien, wobei die Betriebsdauer einer Einheit 16 Stunden beträgt. Somit sind jeweils 2 Linien mit 8-stündiger Verschiebung gleichzeitig in Betrieb.

In den beiden Kochern erfolgt das vollständige Kochen der Scheiben durch Dampfbehandlung. In den Musern quetschen Schnecken die gekochten Scheiben durch Musergitter, wodurch ein Kartoffelbrei entsteht. Je nach hergestelltem Kartoffeldauerprodukt werden diesem Kartoffelbrei Zusatzstoffe wie Emulgatoren, Gewürze oder Farbstoffe beigemischt. Eine Paddelschnecke sorgt für die gleichmäßige Verteilung der Zusatzstoffe im Brei und transportiert diesen zur Walzentrocknung. Auf zwei mit Dampf auf ca. 140°C beheizten Walzen wird der Brei dünn aufgetragen. Innerhalb einer $\frac{3}{4}$ Umdrehung wird der Brei auf den gewünschten Wassergehalt von 5 – 8 % getrocknet. Schabmesser heben den entstandenen Kartoffelfilm von der Walze ab. Dieser Film wird zerkleinert und die Flocken pneumatisch zu den Silos transportiert. Je nach Verwendung werden die Flocken direkt in die Endverpackung oder in Transportsäcke à 20 kg verpackt.

Abbildung 2 zeigt das Fließschema der Kartoffeldauerprodukte-Herstellung

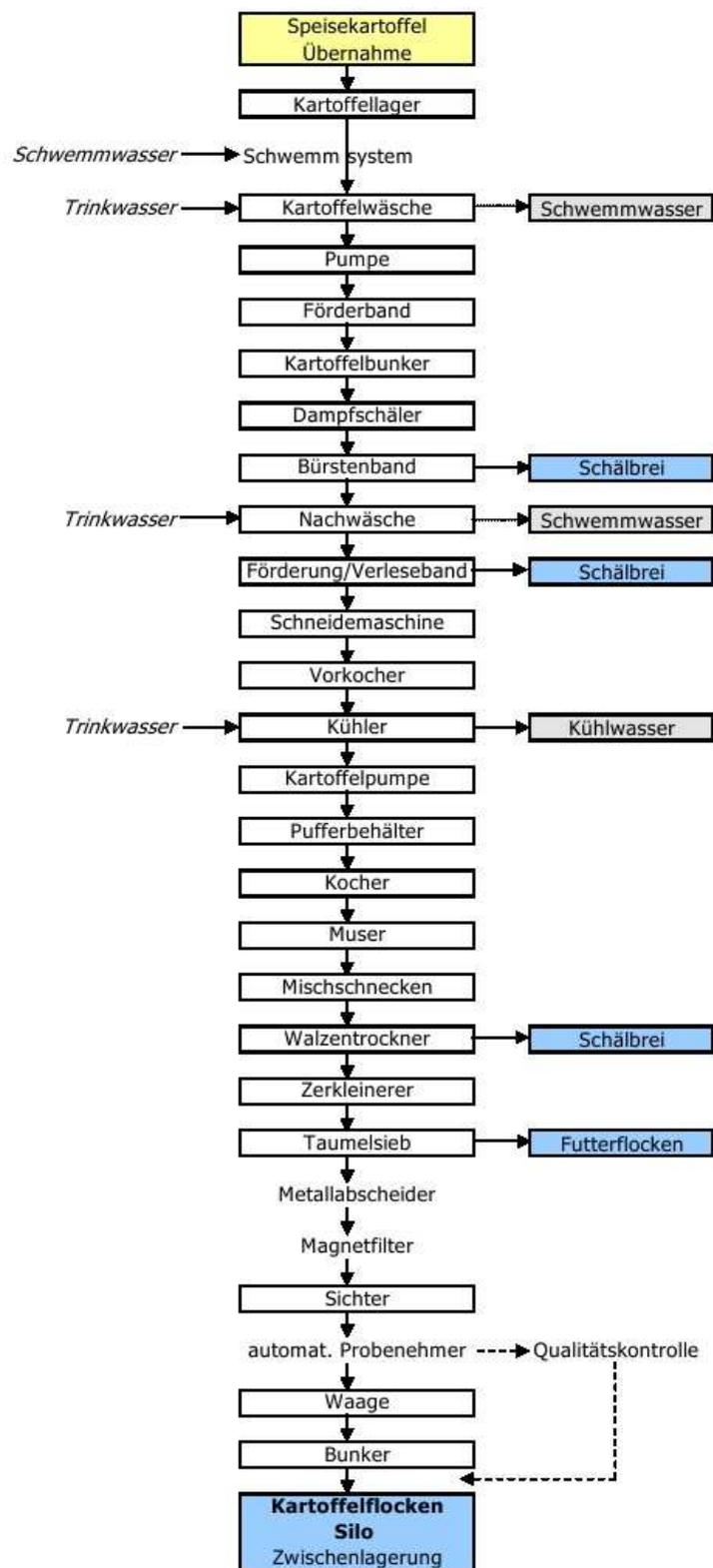


Abbildung 2: Fließschema der Kartoffeldauerprodukte-Herstellung in Gmünd

1.6 Charakteristika von Bacillen

Im Vergleich zu anderen Bakterienfamilien sind die Vertreter der Familie *Bacillaceae* eine sehr heterogene Gruppe. Nur wenige zur Charakterisierung herangezogene physiologische Eigenschaften sind allen *Bacillaceae*-Vertretern gemeinsam. Diese sind stäbchenförmige, bewegliche Zellen mit aerobem bis fakultativ anaerobem Wachstum und der Fähigkeit zur Endosporenbildung. Alle übrigen Merkmale wie Gramverhalten, optimale Wachstumstemperatur, Nährstoffverwertung oder Katalase- und Oxidasetest sind je nach Bakterienstamm sehr variabel ausgeprägt (KRIEG, 1984).

Smith, Francis und Clark entwickelten in den 1930er Jahren das moderne Konzept des Genus *Bacillus*. Die von ihnen definierten Kriterien dieses Genus waren stäbchenförmige Zellen und die Fähigkeit zur aeroben Endosporenbildung. Auf Grund neuer mikrobiologischer Analysemethoden, durch welche die phylogenetischen Verwandtschaftsverhältnisse innerhalb der Bakterien neu definiert werden konnten, ist die Taxonomie vor allem bei der heterogenen Gruppe der *Bacillaceae* in den letzten Jahren immer wieder verändert und angepasst worden (ZEIGLER, 2001). Nach Sequenzierung der ribosomalen RNA unterteilten ASH et al. (1991) den Genus *Bacillus* in 5 phylogenetische Gruppen. Mit fortschreitenden Bestimmungen von immer mehr aeroben Sporenbildern entstanden aus diesen 5 *Bacillus*-Gruppen eigenständige Gattungen. NAZINA legte 2001 die fünfte Gruppe der obligaten thermophilen *Bacillen* als eigenständige Gattung *Geobacillus* fest.

Heute besteht die Familie der *Bacillaceae* aus 11 verschiedenen Gattungen (ZEIGLER, 2001). Mit mehr als 90 verschiedenen Bakterienarten stellt *Bacillus* die größte dieser Gattungen dar (RICCA et al., 2004).

Das Vermögen, bei Nährstoffmangel oder veränderten Umweltbedingungen Endosporen zu bilden, verleiht den Bacillen einen großen Selektionsvorteil gegenüber anderen Bakterien (LAURENT et al., 1999). Bacillussporen sind ubiquitär und können aus beinahe jedem Habitat isoliert werden.

Da je Zelle nur eine Spore gebildet wird, handelt es sich bei der Sporulation um keinen Vermehrungsvorgang, sondern um einen Prozess der Zelldifferenzierung

(MARQUIS et al., 2001). Dank der ausgeprägten Resistenzen der Sporen gegenüber Trockenheit, Hitze, Kälte sowie elektromagnetischer und ionisierender Strahlung kann die genetische Information sehr lange Zeiträume in sehr unwirtlichen Umgebungen überdauern. In einigen Publikationen wird berichtet, dass Bacillussporen noch nach 25 bis 40 Millionen Jahren zum Auskeimen gebracht werden konnten (RICCA et al., 2004).

1.7 Die Ultraschallbehandlung in der Lebensmittelindustrie

Der Einsatz von Ultraschall ist in der Lebensmittelindustrie weit verbreitet. Anwendungen findet Ultraschall in der Qualitätsprüfung von Rohstoffen, beim Prozessmonitoring sowie beim Entgasen von Flüssigkeiten. Die antimikrobiellen Eigenschaften des Ultraschalls werden bei der Reinigung von Oberflächen und bei kombinierten Dekontaminationsverfahren ausgenutzt.

KAREL et al. (2003) definieren Ultraschall als die Energie von Schallwellen, die im Frequenzbereich von 20 kHz oder darüber liegen. PIYASENA et al. (2003) setzen für den Frequenzbereich eine Obergrenze von 2,5 MHz fest, da oberhalb dieser Frequenz keine Kavitation mehr auftritt. In der Lebensmittelindustrie wird Ultraschall (US) bereits zur Reinigung von Oberflächen, zum Entgasen von Flüssigkeiten oder zum Überprüfen von bestimmten Qualitätsparametern eingesetzt.

Seit 1960 werden Versuche zur Inaktivierung von Mikroorganismen durch Ultraschall durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen, dass die Resistenz von verschiedenen Bakterienstämmen gegenüber Ultraschall sehr unterschiedlich ausgeprägt ist. Grampositive Zellen zeigen stärkere Resistenz als gramnegative, Sporen sind deutlich resistenter als vegetative Zellen (KAREL, 2003).

Eine Ultraschallbehandlung ist nur in flüssigen Medien denkbar, da Luft den Schallwellen einen zu großen Widerstand bietet und die Ausbreitung der Wellen verhindert. In einer mit Ultraschall behandelten Flüssigkeit kommt es zu großen Druckunterschieden. Kavitation tritt auf, was zur Bildung von Luftblasen führt, welche zuerst wachsen und anschließend implodieren. Dadurch entstehen in der Flüssigkeit

kurzzeitig Bereiche mit sehr hohem Druck (bis zu 100 MPa) und sehr hoher Temperatur (bis zu 5000 K). Diese momentanen, lokalen Extrembedingungen zerstören einerseits die Zellmembranen der Bakterien und führen andererseits zur Bildung von freien Radikalen, welche die DNA der Bakterienzellen angreifen (EARNSHAW et al., 1995).

PIYASENA et al. (2003) stellen fest, dass eine Ultraschallbehandlung alleine Bakterien nur sehr ineffizient abtötet, eine Kombination von Ultraschall und Temperatur bzw. Druck hingegen zur Verbesserung der Abtötungswirkung führt.

RASO et al. (1998) führten Versuche zur Inaktivierung von *Bacillus subtilis* Sporen durch Kombination von Ultraschall mit Druck- und Temperaturbehandlung durch. Die Ergebnisse zeigen, dass unabhängig von der Beschallungsdauer die maximale Abtötungsrate bei einem relativen Druck von 500 kPa erreicht wird. Während bei Umgebungsdruck und 70°C die größte erzielte Abtötung ca. 50 % beträgt, werden bei derselben Temperatur und 500 kPa ca. 99 % der Sporen inaktiviert.

Mit steigender Temperatur während der Beschallung können die Abtötungsraten ebenso gesteigert werden. Auch mit steigender Amplitude des Ultraschalls kann eine Verbesserung der Sporeninaktivierung erreicht werden. Die größten Abtötungswerte werden bei einer Amplitude von ca. 150 µm und einer Temperatur von etwa 90°C erzielt.

2 Problemstellung

Der Fokus dieser Arbeit ist auf die Erfassung der mikrobiologischen Qualität der in Gmünd produzierten Kartoffelflocken ausgerichtet. Im Besonderen werden „Bio-Kartoffelflocken ohne Zusatzstoffe“ auf aerobe, thermophile Sporenbildner untersucht. Diese Flocken ohne Zusatzstoffe werden vor allem an Hersteller von Kindernährmitteln geliefert, welche sie hauptsächlich zur Wasserbindung in Gläschenkostprodukten einsetzen. Im Gegensatz zu den vegetativen Zellen überleben die Sporen auf Grund ihrer ausgeprägten Resistenz gegenüber Hitze den Herstellungsprozess und verbleiben im Endprodukt.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, im Produktionsprozess potenzielle Schwachstellen ausfindig zu machen, sowie das Auftreten der Bakteriosporen entlang des Herstellungsweges zu erfassen und zu quantifizieren. Weiters sollten, basierend auf den Ergebnissen, gemeinsam mit der Produktionsleitung in Gmünd Vorschläge zur weiteren Reduktion der auftretenden Bakteriosporen erarbeitet werden.

Dafür werden direkt in der Kartoffeldauerprodukte-Produktion mehrere Proben entnommen, welche später im Labor der Zuck erforschung Tulln GmbH (ZFT) auf aerobe, thermophile Sporenbildner untersucht werden. Bei den Probenahmen werden sowohl feste, flüssige als auch Luftkeimproben gezogen.

Um einen Überblick über das Auftreten der Sporen zu bekommen, sollten die Probenahmen zu Beginn entlang der gesamten Produktion, vom Kartoffellager bis zu den fertigen Flocken, erfolgen. Darauf basierend sollten gezielt einzelne Produktionsschritte intensiv beprobt werden.

Um die Sporenbelastung der Flocken zu reduzieren, sollten schließlich zwei Chemikalien sowie der Einsatz von Ultraschall im Modellversuch getestet werden.

3 Material und Methoden

3.1 Probenahmen im Werk Gmünd

Das Probenmaterial wurde direkt während der Kartoffeldauerprodukte-Herstellung in Gmünd entnommen. An den einzelnen Probenahmetagen wurden verschiedene Schwerpunkte gesetzt und diese vermehrt beprobt. Es ist zwischen festen, flüssigen und Luftkeimzahlproben zu unterscheiden. Tabelle 2 zeigt eine Übersicht der Probenahmestellen an den einzelnen Beprobungstagen. Zwischen Ende Juni und Mitte August konnten auf Grund des Produktionsstillstandes keine Probenahmen erfolgen. Die Wiederaufnahme der Produktion erfolgte am 13. August.

Tabelle 2: Übersicht der einzelnen Probenahmen

	Feste und flüssige Proben	Luftkeimmessung
27.Mai	entlang der gesamten Produktionslinie	
29.Mai		entlang der gesamten Produktionslinie
10.Jun	Walzenraum (Walzenauftrag, Kartoffelfilm nach Walze)	im Walzenraum bei geöffneten und geschlossenen Verbindungstüren
18.Jun	entlang der gesamten Produktionslinie	entlang der gesamten Produktionslinie
18.Aug	Kühler, Muser, Paddelmischschnecke	
01.Sep	Walzenauftrag, Kartoffelfilm nach Walze	im Walzenraum bei geöffneten und geschlossenen Verbindungstüren

Alle unten genannten Versuche wurden in Doppelbestimmung durchgeführt und wenn nicht anders angegeben nach dem Koch'schen Plattengussverfahren ausplattiert. Dazu wurde je 1 mL der Probe in eine sterile Petrischale (Fa. Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster) pipettiert und mit PC+ Agar [Plate Count Agar (Bestell-Nr.: 1.05463.0500; Fa. Merck KGaA, Darmstadt) mit 1 g Kartoffelstärke (Fa. Agrana Stärke GmbH; Gmünd) pro 0,5 L Agar] ausgegossen. Um thermophile Bakterien zu selektieren, wurden die Petrischalen nach dem Aushärten für 48 h bei 55 °C bebrütet.

Beim Auswerten der Petrischalen wurden nur Kolonien ausgezählt, die nach 48 Stunden Bebrütung mindestens Stecknadelkopfgröße erreicht hatten. Weiters wurden Petrischalen unter 15 KbE/Platte sowie welche über 150 KbE/Platte nicht in die Berechnung der Keimzahlen miteinbezogen.

3.2 Feste und flüssige Proben

Mit Ausnahme der Proben vom 29. Mai wurden an allen Probenahmetagen feste bzw. flüssige Proben genommen. Die Entnahme der Proben erfolgte mittels sterilisierten Metalllöffeln in autoklavierte, fest verschraubbare Probenahmegefäße. Die Analysen der Proben wurden am Tag nach der Probenahme durchgeführt. Für die Zeit zwischen der Probenahme und dem Aufbereiten der Proben wurde das Probenmaterial im Kühlraum bei 4°C gelagert.

Zur Probenaufbereitung der festen Proben wurden 100 g der Probe auf der Laborwaage PM 2000 (Fa. Mettler Instrumente GmbH, Wien) eingewogen und mit 400 g sterilem destilliertem Wasser aufgefüllt, gut durchmischt und 10 mL in sterile Reaktionsröhrchen abgefüllt. Anschließend erfolgte die Sporenaktivierung im Wasserbad Typ 1800 (Fa. GFL mbH, Burgwedel) bei 80°C für 10 min.

Von den gut durchmischten, unverdünnten flüssigen Proben wurden 10 mL in sterile Röhrchen abgefüllt und im Wasserbad für 10 min bei 80°C sporenaktiviert.

Nach der Aktivierung wurden die festen und flüssigen Proben im kalten Wasserbad abgekühlt und mit sterilerer $\frac{1}{4}$ starker Ringerlösung (Bestell-Nr.: 1.15525.0001; Fa.

Merck KGaA, Darmstadt) in dezimalen Verdünnungsschritten weiter verdünnt. Von den flüssigen Proben wurden Verdünnungen bis 10^{-3} hergestellt, die festen Proben wurden bis zu einer Verdünnung von 1:500 weiter verdünnt.

3.3 Luftkeimmessung

Die Luftkeimmessungen wurden mit dem Luftkeimsammelgerät MAS-100 der Fa. Merck KGaA (Darmstadt) und speziellen Petrischalen durchgeführt.

Die verwendeten Ansaugvolumina von 25 und 50 L konnten aus den Ergebnissen von vorhergegangenen Luftkeimmessungen im Werk Gmünd übernommen werden. Bei diesen beiden Volumina ergaben sich immer gut auszählbare Keimzahlen auf den Petrischalen.

Bei der Bestimmung der Luftkeimzahl (LKZ) wurde sowohl die Gesamtkeimzahl mittels Plate Count (PC) Agar (Bestell-Nr: 1.05463.0500; Fa. Merck KGaA, Darmstadt) als auch die Keimzahl der Hefen und Schimmelpilze mittels Malzextrakt (MEA) Agar (Bestell-Nr. 1.05398.0500; Fa. Merck KGaA, Darmstadt) ermittelt.

An jeder Probenahmestelle wurden je 4 Messungen vorgenommen. Über jeden der zwei verwendeten Nährböden wurden je 25 und 50 L Luft je Probenahmestelle angesaugt.

Die Bebrütung der Petrischalen mit PC Agar erfolgte bei 37 °C für 48 h, die Hefen und Schimmelpilze wurden bei 30 °C ebenfalls für 48 h bebrütet.

Die auf den Petrischalen ausgezählten Keimzahlen wurden mit Hilfe der Korrekturtabelle (im Lieferumfang des Luftkeimmessgerätes enthalten) statistisch korrigiert und anschließend auf KbE/m^3 umgerechnet.

3.4 Analyse der wöchentlichen Proben

Von Mai bis zum Ende der Produktionskampagne im Juni wurden wöchentlich Proben von neun Probenahmestellen aus dem Vorbetrieb analysiert. Durch diese Routineanalytik sollte das Auftreten von thermophilen Sporenbildnern über einen längeren Zeitraum festgestellt werden. Die flüssigen Proben wurden per Paketdienst von Gmünd an die Zuckerforschung nach Tulln geliefert. Nach dem Eingehen der Proben wurden diese auf Unversehrtheit überprüft und gut durchmischt. 10 mL der Proben wurden in Reaktionsröhrchen pipettiert, im Wasserbad sporenenaktiviert, abgekühlt und mit $\frac{1}{4}$ starker Ringerlösung dezimal verdünnt. Als Nährboden wurde PC+ Agar verwendet. Nach 48-stündiger Bebrütung bei 55°C wurden die Petrischalen ausgezählt und die Sporenkeimzahl ermittelt.

Die Ermittlung des pH-Wertes der Proben erfolgte unter ständigem Rühren bei 20°C mit dem Taschenmessgerät WTW pH 330i (Fa. WTW GmbH, Weilheim).

3.5 Sporenkeimzahlverlauf im Vorkocher

Auf Grund der bestehenden Betriebsweise der Vorkocher mit 16 Stunden Dauerbetrieb ohne Wasseraustausch und anschließender Reinigung wird angenommen, dass es im Vorkocher mit fortschreitender Betriebsdauer zu einer Anreicherung von thermophilen Sporenbildnern kommen kann. Zum Bestimmen des Sporenkeimzahlverlaufs wurden am 8./9. September während des Normalbetriebs im Abstand von 2 Stunden Proben aus dem Vorkocher Nummer 2 gezogen.

Die Proben wurden vom Personal in Gmünd genommen und mittels Paketdienst nach Tulln transportiert. Die Probenaufbereitung erfolgte analog zu den wöchentlichen Proben.

3.6 Bestimmung der Trockensubstanz

Die Trockensubstanzbestimmung wurde durchgeführt, um die Massenveränderungen auf den beiden Trocknungswalzen, welche sich durch die Verdampfung großer Mengen Wasser ergeben, bilanzieren zu können. Je zwei feste Proben wurden am Walzenauftrag sowie vom Kartoffelfilm am Walzenaustrag genommen und in auf Gewichtskonstanz geglühte Wägegläschen eingewogen (Analysenwaage PM 400; Fa. Mettler Instrumente GmbH, Wien). Die Trocknung erfolgte bei 100°C über Nacht im Trockenschrank UNB 500 (Fa. Memmert GmbH+CO KG, Schwabach). Nach dem Abkühlen im Exikkator wurden die Proben ausgewogen.

3.7 Erfassung der Keimentwicklung auf den Trocknungswalzen

Es wird davon ausgegangen, dass sich die Bakterien in der Wasserphase der Proben aufhalten. Durch die starke Erhöhung der Trockensubstanz und damit verbundene Reduktion des Wassergehaltes der Proben wird vermutet, dass es auf den Trocknungswalzen zu einer Aufkonzentrierung der Bakteriensporen kommen kann. Vegetative Zellen werden bei den auf den Walzen herrschenden Bedingungen abgetötet.

Es wurde versucht, diese Konzentrierung zu berechnen. Dazu wurden sowohl Proben vom Walzenauftrag als auch vom Kartoffelfilm genommen und die Sporenkeimzahl nach 48 h bei 55°C ermittelt. Um wegen der starken Veränderung der Trockensubstanz auf den Walzen vergleichbare Werte zu erhalten, wurden die Keimzahlen auf KbE pro Gramm Trockensubstanz (TS) umgerechnet. Dazu wurden die Ergebnisse der Trockensubstanzbestimmung herangezogen. Durch Vergleichen der Keimzahlen vor und nach der Walze wurden der Konzentrierungs- bzw. der Abtötungsfaktor berechnet.

