

**Ozontes Waschwasser
zur Qualitätssicherung
leichtverderblicher Produkte
- Entwicklung einer
Fuzzy-logic-Steuerung
des Waschprozesses**

Ozonated Washing Water for
Quality Guarantee of Perishable
Produce – Development of a
Fuzzy Logic System for the
Process Control

Gefördert vom:



Mit Unterstützung durch:



Bornimer Agrartechnische Berichte

Heft 43

Potsdam-Bornim 2005

Herausgeber:

Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB)
Max-Eyth-Allee 100
14469 Potsdam

☎ 0331 5699-0
Fax 0331 5699-849
E-Mail atb@atb-potsdam.de
Internet www.atb-potsdam.de

Bearbeiter des ATB:

Dr. rer. nat. Karin Hassenberg
Dr. rer. nat. Christine Idler
Dr. agr. Martin Geyer
Dr. phil. nat. Matthias Plöchl

Die Bearbeitung erfolgte im Rahmen des BMBF-Förderprogramms "Forschung für die Umwelt" zum Thema

Agrartechnik - Integrierter Umweltschutz in der Landwirtschaft

„Verbesserung der Umweltverträglichkeit landwirtschaftlicher Produktionsverfahren durch Entwicklung innovativer Sensorik und Gestaltung der Produktionsprozesse im Sinne eines integrierten Umweltschutzes“

Projektpartner:

BWT Wassertechnik GmbH Schriesheim
Dr. Ralph Bergmann

HAVITA Berlin Frischgemüse GmbH
Klaus Bauer
Marina Schlotte

Typographische Gestaltung:

Andrea Gabbert

Oktober 2005

Herausgegeben vom Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) mit Förderung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) und Unterstützung des Projektträgers des BMBF, Forschungszentrum Jülich GmbH (PTJ).
BMBF-FKZ: 0339992 Teilprojekt 03 (5554)

Für den Inhalt der Beiträge sind die Autoren verantwortlich.

Eine Weiterveröffentlichung von Teilen ist unter Quellenangabe und mit Zustimmung des Leibniz-Instituts für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. möglich.

ISSN 0947-7314

© Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V., Potsdam-Bornim 2005

Inhaltsverzeichnis

I Kurzdarstellung

1	Aufgabenstellung.....	5
2	Voraussetzungen zur Durchführung des Vorhabens.....	6
3	Planung und Ablauf des Vorhabens.....	7
4	Stand von Wissenschaft und Technik.....	10
4.1	Technologie der Salatwäsche.....	10
4.2	Qualität bei abgepackten Salaten.....	10
5	Zusammenarbeit mit anderen Stellen	12

II Ausführliche Ergebnisdarstellung

1	Erzielte Ergebnisse	14
1.1	Ozonerzeugung und -messung	14
1.1.1	Ozonerzeugung im Labormaßstab	14
1.1.2	Ozonerzeugung im Praxismaßstab	15
1.1.3	Ozonnmessverfahren.....	16
1.1.4	Ozonstabilität.....	17
1.2	Einfluss von Ozon auf Testkeime in wässrigen Lösungen.....	20
1.2.1	Auswahl und Kultivierung von Testorganismen	20
1.2.2	Wirkung von Ozon auf <i>Salmonella choleraesuis</i>	21
1.2.3	Wirkung von Ozon auf <i>Bacillus cereus</i>	22
1.2.4	Wirkung von Ozon auf <i>Escherichia coli</i>	23
1.2.5	Wirkung von Ozon auf <i>Listeria monocytogenes</i>	23
1.2.6	Zusammenfassung	24
1.3	Einfluss von Ozon auf inokulierte Salatblätter	26
1.3.1	Salatarten und Herkünfte	26
1.3.2	Inokulation der Salatblätter	26
1.3.3	Wirkung von Ozon auf inokulierte Einzelstämme.....	27
1.3.4	Wirkung von Ozon auf inokulierte Bakteriencoctails	28
1.3.5	Vergleich der Ergebnisse	29
1.4	Einfluss von Ozon auf inokulierte Salatpflanzen	30
1.4.1	Pflanzenanzucht.....	30
1.4.2	Inokulation der Pflanzen	30
1.4.3	Wirkung von Ozon auf Einzelstämme	31
1.4.4	Wirkung von Ozon auf Bakteriencoctails.....	32