Außerdem erfolgte aus den Werten der Trockensubstanzbestimmung die Berechnung eines theoretisch maximal möglichen Konzentrierungsfaktors.

3.8 Mikroskopie

Die aus den Proben gewonnenen Isolate wurden mit dem Durchlichtmikroskop Olympus BH-2 (Fa. Olympus, Wien) untersucht und morphologisch sowie phänotypisch bewertet. Zur Bestimmung spezieller Eigenschaften der Kulturen wurden Färbepreparate angelegt. Sowohl die Färbemethoden nach Gram als auch die Sporenfärbung nach Rakette wurden angewandt. Die Arbeitsanweisungen für die Färbungen wurden aus SÜSSMUTH (1998) entnommen.

3.9 Ultraschallbehandlung

Es sollte die Auswirkung von pulsierendem Ultraschall auf vegetative Zellen sowie auf Sporen untersucht werden. Zum Erzeugen des Ultraschalls wurde der Bandelin Sonopuls Ultraschall Homogenisator HD 3200 in Kombination mit dem HF-Generator GM 3200 sowie der Sonotrode VS 70 T (alle Geräte von der Fa. Bandelin Electronic GmbH & Co. KG, Berlin) verwendet.

Beschallt wurden Flüssiganreicherungen in Nährbouillon (Bestell-Nr.: 1.05443.0500; Fa. Merck KGaA, Darmstadt) von *Bacillus licheniformis* bzw. *Bacillus pumilus*, welche bei 37°C angezüchtet wurden. Pro Versuch wurde ein Volumen von ca. 100 mL der unverdünnten Anreicherungen in einer 100 mL Schottflache beschallt.

Vor der Beschallung der Proben wurden eine vegetative Gesamtkeimzahl- und eine Sporenkeimzahlbestimmung durchgeführt. Zur Bestimmung der vegetativen Gesamtkeimzahl wurde die Anreicherung mit steriler $\frac{1}{4}$ starker Ringerlösung in dezimalen Schritten verdünnt. Die Bestimmung der Sporenkeimzahl war analog, allerdings erfolgte vor der Verdünnung eine Sporenaktivierung im Wasserbad bei 80°C für 10 min.

Da RASO et al. (1998) zur Sporenabtötung von *Bacillus subtilis* eine Amplitude von ca. 150 μm empfehlen, wurde die Amplitude bei den Versuchen auf 85 % der Maximalleistung der Sonotrode eingestellt. Dies entspricht einem Wert von 144 μm .

Beschallt wurde sowohl bei Raumtemperatur (25°C) als auch bei erhöhten Temperaturen im Wasserbad (50°C, 65°C und 85°C). Die Pulsation sowie die Pause zwischen zwei Pulsen wurden auf 0,3 s eingestellt. Die Beschallungsdauer wurde zwischen 3, 4, 5, 10 und 20 min variiert.

Nach der Ultraschallbehandlung wurden von jeder Probe je 10 mL in sterile Reaktionsröhrchen überführt und im Wasserbad sporenaktiviert. Von diesen sporenaktivierten Proben sowie von den nicht sporenaktivierten Anreicherungen wurden dezimale Verdünnungsreihen mit steriler Ringerlösung hergestellt und die Keimzahlen bestimmt.

Zur Berechnung der Abtötungswirkung der Ultraschallbehandlung wurden die Gesamt- und Sporenkeimzahlen nach der Beschallung mit den Keimzahlen vor der Beschallung verglichen.

3.10 Chemische Hilfsstoffe

Es wurden Versuche mit zwei auf dem Markt befindlichen Verarbeitungshilfsstoffen einer österreichischen Handelsfirma durchgeführt. Es wurde vereinbart, hier keine genauen Produktbezeichnungen zu nennen. Laut den Datenblättern verhindert eine der beiden Substanzen das Anhaften von Bakterien an Oberflächen (im Folgenden mit „Substanz A“ bezeichnet), wohingegen die andere mikrobielles Wachstum unterbindet (im Folgenden mit „Substanz B“ bezeichnet).

Vor der Versuchsdurchführung wurden den Herstellerangaben entsprechend wässrige Lösungen der beiden Substanzen hergestellt.

Für die Versuche wurden Flüssiganreicherungen in Nährbouillon von *Bacillus pumilus* bzw. *Bacillus licheniformis* verwendet.

3.10.1 Anti-Haft-Versuch

Geschälte, desinfizierte Kartoffelscheiben wurden für ca. 2 min in die auf eine Keimzahl von ca. 10^3 KbE/mL verdünnten Anreicherungen eingelegt und in der Sterilbank ca. 5 min luftgetrocknet. Zur Simulation von Spülvorgängen wurden die Kartoffelscheiben anschließend mit den beiden Lösungen sowie zum Vergleich mit sterilem Wasser gespült bzw. in diese eingelegt.

Die Spülwässer wurden dezimal verdünnt und mit PC+ Agar in Petrischalen ausgegossen. Die gespülten Kartoffelscheiben wurden auf PC+ Agarplatten aufgelegt bzw. auf diese aufgedrückt und wieder abgenommen (gestempelt).

Der Versuchsaufbau wurde mehrmals variiert, um verschiedene Anwendungsmöglichkeiten der Substanzen testen zu können.

3.10.2 Wachstums- bzw. Hemmwirkungsversuch

Zum Nachweis der wachstumshemmenden Eigenschaften wurde der folgende Versuch mit beiden Chemikalien durchgeführt: Schüttelkolben mit je 20 mL Nährbouillon wurden mit verschiedenen Mengen der in Wasser gelösten Substanzen versetzt, mit ca. $5 \cdot 10^3$ KbE *Bacillus licheniformis* beimpft und bei 37°C im Schüttler bebrütet. Eine Keimzahlbestimmung der Kolben erfolgte nach 24 h sowie nach 7 und 15 Tagen.

Tabelle 3 zeigt die zugesetzten Mengen in mL sowie in Prozent auf das Endvolumen der Schüttelkolben gerechnet.

Tabelle 3: Zusätze für den Wachstumsversuch

Zusatz [mL]	Zusatz [%]
8	28,6
5	20,0
2	9,0
1	4,8
0,5	2,4
0	0

3.11 Temperaturprofil

Bei diesem Versuch wurden die vegetative Gesamtkeimzahl sowie die Sporenkeimzahl (nach Sporenaktivierung) nach verschiedenen Temperaturbehandlungen der Kulturen bestimmt. Dafür wurde eine Flüssiganreicherung von *Bacillus licheniformis* verwendet, welche bei 70, 80, 90 und 100°C für jeweils 20, 40 und 60 min im Wasserbad behandelt wurden. Weiters wurde ein Versuch durchgeführt, bei welchem die Kultur nach 60 min bei 100°C einem Kälteschock ausgesetzt wurde. Dafür wurde die Anreicherung nach der Hitzebehandlung für ca. 30 min auf Eis gelegt.

Zur Berechnung der Abtötung wurden die ermittelten Keimzahlen nach der Behandlung bei 70°C mit der vegetativen Ausgangskeimzahl verglichen, alle anderen mit der Sporenkeimzahl.

3.12 Keimzahlverlauf

Zur Veranschaulichung des Wachstumsverlaufes wurde sowohl von *Bacillus pumilus* als auch von *Bacillus licheniformis* eine Flüssiganreicherung in Nährbouillon (Bestell-Nr.: 1.05443.0500; Fa. Merck KGaA, Darmstadt) hergestellt, für 54 Tage bei 37°C im Brutschrank bebrütet und mehrmals die Keimzahlen bestimmt. Von jeder Kultur wurden die vegetative Keimzahl und die Sporenkeimzahl nach Sporenaktivierung im Wasserbad erhoben.

3.13 Identifizierung

Die Identifizierung der aus den Proben isolierten thermophilen Bakterienstämme erfolgte mittels API 50 CH Teststreifen und dem API 50 CHB/E Medium der Firma Biomérieux (Marcy-l'Etoile). Dieses System beruht auf der individuellen Fähigkeit von Bakterienstämmen, verschiedene Kohlenhydrate zu verwerten.

Zu Beginn musste, ausgehend von einer einen Tag alten Reinkultur, im API 50 CHB/E Medium eine Bakteriensuspension hergestellt werden. Jedes Röhrchen der Teststreifen wurde mit dieser Suspension beimpft und bei 55°C bebrütet. Die Auswertung erfolgte nach 24 Stunden anhand der Farbe der Röhrchen. Ein Farbumschlag von rot nach gelb zeigt Säurebildung und somit eine positive Verwertung des Kohlenhydrats an.

Zur Ermittlung der Bakterienstämme wurde die Auswertesoftware an der Universität für Bodenkultur verwendet.

Die Software ermittelt für das eingegebene Profil mögliche Bakterienstämme und dazu die Wahrscheinlichkeit, mit welcher diese Annahme zutrifft. Ist diese Wahrscheinlichkeit unter 50 %, so wird kein Wert angegeben.

4 Ergebnisse

Im Folgenden sind die Ergebnisse in chronologischer Form der Versuchsdurchführung dargestellt.

4.1 27. Mai: Feste und flüssige Proben

Die erste Probenahme im Werk Gmünd erfolgte am 27. Mai. Ziel war es, einen Überblick über das quantitative Auftreten von thermophilen Sporenbildnern während des Produktionsprozesses zu erhalten. Deshalb wurden entlang des gesamten Produktionsweges Proben entnommen. Jede Probenahmestelle wurde drei Mal beprobt. In Tabelle 4 sind die Probenahmestellen, die Probenahmezeitpunkte sowie die ermittelten Keimzahlen chronologisch, dem Prozessverlauf folgend, aufgelistet.

Tabelle 4: Ergebnisse der festen und flüssigen Proben vom 27. Mai

Nummer	Probenahmestelle	Uhrzeit	KbE/g KbE/mL	KbE/g KbE/mL
1	Lager; ganze Kartoffeln	09:00	290	1054
2		09:00	1376	
3		09:00	1495	
28	Schwemmwasser	09:15	81	936
37		11:30	128	
54		14:40	2600	
33	Kartoffelwäsche	10:15	7	26
38		11:45	15	
53		14:15	57	
34	Pumpenwanne neu	10:30	0	45
41		11:30	111	
51		14:15	23	
4	ganze Kartoffeln nach Bürstenband	09:15	0	0
14		12:00	0	
22		14:15	0	
5	Schälbrei	09:15	80	93
18		12:45	80	
26		14:15	120	
36	Pumpenwanne nach Verleseband	10:45	0	5
45		12:00	10	
52		14:15	6	

8	Kartoffelscheiben nach Schneidemaschine	10:00	0	28
15		12:30	85	
23		14:20	0	
9	Kartoffelscheiben nach Sortierung	10:00	0	3
16		12:30	0	
24		14:25	10	
29	Vorkocher 2	09:30	0	9
43		11:30	18	
46	Vorkocher 1	14:00	54	54
30	Vorkocher 3	09:30	0	6
42		11:30	8	
47		14:00	9	
31	Kühler 2	09:45	0	0
39		11:30	0	
48	Kühler 1	14:00	3	3
32	Kühler 3	09:45	0	1
40		11:30	0	
49		14:00	3	
35	Pumpenwanne nach Kühler	10:45	0	3
44		11:30	6	
50		14:00	4	
10	nach linkem Muser am Ende der Schnecke (vor Walze)	10:15	405	308
17		12:30	420	
25		14:20	100	
6	linker Walzenauftrag oben	09:45	145	87
12		11:45	75	
20		14:30	40	
7	linker Walzenauftrag unten	09:45	75	38
13		11:45	0	
21		14:30	40	
11	Flocken aus Bunker	11:00	2159	1483
19		12:45	840	
27		14:30	1450	

Die Ergebnisse der ersten drei Proben (Nr. 1 bis 3) aus dem Kartoffellager zeigen, wie unterschiedlich die Ausgangskeimzahlen der Kartoffeln sind. Obwohl es sich bei der ersten Probe (Nummer 1) um faulige, schon lange gelagerte Kartoffeln handelt, weist diese mit 290 KbE/g die geringste Belastung mit thermophilen Sporenbildnern auf. Die Kartoffelprobe Nummer 2 befand sich ebenfalls schon lange im Lager, hatte allerdings weder fauligen Stellen noch Auswüchse. Trotzdem ist diese Probe mit 1376 KbE/g deutlich stärker belastet als die erste Probe. Die höchste Keimzahl der drei Kartoffelproben aus dem Lager konnte bei der dritten Probe mit 1495 KbE/g ermittelt werden. Interessanter Weise handelt es sich bei dieser Probe um frisch angelieferte Kartoffeln.

Bei der Entnahme der Kartoffelproben wurde darauf geachtet, dass wenig Erde an den Kartoffeln anhaftete.

Mit einer durchschnittlichen Keimzahl von ca. 900 KbE/mL ist das Schwemmwasser stark mit Sporenbildnern belastet, wobei die einzelnen Messwerte eine große Schwankungsbreite aufweisen.

Im weiteren Verlauf des Produktionsprozesses sind die Keimzahlen bis zur „Pumpenwanne nach Kühler“ gering. Erst ab der Probenahmestelle „nach Muser am Ende der Schnecke“ steigen die Sporenkeimzahlen deutlich an und zeigen innerhalb der einzelnen Probenahmestellen starke Schwankungen. In den Kartoffelflockenproben ist ein weiterer Anstieg der Keimzahlen festzustellen, sodass das Endprodukt eine höhere Sporenbelastung aufweist als die Kartoffeln aus der Lagerhalle.

4.2 29. Mai: Luftkeimmessung

Am 29. Mai wurden im gesamten Produktionsbetrieb Luftkeimmessungen durchgeführt. Die mit Hilfe der statistischen Korrekturtabelle korrigierten Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt. Pro Probenahmestelle ergeben sich vier Probenahmen, da über jeden verwendeten Agar je zwei verschiedene Volumina angesaugt wurden.

Tabelle 5: Ergebnisse der Luftkeimmessung vom 29. Mai

Nummer	Probenahmestelle	Agar	KbE/m ³	Mittelwert KbE/m ³
1	rechtes Kartoffellager	PC	600	420
2			240	
3		MEA	6400	5440
4			4480	
41	Bandwaage 3. Stock	PC	13120	14250
42			15380	
43		MEA	0	0
44			0	
37	Bunkeraustrag 1. Stock	PC	11880	8130
38			4380	
39		MEA	200	180
40			160	

5	Kartoffelwäsche	PC	29700	36890
6			44080	
7		MEA	3100	2610
8			2120	
9	bei Schneidemaschine	PC	19400	12590
10			5780	
11		MEA	160	110
12			60	
13	Vorkocherraum	PC	1080	2010
14			2940	
15		MEA	0	80
16			160	
25	Kocherraum	PC	5360	4320
26			3280	
27		MEA	360	370
28			380	
21	Walzenraum	PC	13560	17800
22			22040	
23		MEA	40	40
24			40	
17	Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum	PC	19267	19183
18			19100	
19		MEA	133	117
20			100	
33	zwischen Trocknungswalzen	PC	8280	9250
34			10220	
35		MEA	400	360
36			320	
29	bei Zick-Zack Sichter	PC	80	80
30			80	
31		MEA	80	50
32			20	
45	Abfüllung von Großgebinden	PC	40	40
46			40	
47		MEA	240	150
48			60	
49	Außenluft bei Anlieferung	PC	133	133
50			133	
51		MEA	200	217
52			233	

Wie erwartet ist im Kartoffellager auf Grund der trockenen Luft die Hefe- und Schimmelpilzkeimzahl am höchsten. Das Lager ist die einzige Probenahmestelle, an welcher die MEA-Keimzahl über der PC-Keimzahl liegt.

Die größte Belastung der Luft ist in der Kartoffelwäsche mit 36890 KbE/m³ festzustellen. Auch im Raum der Schneidemaschine ist die Gesamtkeimzahl relativ hoch, wohingegen im restlichen Betrieb sowohl die Gesamtkeimzahlen als auch die

Hefe- und Schimmelpilzkeimzahlen gering sind. Einzige Ausnahme ist der Walzenraum. An allen drei Messpunkten im Walzraum („Walzenraum“, „Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum“ und „zwischen Trocknungswalzen“) sind erhöhte Gesamtkeimzahlen gemessen worden. Der Grund hierfür könnte die örtliche Anordnung der Räume sein. Der Walzenraum liegt direkt neben der Kartoffelwäsche wobei die beiden Räume durch eine Tür miteinander verbunden sind. Zum Zeitpunkt der Messungen stand diese Tür durchgehend offen und es war ein starker Luftzug von der Kartoffelwäsche in den Walzenraum spürbar. Dieser Luftzug wird durch den Brüdenabzug über den Walzen erzeugt. Die durch eine Belüftungsanlage in den Walzenraum eingebrachte Frischluftmenge reicht nicht aus, um die vom Brüdenabzug abgesaugte Luft zu ersetzen. Daher entsteht im Walzenraum ein Unterdruck, wodurch Luft aus den Nebenräumen ansaugt wird. Dies ist besonders problematisch, da in der Kartoffelwäsche die höchste Luftbelastung auftritt.

4.3 10. Juni: Feste Proben und Luftkeimmessung

Auf Grund der Ergebnisse der Probenahmen im Mai, lag der Schwerpunkt dieser Probenahme im Walzen- und Kocherraum. Hier wurden Luftkeimmessungen durchgeführt und feste Proben von den Walzen und aus den Musern entnommen.

Wegen des im Mai festgestellten Luftzugs von der Kartoffelwäsche in den Walzenraum wurde die Luftkeimmessung sowohl bei geöffneten als auch bei geschlossenen Verbindungstüren durchgeführt.

Nach der ersten Probenahme um ca. 9:00 Uhr wurden alle drei Verbindungstüren in den Walzenraum (zur Kartoffelwäsche, in den Vorkocherraum und in den Dosierraum), geschlossen. Die weiteren Probenahmen erfolgten um ca. 11:00 Uhr und um ca. 13:00 Uhr; also nach 2 bzw. 4 Stunden Betrieb bei geschlossenen Türen. Die Ergebnisse der Luftkeimmessung sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Ergebnisse der Luftkeimmessung vom 10. Juni

Probenahmestelle	Agar	KbE/m ³		Veränderung in %
		Türen offen	Türen zu	
Kartoffelwäsche	PC	14630	37034	153,1
	MEA	220	367	66,6
Walzenraum	PC	12490	4967	-60,2
	MEA	120	150	25,0
zwischen Trocknungswalzen	PC	12290	5630	-54,2
	MEA	170	90	-47,1
Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum	PC	17330	6965	-59,8
	MEA	190	135	-28,9
Außenluft	PC	227		
	MEA	193		

Ähnlich zu den Ergebnissen der Luftkeimmessung von 29. Mai ist die Luft im Vergleich zur Gesamtkeimzahl nur gering mit Hefen und Schimmelpilzen belastet. Die PC-Gesamtkeimzahl liegt wie erwartet weit über jener der Außenluft, während die Keimzahl der Hefen und Schimmelpilze in der Außenluft höher ist als im Walzenraum.

Unabhängig davon, ob die Türen geschlossen oder geöffnet sind, liegen an jeder Probenahmestelle je eine bis zwei Zehnerpotenzen zwischen der PC- und der MEA-Luftkeimzahl. Bei geschlossenen wie bei geöffneten Türen tritt die stärkste Belastung der Luft an der Probenahmestelle „Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum“ auf.

Durch das geschlossen Halten der Türen kann die Gesamtkeimzahl (PC) an allen drei Probenahmestellen im Walzenraum („Walzenraum“, „Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum“ und „zwischen Trocknungswalzen“) um durchschnittlich 58 % reduziert werden (Abbildung 3).

Weniger stark fällt die Reduktion der Hefe- und Schimmelpilzkeimzahl mit durchschnittlich 37 % aus. Hier kann nur an zwei der drei Probenahmestellen eine Senkung der Keimzahl um durchschnittlich 37 % beobachtet werden. An der Probenahmestelle „Walzenraum“ ist die MEA-Keimzahl sogar um 25 % gestiegen (Abbildung 4).

Wie erwartet sind in der Kartoffelwäsche die Gesamtkeimzahl und die Keimzahl der Hefen und Schimmelpilze bei geschlossenen Türen deutlich angestiegen, da der Luftzug in den Walzenraum unterbrochen war.

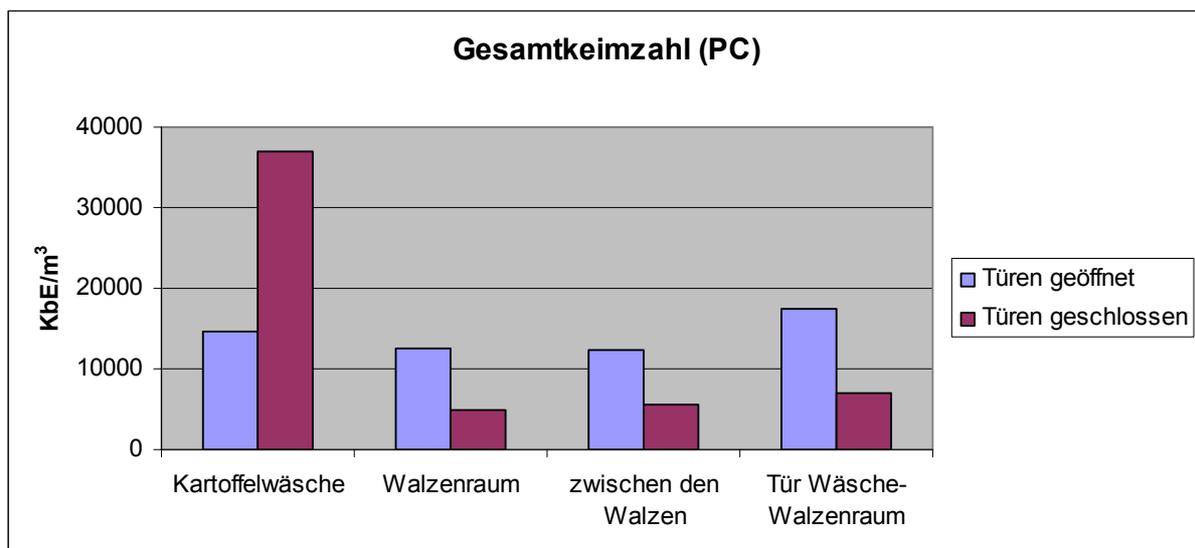


Abbildung 3: Luftkeimmessung am 10. Juni ; Gesamtkeimzahl bei geöffneten und geschlossenen Türen

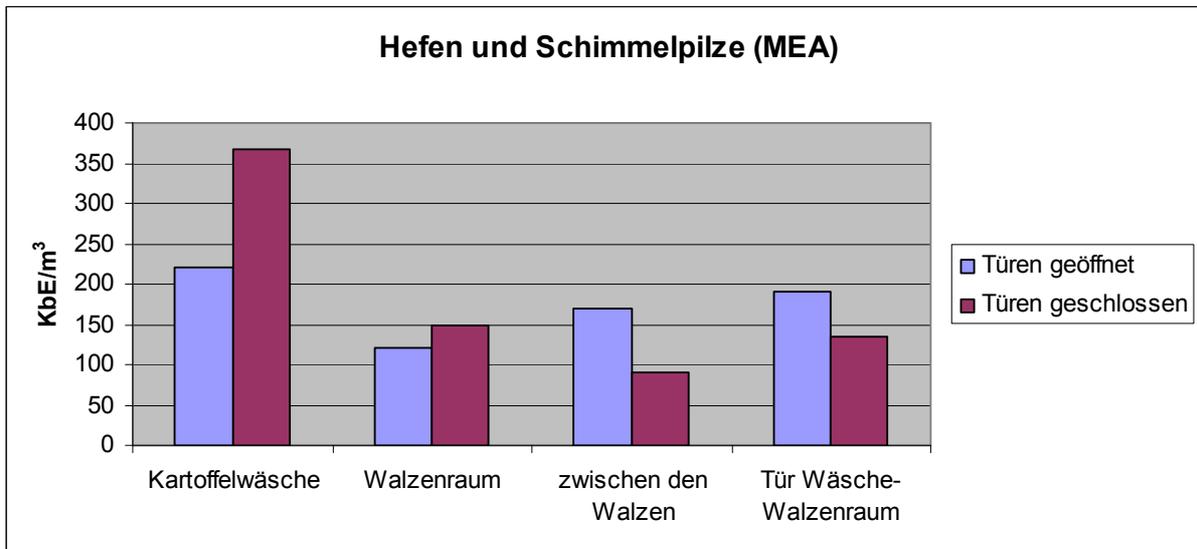


Abbildung 4: Luftkeimmessung am 10. Juni; Hefe- und Schimmelpilzkeimzahl bei geöffneten und geschlossenen Türen

Bei der Auswertung der festen Proben kann kein Zusammenhang zwischen der Reduktion der Luftkeime im Walzenraum und der Belastung des Kartoffelfilms auf der Walze festgestellt werden. Tabelle 7 zeigt die Sporenbelastung der festen Proben bei geöffneten und geschlossenen Türen.

Tabelle 7: Sporenbelastung der festen Proben bei geöffneten und geschlossenen Türen am 10. Juni

Probenahmestelle	KbE/g	
	Türen offen	Türen zu
Walzenauftrag oben	5	93
Walzenauftrag unten	10	88
Muser direkt nach Musen	0	8
Muser am Ende der Schnecke	15	5
Kartoffelfilm	280	353

Obwohl die Luftbelastung im Walzenraum durch das Schließen der Verbindungstüren deutlich gesenkt werden kann, ist die Sporenkeimzahl im Produkt an vier von fünf Probenahmestellen bei geschlossenen Türen höher als bei geöffneten. Ein Zusammenhang zwischen der Reduktion der Luftkeimzahl und der Keimzahl im Produkt ist nicht feststellbar.

4.4 18. Juni: Feste und flüssige Proben

Ähnlich der ersten Probenahme im Mai wurden wieder auf die gesamte Produktionslinie verteilt flüssige und feste Proben gezogen. Der Ort und die Anzahl der Probenahmestellen wurden im Vergleich zum Mai etwas variiert. In Tabelle 8 sind die Ergebnisse der Probenahme angeführt.

Ähnlich der ersten Probenahme zeigen die Ergebnisse auch hier, dass die Sporenbelastung der Zwischenprodukte bis zum Muser gering ist. Im Vergleich zum Mai ist die Sporenkeimzahl im Schwemmwasser sowie am Walzenauftrag geringer. An den Probenahmestellen „ganze Kartoffeln nach Bürstenband“ und „Scheiben nach Sortierung“ kann nur eine geringe bzw. keine Kontamination festgestellt werden. Ein deutlicher Anstieg in der Sporenbelastung zeigt sich wieder an den Probenahmestellen „nach Muser am Ende der Schnecke“. Die höchste ermittelte Keimzahl beträgt hier 2600 KbE/g, was deutlich über den am 27. Mai und 10. Juni gemessenen Keimzahlen liegt.

Der Grund für diese Erhöhung der Keimzahl könnte der 14-tägige Reinigungszyklus sein, in welchem die gesamte Anlage gesäubert wird. Während am 10. Juni (zweiter Tag nach der Komplettreinigung der Anlage) noch kein Anstieg in der Schnecke festgestellt werden kann, ist die Sporenbelastung am 18. Juni (10. Tag nach der Reinigung) am Ende der Paddelmischschnecke deutlich höher als vor der Schnecke. Tabelle 9 zeigt einen Vergleich dieser beiden Probenahmen.

Tabelle 8: Ergebnisse der festen und flüssigen Proben vom 18. Juni

Nummer	Probenahmestelle	Uhrzeit	KbE/g KbE/mL	KbE/g KbE/mL
14	Kartoffel aus Schwemmwasser	11:30	20	20
13	Schwemmwasser	11:30	275	275
1	ganze Kartoffeln nach Bürstenband	09:30	0	0
15		13:00	0	
11	Scheiben nach Sortierung	09:30	0	0
26		13:00	0	
10	abgetrenntes Wasser vor Kocher	09:30	9	9
24		13:00	8	
9	Scheiben vor Kocher	09:30	5	8
23		13:00	10	
7	linker Muser direkt nach Musen	09:30	15	53
21		13:00	90	
6	nach linkem Muser am Ende der Schnecke	09:30	2600	1465
20		13:00	330	
8	nach rechtem Muser am Ende der Schnecke	09:30	735	648
22		13:00	560	
2	linke Walze Auftrag oben	09:30	40	28
16		13:00	15	
3	rechte Walze Auftrag oben	09:30	20	25
17		13:00	30	
4	Kartoffelfilm linke Walze	09:30	1800	918
18		13:00	35	
5	Kartoffelfilm rechte Walze	09:30	325	781
19		13:00	1237	
12	Flocken aus Bunker	09:30	530	430
25		13:00	330	

Tabelle 9: Veränderung in der Keimzahl in der Transportschnecke nach dem Muser am 10. und 18. Juni

	KbE/g				
	2. Tag nach Reinigung (10. Juni)			10. Tag n. Reinigung (18. Juni)	
	9:00	11:00	13:00	9:00	13:00
linker Muser direkt nach Muser	0	5	10	15	90
linker Muser am Ende der Schnecke	15	0	10	2600	330
Differenz	15	-5	0	2585	240

Der Anstieg der Sporenkeimzahl im Verlauf der Transportschnecke ist am 18. Juni besonders auffällig. Die erste Messung um 9:00 Uhr ergibt am Anfang der Schnecke eine Keimzahl von 15 KbE/g, während am Ende der Schnecke die Keimzahl 2600 KbE/g beträgt. Um 13:00 Uhr steigt die Keimzahl innerhalb der Transportschnecke von 90 KbE/g am Anfang auf 330 KbE/g am Ende der Schnecke.

Ein Grund für diese hohen Keimzahlen und die gleichzeitige Schwankung könnte sein, dass es in der Schnecke Bereiche gibt, die nicht kontinuierlich transportiert werden. Dort könnte sich der Kartoffelbrei längere Zeit aufhalten und es könnte zur Vermehrung von Bakterien kommen, wobei die in der Schnecke vorliegenden Bedingungen Wachstumsvorteile für thermophile Arten bieten.

Auffällig war, dass das Produkt sehr langsam durch die Schnecke transportiert wurde und sich somit eine lange Verweilzeit ergibt.

4.5 18. Juni: Luftkeimmessung

Es wurde der gesamte Produktionsbereich beprobt, wobei die Verbindungstüren im Walzenraum den ganze Tag geöffnet waren. Die erste Messung erfolgte zwischen 9:00 und 10:00 Uhr, die zweite Messung wurde von 13:00 bis 14:00 Uhr durchgeführt. Tabelle 10 listet die Ergebnisse der beiden Luftkeimmessungen auf.

Tabelle 10: Ergebnisse der Luftkeimmessung vom 18. Juni

Probenahmestelle	Agar	KbE/m ³		
		1. Messung	2. Messung	Mittelwert
Bandwaage 3. Stock	PC	6620	5540	6080
	MEA	50	210	130
Bunkeraustrag 1. Stock	PC	410	1750	1080
	MEA	30	170	100
Kartoffelwäsche	PC	13280	16640	14960
	MEA	1070	230	650
bei Schneidemaschine	PC	25880	22150	24015
	MEA	450	190	320
Kocherraum	PC	4730	5800	5265
	MEA	260	40	150
Walzenraum	PC	11840	13320	12580
	MEA	620	150	385
zwischen Trocknungswalzen	PC	9310	4760	7035
	MEA	120	60	90
Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum	PC	11830	22310	17070
	MEA	1060	160	610
bei Zick-Zack Sichter	PC	180	2930	1555
	MEA	40	110	75
Außenluft	PC	320		
	MEA	170		

Ähnlich zu der Messung am 29. Mai liegen auch hier die PC Luftkeimzahlen im gesamten Produktionsbereich ca. eine bis zwei Zehnerpotenzen über denen der MEA-Platten.

An den Probenahmestellen „Bandwaage 3. Stock“, „Bunkeraustrag 1. Stock“ und „Kartoffelwäsche“ konnte eine geringere Luftbelastung als im Mai festgestellt werden.

In der Kartoffelwäsche ist diese reduzierte Keimzahl darauf zurückzuführen, dass während des gesamten Aufenthaltes in Gmünd eine Tür von der Kartoffelwäsche ins Freie offen stand. Dies hat jedoch keine Auswirkung auf die ermittelten Luftkeimzahlen an den Probenahmestellen „zwischen den Trocknungswalzen“ und „Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum“. Obwohl an Letzterer die erste Messung mit 11830 KbE/m^3 eine vergleichsweise geringe Luftbelastung ergibt, steigt diese bei der zweiten Messung stark an und der Durchschnittswert ergibt eine ähnliche Keimzahl wie am 29. Mai.

Auch im Kocherraum und im Walzenraum sind die Keimzahlen ähnlich der Messung im Mai. Eine deutliche Erhöhung der Luftbelastung ist an den Probenahmestellen „bei Schneidemaschine“ und „bei Zick-Zack-Sichter“ gegeben.

4.6 18. August: Feste und flüssige Proben

Am 18. August, 5 Tage nach Kampagnestart, wurden in Gmünd wieder Proben genommen. Diese Probenahme konzentrierte sich auf die Paddelmischschnecke nach dem Muser, da auf Grund der bereits erhaltenen Ergebnisse vermutet wird, dass es in dieser Schnecke zur Vermehrung von thermophilen Sporenbildnern kommen könnte. Um eine mögliche Anreicherung auch quantitativ bestimmen zu können, wurde der dem Muser vorhergehende Prozess ab der „Pumpenwanne nach Kühler“ beprobt.

Die Proben wurden im zeitlichen Abstand von ca. einer Stunde gezogen. Beim Beprobieren der Schnecke wurde darauf geachtet, dass sowohl Proben vom sich in der Schnecke bildenden Randbelag als auch Proben von der kontinuierlich transportierten Kartoffelmasse entnommen wurden.

Die Ergebnisse der Probenahme sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Tabelle 11: Ergebnisse der festen und flüssigen Proben vom 18. August

	KbE Sporenbildner/g bzw. mL					
	09:30	10:30	11:30	13:00	14:00	Mittelwert
Pumpenwanne nach Kühler	3	9	7	6	1	5
Scheiben vor Kocher	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
abgetrenntes Wasser vor Kocher	6	9	5	4	4	6
Masse direkt nach Musen	5	15	< 5	< 5	< 5	10
Randbelag Anfang	30	26000		113000		46343
Randbelag Mitte			5		5	5
Randbelag Ende		70			5	38
transportierte Masse Anfang der Schnecke	< 5		< 5		< 5	< 5
transportierte Masse Mitte der Schnecke		< 5			< 5	< 5
transportierte Masse Ende der Schnecke	< 5		< 5	< 5		< 5
Ende der Schnecke (vor Walze)	190	375	225	80	30	180

Die Ergebnisse zeigen, dass die Kontamination mit Sporenbildnern bis direkt nach dem Muser sehr gering ist. Die höchste Keimzahl an der Probenahmestelle „Masse direkt nach Musen“ beträgt 15 KbE/g und wurde um 10:30 Uhr gefunden. Auch der kontinuierlich von der Schnecke transportierte Kartoffelbrei ist im gesamten Verlauf der Schnecke nur sehr gering mit Sporen belastet.

Die Keimzahlen des sich in der Schnecke bildenden Randbelags bestätigen die Vermutung, dass sich die Sporenbildner in der Schnecke vermehren können. Die Keimzahlen der Randbelagproben sind durchgehend höher als jene der transportierten Masse. Vor allem am Anfang der Schnecke können im Randbelag mit 26000 und 113000 KbE/g extrem hohe Keimzahlen gefunden werden.

Im Vergleich zur Probenahmestelle „transportierte Masse Ende der Schnecke“ weisen auch alle Proben der Entnahmestelle „Ende der Schnecke vor der Walze“ deutlich erhöhte Keimzahlen auf. Möglicherweise bilden sich im bei der Probenahme nicht zugänglichen Bereich am Ende der Schnecke ebenfalls Anlagerungen, in denen eine Vermehrung der Bakterien stattfindet.

4.7 1. September: Feste Proben

Am 1. September wurden wieder Proben im Werk Gmünd genommen. Dieses Mal konzentrierte sich die Probenahme auf die Walzentrocknung. Die festen Proben wurden ausschließlich von der linken Walze entnommen. Die Probenahme erfolgte am Walzenauftrag sowie am Kartoffelfilm direkt nach der Walze. Pro Probenahmestelle wurden zwei Proben genommen: Eine am rechten Rand der Walze und eine am linken Rand. Tabelle 12 und Abbildung 5 zeigen die Ergebnisse der Analyse der festen Proben.

Keimzahlen größer 300000 KbE/g konnten auf Grund der gewählten Verdünnungsstufen nicht genauer bestimmt werden.

Zur nochmaligen Bestätigung der Anreicherung von Sporenbildnern in der Transportschnecke, wurden um 12:30 Uhr drei Proben vom Randbelag aus der Paddelmischschnecke gezogen. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 13 dargestellt. Keimzahlen größer 150000 KbE/g konnten nicht genau ermittelt werden.

Tabelle 12: Ergebnisse der festen Proben von der Trocknungswalze vom 1. September

	KbE Sporenbildner/g			
	Walzenauftrag rechts	Kartoffelfilm rechts	Walzenauftrag links	Kartoffelfilm links
09:30	65	295	90	225
10:30	53	> 300000	80	275
10:50	88	135	150000	285
11:10	100	116000	148	138000
11:30	76000	255000	72500	> 300000
13:00	58000	234000	121250	290000
14:00	140000	> 300000	150000	> 300000

Die Sporenkeimzahlen der festen Proben sind im Vergleich zu den vorhergegangenen Probenahmen deutlich erhöht und zeigen starke Schwankungen. An den ersten beiden Probenahmezeitpunkten ergeben sich mit einer Ausnahme („Kartoffelfilm rechts“) noch an allen Probenahmestellen übliche Keimzahlen. Ab ca. 11:10 Uhr steigen dann jedoch die Keimzahlen an allen Probenahmestellen bis zu Werten von 10^5 KbE/g an und bleiben bis zum Ende der Probenahme um ca. 14:00 Uhr auf diesem Niveau.

Die Keimzahlen der Proben vom Kartoffelfilm sind mit Ausnahme von einer Messung um 10:50 Uhr immer höher als jene am Walzenauftrag.

Die Keimzahlen der beiden Probenahmestellen am Walzenauftrag zeigen eine sehr ähnliche Entwicklung (siehe Abbildung 6), mit Ausnahme der Probe, welche um 10:50 Uhr genommen wurde. Hier ist die Probe vom linken Walzenauftrag deutlich stärker belastet als jene vom rechten.

Ebenso verlaufen die Keimzahlen der beiden Probenahmestellen am Ende der Walze ähnlich. Auch hier gibt es eine Ausnahme um 10:30 Uhr, an welcher am rechten Rand eine deutlich höhere Keimzahl als am linken gefunden werden konnte. (siehe Abbildung 7)

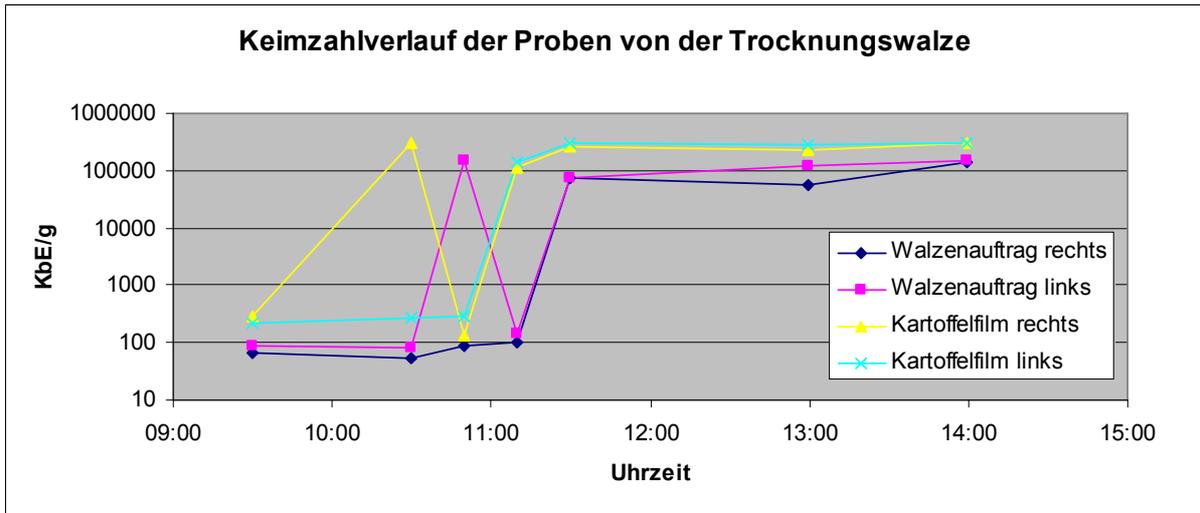


Abbildung 5: Sporenkeimzahlverlauf der festen Proben vom 1. September

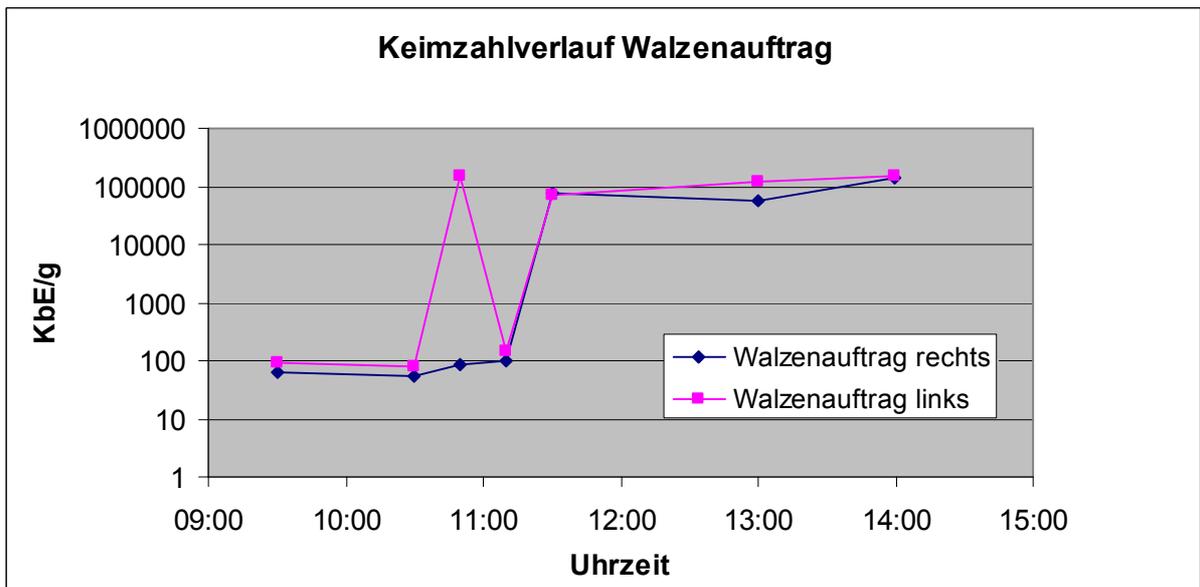


Abbildung 6: Sporenkeimzahlverlauf am Walzenauftrag vom 1. September

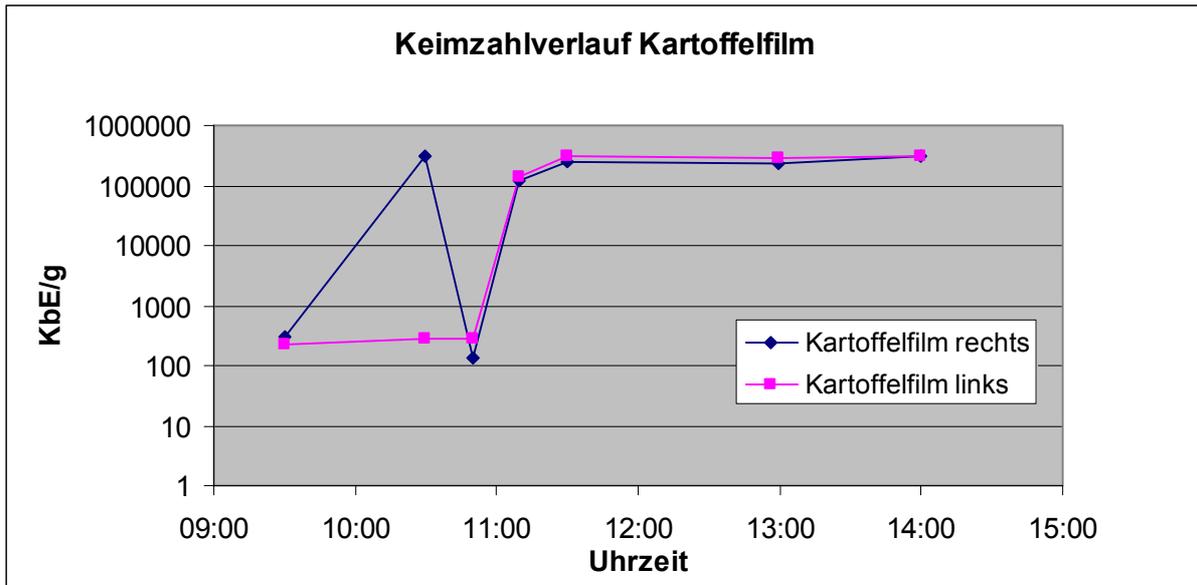


Abbildung 7: Keimzahlverlauf im Kartoffelfilm vom 1. September

Tabelle 13: Ergebnisse der festen Proben aus der Paddelmischschnecke vom 1. September

	KbE/g
	12:30
Randbelag am Anfang der Schnecke	> 150000
Randbelag in der Mitte der Schnecke	> 150000
Randbelag am Ende der Schnecke	> 150000

Analog zu den Proben von der Walze sind auch die ermittelten Keimzahlen vom Randbelag der Paddelmischschnecke höher als am 18. August. Vor allem in der Mitte und am Ende der Schnecke wurden im Randbelag bei der Messung im August keine so hohen Keimzahlen gefunden. An der Probenahmestelle „Randbelag am Anfang der Schnecke“ konnte hingegen auch schon am 18. August eine Keimzahl von 113000 KbE/g festgestellt werden.