1.5	Bestimmung der Qualitätsparameter von Salat.....	33
1.5.1	Salatarten und Herkünfte	34
1.5.2	Untersuchung zur optischen Beeinträchtigung von Salat durch ozontes Wasser.....	34
1.5.3	Vitamin-C-Bestimmung	34
1.5.4	Zuckerbestimmung.....	35
1.6	Salatwäsche unter Laborbedingungen	40
1.6.1	Art und Herkunft des Salates	40
1.6.2	Versuchsdurchführung	41
1.6.3	Qualität des gelagerten Salates	44
1.7	Salatwäsche unter Praxisbedingungen.....	54
1.7.1	Vorbereitende Arbeiten.....	54
1.7.1.1	Untersuchungen des Prozesswassers.....	54
1.7.1.2	Erzeugung von ozontem Wasser mit Prototyp „Coolzon 8“	54
1.7.2	Waschtechnologie	58
1.7.3	Ergebnisse der Wasseranalysen.....	61
1.7.4	Qualität des gelagerten Salates	63
1.8	<i>Fuzzy-logic</i> -Steuerung der Ozonkonzentration in Waschlösungen	70
1.8.1	Grundlagen der <i>Fuzzy-logic</i> -Modellierung.....	70
1.8.2	Auswahl und Definition der Eingangsvariablen	73
1.8.3	Regelwerk der <i>Fuzzy-logic</i> -Modellierung.....	74
1.8.4	Modelldiskussion	77
2	Abstract	78
3	Literatur	79
	Abkürzungsverzeichnis	81
	Bildverzeichnis.....	82
	Tabellenverzeichnis.....	84
	in der Reihe Bornimer Agrartechnische Berichte erschienen.....	86

Ozontes Waschwasser zur Qualitätssicherung leichtverderblicher Produkte - Entwicklung einer Fuzzy Logic Steuerung des Waschprozesses

I Kurzdarstellung

1 Aufgabenstellung

In den Industriestaaten hat die Nachfrage nach minimally processed, ready-to-eat bzw. convenient - Produkten in den vergangenen Jahren stark zugenommen. Der Produktionsprozess für solche Lebensmittel ist sehr einfach. Das Obst bzw. Gemüse wird sortiert, gewaschen, geschnitten, getrocknet, sortiert und in Kunststofffolien verpackt. Bei der Lagerung von folienverpacktem, geschnittenen Eisbergsalat ist neben sensorisch wahrnehmbaren Veränderungen, wie der Verbräunung und die Bildung von Off-Odor, der mikrobielle Befall während der Lagerung ein entscheidendes Qualitätsmerkmal.

Während in Frankreich und in den USA seit der Markteinführung von Fertigsalaten Chlor und chlorabspaltende Verbindungen als Zusatz zum Waschwasser zur Haltbarkeitsverlängerung üblich sind, bestehen in Deutschland Bedenken gegen die Anwendung von Desinfektionsmitteln. Der Einsatz von Chlor im Waschwasser ist hier zulässig, sofern Chlor oder seine Umwandlungsprodukte im Erzeugnis nur in technisch unvermeidbaren und technologisch unwirksamen Resten sowie in gesundheitlich, geruchlich und geschmacklich unbedenklichen Anteilen enthalten sind (LMBG i.d.F.d.B.v. 9.12.1997). Untersuchungen haben auch gezeigt, dass Chlor nicht so effektiv auf Pathogene wirkt wie erhofft (BEUCHAT & SOFOS 1999).

Ziel des Projektes war es, Anlagen zum Waschen leichtverderblicher Produkte konzeptionell zu erweitern, indem ein hygienisierender Schritt in den Waschprozess integriert wird. Dabei sollte Ozon zur Desinfektion der Produktoberflächen eingesetzt und die dazu gehörige *fuzzy-logic*-Steuerung auf Basis von Modellen des Verhaltens von Ozon in Waschlösungen entwickelt werden.

Für die Umsetzung des Projektes sollten zuerst Laborversuche durchgeführt werden. Basierend auf den dabei ermittelten Ergebnissen sollte eine Umsetzung beim Industriepartner erfolgen, indem in den dortigen Salatwaschprozess ozontes Wasser zugesetzt wird (**Bild 1**) und abschließend sollten, die bei HAVITA gewonnenen Ergebnisse nutzend, eine *fuzzy-logic*-Steuerung für den Waschprozess entwickelt werden.