Da die beiden Probenahmen im August und im September jeweils am 8. Tag nach der Komplettreinigung stattfanden, kann der Einfluss der Betriebsdauer auf die Höhe der Kontamination vernachlässigt werden.

4.8 1. September: Luftkeimmessung

Die Luftkeimmessung konzentrierte sich auf die Probenahmestellen im Walzenraum. Es wurden 5 Messungen durchgeführt, davon 3 Messungen bei geöffneter Verbindungstür und 2 Messungen bei geschlossener. Im Gegensatz zur Messung am 10. Juni wurde dieses Mal nur die Verbindungstür zur Kartoffelwäsche geschlossen, die anderen beiden Türen in den Vorkocherraum und in den Dosierraum blieben während allen Messungen geöffnet. Die Tür zur Kartoffelwäsche war von ca. 10:30 bis 12:00 Uhr geschlossen.

An jedem Messpunkt wurden - wie bei den vorher gegangenen Luftkeimmessungen - je 25 und 50 L Luft angesaugt.

Die Ergebnisse der Luftkeimmessung sind in Tabelle 14 dargestellt. Da die statistische Korrekturtabelle nur Werte bis 52560 KbE/m³ enthält, können keine höheren Keimzahlen ermittelt werden.

Tabelle 14: Ergebnisse der Luftkeimmessung vom 1. September

		KbE/m ³				
		09:45	10:15	11:15	11:45	12:15
Verbindungstür		offen	offen	zu	zu	offen
Walzenraum	PC	28040	> 52560	14120	41720	28410
	MEA	80	40	20	30	20
zwischen den Trocknungswalzen	PC	26550	26680	5280	6860	46800
	MEA	310	50	10	0	110
Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum	PC	> 52560	41720	12240	11050	12950
	MEA	170	50	60	30	180
Kartoffelwäsche	PC	> 52560	45360	26220	25130	9590
	MEA	190	140	60	30	190

Analog zu den Ergebnissen der festen Proben sind auch die PC-Gesamtkeimzahlen der Luftkeimmessung im Vergleich zu den früheren Probenahmen sehr stark erhöht. An zwei Messpunkten kann die genaue Keimzahl gar nicht bestimmt werden, da sie die Angabe der statistischen Korrekturliste übersteigt.

Die Keimzahlen der Hefe und Schimmelpilze allerdings sind durchwegs niedriger als bei den vorhergegangenen Messungen im Mai und im Juni.

Ein Grund für die starke bakterielle Belastung der Luft sowie die großen Schwankungen der Keimzahlen könnte sein, dass die Luft auf Grund von Reinigungsarbeiten an der gesamten Anlage während des Aufenthaltes feuchter war als während der früheren Messungen.

Abbildung 8 und Abbildung 9 zeigen die zeitliche Entwicklung der Gesamtkeimzahl sowie der Hefe- und Schimmelpilzkeimzahl.

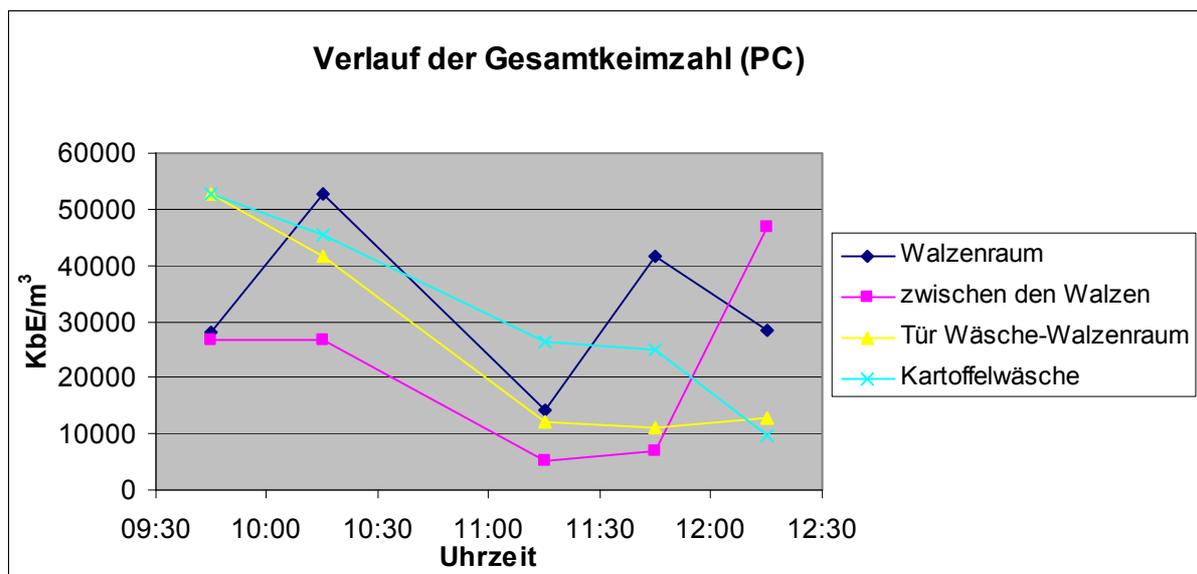


Abbildung 8: Luftkeimzahl am 1. September; Verlauf der Gesamtkeimzahl

Die Gesamtkeimzahl der Luft ist an den ersten beiden Probenahmen um 9:45 und 10:15 Uhr an allen Probenahmestellen im Walzenraum hoch. Zu diesen Zeitpunkten war die Verbindungstür in die Kartoffelwäsche noch offen. Nach dem Schließen dieser Tür um 10:30 Uhr ergeben sich für die beiden folgenden Probenahmen deutlich geringere Keimzahlen. Einzig an der Probenahmestelle „Walzenraum“ wurde um 11:45 Uhr trotz geschlossener Tür ein Anstieg der Gesamtkeimzahl festgestellt. Der Grund hierfür könnte die Tür in den Vorkocherraum sein, da diese nahe der

Probenahmestelle „Walzenraum“ liegt und während den gesamten Messungen offen stand.

Nach dem die Verbindungstür in die Kartoffelwäsche um 12:00 Uhr wieder geöffnet wurde, kann ein deutlicher Anstieg der Luftkeimzahl an der Probenahmestelle „zwischen den Walzen“ festgestellt werden. Die dort um 12:15 Uhr ermittelte Keimzahl liegt auch deutlich über jener, welche vor dem Schließen der Tür gefunden wurde. Der nochmalige Rückgang der Luftkeimzahl in der Kartoffelwäsche bei wieder geöffneter Tür kann darauf zurück geführt werden, dass ab ca. 11:00 Uhr eine Tür von der Kartoffelwäsche ins Freie geöffnet war. Dies könnte auch den nur leichten Anstieg der Luftbelastung an der Probenahmestelle „Tür zw. Kartoffelwäsche und Walzenraum“ erklären.

An der Probenahmestelle „Walzenraum“ kann nach dem Öffnen der Tür im Vergleich zur Messung um 11:45 Uhr ebenfalls ein Rückgang der Luftbelastung festgestellt werden. Im Vergleich zur Messung um 11:15 Uhr ergibt sich allerdings ein Anstieg der Keimzahl.

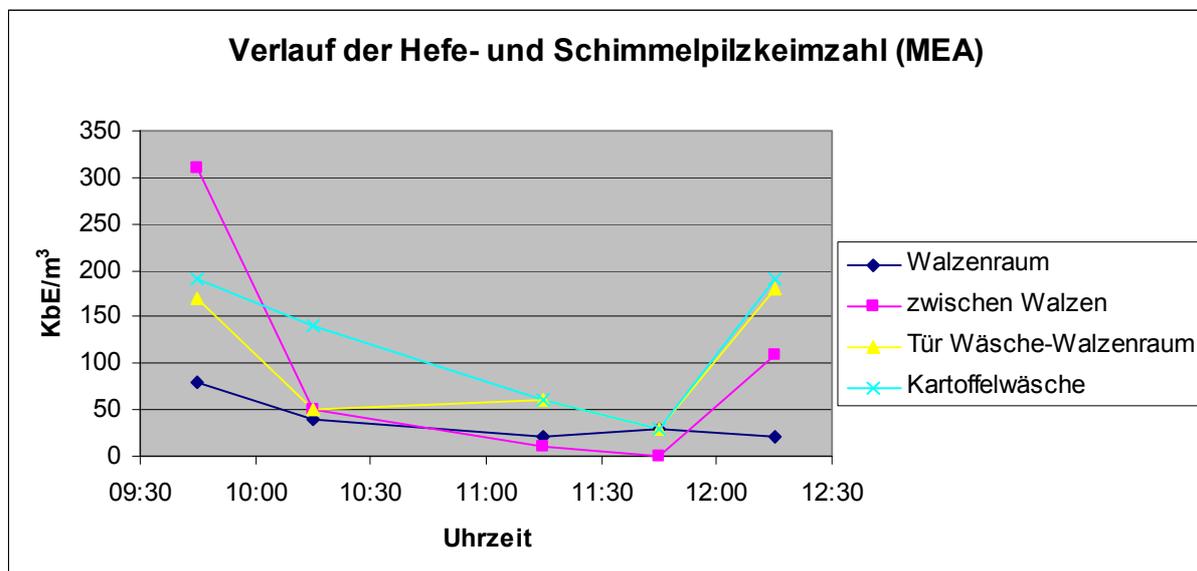


Abbildung 9: Luftkeimzahl am 1. September; Verlauf der Hefe- und Schimmelpilzkeimzahl

Die Belastung der Luft mit Hefen und Schimmelpilzen nimmt bereits während der ersten beiden Probenahmen ab, obwohl die Verbindungstür in die Kartoffelwäsche bei beiden Messungen noch offen stand. Das Schließen der Tür um 10:30 Uhr

bewirkt eine weitere Reduktion der Keimzahlen, sodass an allen Probenahmestellen die geringste Keimzahl bei geschlossener Tür gemessen wurde. Nach dem Öffnen der Tür steigen die Keimzahlen an drei von vier Probenahmestellen wieder stark an. Nur an der Probenahmestelle „Walzenraum“ bleibt die Luftbelastung trotz geöffneter Tür gering.

In Tabelle 15 sind die Mittelwerte der Keimzahlen bei geöffneter und geschlossener Verbindungstür, sowie die durch das Schließen der Tür erreichte Reduktion der Luftbelastung im Walzenraum dargestellt.

Tabelle 15: Luftkeimzahlwerte im Walzenraum am 1. September

Probenahmestelle	Agar	01.Sep		
		KbE/m ³		Veränderung [%]
		Tür offen	Tür zu	
Kartoffelwäsche	PC	35837	25675	-28,4
	MEA	173	45	-74,0
Walzenraum	PC	36337	27920	-23,2
	MEA	70	25	-64,3
zwischen den Trocknungswalzen	PC	33343	6070	-81,8
	MEA	157	5	-96,8
Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum	PC	35743	11645	-67,4
	MEA	133	45	-66,2

Trotz der starken Belastung der Luft konnten – wie auch schon im Juni - durch das Schließen der Verbindungstür die Gesamtkeimzahl sowie die Keimzahl der Hefen und Schimmelpilze an allen Probenahmestellen im Walzenraum gesenkt werden (Abbildung 10 und Abbildung 11). Durchschnittlich ergibt sich für die Gesamtkeimzahl eine Reduktion um 50,2 % und für die Keimzahl der Hefe und Schimmelpilze um 75,3 %. Die größte Reduktion wurde mit 81,8 % für die Gesamtkeimzahl bzw. 96,8 % für Hefe und Schimmelpilze an der Probenahmestelle „zwischen den Trocknungswalzen“ erreicht.

Da bei der Luftkeimmessung im September nur die Verbindungstür in die Kartoffelwäsche geschlossen wurde und eine deutliche Reduktion der Luftbelastung festgestellt werden kann, muss der Großteil der im Walzenraum auftretenden Luftkeime aus der Kartoffelwäsche kommen.

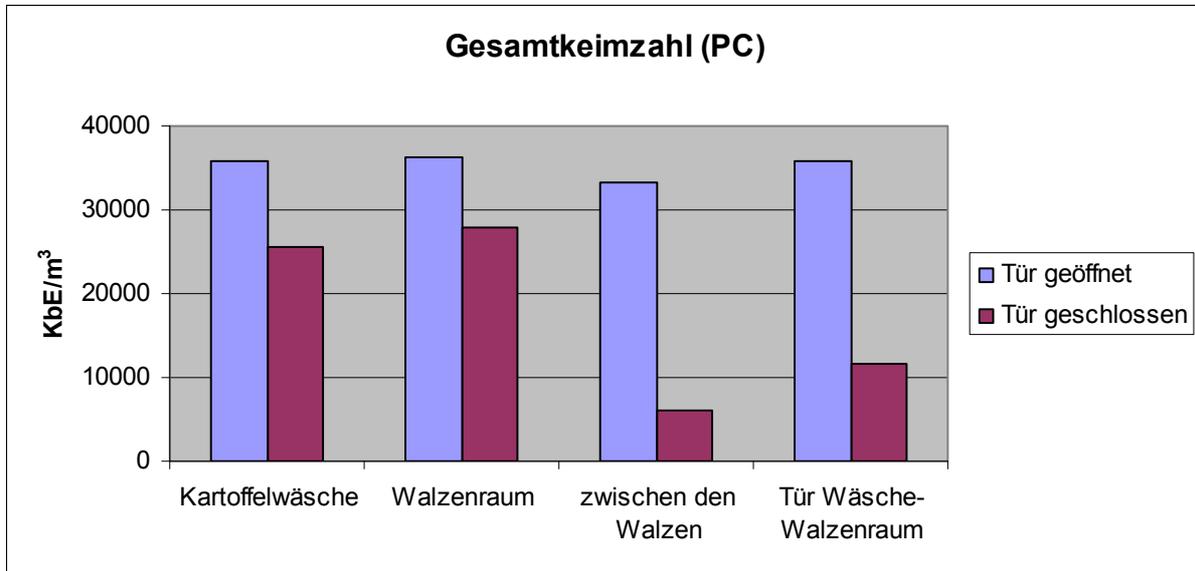


Abbildung 10: Luftkeimzahl am 1. September ; Gesamtkeimzahl bei geöffneten und geschlossenen Türen

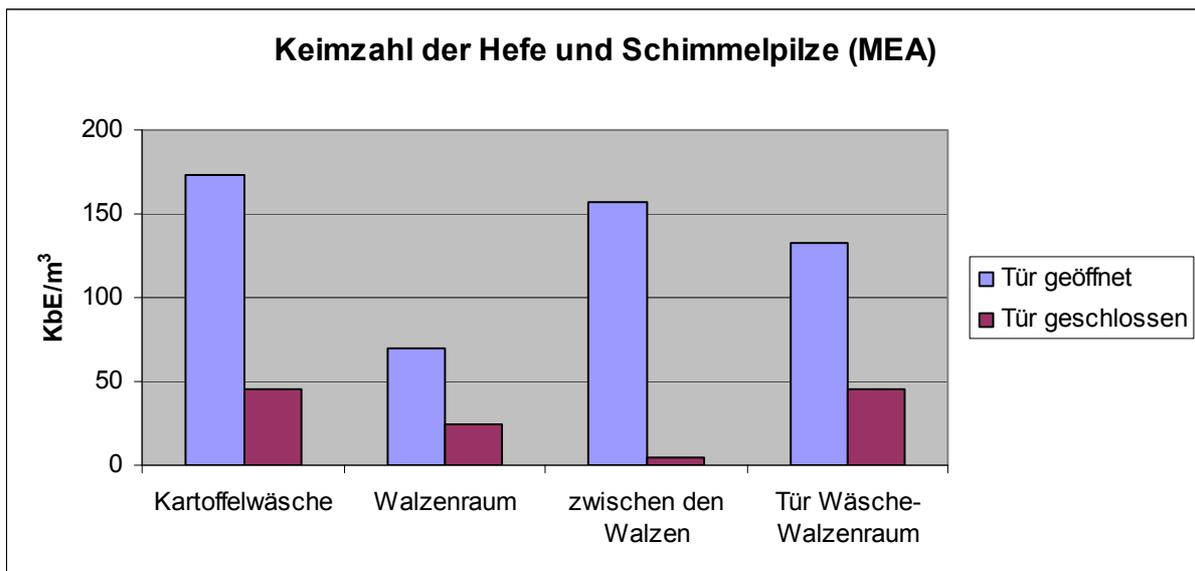


Abbildung 11: Luftkeimzahl am 1. September; Hefe- und Schimmelpilzkeimzahl bei geöffneten und geschlossenen Türen

Abbildung 12 zeigt eine Gegenüberstellung der Keimzahlverläufe der festen Proben zu den Gesamtluftkeimzahlen.

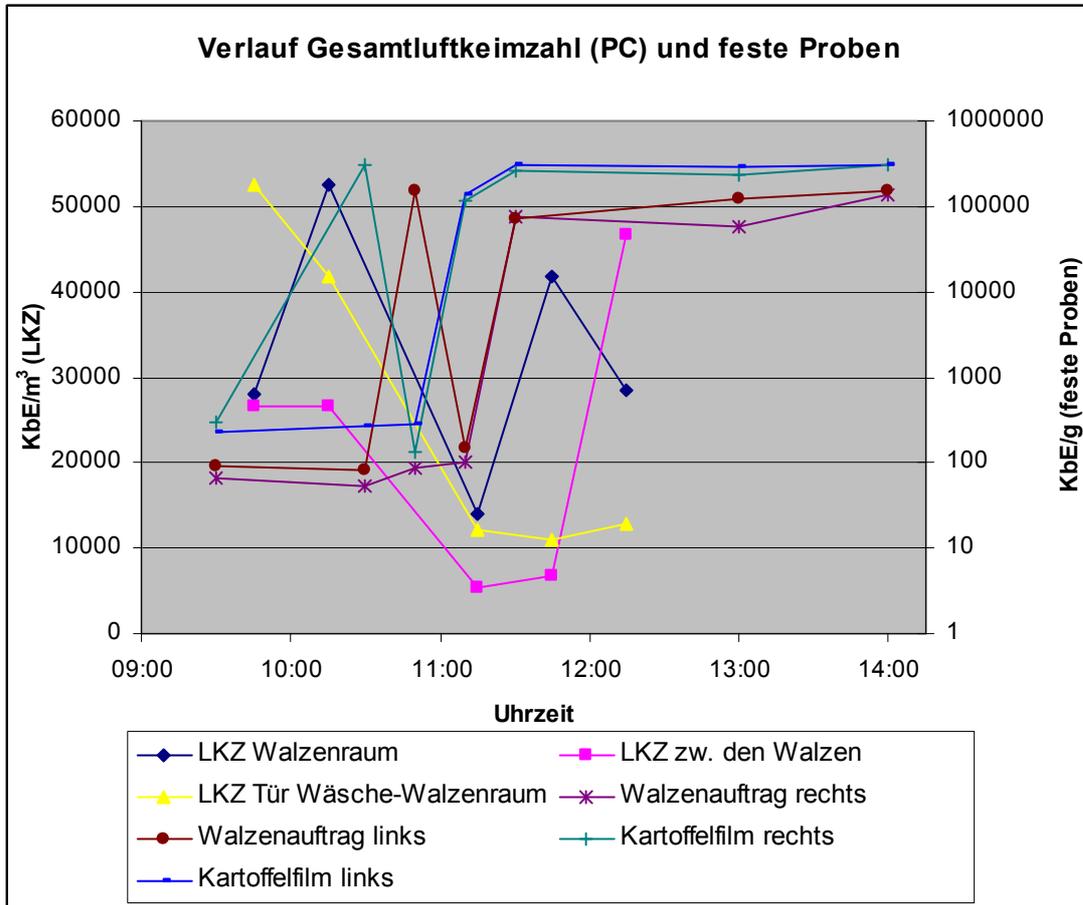


Abbildung 12: Vergleich der Keimzahlentwicklung in den festen Proben und der Gesamtluftkeimzahl am 1. September

Die Luftkeimzahlen weisen an den ersten beiden Messpunkten um 9:45 und 10:15 Uhr relativ hohe Werte auf, wohingegen die festen Proben nur gering belastet sind. Zu diesen Zeitpunkten war die Verbindungstür zur Kartoffelwäsche noch geöffnet. Um ca. 10:30 Uhr wurde diese Tür geschlossen und bis 12:00 Uhr geschlossen gehalten. Während dieser Zeit sind die Luftkeimzahlen im Walzenraum deutlich reduziert. Nach dem Öffnen der Tür steigt die Luftbelastung vor allem an der Probenahmestelle „zwischen den Walzen“ wieder stark an.

Im Vergleich dazu sind die Keimzahlen der festen Proben am Beginn noch relativ gering, wobei an den Probenahmestellen „Walzenauftrag links“ und „Kartoffelfilm rechts“ um 10:30 bzw. 10:50 Uhr starke Schwankungen auftreten. Ab der Probenahme um 10:50 Uhr beginnen die Keimzahlen des Kartoffelfilms nach der Walze zu steigen, etwas später ab der Probenahme um 11:10 Uhr steigen auch die Keimzahlen am Walzenauftrag. Dieser Anstieg der Keimzahlen in den festen Proben scheint unabhängig von der Verbindungstür zu sein.

Es ist keine Reduktion der Sporenbelastung des Produktes auf der Walze nach dem Schließen der Verbindungstür zur Kartoffelwäsche festzustellen. Vielmehr steigen die Keimzahlen ab ca. 11:00 Uhr stark an. Da die Keimzahlen der festen Proben aber auch nach dem Öffnen der Tür um 12:00 Uhr hoch bleiben, ist kein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Ansteigen der Keimzahlen auf der Walze und dem Schließen der Verbindungstür zu erkennen.