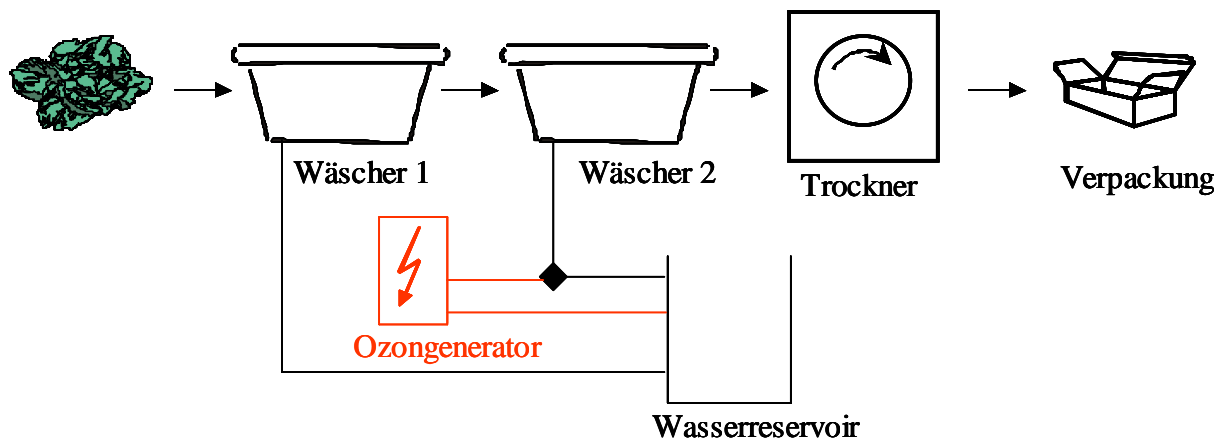


Bild 1: Fließschema des Waschprozesses beim Industriepartner HAVITA; die zu entwickelnde Ozonapplikation ist rot gezeichnet

2 Voraussetzungen zur Durchführung des Vorhabens

Das vorliegende Projekt ist Bestandteil des BMBF-Förderschwerpunktes „Agrartechnik - Integrierter Umweltschutz in der Landwirtschaft“. Ziel des Förderprogramms ist die Steigerung der Umweltverträglichkeit landwirtschaftlicher Produktionsverfahren im Sinne eines integrierten Umweltschutzes. Dazu zählen Lösungen zur Optimierung herkömmlicher Verfahren mit praxisrelevanten Innovationen.

Die Hersteller von ‚ready to eat‘-Produkten stehen vor dem Problem, dass zur Herstellung von folienverpacktem Obst und Gemüse einerseits keine Desinfektionsmittel im Waschprozess eingesetzt werden dürfen, andererseits aber die Produktqualität bis zum Ende des Mindesthaltbarkeitsdatums gewährleistet sein muss. Produktqualität beinhaltet in diesem Fall sowohl das optische Erscheinungsbild als auch den mikrobiellen Befall von Obst und Gemüse. Der Verbraucher entscheidet beim Kauf zwar nur nach sensorischen Kriterien wie dem frischen und knackigen Aussehen von Salat, von größerer Bedeutung aber ist der mikrobielle Befall, da dieser unter Umständen zwar zum Verderb des Produktes beiträgt aber auch ein gesundheitliches Risiko für den Konsumenten darstellen kann. Für mikrobiell bedingte Krankheitsausbrüche gibt es zahlreiche Beispiele (BURNETT & BEUCHAT 2000, KHADRE, YOUSEF *et al.* 2001, TAUXE 2002, BEUCHAT 1996). Erwähnt seien hier der Befall von Salat durch *Escherichia coli* (MERSON *et al.* 1976, MINTZ 1994, DEL ROSARIO & BEUCHAT 1995) sowie der Befall durch *Listeria monocytogenes* (CARLIN *et al.* 1995, FRANCIS & O’BEIRNE 1998). Das letztgenannte Bakterium ist dabei besonders gefährlich, da es während der Lagerung im Kühlschrank optimale Bedingungen zur Vermehrung vorfindet. Um das Gesundheitsrisiko für den Verbraucher zu minimieren, wurden von der Kommission für Lebensmittelmikrobiologie und -hygiene der DGHM Richt- und Warnwerte veröffentlicht (DGHM 2003). Diese sollen von den Herstellern eingehalten werden. Eine Überwachung dieser Firmen erfolgt in regelmäßigen Abständen durch Probenahmen vor Ort.

Das vorliegende Projekt soll einen Beitrag leisten, die Produktsicherheit und Qualität von leichtverderblichen gartenbaulichen Erzeugnissen bis zum Ende des Mindesthaltbarkeitsdatums zu gewährleisten. Um dieses Ziel zu erreichen, fand eine enge Zusammenarbeit mit der Firma HAVITA Berlin Frischgemüse GmbH statt, einem Hersteller von abgepackten, verzehrfertigen Salaten sowie mit der Firma BWT, die Ozongeneratoren herstellt. Die letztgenannte Firma stellte für das Projekt einen Ozongenerator für die Laborversuche am ATB zur Verfügung. Ziel dieser Versuche war es festzustellen, welche Ozonkonzentrationen nötig sind, um die relevanten Mikroorganismen abzutöten, ohne den Salat dabei zu schädigen. Nach Abschluss der Laborversuche wurde durch die Firma, basierend auf den Versuchsergebnissen des ATB, ein neuer Ozongenerator entwickelt, der bei Industrieversuchen in der Firma HAVITA getestet wurde. Die Ergebnisse dieser Versuche wiederum wurden vom ATB genutzt, um eine *fuzzy-logic*-Steuerung für den Waschprozess zu entwickeln.

Im Verlauf der Bearbeitung des Projektes zeigte sich sehr schnell, dass sich das Arbeitsvolumen doch erheblich größer und zeitaufwendiger gestaltete als geplant. Daher wurde eine zeitliche Verlängerung der Projektlaufzeit durch das ATB beantragt, der durch das BMBF stattgegeben wurde.

3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Ziel des Vorhabens ist die Entwicklung eines hygienisierenden Waschschrives unter Zuhilfenahme von Ozon und die Entwicklung einer *fuzzy-logic*-Steuerung zur automatischen, bedarfsgerechten Beigabe des Ozons in den Waschprozess.

Die grundlegenden Untersuchungen zur Wirkung von ozontem Wasser auf relevante Mikroorganismen werden im ATB durchgeführt. Die dabei erhaltenen Ergebnisse sollen durch die Firma BWT genutzt werden, um einen Ozongenerator zu entwickeln, der für den Einsatz bei der Firma HAVITA geeignet ist, um Versuche im Industriemaßstab durchzuführen. Die Ergebnisse dieser Arbeiten dienen der Entwicklung einer *fuzzy-logic*-Steuerung zur automatischen Ozonbeigabe und werden am ATB durchgeführt. Im Folgenden werden die geplanten Arbeitsschritte genauer beschrieben:

Modifizierung eines Ozongenerators für den Laborgebrauch

Durch die Firma BWT wird der Ozongenerator ‚Bewazon 1‘ für Laborversuche am ATB zur Verfügung gestellt. Dieser Generator wird durch die Firma kommerziell vertrieben. Am ATB wird der Generator derart modifiziert, dass die Temperatur des angeschlossenen Wassertanks regulierbar ist und dieses zum Erreichen von höheren Ozonkonzentrationen im Kreislauf geführt werden kann.

Etablierung eines Messverfahrens zur Ozonbestimmung in Lösung

Zur Durchführung der geplanten Arbeiten ist es unerlässlich, die Ozonkonzentration im Wasser zu ermitteln. Dazu werden unterschiedliche Messverfahren auf ihre Eignung hin untersucht und eine Methode etabliert. Inbegriffen in diese Untersuchungen sind Versuche zur Stabilität von Ozon in Wasser in Abhängigkeit von Wassertemperatur und -bewegung. Diese sind von Wichtigkeit, da bekannt ist, dass Ozon bei steigenden Temperaturen schlechter in Wasser löslich ist und starke Turbulenzen im Wasser ebenfalls zum Absinken der Ozonkonzentration beitragen. Ursachen hierfür sind ein verstärktes Ausgasen und ein erhöhter Ozonzerfall.