4.9 Analyse der wöchentlich gezogenen Proben

In den Tabelle 16 und Tabelle 17 sind die Ergebnisse der wöchentlichen Proben zusammengestellt. Während des Betriebes laufen jeweils zwei Vorkocher und die dazugehörigen zwei Kühler parallel. Die dritte Vorkocher-Kühler Linie wird währenddessen gereinigt. Aus diesem Grund können bei jeder Probenahme nur jeweils zwei Vorkocher und zwei Kühler beprobt werden.

Tabelle 16: Sporenkeimzahlen der wöchentlich gezogenen Proben

	KbE/mL				
	20.Mai	27.Mai	02.Jun	09.Jun	16.Jun
Schwemmwasser	1850	370	2500	600	445
Kartoffelwäsche	22	23	1310	11	70
Pumpenwanne neu	29	9	410	31	109
Pumpenwanne nach Verleseband	0	2	1	32	18
Vorkocher Nr. 1	--	--	12	31	31
Vorkocher Nr. 2	430	6	4	--	--
Vorkocher Nr. 3	6	12	--	17	13
Kühler Nr. 1	--	--	1	14	4
Kühler Nr. 2	7	1	0	--	--
Kühler Nr. 3	0	1	--	12	0
Pumpenwanne nach Kühler	4	0	2	3	5

Die Schwemmwasserproben zeigen die stärkste Sporenbelastung sowie die größte Schwankungsbreite der einzelnen Keimzahlen. Die Abtrennung des Schwemmwassers in der Kartoffelwäsche funktioniert gut, da die Keimzahlen ab der Probenahmestelle „Kartoffelwäsche“ deutlich geringer sind als im Schwemmwasser. Die Vorkocher und Kühler sind nur gering mit Sporen belastet. Die am 20. Mai im Vorkocher Nr. 2 aufgetretene Keimzahl von 430 KbE/mL stellt die bisher höchste je in einem Vorkocher ermittelte Keimzahl dar und ist möglicherweise auf eine Kontamination der Probe zurückzuführen. Auch die Tatsache, dass weder im „Kühler

Nr. 2“ noch in der „Pumpenwanne nach Kühler“ an diesem Tag erhöhte Keimzahlen festzustellen sind, lässt auf eine Kontamination dieser einzelnen Probe schließen.

Tabelle 17: pH-Werte der wöchentlich gezogenen Proben

	pH Wert				
	20.Mai	27.Mai	02.Jun	09.Jun	16.Jun
Schwemmwasser	6,65	9,05	8,36	6,60	6,23
Kartoffelwäsche	5,22	5,48	5,80	5,37	5,91
Pumpenwanne neu	5,84	7,64	5,47	6,10	5,70
Pumpenwanne nach Verleseband	3,67	4,82	4,24	3,72	5,63
Vorkocher Nr. 1	---	---	5,34	4,84	5,26
Vorkocher Nr. 2	5,1	5,08	5,39	---	---
Vorkocher Nr. 3	5,12	5,61	---	5,33	5,50
Kühler Nr. 1	---	---	5,18	5,80	5,94
Kühler Nr. 2	5,04	5,19	5,05	---	---
Kühler Nr. 3	5,45	5,81	---	6,00	5,80
Pumpenwanne nach Kühler	4,58	4,96	4,96	5,50	5,71

Die pH-Werte liegen während des gesamten Produktionsprozesses im leicht sauren Bereich, was zur Hemmung von Bakterienwachstum geeignet ist. Nur die Schwemmwasserproben liegen nahe am Neutralpunkt und an zwei Probenahmetagen sogar leicht im basischen Bereich.

Wie die Sporenkeimzahlen zeigen auch die pH-Werte an den Probenahmestellen am Beginn des Prozesses größere Schwankungen. Je länger der Prozess dauert, desto

geringer weichen die einzelnen Werte von einander ab. Vor allem in den Vorkochern und in den Kühlern sind die Schwankungen gering, da es sich hier um geschlossene Prozesse handelt. Weiters wird im Verlauf des Verarbeitungsprozesses - besonders in den Pumpenwannen - immer wieder frisches Ozonwasser zum Spülen und Reinigen der Kartoffeln eingesetzt. Dies könnte ein Grund für die dort auftretenden pH-Wert Schwankungen sein.

4.10 Entwicklung der Sporenkeimzahl im Vorkocher

In Tabelle 18 sind die ermittelten Sporenkeimzahlen und pH-Werte nach den jeweiligen Betriebsstunden des Vorkochers Nr. 2 dargestellt. Die Abbildung 13 und Abbildung 14 zeigen den zeitlichen Verlauf der Keimzahl bzw. des pH-Wertes.

Tabelle 18: Sporenkeimzahlen und pH-Werte des Vorkochers

Betriebsdauer [h]	pH-Wert	KbE/mL
0	4,05	0
2	4,41	3
4	4,97	102
6	5,11	270
8	5,16	12900
10	5,28	33
12	5,30	44
14	5,34	30
16	5,38	40

Der pH-Wert zeigt über die gesamten 16 Betriebsstunden des Vorkochers einen kontinuierlichen Anstieg. Zu Beginn ist der Vorkocher mit auf 80°C temperierten Ozonwasser gefüllt. Der pH-Wert beträgt 4,05, wobei der Anstieg des pH-Wertes anfangs sehr schnell verläuft. Bereits nach 6 Betriebsstunden ist der pH-Wert auf

5,11 gestiegen. In den restlichen 10 Stunden ist nur noch ein Anstieg auf 5,38 festzustellen.

Das Steigen des pH-Wertes kann durch das Herauslösen von Inhaltsstoffen wie Kohlenhydraten oder Proteinen aus den Kartoffelscheiben verursacht werden. Eine gewisse Pufferwirkung der gelösten Kohlenhydrate und Proteine sowie des zugesetzten Ozonwassers könnte ein möglicher Grund für den langsamen pH-Wertanstieg ab der 6. Betriebsstunde sein.

Die Sporenkeimzahlen zeigen keine so eindeutige Entwicklung wie der pH-Wert. Zu Beginn steigen die Keimzahlen ebenfalls rasch an und erreichen ein Maximum nach ca. 6 bis 8 Betriebsstunden. Da die Keimzahl der Probe nach 8 Betriebsstunden einen für den Vorkocher sehr untypischen Wert liefert und die nachfolgenden Proben wieder deutlich geringere Keimzahlen aufweisen, kann davon ausgegangen werden, dass diese Probe kontaminiert war. Doch auch wenn diese Probe nicht berücksichtigt wird, ergibt sich ein Keimzahlmaximum nach ca. 6 bis 8 Betriebsstunden. Im weiteren Verlauf bis zum Abstellen des Vorkochers pendeln die Keimzahlen zwischen 30 und 40 KbE/mL.

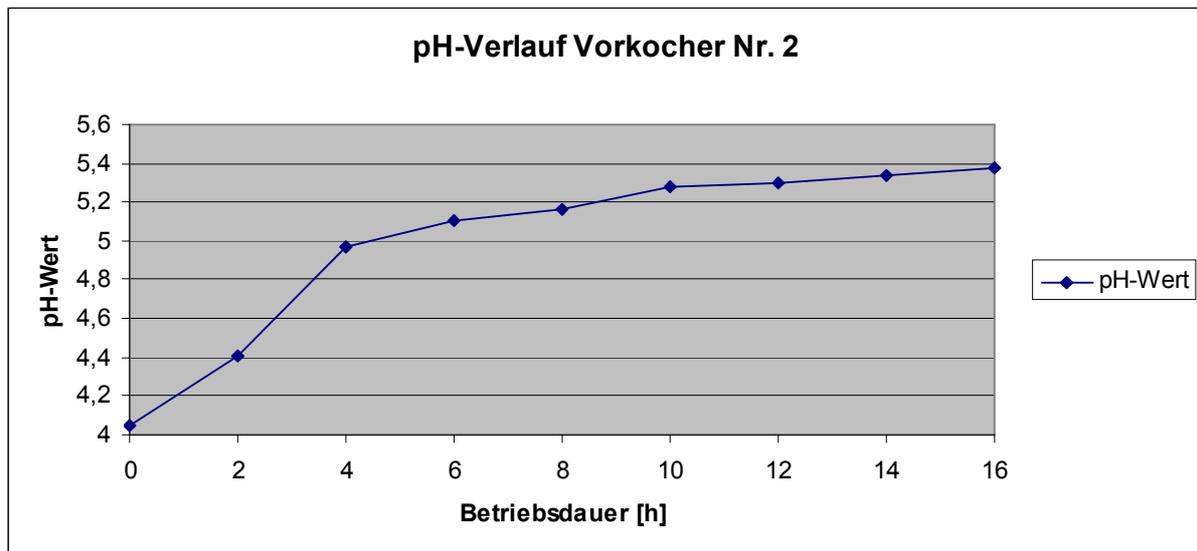


Abbildung 13: Verlauf des pH-Wertes im Vorkocher Nr. 2 am 8./9. September

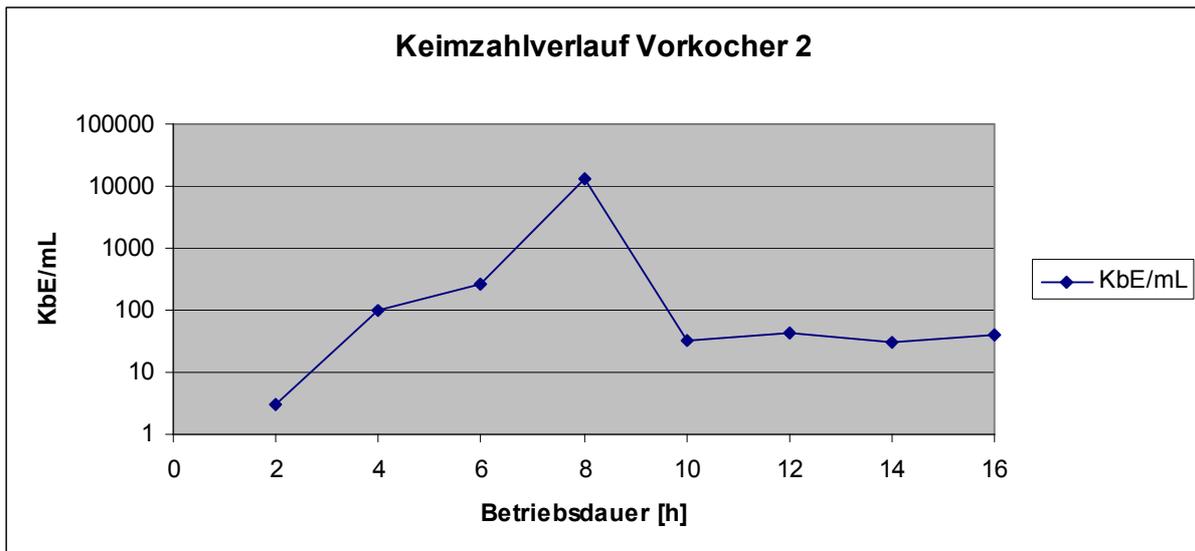


Abbildung 14: Verlauf der Sporenkeimzahl im Vorkocher Nr. 2 am 8./9. September

4.11 Bestimmung der Trockensubstanz

Die Ergebnisse der Trockensubstanzbestimmung sind in Tabelle 19 dargestellt.

Tabelle 19: Ergebnisse der Trockensubstanzbestimmung

	TS [%]	Wassergehalt [%]
Kartoffelbrei vor Walzenauftrag	18,9	81,1
Flocken aus Bunker	93,1	6,9

Der Kartoffelbrei vor den Walzen hat mit 81,1 % einen sehr hohen Wassergehalt, während die Kartoffelflocken mit 6,9 % nur mehr einen relativ geringen Wasseranteil aufweisen. Um diese Erhöhung der Trockensubstanz zu erreichen, müssen auf den beiden Trocknungswalzen große Mengen Wasser verdampfen, was eine Aufkonzentrierung der im Wasser befindlichen Mikroorganismen zur Folge haben kann.

4.12 Berechnung der Konzentrierung auf den Trocknungswalzen

Mit den aus der Trockensubstanzbestimmung erhaltenen Werten kann unter Berücksichtigung der Produktionsmenge eine Wasserbilanz über die beiden Walzen erstellt werden.

Bei einer Flockenproduktion von 15 t pro Tag werden die Walzen täglich mit ca. 73,7 t Kartoffelbrei beschickt, der etwa 59,5 t Wasser enthält. Um die gewünschte Trockensubstanz der Kartoffelflocken zu erreichen, müssen auf den beiden Walzen 58,5 t Wasser pro Tag verdampfen. Das entspricht 29,25 t Wasser pro Tag und Walze bzw. 98,32 % des im Kartoffelbrei enthaltenen Wassers. Der dabei auftretende Konzentrierungsfaktor beträgt ca. 57 (d.h. von etwa 57 t Wasser im Kartoffelbrei verbleibt ca. 1 t Wasser in den Flocken).

Da angenommen wird, dass sich die Bakteriensporen in der Wasserphase aufhalten und auf den Walzen nicht ausreichend abgetötet werden, müssten sich die Sporen theoretisch um diesen Faktor anreichern. Dieser Faktor 57 ist daher der theoretisch maximal mögliche Aufkonzentrierungsfaktor.

In den Tabelle 20 und Tabelle 21 sind die berechneten Konzentrierungsfaktoren für die Probenahmen am 10. bzw. 18. Juni, sowie am 1. September dargestellt. Auf Grund des großen Unterschieds in der Trockensubstanz der Proben wurden die Keimzahlen auf KbE pro Gramm Trockensubstanz umgerechnet.

Tabelle 20: Berechnung der Konzentrierungsfaktoren für die Probenahmen vom 10. und 18. Juni

	KbE thermophiler Sporenbilder pro g TS				
	10.Jun			18.Jun	
	09:00	11:00	13:00	09:00	13:00
Auftrag linke Walze oben				212	79
Kartoffelfilm linke Walze				1933	38
Auftrag rechte Walze oben	26	926	53	106	159
Kartoffelfilm rechte Walze	301	580	177	349	1329
Konzentrierungsfaktor linke Walze				9,1	0,5
Konzentrierungsfaktor rechte Walze	11,6	0,6	3,3	3,3	8,4

Für die beiden Probenahmen im Juni beträgt der kleinste Konzentrierungsfaktor 0,5, der größte liegt bei 11,4. An zwei der sieben Probenahmen ist der errechnete Konzentrierungsfaktor < 1 , was bedeutet, dass es auf den Walzen zu einer Reduktion der Sporenkeimzahl kommt. Die Konzentrierungsfaktoren der übrigen fünf Messungen weisen Werte > 1 auf. Hier kommt es zu einer Konzentrierung der Sporenbelastung während der Trocknung, allerdings liegen alle berechneten Konzentrierungsfaktoren deutlich unter dem theoretisch möglichen Wert von 57.

Tabelle 21: Berechnung der Konzentrierungsfaktoren für die Probenahmen vom 1. September

01.Sep	KbE thermophiler Sporenbilder pro g TS						
	09:30	10:30	10:50	11:10	11:30	13:00	14:00
Walzenauftrag links	476	423	793651	783	383598	641534	793651
Walzenauftrag rechts	344	280	466	529	402116	306878	740741
Kartoffelfilm links	242	295	306	148228	322234	311493	322234
Kartoffelfilm rechts	317	322234	145	124597	273899	251343	322234
Konzentrierungsfaktor links	0,5	0,7	0,0	189,3	0,8	0,5	0,4
Konzentrierungsfaktor rechts	0,9	1150,8	0,3	235,5	0,7	0,8	0,4

Am 1. September ergeben sich für alle Probenahmen Konzentrierungsfaktoren zwischen 0,4 und 0,9. Nur an drei Messzeitpunkten sind die Werte der Konzentrierungsfaktoren deutlich größer Eins. Dies ist um 10:30 am rechten Ende der Walze sowie um 11:10 Uhr an beiden Enden der Walze der Fall. Bei diesen drei Probenahmen liegen die Keimzahlen des Kartoffelfilms um drei Zehnerpotenzen über den sonst üblichen Werten, wohingegen am Walzenauftrag keine erhöhten Keimzahlen festgestellt werden können. Die hohen Keimzahlen im Kartoffelfilm sind nicht durch die Aufkonzentrierung im Verlauf der Trocknung zu erreichen, sondern müssen auf die an diesem Tag sehr stark schwankenden und ohnehin erhöhten Keimzahlen im gesamten Produktionsbereich zurückgeführt werden.

4.13 Mikroskopie

Die mit Hilfe des Lichtmikroskops unter Verwendung von verschiedenen Färbemethoden festgestellten phänotypischen Eigenschaften von Isolaten sind in Tabelle 22 zusammengefasst.

Tabelle 22: Mikroskopisch bestimmte phänotypischen Eigenschaften der Reinkulturen

Quelle	Codierung	Zellform	Gramverhalten	Sporenbildung	Beweglichkeit
Schwemmwasser	SchwWA8	lange Stäbchen	positiv	ja	ja
Schwemmwasser	SchwA10	Stäbchen	negativ und wenige positiv	ja	ja
Schwemmwasser	SchwWA7	dicke Stäbchen	negativ und wenige positiv	ja	ja
Flocken aus Bunker 1	136A3	Stäbchen	positiv	ja	ja
Schwemmwasser	SchwWA9	Stäbchen	positiv	ja	ja
LKZ Tür zwischen Wäsche-Walze	106A8	Stäbchen	positiv	ja	ja
Kartoffelfilm links	136A1	Stäbchen	positiv	ja	ja
Schwemmwasser	wBac.	kurze Stäbchen	positiv und negativ (ca. 50:50)	ja	ja
LKZ Kartoffelwäsche	106A6	kurze, dicke Stäbchen	positiv	ja	ja

Bei allen aus den Proben isolierten Kulturen handelt es sich um bewegliche, zur Sporenbildung befähigte Stäbchenbakterien. Das Gramverhalten variiert innerhalb der Reinkulturen, wobei keine Kultur rein gramnegatives Verhalten aufweist. Auch KRIEG (1984) beschreibt in „Bergey’s manual of systematic bacteriology“ das Gramverhalten der meisten Bacillenstämme mit „variabel“.

Die Ergebnisse der mikroskopischen Analyse unterstützen die Vermutung, dass es sich bei allen Isolaten um Bakterien der Familie der *Bacillaceae* handelt.

4.14 Ultraschallversuche

Die Ultraschallversuche erbrachten sehr unterschiedliche Ergebnisse, obwohl weder der Versuchsaufbau noch die Probenaufbereitung stark variierten. Bei fast allen Versuchen liegen die Sporenkeimzahlen nach der Ultraschallbehandlung höher als vorher.

Beispielhaft für alle durchgeführten Beschallungen wird hier nur ein Versuch mit durchschnittlichen Ergebnissen angeführt.

Tabelle 23 zeigt die Auswirkungen einer gepulsten Ultraschallbehandlung auf vegetative Zellen.

Tabelle 23: Ergebnisse der Ultraschallbehandlung vegetativer Zellen

Temperatur [°C]	Beschallungsdauer [min]	Pulsation [s/s]	KbE/mL	Abtötung [%]	Ausgangskeimzahl [KbE/mL]
25	5	0,3/0,3	1,80E+05	91,00	2,00E+06
25	4	0,3/0,3	3,50E+05	82,50	2,00E+06
25	3	0,3/0,3	8,10E+05	59,50	2,00E+06
50	5	0,3/0,3	4,60E+04	97,70	2,00E+06
50	4	0,3/0,3	7,30E+04	96,35	2,00E+06
50	3	0,3/0,3	1,90E+05	90,50	2,00E+06
65	5	0,3/0,3	2,50E+05	79,51	1,22E+06

Die pulsierende Ultraschallbehandlung führt bei allen Versuchen zur Reduktion der Keimzahl und somit zur Abtötung vegetativer Zellen.

Bereits bei einer Temperatur von 25°C zeigt sich die letale Wirkung des Ultraschalls. Die Keimzahl kann im Vergleich zur Ausgangskeimzahl um eine Zehnerpotenz gesenkt werden. Die Höhe der Abtötungsrate ist proportional zur Beschallungsdauer.

Bei 50°C zeigt sich ein ähnliches Bild. Die Ultraschallbehandlung zeigt gute abtötende Wirkung auf vegetative Zellen und auch hier korreliert die Abtötung mit der Behandlungszeit. Durch die erhöhte Temperatur konnte die Wirkung des Ultraschalls

auf vegetative Zellen verstärkt und die Abtötungsraten gesteigert werden. Bei einer weiteren Temperaturerhöhung auf 65°C sinkt der Abtötungseffekt wieder.

In Abbildung 15 ist der Zusammenhang zwischen der Abtötung vegetativer Zellen und der Beschallungsdauer bei 25°C und 50°C dargestellt. Es ist deutlich zu sehen, dass eine längere Beschallungsdauer eine größere Abtötung bedeutet. Die stärkste Abtötungsrate von 97,7 % wurde nach 5 min Beschallung bei 50°C erreicht.

Der Einfluss der Temperatur ist ebenfalls gut zu erkennen, da die beiden Kurven einen ähnlichen Verlauf zeigen. Somit verbessert eine Erhöhung der Temperatur von 25°C auf 50°C während des Beschallens den Abtötungseffekt des Ultraschalls. Je kürzer die Beschallungsdauer ist, desto größer ist der Unterschied in der Abtötung zwischen den beiden Temperaturen.

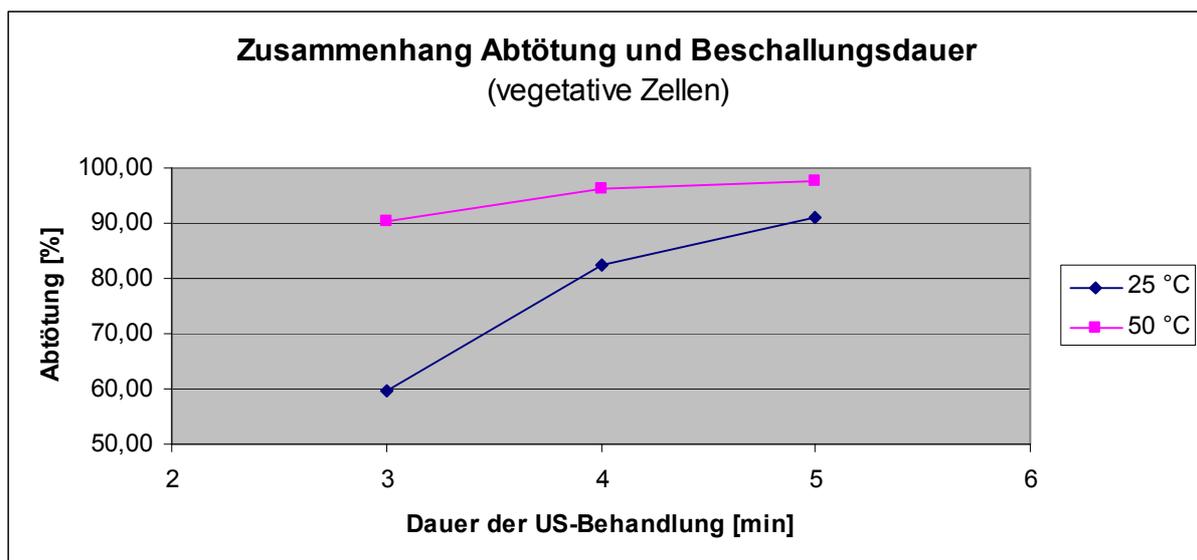


Abbildung 15: Abhängigkeit der Abtötung vegetativer Zellen von der Beschallungsdauer

In Abbildung 16 sind die vegetativen Keimzahlen, welche vor und nach den Ultraschallbehandlungen ermittelt wurden, dargestellt.

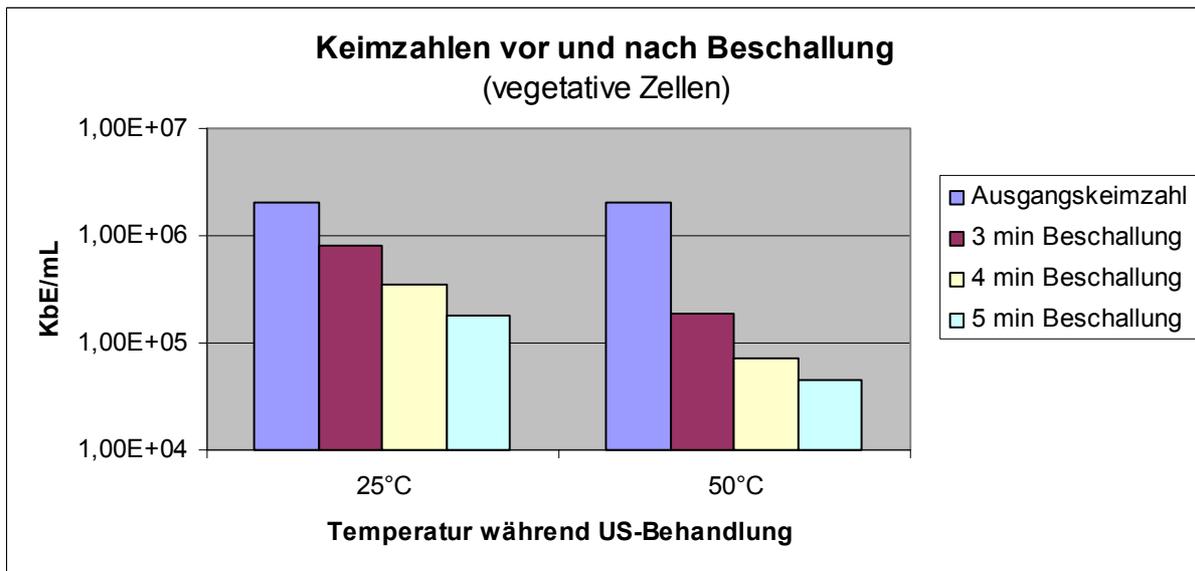


Abbildung 16: Darstellung der vegetativen Keimzahlen vor und nach der Ultraschallbehandlung

Die Einflüsse von Temperatur und Beschallungsdauer sind auch hier gut erkennbar. Die Erhöhung der Temperatur führt zu einer rascheren Abtötung vegetativer Zellen. Bereits nach 3 min bei 50°C kann die Keimzahl um etwa eine Zehnerpotenz gesenkt werden. Bei 25°C erreicht man diese Reduktion erst nach einer Beschallungsdauer von 5 min.

Die Auswirkungen der Ultraschallbehandlung auf Sporen sind in Tabelle 24 dargestellt. Negative Abtötungswerte bedeuten, dass die Sporenkeimzahl nach der Ultraschallbehandlung im Vergleich zum Ausgangswert angestiegen ist.

Tabelle 24: Ergebnisse der Ultraschallbehandlung auf Sporen

Temperatur [°C]	Beschallungsdauer [min]	Pulsation [s/s]	KbE/mL	Abtötung [%]	Ausgangskeimzahl [KbE/mL]
25	5	0,3/0,3	2,70E+04	-22,7	2,20E+04
25	4	0,3/0,3	3,00E+04	-36,4	2,20E+04
25	3	0,3/0,3	2,20E+04	11,6	2,49E+04
50	5	0,3/0,3	2,40E+04	3,6	2,49E+04
50	4	0,3/0,3	1,60E+04	35,7	2,49E+04
50	3	0,3/0,3	3,00E+04	0,0	3,00E+04
65	5	0,3/0,3	3,00E+04	0,0	3,00E+04

Der Effekt der Ultraschallbehandlung auf Sporen ist nicht mit dem Einfluss auf vegetative Zellen vergleichbar. Die letale Wirkung auf Sporen ist gering und sehr variabel.

Bei Raumtemperatur ist keine Reduktion der Sporenkeimzahl feststellbar. Im Gegenteil wurden bei 2 von 3 Versuchen nach der Beschallung sogar höhere Sporenkeimzahlen ermittelt als in der Anreicherung ohne Beschallung. Nur nach der kürzesten Beschallungsdauer von 3 min ist eine geringe Sporenabtötung von 11% gegeben.

Durch Temperaturerhöhung auf 50°C kann auch hier die Wirkung des Ultraschalls verstärkt werden. Nach der Beschallung treten keine Keimzahlen mehr auf, die höher als die Ausgangskeimzahl sind. Die stärkste Abtötung ergibt sich mit 35,7 % bei einer Beschallungsdauer von 4 min, allerdings liegt dieser Wert auch deutlich unter den Abtötungswerten der vegetativen Zellen.

Eine weitere Temperaturerhöhung auf 65°C ergibt keine weitere Steigerung des Abtötungseffektes. Hier sind die Keimzahlen vor und nach der Beschallung gleich hoch.

In Abbildung 17 sind die Abtötungswerte in Abhängigkeit von der Beschallungsdauer bei 25°C und 50°C dargestellt.

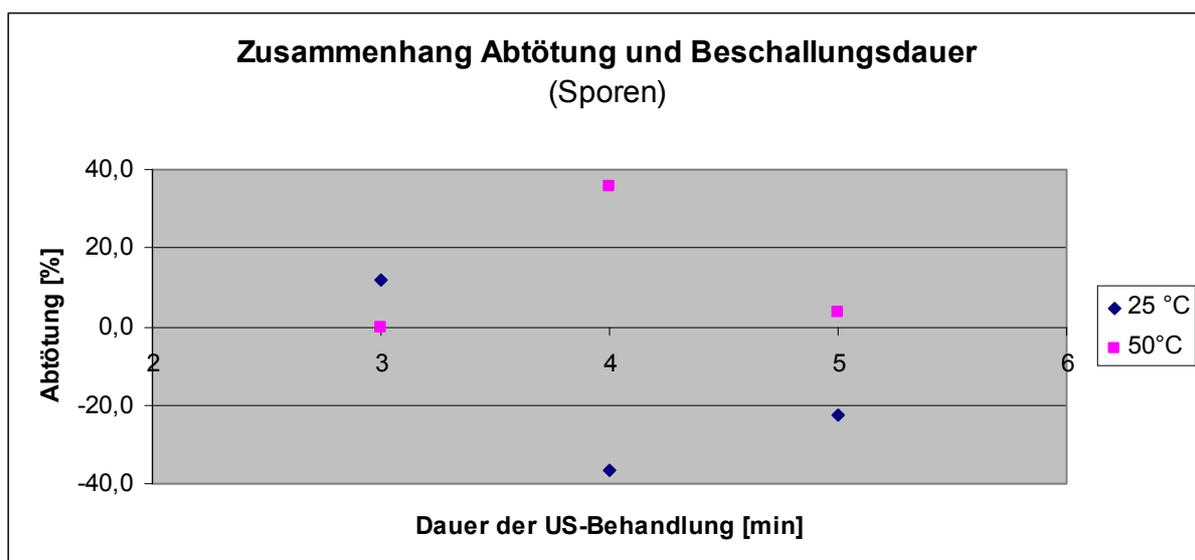


Abbildung 17: Abhängigkeit der Sporenabtötung von der Beschallungsdauer

Abbildung 18 zeigt einen Vergleich der ermittelten Sporenkeimzahlen vor und nach der Ultraschallbehandlung bei 25°C und 50°C.

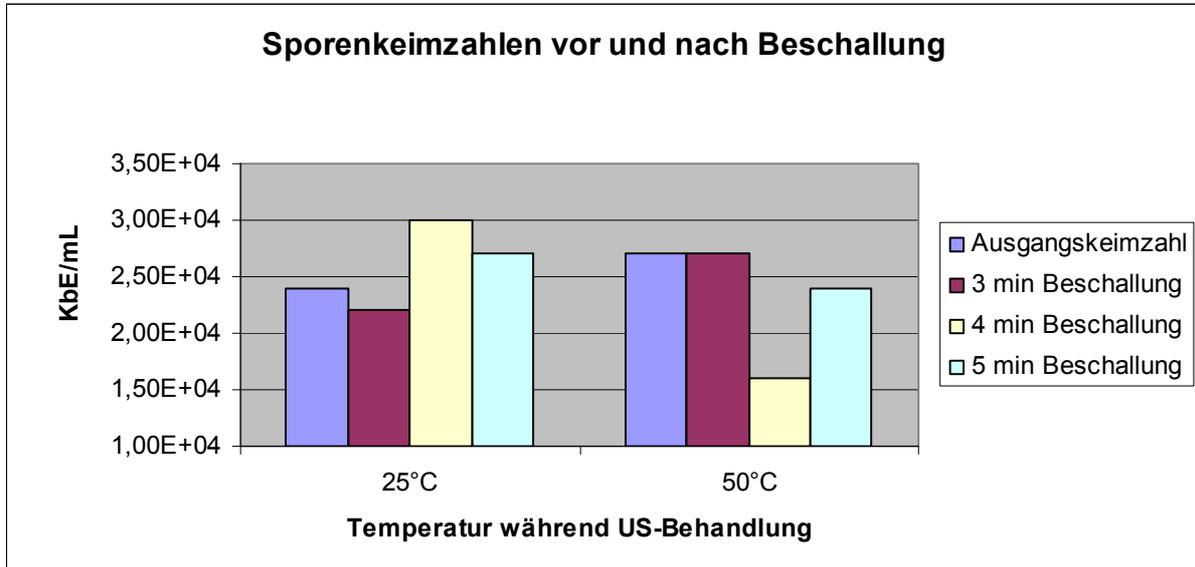


Abbildung 18: Darstellung der Sporenkeimzahlen vor und nach der Ultraschallbehandlung

4.15 Chemische Hilfsstoffe

4.15.1 Anti-Haft-Versuche

Insgesamt wurden 6 Versuche mit den beiden Substanzen zum Testen der Antihafteffekte gegenüber Mikroorganismen durchgeführt. Der Versuchsaufbau wurde mehrmals variiert, um verschiedene Anwendungsmöglichkeiten auf Laborebene zu simulieren.

Die Ergebnisse aller Versuchsansätze sind sehr ähnlich, Zahlen werden hier nicht angeführt.

Eine Verringerung des Anhaftens von Bakterienzellen an der Oberfläche der Kartoffelscheiben kann bei keiner Versuchsvariante festgestellt werden. Unabhängig davon, ob die kontaminierten Kartoffelscheiben mit einer der beiden in Wasser gelösten Substanzen oder mit sterilem Wasser gespült werden, sind die Scheiben in

allen Fällen gleich stark bewachsen. Durch die beiden Substanzen werden nicht mehr Keime von den Oberflächen gespült als mit sterilem Wasser. Auch die wachstumshemmende Eigenschaft von Substanz B bewirkt kein geringeres mikrobielles Wachstum auf den Kartoffelscheiben als bei den Versuchen mit Wasser bzw. der Substanz A.

Die nach dem Spülen der Kartoffelscheiben durchgeführten Keimzahlbestimmungen der Spülwässer zeigen, dass das Spülwasser ohne Zusatz der Hilfsstoffe ca. 1000-mal höhere Keimzahlen aufweist als das Spülwasser mit den Hilfsstoffen. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass durch das sterile Wasser deutlich mehr Keime von den Kartoffelscheiben gelöst werden. Wahrscheinlicher ist allerdings, dass sowohl Substanz A als auch Substanz B einen hemmenden Effekt auf das Bakterienwachstum haben. Diese Eigenschaft ist laut Datenblättern nur von Substanz B zu erwarten, Substanz A jedoch enthält keinerlei bakteriostatische Zusätze.

4.15.2 Wachstumsversuch

Zur Überprüfung des Einflusses der beiden Substanzen auf das Bakterienwachstum wurde dieser Versuch durchgeführt.

In Tabelle 25 und Abbildung 19 sind die Ergebnisse des Wachstumsversuchs für die Substanz A nach 7 Tagen Bebrütung dargestellt. Da es durch die ansteigenden Zusatzmengen zu verschiedenen Endvolumina in den einzelnen Schüttelkolben kommt, wurde die Keimzahl pro Kolben berechnet.

Tabelle 25: Ergebnisse des mikrobiellen Wachstumsversuchs im Beisein von Substanz A nach 7 Tagen Bebrütung

Zusatz [mL]	Zusatz [%]	KbE/mL	KbE/Kolben
8	28,6	1,10E+08	3,08E+09
5	20,0	1,56E+08	3,90E+09
2	9,0	2,02E+08	4,44E+09
1	4,7	9,90E+07	2,08E+09
0,5	2,4	7,30E+07	1,50E+09
0	0,0	7,80E+07	1,56E+09

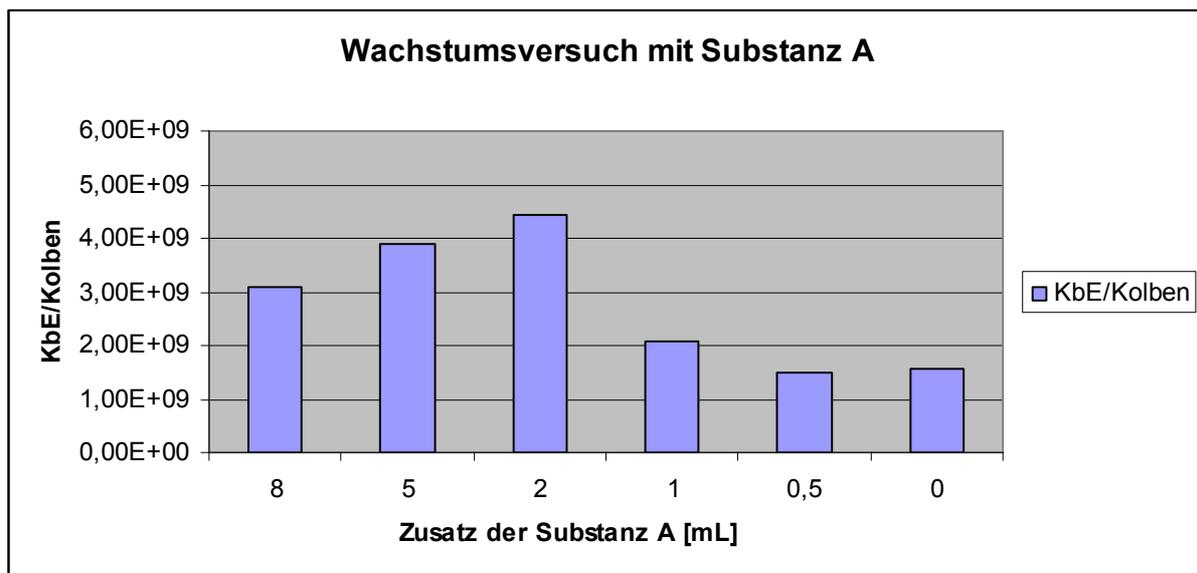


Abbildung 19: Keimzahlen des Wachstumsversuchs mit Substanz A nach 7 Tagen Bebrütung

Obwohl es durch die Zugabe der Hilfsstoffe A und B zu einer unproportionalen Verdünnung der Nährstoffe kommt, sind in den Ansätzen von 1 bis 8 mL Zusatz die Keimzahlen pro Milliliter deutlich höher als die der Kontrolle ohne Zusatz. Die höchste ermittelte Keimzahl beträgt $4,44 \cdot 10^9$ KbE/Kolben und wurde bei einem Zusatz von 2 mL gemessen. Einzig bei 0,5 mL Zugabe ist die Keimzahl etwas geringer als jene der Kontrolle.

Bei den untersuchten Konzentrationen ist keine wachstumshemmende Wirkung der Substanz A festzustellen, im Gegenteil zeigen mit einer Ausnahme alle Kolben, denen die Substanz A zugesetzt wurde, höhere Keimzahlen als die Kontrolle.

Wie erwartet zeigt die Substanz B im Gegensatz dazu sehr gute wachstumshemmende Wirkung.

Tabelle 26 zeigt die Ergebnisse der Keimzahlbestimmung der mit Substanz B versetzten Nährbouillons nach 1, 7 bzw. 15 Tagen Bebrütung.

Tabelle 26: Ergebnisse des Wachstumsversuchs mit Substanz B

Zusatz [mL]	Zusatz [%]	Bebrütungsdauer					
		24 h		7 Tage		15 Tage	
		KbE/mL	KbE/Kolben	KbE/mL	KbE/Kolben	KbE/mL	KbE/Kolben
8	28,6	3	84	0	0	93	2,60E+03
5	20	4	100	0	0	0	0
2	9	6	132	0	0	0	0
1	4,7	8	168	0	0	0	0
0,5	2,4	9	185	0	0	2,36E+08	4,72E+09
0	0	3,00E+07	6,00E+08	1,48E+08	2,96E+09	nicht auszählbar	

Auffällig ist, dass nach 24 Stunden bei allen Ansätzen noch einige wenige Kolonien gefunden werden können, wohingegen nach 7 Tagen in keinem der Kolben mehr ein Wachstum feststellbar ist. Die Keimzahlen nach 24 Stunden Bebrütung zeigen einen Zusammenhang zwischen der eingesetzten Menge der Substanz B und der Hemmung des Wachstums (Abbildung 20). Je höher die Zugabe war, desto weniger Kolonien konnten nach 24 Stunden gefunden werden.

Nach 15 Tagen hat die Keimzahl des Ansatzes mit der niedrigsten Zusatzmenge mit $2,36 \cdot 10^8$ KbE/mL die Größenordnung des Blindwertes erreicht. Zwischen dem 7. und 15. Tag ist die wachstumshemmende Wirkung bei dieser Konzentration verloren gegangen. Bei den Ansätzen mit 1 bis 5 mL Zusatz ist auch nach 15 Tagen kein Wachstum feststellbar, während bei 8 mL die Keimzahl 93 KbE/mL beträgt.

Da die Ansätze mit der höchsten bzw. mit der niedrigsten Konzentration nach 15 Tagen wieder bewachsen sind, kann daraus geschlossen werden, dass die Substanz B eine wachstumshemmende, aber keine abtötende Wirkung besitzt.

Der bei diesem Versuch ermittelte optimale Konzentrationsbereich der Substanz B zur Wachstumshemmung liegt zwischen 4,7 % und 20 %.

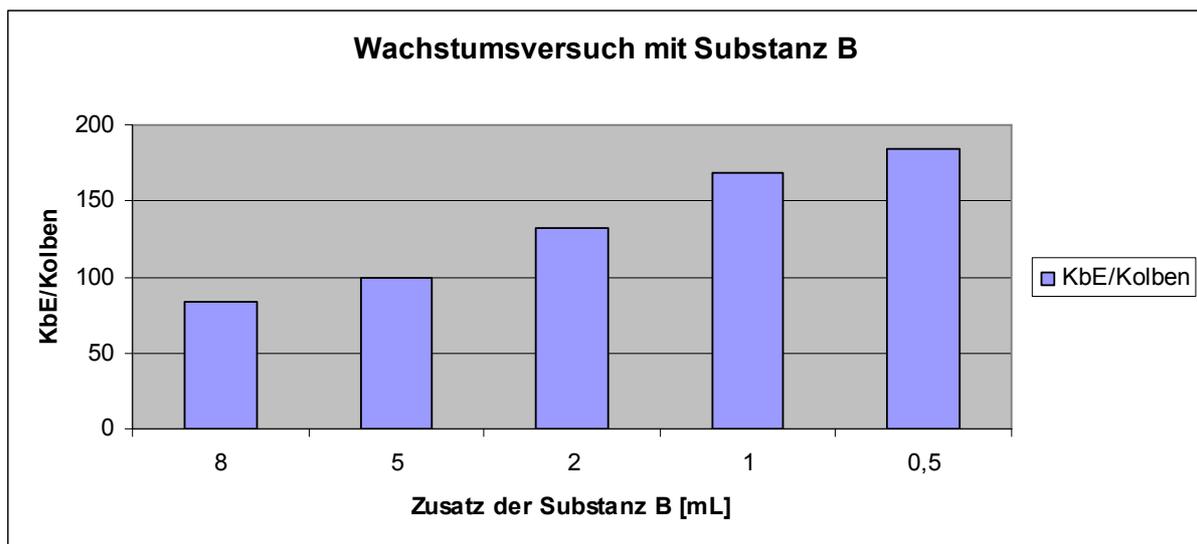


Abbildung 20: Keimzahlen des Wachstumsversuchs mit Substanz B nach 24 h Bebrütung

4.16 Temperaturprofil

Es wurden die vegetative Keimzahl sowie die Sporenkeimzahl von Flüssiganreicherungen von *B. pumilus* und *B. licheniformis* nach verschiedenen Temperaturbehandlungen bestimmt.

Tabelle 27 zeigt die Ergebnisse der beiden Versuche. Die vegetative Ausgangskeimzahl der unbehandelten Anreicherung beträgt für den ersten Versuch $2,0 \cdot 10^6$ und für den zweiten $9,0 \cdot 10^6$ KbE/mL, die Sporenkeimzahl der Anreicherung nach standardisierter Sporenaktivierung (Wasserbad bei 80°C für 10 min) beträgt beim ersten Versuch $1,5 \cdot 10^6$ und beim zweiten Versuch $6,8 \cdot 10^6$ KbE/mL. Die in der Tabelle angegebenen Werte mit negativer Abtötung bedeuten, dass die gefundenen Keimzahlen nach der Temperaturbehandlung größer waren als die Ausgangskeimzahlen der Anreicherungen ohne Behandlung.