Entwicklung eines versuchsbegleitenden Regimes zum Qualitätsmanagement

Parallel zu den geplanten mikrobiologischen Laborversuchen werden Untersuchungen durchgeführt, die die Wirkung von ozontem Wasser auf die Inhaltsstoffe von Salat untersuchen. Dazu sollen exemplarisch der Vitamin C- und Zuckergehalt untersucht werden. Voraussetzung für die Anwendung der Ozontechnologie in der Salatwäsche ist, dass das Produkt durch die Behandlung weder optisch noch inhaltlich geschädigt wird. Es sollen daher die schädigenden Grenzkonzentrationen ermittelt werden.

Des Weiteren sollen Untersuchungen des Salatwaschwassers stattfinden. Diese sollen ergeben, welche Stoffe im Wasser zukünftig regulär gemessen werden sollen, um dabei eine realistische Aussage der Wasserqualität machen zu können. Ein geeigneter Parameter scheint dabei der TOC-Wert zu sein.

Versuche zur Abtötung von Mikroorganismen in Suspensionen

Einführend in die Thematik sind Versuche geplant, bei denen die Wirkung von ozontem Wasser auf, für Salat relevante, Keimgruppen bestimmt wird. Dazu werden Keimsuspensionen mit definierten Keimgehalten hergestellt sowie ozontes Wasser unterschiedlicher Konzentrationen. Beide Lösungen werden dann vereinigt und die Wirkung in Abhängigkeit der Zeit bestimmt. Ziel ist die Ermittlung der jeweils zur Abtötung benötigten optimalen Ozonkonzentration.

Versuche zur Abtötung von Mikroorganismen auf einzelnen Salatblättern

In nächsten Schritt wird die Wirkung von ozontem Wasser auf die Bakterien überprüft, wenn diese sich auf der Oberfläche von einzelnen Salatblättern befinden. Dazu werden Salatblätter mit jeweils einem Bakterienstamm inokuliert und mit ozontem Wasser behandelt. Nach Bestimmung der dafür nötigen Ozonkonzentrationen werden die Versuche derart wiederholt, dass nun Salatblätter mit einem Bakteriencocktail, bestehend aus allen relevanten Keimgruppen inokuliert und mit ozontem Wasser gewaschen werden. Ziel ist es, herauszuarbeiten, ob die Keime als Cocktail ebenso auf ozontes Wasser reagieren wie in Monokulturen.

Laborversuche mit Simulation von Feld- und Verarbeitungsbedingungen

Um einen weiteren Schritt in Richtung realer Bedingungen zu gehen, werden im nachfolgenden Abschnitt Kopfsalate selber in einer Klimakammer angezogen. Nach ausreichender Anzuchtzeit werden die Salatköpfe mit Keimsuspensionen einzelner Stämme inokuliert und nach einer gewissen Etablierungszeit der Keime auf der Oberfläche geerntet und Waschversuche mit ozontem Wasser durchgeführt. Diese Versuche werden anschließend mit einem Cocktail aller 4 relevanten Keimgruppen wiederholt.

Um den Waschbedingungen unseres Industriepartners HAVITA näher zu kommen, wird weiterhin ein Versuchsblock durchgeführt, bei dem die selbst angezogenen Salate nach Inokulation mit dem Bakteriencocktail einem zweistufigen Waschprozess unterzogen werden. Dabei wird der Salat nach der Ernte zuerst mit Wasser vorgewaschen und in einem zweiten Waschgang mit ozontem Wasser behandelt.

Untersuchungen zu Wasserqualität und –verbrauch bei HAVITA

Um eine erfolgreiche Umsetzung der Laborergebnisse in den Praxismaßstab zu unterstützen, werden parallel zu den Laborversuchen Analysen bezüglich Wasserverbrauch und -qualität in Abhängigkeit des Salatdurchsatzes bei der Firma HAVITA durchgeführt.

Entwicklung und Bau eines Ozongenerators für die Salatwäsche in der Firma HAVITA

Auf der Basis der Ergebnisse der Wasseruntersuchungen bei der Firma HAVITA und der Ergebnisse der Laborversuche am ATB wird die Firma BWT einen Ozongenerator entwickeln und bauen, der bei Versuchen an der Waschstrecke bei der Firma HAVITA eingesetzt wird.

Industrierversuche

Abschließend wird der neu entwickelte Ozongenerator bei der Firma HAVITA in den dort vorhandenen zweistufigen Waschprozess integriert. Dabei ist geplant, den ersten Waschgang zur Beseitigung von groben Verschmutzungen unverändert zu lassen und im zweiten Waschgang zur Hygienisierung ozontes Wasser beizumischen. Die Arbeiten müssen unter Berücksichtigung der geltenden Arbeitsschutzmaßnahmen für Ozon durchgeführt werden. Eine entsprechende Vorrichtung muss daher erarbeitet und installiert werden.

Entwicklung einer *Fuzzy-logic*-Steuerung

Die Ergebnisse aller Versuche sollen in die Entwicklung einer *fuzzy-logic*-Steuerung einfließen, die in der Lage ist, automatisch die Ozonbeigabe zum Waschprozess zu steuern. Diese Entwicklung soll am ATB erfolgen.

4 Stand von Wissenschaft und Technik

4.1 Technologie der Salatwäsche

In den vergangenen Jahren ist die Nachfrage nach so genannten ‚ready to eat‘ bzw. prepacked Produkten sprunghaft gestiegen. Der Verzehr beschränkt sich dabei nicht nur auf Privathaushalte, sondern auch immer mehr Restaurants und Kantinen verarbeiten diese Produkte.

Der Herstellungsprozess dieser Produkte, zu denen auch abgepackte Schnittsalate gehören, ist sehr einfach. Für das Produkt Salat sieht der Prozess wie folgt aus: Zuerst wird der Salat manuell verputzt, d.h. die äußeren Blätter werden entfernt und der Strunk herausgeschnitten. Durch das Abtrennen der äußeren Blätter erfolgt eine Grobreinigung, da an diesen die meisten Verunreinigungen, wie z. B. Bodenreste, anhaften. Anschließend wird der Salat in bedarfsgerechte Stücke geschnitten, gewaschen, geschleudert, um anhaftendes Wasser zu entfernen und verpackt. Die Verpackungseinheiten schwanken je nach Bedarf des Abnehmers. Die im Handel erhältlichen abgepackten Salatbeutel enthalten in der Regel 200 g Salat. Kantinen bestellen gewöhnlich größere Einheiten mit z. B. 5 kg Inhalt. Die Lagerung bis zum Verzehr sollte bei 2 bis 5°C erfolgen, 6°C aber nicht überschreiten. Zur Veranschaulichung des Herstellungsprozesses dient **Bild 2**.

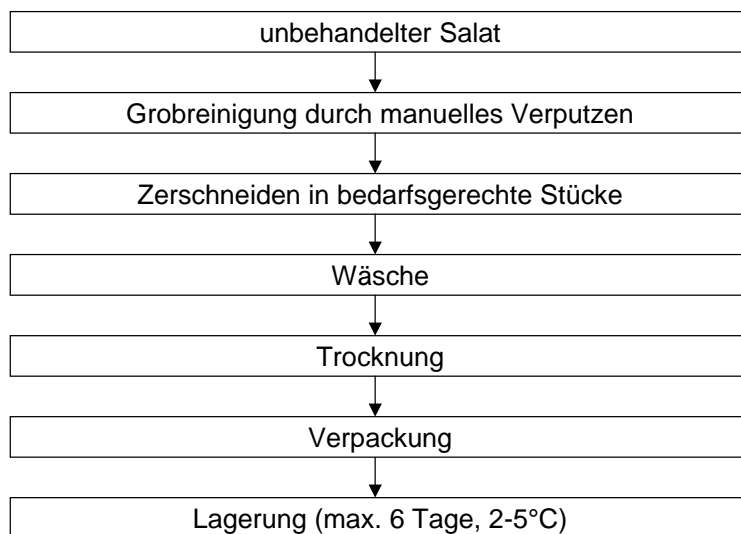


Bild 2: Fließschema der Herstellung von abgepackten Schnittsalaten

4.2 Qualität bei abgepackten Salaten

In der Bundesrepublik und in der EU gibt es für eine Reihe von Lebensmitteln im Hinblick auf deren hygienisch-mikrobiologische Beschaffenheit rechtsverbindliche Anforderungen. Solche Normen sind wichtig, wenn registriert werden muss, dass in Deutschland jährlich rund 200.000 Erkrankungen durch verdorbene Lebensmittel verursacht werden. Nach Angaben der WHO sterben weltweit jährlich ca. 2 Millionen Menschen daran. Durch den globalen Handel mit Lebensmitteln können bereits besiegte Krankheiten immer wieder aufflammen. Nur international einheitliche Maßstäbe an die hygienische Qualität der Le-