Tabelle 27: Ermittelte vegetative Keimzahlen und Sporenkeimzahlen nach den verschiedenen Temperaturbehandlungen

	Zeit [min]	KbE/mL	Abtötung [%]	KbE/mL	Abtötung [%]
		1. Versuch		2. Versuch	
70°C	20	1,60E+06	38,46	3,90E+06	56,67
	40	1,80E+06	30,77	2,30E+06	74,44
	60	1,80E+06	30,77	6,50E+06	27,78
Ausgangskeimzahl		2,00E+06		9,00E+06	
80°C	20	2,00E+06	-33,33	2,80E+06	58,82
	40	2,00E+06	-33,33	3,00E+07	-341,18
	60	1,90E+06	-26,67	3,40E+06	50,00
Ausgangskeimzahl		1,50E+06		6,80E+06	
90°C	20	1,60E+06	-6,67	5,30E+07	-679,41
	40	1,60E+06	-6,67	8,30E+07	-1120,59
	60	3,30E+06	-120,00	7,50E+07	-1002,94
Ausgangskeimzahl		1,50E+06		6,80E+06	
100°C	20	4,70E+06	-213,33	6,20E+05	90,88
	40	2,90E+05	80,67	1,20E+05	98,24
	60	1,00E+04	99,33	6,00E+04	99,12
100°C -> Eis	60	1,00E+04	99,33	4,00E+02	99,99
Ausgangskeimzahl		1,50E+06		6,80E+06	

Beide Versuche zeigen, dass bei 70°C vegetative Zellen abgetötet werden. Allerdings besteht kein klarer Zusammenhang zwischen der Reduktion der Zellen und der Dauer der Temperaturbehandlung. Im zweiten Versuch ist die Abtötung nach 20 und nach 40 min deutlich stärker als jene nach 60 min. Auch beim ersten Versuch ergibt die kürzeste Behandlungszeit die größte Abtötung.

Die Ergebnisse nach der Behandlung mit 80°C und 90°C ergeben zum Teil sehr große negative Abtötungswerte. Das bedeutet, dass nach diesen Behandlungen eine deutlich höhere Keimzahl aufgetreten ist als die Ausgangssporenkeimzahl der Anreicherungen.

Eine deutliche Reduktion der Sporenkeimzahl ist erst bei 100°C zu beobachten. Auch hier steigt der Abtötungswert mit der Dauer der Temperaturbehandlung an.

4.17 Keimzahlverlauf der Anreicherungen

Zur Veranschaulichung des Wachstumsverlaufes wurde sowohl von *Bacillus pumilus* als auch von *Bacillus licheniformis* eine Flüssiganreicherung hergestellt und für 54 Tage bei 37°C bebrütet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 21 dargestellt.

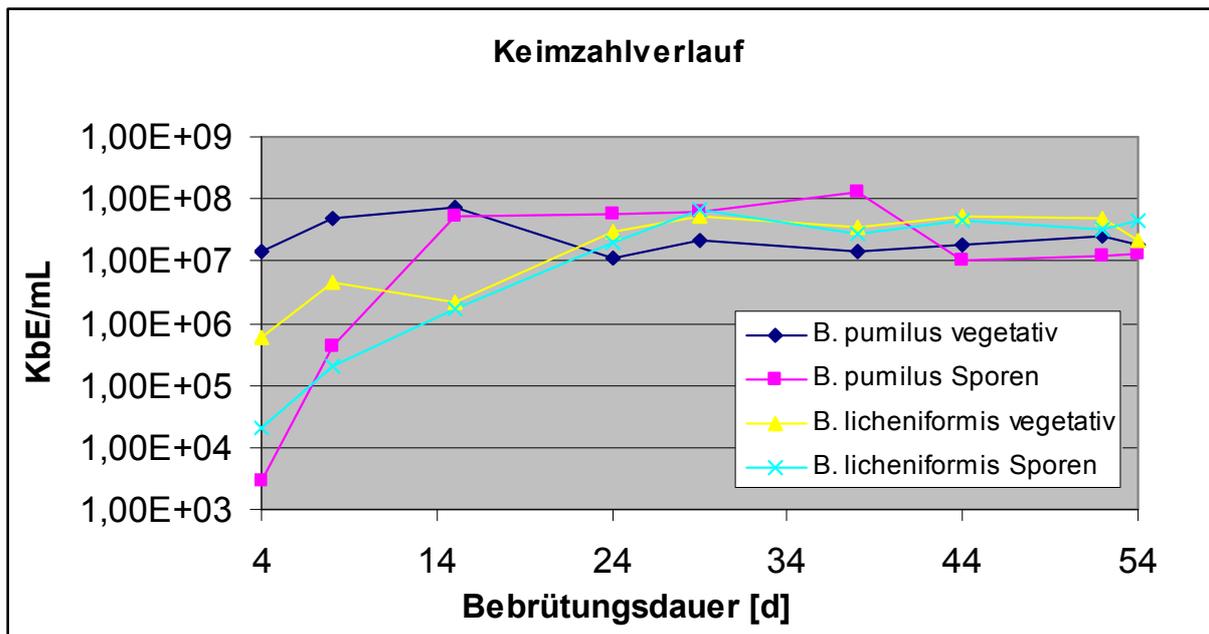


Abbildung 21: Keimzahlverlauf von *B. pumilus* und *B. licheniformis*

Beide Kulturen sind gut angewachsen und erreichen sowohl für die vegetative Keimzahl als auch für die Sporenkeimzahl maximale Werte von etwa 10^8 KbE/mL. Ab dem 20. Bebrütungstag pendeln alle 4 Keimzahlen zwischen 10^7 und 10^8 KbE/mL.

Bacillus pumilus zeigt in beiden Fällen ein schnelleres Anwachsen. Nach ca. 14 Tagen hat *B. pumilus* gleich viele vegetative Zellen wie Sporen gebildet. Anschließend sinkt die vegetative Keimzahl, während die Sporenzahl langsam weiter ansteigt, bis sie einen Maximalwert von $1,25 \cdot 10^8$ KbE/mL erreicht. Zwischen dem 38. und dem 44. Bebrütungstag fällt die Sporenkeimzahl um eine Zehnerpotenz auf $1,02 \cdot 10^7$ KbE/mL und bleibt bis zum Ende des Versuchs auf diesem Niveau.

Bacillus licheniformis wächst langsamer. Die vegetative Keimzahl steigt sogar nach 24 Tagen noch weiter an. Die Sporenkeimzahl und die vegetative Keimzahl erreichen

beide nach etwa 30 Tagen ihre Maximalwerte bei knapp unter 10^8 KbE/mL. Danach verlaufen die beiden Keimzahlen annähernd parallel bis zum 54. Bebrütungstag. Erst am Versuchsende übersteigt die Sporenkeimzahl die vegetative Keimzahl.

4.18 Identifizierung von Isolaten

Die Ergebnisse der API 50 CH Schnelltests sind in Tabelle 28 angeführt.

Tabelle 28: Identifizierung von Isolaten mittels API 50CH Testsystem

Nr.	Codierung	Quelle	wahrscheinlicher Stamm	Sicherheit
1	SchwWA8	Schwemmwasser	<i>Bacillus licheniformis</i>	99,90 %
2	SchwA10	Schwemmwasser	<i>Geobacillus thermoglucosidasius</i>	99,90 %
3	SchwWA7	Schwemmwasser	<i>Bacillus pumilus</i>	98,30 %
4	136A3	Flocken aus Bunker 1	<i>Brevibacillus non reactive</i>	86,80 %
5	SchwWA9	Schwemmwasser	<i>Bacillus subtilis / amyloliquefaciens</i>	81,00 %
6	106A8	LKZ Tür Wäsche-Walze	<i>Bacillus subtilis / amyloliquefaciens</i>	68,20 %
7	136A1	Walze links Papier	<i>Bacillus licheniformis</i>	58,50 %
8	weißer Bac.	Schwemmwasser	<i>Aneurinibacillus aneurinilyticus</i>	< 50 %
9	106A6	LKZ Wäsche	<i>Aneurinibacillus aneurinilyticus</i>	< 50 %

Die Proben 1 bis 3 konnten eindeutig mit einer Wahrscheinlichkeit von über 98 % identifiziert werden.

Für zwei weitere Isolate (Proben 4 und 5) lag die Identifizierung bei über 80 %. Da auch die Morphologie dieser Kolonien sehr gut mit der Beschreibung im „Bergey’s manual of systematic bacteriology“ (KRIEG, 1984) übereinstimmt, kann auch bei diesen Proben angenommen werden, dass es sich tatsächlich um Bacillen handelt.

Die Kulturen der Proben 6 bis 9 können nicht eindeutig identifiziert werden, auch wenn für die Proben 6 und 7 die Wahrscheinlichkeit noch über 60 % bzw. 50 % liegt. Die Proben 8 und 9 ergaben Wahrscheinlichkeiten unter 50 %. Hier ist der angegebene Stamm nur als Hinweis zu sehen.

Bei Probe 6 wird auch *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens* als möglicher Befund angegeben, da die Kolonien in den Petrischalen jenen der Probe 5 morphologisch sehr ähnlich sind.

Aufgrund des makroskopischen Aussehens der Kolonien kann weiters ausgeschlossen werden, dass die Proben 8 und 9, sowie die Proben 1 und 7 stammspezifisch ident sind. Bei der Probe 8 sind die einzelnen, runden Kolonien auf der Platte deutlich abgegrenzt und mit einem weißen Flaum bedeckt, während die Kulturen der neunten Probe Schleim bilden und ein buttergelbes Zentrum besitzen. Im Gegensatz zur ersten Probe bilden die Kulturen der siebenten Probe keinen Schleim, sondern sind flach und haften fest an der Agaroberfläche.

Die drei Isolate mit den höchsten Trefferwahrscheinlichkeitswerten wurden zur Stammhaltung der Zuckerforschung Tulln GmbH hinzugefügt.

4.19 Zusammenfassung der Keimzahlen

Zur Verbesserung der Übersicht sind an dieser Stelle die Mittelwerte aller ermittelten Keimzahlen dargestellt.

4.19.1 Luftkeimmessungen

In Tabelle 29 ist für jede Probenahmestelle der Durchschnittswert aller Luftkeimzahlen mit der Anzahl der durchgeführten Messungen aufgelistet.

Tabelle 29: Zusammenfassung aller Luftkeimmessungen

Probenahmestelle	Agar	KbE/m³	Probe- nahmen
Kartoffellager	PC	2080	2
	MEA	4565	2
Bandwaage 3. Stock	PC	8803	3
	MEA	87	3
Bunkeraustrag 1. Stock	PC	3430	3
	MEA	127	3
Kartoffelwäsche	PC	28579	11
	MEA	498	11
bei Schneidemaschine	PC	20207	3
	MEA	250	3
Vorkocherraum	PC	2010	1
	MEA	80	1
Kocherraum	PC	5743	5
	MEA	194	5
Walzenraum	PC	20930	11
	MEA	129	11
zwischen Trocknungswalzen	PC	14458	11
	MEA	125	11
Tür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum	PC	19555	11
	MEA	208	11
bei Zick-Zack Sichter	PC	1063	3
	MEA	67	3
Außenluft	PC	227	2
	MEA	193	2

4.19.2 Feste und flüssige Proben

Die durchschnittlichen Sporenkeimzahlen der Probenahmestellen sind in Tabelle 30 dargestellt. Auch die Ergebnisse der wöchentlichen Proben wurden in die Berechnung miteinbezogen.

Tabelle 30: Zusammenfassung der Sporenkeimzahlen der festen und flüssigen Proben

	KbE/g KbE/mL	Proben- anzahl
Lager, ganze Kartoffel	1054	3
Schwemmwasser	983	9
Kartoffel aus Schwemmwasser	20	2
Kartoffelwäsche	189	8
Pumpenwanne neu	90	8
ganze Kartoffeln nach Bürstenband	0	5
Schälbrei	93	3
Pumpenwanne nach Verleseband	9	8
Kartoffelscheiben nach Schneidemaschine	28	3
Kartoffelscheiben nach Sortierung	3	5
Vorkocher 1	32	4
Vorkocher 2	92	5
Vorkocher 3	9	7
Kühler 1	6	4
Kühler 2	6	6
Kühler 3	2	7
Pumpenwanne n. Kühler	3	13
abgetrenntes Wasser vor Kocher	9	7
Scheiben vor Kocher	8	7
Kartoffelmasse direkt nach Musen	29	10
nach linkem Muser am Ende der Schnecke	594	13
nach rechtem Muser am Ende der Schnecke	648	2
transportierte Masse in Schnecke	0	8
Randbelag in Schnecke	19873	7
Auftrag linke Walze oben	40457	19

Auftrag rechte Walze oben	25	5
Auftrag rechte Walze unten	50	6
Kartoffelfilm linke Walze	124229	18
Kartoffelfilm rechte Walze	555	5
Flocken aus Bunker	719	6

5 Diskussion

5.1 *Luftkeimbelastung*

Bedingt durch die durchwegs hohe Luftfeuchtigkeit im Betrieb, liegt die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl im gesamten Produktionsbereich um eine bis zwei Zehnerpotenzen höher als die Keimzahl der Hefen und Schimmelpilze. Nur im Kartoffellager ist die Luft stärker mit Hefen und Schimmelpilzen belastet als mit Bakterien.

Die höchsten Luftbelastungen konnten im Schneiderraum, in der Kartoffelwäsche und im Walzenraum gefunden werden. Es kann gezeigt werden, dass der Großteil der im Walzenraum auftretenden Luftkeime vom Brüdenabzug über den Trocknungswalzen aus der Kartoffelwäsche angesaugt wird. Bei geschlossener Verbindungstür zwischen Kartoffelwäsche und Walzenraum konnte die Luftkeimzahl im Walzenraum deutlich reduziert werden.

Die Ergebnisse zeigen allerdings, dass kein direkter Zusammenhang zwischen der im Walzenraum gemessenen Luftkeimzahl und der Sporenbelastung des Endproduktes besteht. Trotz reduzierter Luftbelastung im Walzenraum verringern sich die Keimzahlen am Walzenauftrag sowie im Kartoffelfilm nicht.

Möglicherweise verhindern die thermischen Luftströmungen im Bereich der Walzentrockner eine direkte Kontamination des Produkts über die Luft.

5.2 Feste und flüssige Proben

Wie erwartet weisen die gelagerten Kartoffeln sowie das Schwemmwasser vergleichsweise hohe Sporenkeimzahlen auf. Der Grund für die hohen Keimzahlen des Schwemmwassers ist das Lösen von an den Kartoffeln anhaftender Erde sowie die Kreislaufführung des Wassers. Allerdings scheint die Abtrennung des Schwemmwassers in der Kartoffelwäsche gut zu funktionieren, da an den beiden nachfolgenden Probenahmestellen „Kartoffelwäsche“ und „Pumpenwanne neu“ deutlich geringere Keimzahlen auftreten.

Die Ergebnisse der beiden Probenahmestellen „ganze Kartoffel nach Bürstenband“ und „Schälbrei“ verdeutlichen, dass die Knollen ausschließlich außen an der Schale kontaminiert sind und diese Kontamination zum Großteil über den Schälbrei abgetrennt wird. Im weiteren Verlauf des Produktionsprozesses treten sowohl an den festen als auch an den flüssigen Probenahmestellen nur geringe Keimzahlen auf. Ein Anstieg der Sporenbelastung ist erst nach dem Mischen gegeben. Die hohen Keimzahlen an den Probenahmestellen „Auftrag linke Walze oben“ und „Kartoffelfilm linke Walze“ liegen in den Ergebnissen der Probenahme vom 1. September begründet. An diesem Tag waren die gefundenen Keimzahlen durchwegs erhöht. Die über alle Probenahmen durchschnittliche Sporenbelastung des Endproduktes übersteigt die in der Literatur bei KING et al (2007), DOAN et al. (2000) und TURNER et al. (2006) gefundenen Werte. Allerdings erwähnen KING et al. (2007) beim Herstellungsprozess die Verwendung von Zusatzstoffen wie Natriumbisulfit und Schwefeldioxid. Ob bei der Produktion der von KING untersuchten Kartoffelflocken diese Zusatzstoffe tatsächlich eingesetzt wurden, konnte nicht festgestellt werden.

Die im Randbelag der Paddelschnecke sowie in der transportierten Kartoffelmasse gefundenen Keimzahlen bestätigen, dass es im Verlauf der Schnecke zur Anreicherung und Vermehrung von thermophilen Sporenbildnern kommt. Vor allem im Anfangs- und Endbereich der Schnecke bilden sich Randbeläge. Diese bleiben über längere Zeit bestehen und bieten den Bakterien ein optimales Nährstoffangebot. Da es im Kartoffelbrei kaum Konkurrenzflora gibt und die Sporen durch die Temperaturführung des Prozesses möglicherweise aktiviert werden, kann es zum Auskeimen der Sporen und zur Vermehrung der vegetativen Zellen in diesen

Randbelägen kommen. Auch die vorliegenden Temperaturbedingungen von ca. 50 – 60°C im Randbelag bieten optimale Voraussetzungen für thermophile Bakterienstämme.

ANDERSEN-BORGE et al. (2001) beschreiben Generationszeiten von *Bacillus cereus* bei 42°C zwischen 11 und 34 min. Bei einer über alle bisherigen Probenahmen durchschnittlichen Keimzahl von 29 KbE/g an der Probenahmestelle „Kartoffelmasse direkt nach Muser“ dauert es somit bei exponentiellem Wachstum theoretisch zwischen 2 und 7 Stunden, bis eine Keimzahl von 10^5 erreicht ist.

MARQUIS et al. (2001) geben für die Sporulationszeit von *Bacillus subtilis* eine durchschnittliche Dauer von etwa 7 Stunden an. Die Anlagerungen in der Paddelmischschnecke müssten theoretisch mindestens 14 Stunden in der Schnecke verbleiben, sodass den Bakterien genügend Zeit bleibt, aus den Sporen auszukeimen, sich dann zu vermehren und anschließend erneut Sporen zu bilden. Diese Verweildauer ist als durchaus realistisch anzusehen, was die ermittelten Keimzahlen im Randbelag bestätigen. Dass sich vor allem im Anfangsbereich der Schnecke stark kontaminierte Randbeläge bilden, ist besonders problematisch. Wenn sich ein Teil des Randbelags löst muss er noch durch die gesamte Länge der Paddelmischschnecke gefördert werden, wodurch die Bakterien gleichmäßig im Brei verteilt werden.

5.3 Konzentrierungsvorgänge auf den Trocknungswalzen

Insgesamt wurden für 21 Probenahmen die Konzentrierungsfaktoren berechnet. Nur bei 8 Messungen liegen die Werte für die Konzentrierung über Eins, was eine tatsächliche Erhöhung der Sporenkeimzahl während des Trocknungsprozesses bedeutet. Drei dieser 8 Probenahmen können auf Grund der starken Schwankungen der Keimzahlen an diesem Tag (1. September) nicht berücksichtigt werden. Mit einem maximalen Konzentrierungsfaktor von 11,4 für die übrigen 5 Probenahmen zeigt sich, dass der maximal mögliche Konzentrierungsfaktor von 57 nicht erreicht und ein großer Teil der Sporenbildner auf den Trocknungswalzen abgetötet wird. Diese Abtötung auf den Walzen wird durch die 13 Probenahmen, an welchen die Konzentrierungsfaktoren Werte kleiner Eins betragen und es daher zur Reduktion der Sporenbelastung kommt, bestätigt.

Da zur Initiation der Sporulation zumeist widrige Umwelteinflüsse wie Nährstoffmangel notwendig sind, kommt es möglicherweise nach dem Auskeimen der Sporen und der Vermehrung der Bakterien in der Paddelschnecke beim Großteil der Zellen nicht oder zu spät zur erneuten Sporenbildung. Die Bakterien erreichen die Walzentrockner im vegetativen Zustand oder mit noch nicht vollständig abgeschlossener Sporulation und werden durch die hohe Temperatur auf den Walzen abgetötet. Nur Bakterienzellen, welche den ca. 7 Stunden dauernden Prozess der Sporulation bereits vor dem Erreichen der Trocknungswalzen vollständig abgeschlossen haben, überleben diesen Prozessschritt und können im Endprodukt nachgewiesen werden.

5.4 Entwicklung der Sporenkeimzahl im Vorkocher

Da das Erreichen des Keimzahlmaximums und das Ende des schnellen pH-Wertanstieges (Abbildung 13 und Abbildung 14) beinahe zur gleichen Zeit auftreten, ist ein Zusammenhang zwischen dem Zellwachstum und dem pH-Wert möglich. Stoffwechselprodukte der Mikroorganismen könnten zum raschen Anstieg des pH-Wertes führen, bis es durch das Erreichen eines pH-Wertes von ca. 5,2 zur Wachstumshemmung und somit zur Reduktion der Keimzahl und zum beinahe konstanten pH-Wert kommt. Der am Ende des Betriebszyklus noch auftretende

langsame Anstieg des pH-Wertes könnte durch die noch vorhandene geringe mikrobiologische Aktivität hervorgerufen werden.

Es ist allerdings nicht auszuschließen, dass neben der Probe nach 8 Betriebsstunden noch weitere Proben kontaminiert waren.

5.5 Ultraschallbehandlung zur Inaktivierung der Sporenbildner

Die Abtötung der vegetativen Zellen durch Ultraschallbehandlung funktioniert gut, wohingegen die Sporenkeimzahlen unabhängig von den eingestellten Parametern wie Amplitude, Pulsationsdauer, Temperatur und Beschallungsdauer nach der Ultraschallbehandlung meist höhere Werte ergeben als die Ausgangskeimzahlen vor der Beschallung. Möglicherweise werden die Sporen durch den Ultraschall besser aktiviert als durch die Standardmethode im Wasserbad. Versuche von RASO et al. (1998) zeigen allerdings, dass die mechanischen Belastungen einer Ultraschallbehandlung nicht zum Auskeimen der Sporen führen.

Ein weiterer Grund für die höheren Sporenkeimzahlen nach der Beschallung könnte die Bildung von Zellaggregaten sein. Unter dem Mikroskop konnte beobachtet werden, dass sich in der Flüssiganreicherung, welche zur Ultraschallbehandlung verwendet wurde, bei hohen Keimzahlen die Bakterienzellen zu größeren Gebilden aneinander lagern. Die durch den Ultraschall eingebrachte mechanische Energie könnte zur Zerteilung dieser Aggregate und somit zu höheren Keimzahlen nach der Beschallung geführt haben.

Es konnte keine Kombination der Versuchsbedingungen gefunden werden, mit welcher die Sporen wiederholbar abgetötet werden können. Durch die Erhöhung der Temperatur von 25°C auf 50°C konnte die Abtötung der vegetativen Zellen verbessert werden. Eine weitere Erhöhung auf 65°C verringerte den Abtötungseffekt wieder. Im Gegensatz zu RASO et al. (1998), die eine Temperatur von über 85°C zur Sporeninaktivierung empfehlen, war die gefundene Sporenabtötung bei 50°C am größten. Wie bei den vegetativen Zellen konnte durch eine weitere Temperaturerhöhung auf 65°C keine weitere Abtötung erzielt werden.

Leider stand keine Apparatur zu Verfügung, mit welcher ein kombiniertes Verfahren von Ultraschall, Temperatur und Druck möglich war. Laut RASO et al (1998) könnten mit einer solchen Kombinationsbehandlung Sporen am effektivsten abgetötet und Abtötungsraten von bis zu 99 % erreicht werden. Der Einsatz von so hohen Drücken in der Produktion ist allerdings aus mehreren Gründen nicht möglich. Das Produkt könnte beschädigt werden und der finanzielle Aufwand, um die gesamte Produktionsmenge mit Drücken von bis zu 500 kPa über mindestens 10 min zu beaufschlagen, wäre zu hoch.

5.6 Anwendung Chemische Hilfsstoffe

Weder mit Substanz A noch mit Substanz B konnten in den durchgeführten Versuchen mehr Bakterienzellen von den Kartoffelscheiben gelöst werden als mit sterilem Wasser. Die Reduktion der Oberflächenbelastung von Kartoffelscheiben ist mit keiner der beiden Substanzen möglich. Da die nach dem Spülvorgang durchgeführten Keimzahlbestimmungen der Spülwässer zeigen, dass das Spülwasser ohne Zusatz ca. 1000-mal höhere Keimzahlen aufweist als das der beiden Substanzen, kann vermutet werden, dass beide Chemikalien wachstumshemmend auf Bakterien wirken. Die im Datenblatt angegebene bakteriostatische Wirkung der Substanz B konnte im Wachstumsversuch nachgewiesen werden.

Der Einsatz der beiden Substanzen in der Kartoffelflockenproduktion ist somit technologisch nicht sinnvoll. Neben dem finanziellen Aufwand müsste außerdem geklärt werden, ob der Einsatz der Substanzen zur Herstellung von Kindernährmitteln gesetzlich genehmigt ist und ob Deklarationspflicht besteht. Auch mit den Abnehmern der Kartoffelflocken müsste der Einsatz abgesprochen werden.

5.7 Einfluss verschiedener Temperaturbehandlungen auf das Bakterienwachstum

Diese beiden Versuche bestätigen, dass die vegetativen Zellen bei einer Temperatur von 70°C abgetötet werden. Es besteht allerdings kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Reduktion der Keimzahl und der Dauer der Temperaturbehandlung.

Die Sporenkeimzahlen nach den Behandlungen mit 80°C und 90°C sind meist höher als die Ausgangskeimzahl. Möglicherweise werden unter diesen Bedingungen mehr Sporen aktiviert als mit der Standardmethode.

Erst ab einer Temperatur von 100°C kann die Sporenkeimzahl reduziert werden, wobei hier die Abtötungsrate mit der Dauer der Temperaturbehandlung zunimmt. Die größte Keimzahlreduktion wird durch die Behandlung bei 100°C für 60 min und anschließendem Kälteschock erreicht.

Allerdings liegen die geringen Keimzahlen nach den Behandlungen mit 100°C nicht unbedingt in der Abtötung bzw. Inaktivierung der Sporen begründet. Es ist möglich, dass die Sporen wegen der zu hohen Temperatur nicht effektiv aktiviert werden und somit auch nicht auf den Petrischalen auskeimen.

Im Produktionsprozess werden die Kartoffelscheiben im Vorkocher für ca. 20 min auf 80°C erwärmt und anschließend mit kaltem Wasser auf ca. 20°C rückgekühlt. Diese Prozessführung hat einen geringen Kälteschockeffekt zur Folge. Durch die Bedingungen im Vorkocher können die Sporen aktiviert werden und auszukeimen beginnen, allerdings reicht die Rückkühlung auf 20°C wahrscheinlich nicht aus, um sie anschließend abzutöten.

Die Erhitzung der Kartoffelscheiben auf 100°C für längere Zeit ist nicht möglich, da es zur Beschädigung des Produktes käme. Außerdem wäre die dafür benötigte Energie zu teuer, um den Prozess rentabel zu betreiben.

5.8 Identifizierung von Isolaten

Die Ergebnisse der Charakterisierung mittels API Testsystem bestätigten die anhand der Mikroskopie sowie den gewählten Kultivierungsbedingungen (Sporenaktivierung, aerobe Bebrütung) getroffene Annahme, dass die bei der Produktion auftretenden Keime der Familie *Bacillaceae* – genauer den Gattungen *Bacillus* und *Geobacillus* - angehören. Da es sich bei den Ergebnissen um Einzelanalysen handelt, sind die ermittelten Angaben der einzelnen Arten allerdings nicht abgesichert.

Für drei der Isolate aus der Gattung *Bacillus* konnten Bestätigungen für thermophiles Wachstum gefunden werden. RÜCKERT et. al (2004) bestätigen die Existenz thermophiler Unterarten von *B. licheniformis* und *B. subtilis*. Das Wachstum von *B. pumilus* Arten bei Temperaturen über 55°C beschreiben DROFFNER et al. (1985).

Entsprechend ZEIGLER (2001) handelt es sich bei *Geobacillus thermoglucosidasius* um einen echten Thermophilen, der zwischen Temperaturen von 37°C und 68°C wächst und besonders starke Glucosidaseaktivität besitzt.

Weder zu *Brevibacillus non reactive* noch zu *Aneurinibacillus aneurinilyticus* konnten im Rahmen der Literaturrecherche weiterführende Informationen gefunden werden.

6 Schlussfolgerungen

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die Belastung mit aeroben thermophilen Sporenbildnern der im Werk Gmünd produzierten Kartoffelflocken im Bereich der in den Literaturquellen gefundenen Werte liegt.

Der Produktionsprozess ist an allen Stellen gut unter Kontrolle und erfolgt unter hygienischen Bedingungen. Die Kartoffelwäsche arbeitet effektiv, da über das Schwemmwasser nur wenige Keime in die weiteren Verarbeitungsschritte eingebracht werden. Die weiteren Produktionsschritte weisen sowohl für die festen als auch für die flüssigen Proben nur geringe Sporenbelastungen auf. Ein leichter Anstieg der Sporenkeimzahl ist in den Vorkochern feststellbar, die Kühler sind hingegen wieder nur wenig mit Sporen belastet. Dies wird durch die Annahme vom Temperaturprofilversuch bestätigt, wonach die Sporen durch Erwärmung und anschließend rasche Abkühlung inaktiviert werden können. Eventuell könnten durch eine bessere Rückkühlung auf noch tiefere Temperaturen die Keimzahlen im Kühler noch weiter gesenkt werden. Die für Sommer 2009 geplante Erneuerung der Vorkocher-Kühler-Einheit könnte somit eine Reduktion der Sporenkeimzahlen im Kühler bewirken. Zum Nachweisen dieses Effekts müssten kurz vor und direkt nach den Umbauten die alten bzw. neuen Vorkocher und Kühler intensiv beprobt und die Ergebnisse verglichen werden. Ebenso wäre eine Wiederholung des Keimzahlverlaufs der Vorkocher vor und nach dem Umbau sinnvoll. Dadurch könnte eruiert werden, ob die neue Vorkocher-Kühler-Einheit nicht nur energetische sondern auch mikrobiologische Verbesserungen mit sich bringt.

Mikrobiologische Schwachstellen konnten in den Paddelschnecken, welche den Kartoffelbrei nach dem Musen zu den Trocknungswalzen transportieren, lokalisiert werden. Erhöhte Temperatur, Randbelagbildung in der Schnecke und gutes Nährstoffangebot führen zum Auskeimen der Sporen und zur Vermehrung vegetativer Zellen. Eine Reduzierung der Sporenanreicherung ist nur durch eine grundlegende Veränderung im Transportsystem des Kartoffelbreis denkbar.

Im Verlauf der Walzentrocknung kommt es trotz der Trockensubstanzerhöhung zu keiner Aufkonzentrierung der Sporenbildner. Im Gegenteil konnte eine Reduktion der Sporenkeimzahlen pro g TS nachgewiesen werden.

Obwohl kein direkter Zusammenhang zwischen den hohen Luftkeimzahlen im Walzenraum und der Sporenbelastung der Kartoffelflocken gefunden werden konnte, wäre es für die allgemeine Betriebshygiene förderlich, Maßnahmen zur Reduktion der Luftbelastung im Walzenraum zu setzen.

Von den im Labormaßstab zur Reduktion der Sporenbelastung getesteten Methoden eignen sich sowohl die Anwendung von Ultraschall als auch der Einsatz der beiden Zusatzstoffe auf Grund verschiedener Bedingungen nicht zum direkten Einsatz in der Kartoffelflockenproduktion.

Zusammenfassung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Optimierung der mikrobiologischen Qualität von Kartoffelflocken und wurde in Zusammenarbeit mit der *Agrana Stärke GmbH Gmünd* sowie der *Zuckerforschung Tulln GmbH* durchgeführt. Das Probenmaterial stammte direkt aus der Kartoffeldauerprodukte-Produktion im Werk in Gmünd und wurde im Labor der Zuckerforschung in Tulln auf die Belastung mit fakultativ aeroben, thermophilen Sporenbildnern untersucht. Weiters wurden Luftkeimzahlbestimmungen im Produktionsbereich durchgeführt und die aus den Proben isolierten Bakterienstämme mittels physiologischer Testmethoden identifiziert.

Die Bestimmung der Sporenbelastung von Kartoffelflocken ist vor allem für weiterverarbeitende Betriebe von Bedeutung, da bei zu hohen Sporenkeimzahlen massive qualitative Probleme auftreten können. Besonders bei der Herstellung von Gläschenkost für Kleinkinder muss auf möglichst geringe Sporenbelastungen der verwendeten Kartoffelflocken geachtet werden.

Neben der Quantifizierung und Charakterisierung wurden im Labormaßstab Versuche zur Reduzierung der Sporenbelastung mit Ultraschall und zwei desinfizierenden Chemikalien durchgeführt. Eine Substanz verhindert laut Herstellerangaben das Anhaften von Bakterienzellen an Oberflächen, die andere wirkt wachstumshemmend auf Mikroorganismen.

Alle aus den Proben isolierten Reinkulturen können der Familie *Bacillaceae* zugeordnet werden. Neben fakultativ Thermophilen wie *Bacillus pumilus* und *Bacillus licheniformis* konnte mit *Geobacillus thermoglucosidasius* auch ein obligat thermophiler Bakterienstamm nachgewiesen werden. Die durchschnittlich ermittelte Sporenbelastung der Kartoffelflocken beträgt ca. 10^3 KbE/g, wobei die einzelnen Messungen eine große Schwankungsbreite aufweisen. Diese starken Schwankungen der Sporenkeimzahlen im Endprodukt konnten auf die Randbelagsbildung in zwei Transportschnecken zurückgeführt werden.

Durch die Ultraschallbehandlung wurde keine Inaktivierung der Sporen erreicht. Die wachstumshemmende Wirkung der einen Substanz konnte nachgewiesen werden, die Antihafwirkung der anderen bestätigte sich nicht.

Abstract

This study was performed in cooperation with the *Agrana Starch GmbH Gmünd* and the *Zuckerforschung Tulln GmbH* and deals with the microbiological quality of dehydrated potato flakes. The sampling was carried out at the production site for dehydrated potato products in Gmünd, Austria. The samples contaminated with facultatively aerobic, thermophilic sporeformers were analyzed at the Zuckerforschung in Tulln. For the physiological characterization of bacterial isolates the API 50 CH test kit was used. Furthermore, the number of airborne microorganisms around the production facilities was determined.

The potato flake processing industry is aware of the hygienic problem resulting from contaminating bacterial endospores, as this may be a trigger of further hygienic problems in corresponding end products. As potato flakes are used for the manufacture of infant food there is some need for strictly defined threshold levels of bacterial sporeformers.

To reduce the number of spores in flakes, laboratory experiments using ultrasound sonification and the application of two chemical disinfectants were performed. According to their fact sheets, one substance inhibits the microorganisms from adhesion on surfaces, whereas the other one prevents microbial growth.

According to the results of the API 50 CH tests, all isolates could be assigned to the family *Bacillaceae*. Facultatively thermophiles like *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis*, as well as obligately thermophiles like *Geobacillus thermoglucosidasius* were identified.

The average spore count of potato flakes was 10^3 cfu/g, however there is a great variation between the individual measurements. The reason for this variation can be identified in the formation of films within two screw conveyors upon production.

Ultrasound treatment could not inactivate the bacterial spores while inhibitory effects on bacterial growth by one substance was verified. The application of the other substance did not reduce the number of microorganisms adhered on potato slices.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anforderungen an Kartoffelflocken in den USA (KING et al., 2007)	5
Tabelle 2: Übersicht der einzelnen Probenahmen	15
Tabelle 3: Zusätze für den Wachstumsversuch	23
Tabelle 4: Ergebnisse der festen und flüssigen Proben vom 27. Mai.....	25
Tabelle 5: Ergebnisse der Luftkeimmessung vom 29. Mai.....	27
Tabelle 6: Ergebnisse der Luftkeimmessung vom 10. Juni	30
Tabelle 7: Sporenbelastung der festen Proben bei geöffneten und geschlossenen Türen am 10. Juni	32
Tabelle 8: Ergebnisse der festen und flüssigen Proben vom 18. Juni.....	34
Tabelle 9: Veränderung in der Keimzahl in der Transportschnecke nach dem Muser am 10. und 18. Juni.....	35
Tabelle 10: Ergebnisse der Luftkeimmessung vom 18. Juni	36
Tabelle 11: Ergebnisse der festen und flüssigen Proben vom 18. August	38
Tabelle 12: Ergebnisse der festen Proben von der Trocknungswalze vom 1. September	40
Tabelle 13: Ergebnisse der festen Proben aus der Paddelmischschnecke vom 1. September.....	42
Tabelle 14: Ergebnisse der Luftkeimmessung vom 1. September	43
Tabelle 15: Luftkeimzahlwerte im Walzenraum am 1. September	46
Tabelle 16: Sporenkeimzahlen der wöchentlich gezogenen Proben.....	50
Tabelle 17: pH-Werte der wöchentlich gezogenen Proben	51
Tabelle 18: Sporenkeimzahlen und pH-Werte des Vorkochers.....	52
Tabelle 19: Ergebnisse der Trockensubstanzbestimmung.....	54
Tabelle 20: Berechnung der Konzentrierungsfaktoren für die Probenahmen vom 10. und 18. Juni.....	56
Tabelle 21: Berechnung der Konzentrierungsfaktoren für die Probenahmen vom 1. September.....	57
Tabelle 22: Mikroskopisch bestimmte phänotypischen Eigenschaften der Reinkulturen	58
Tabelle 23: Ergebnisse der Ultraschallbehandlung vegetativer Zellen.....	59

Tabelle 24: Ergebnisse der Ultraschallbehandlung auf Sporen.....	61
Tabelle 25: Ergebnisse des mikrobiellen Wachstumsversuchs im Beisein von Substanz A nach 7 Tagen Bebrütung.....	65
Tabelle 26: Ergebnisse des Wachstumsversuchs mit Substanz B.....	66
Tabelle 27: Ermittelte vegetative Keimzahlen und Sporenkeimzahlen nach den verschiedenen Temperaturbehandlungen	68
Tabelle 28: Identifizierung von Isolaten mittels API 50CH Testsystem	70
Tabelle 29: Zusammenfassung aller Luftkeimmessungen	72
Tabelle 30: Zusammenfassung der Sporenkeimzahlen der festen und flüssigen Proben.....	73

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Durchschnittliche Zusammensetzung der Kartoffelknolle (Quelle: ZFT, 2008).....	3
Abbildung 2: Fließschema der Kartoffeldauerprodukte-Herstellung in Gmünd.....	10
Abbildung 3: Luftkeimmessung am 10. Juni ; Gesamtkeimzahl bei geöffneten und geschlossenen Türen.....	31
Abbildung 4: Luftkeimmessung am 10. Juni; Hefe- und Schimmelpilzkeimzahl bei geöffneten und geschlossenen Türen.....	32
Abbildung 5: Sporenkeimzahlverlauf der festen Proben vom 1. September	41
Abbildung 6: Sporenkeimzahlverlauf am Walzenauftrag vom 1. September.....	41
Abbildung 7: Keimzahlverlauf im Kartoffelfilm vom 1. September.....	42
Abbildung 8: Luftkeimzahl am 1. September; Verlauf der Gesamtkeimzahl.....	44
Abbildung 9: Luftkeimzahl am 1. September; Verlauf der Hefe- und Schimmelpilzkeimzahl.....	45
Abbildung 10: Luftkeimzahl am 1. September ; Gesamtkeimzahl bei geöffneten und geschlossenen Türen.....	47
Abbildung 11: Luftkeimzahl am 1. September; Hefe- und Schimmelpilzkeimzahl bei geöffneten und geschlossenen Türen.....	47
Abbildung 12: Vergleich der Keimzahlentwicklung in den festen Proben und der Gesamtluftkeimzahl am 1. September	48
Abbildung 13: Verlauf des pH-Wertes im Vorkocher Nr. 2 am 8./9. September.....	53
Abbildung 14: Verlauf der Sporenkeimzahl im Vorkocher Nr. 2 am 8./9. September	54
Abbildung 15: Abhängigkeit der Abtötung vegetativer Zellen von der Beschallungsdauer.....	60
Abbildung 16: Darstellung der vegetativen Keimzahlen vor und nach der Ultraschallbehandlung.....	61
Abbildung 17: Abhängigkeit der Sporenabtötung von der Beschallungsdauer.....	62
Abbildung 18: Darstellung der Sporenkeimzahlen vor und nach der Ultraschallbehandlung.....	63
Abbildung 19: Keimzahlen des Wachstumsversuchs mit Substanz A nach 7 Tagen Bebrütung	65

Abbildung 20: Keimzahlen des Wachstumsversuchs mit Substanz B nach 24 h	
Bebrütung	67
Abbildung 21: Keimzahlverlauf von <i>B. pumilus</i> und <i>B. licheniformis</i>	69

Literaturverzeichnis

Agrana, 2008a: Agrana Jahresbericht 2007/2008.

Agrana, 2008b: Informationen aus direkten Gesprächen mit Herrn Ing. Erwin Korherr und Herrn Ernst Neulinger.

AMA, 2008: Homepage der Agrarmarkt Austria. www.ama.at

Andersen-Borge, G.I., Skeie, M., Sørhaug, T., Langsrud, T., Granum, P.E.: 2001. Growth and toxin profiles of *Bacillus cereus* isolated from different food sources. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 69, 237-246.

Ash, C., Farrows, J. A. E., Wallbanks, S., Collins, M. D.: 1991. Phylogenetic heterogeneity of the genus *Bacillus* revealed by comparative analysis of small-subunit-ribosomal RNA sequences. *Letters in Applied Microbiology*. Vol. 13, 202-206.

Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft (BLFL): Agrarmärkte Jahresheft 2007, Teilauszug: Kartoffeln. 2007.

Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft (BMLFUW): Grüner Bericht 2008. Wien 2008.

Doan, C.H., Davidson, P.M.: 2000. Microbiology of Potatoes and Potato Products: A review. *Journal of Food Protection*. Vol. 63, No. 5, 668-683.

Droffner, M. L., Yamamoto, N.: 1985. Isolation of thermophilic mutants of *Bacillus subtilis* and *Bacillus pumilus* and transformation of the thermophilic trait to mesophilic strains. *Journal of General Microbiology*. Vol. 131, No. 10, 2789-2794.

Earnshaw, R.G., Appleyard, J., Hurst, R.M.: 1995. Understanding physical inactivation processes: combined preservation opportunities using heat, ultrasonic and pressure. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 28, 197-219.

Hutterer, J.: Das Werk Gmünd der österreichischen Agrar-Industrie GES.M.B.H. 2. Auflage. Österreichische Agrar-Industrie Ges.m.b.H., Wien 1978.

Karel, M., Lund, D.B.: Physical Principles of Food Preservation. 2. Auflage. Dekker, New York, 2003.

King, N., Whyte, R., Hudson, J.A.: 2007. Presence and Significance of *Bacillus cereus* in Dehydrated Potato Products. *Journal of Food Protection*. Vol. 70, No. 2, 514-520.

Krieg, N.R.: Bergey's manual of systematic bacteriology. 1. Band. Williams and Wilkins Verlag, Baltimore 1984.

Laurent, S.A., Rosso, L.: 1999. A quantitative approach for studying the effect of heat treatment conditions on resistance and recovery of *Bacillus cereus* spores. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 48, 149-157.

Marquis, R.E., Gerhardt, P.: 2001. Bacterial Endospores. *Encyclopedia of Life Sciences*.

Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R.C.: 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 87, 207-216.

Raso, J., Palop, A., Pagán, R., Condón, S.: 1998. Inactivation of *Bacillus subtilis* spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 85, 849-854.

Ricca, E., Henriques, A.O., Cutting, S.M.: Bacterial Spore Former Probiotics and Emerging Applications. Horizon Bioscience Verlag, Wymondham 2004.

Rückert, A., Ronimus, R. S., Morgan, H. W.: 2004. A RAPD-based survey of thermophilic bacilli in milk powders from different countries. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 96, 263-272.

Schuhmann, P.: Aufbereitung, Lagerung und Vermarktung von Kartoffeln nach QS. Agrimedia Verlag, Bergen 2005.

Süßmuth, R., Eberspächer, J., Haag, R., Springer, W.: Mikrobiologisch-biochemisches Praktikum. 2. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart 1999.

Turner, N.J., Whyte, R., Hudson, J.A., Kaltovei, S.L.: 2006. Presence and Growth of *Bacillus cereus* in Dehydrated Potato Flakes and Hot-Held, Ready-to-Eat Potato Products Purchased in New Zealand. *Journal of Food Protection*. Vol. 69, No. 5, 1173-1177.

Uhlmann, S., Leppack, E., Sauer N.: Aufbereitung von Kartoffeln. 1. Auflage. Landwirtschaftsverlag, Darmstadt 2003.

UNESCO, 2008. Homepage des „International Year of the Potato“.
<http://www.potato2008.org/en/aboutiyp/index.html>

Zeigler, D.R.: 2001. Bacillus Genetic Stock Center Catalog of Strains, 7th Edition Volume 3: The Genus *Geobacillus*. <http://www.bgsc.org/Catalogs/Catpart3.pdf>

ZFT: 2008. Homepage der Zuck erforschung Tulln.
<http://www.zuckerforschung.at>