bensmittel können auf Dauer verhindern, dass neue Erreger an Bedeutung gewinnen. In Deutschland wird die amtliche Lebensmittelüberwachung auf allen Stufen der Erzeugung, der Herstellung, der Behandlung, der Lagerung, der Beförderung und des Handels durchgeführt. Dadurch kann sichergestellt werden, dass den Verbrauchern einwandfreie Lebensmittel zur Verfügung gestellt werden. Die Durchführung der Untersuchungen zur Lebensmittelüberwachung liegt in der Verantwortung der einzelnen Bundesländer. In Brandenburg sind 2002 29.500 Lebensmittelbetriebe registriert worden. Da z. Z. nur eine Kontrollperson für 199 Einrichtungen zuständig ist, ergeben sich erhebliche Kontrolldefizite, da viele Einrichtungen mehrmals im Jahr kontrolliert werden müssen. In ca. 30 % aller Fälle sind Mängel festgestellt worden. Diese reichen von hygienischen Problemen, über die Verwendung unzulässiger Zusatzstoffe bis zu Kennzeichnungsmängeln bei verpackten Lebensmitteln. Die hauptsächlichen Beanstandungsgründe lagen 2002 in Verstößen gegen die Kennzeichnungsvorschriften (652 von 800). Mikrobiologische Beanstandungen und Verunreinigungen liegen mit je 150 von 800 Proben im mittleren Bereich (Verbraucherschutzbericht des Landes Brandenburg, 2002). Von allen untersuchten Lebensmittelproben sind nur 0,8 % als gesundheitsschädlich bzw. als gesundheitsgefährdend beurteilt worden. Zu den am häufigsten beanstandeten Lebensmitteln gehören außer Feinkostsalaten und Speiseeis auch Backwaren und Fischerzeugnisse. Zunehmend werden auch diätetische Lebensmittel und Nahrungsergänzungsmittel beanstandet. Abgepackte Mischsalate sind in der Brandenburger Statistik nicht expliziert aufgeführt.

Für einen großen Teil von Lebensmitteln existieren jedoch noch keine Grenzwerte, so dass es sowohl für die amtliche Lebensmittelüberwachung als auch für Hersteller und Handel an Anhaltspunkten für die Beurteilung mikrobiologischer Befunde fehlt.

Die Kommission Lebensmittelmikrobiologie und -hygiene der DGHM veröffentlicht seit 1988 für verschiedene Lebensmittelgruppen mikrobiologische Richt- und Warnwerte zur Beurteilung von Lebensmitteln. Diese sollen die Beurteilung des mikrobiologisch-hygienischen Status' eines Lebensmittels oder einer Lebensmittelgruppe erleichtern und werden durch Kommissionsmitglieder aus Wirtschaft, Wissenschaft und Überwachung in gemeinsamer Beratung unter Berücksichtigung geltender nationaler und europäischer Gesetzgebung erarbeitet.

Diese Werte sind rechtlich nicht bindend, geben aber sowohl den Herstellern und Inverkehrbringern als auch der amtlichen Lebensmittelüberwachung Anhaltspunkte hinsichtlich der Zuordnung zu allgemein rechtlichen Hygieneanforderungen.

Grundlage der Richt- und Warnwerte sind die Art und die Anzahl bestimmter Mikroorganismen, die für den gesundheitlichen Verbraucherschutz und für die Beurteilung der spezifischen Beschaffenheit eines Produktes relevant sind. Die Empfehlungen gelten für Angebotsformen mit der Zielgruppe Endverbraucher; Roh- und Zwischenprodukte blieben bisher unberücksichtigt. In **Tabelle 1** sind die von der DGHM empfohlenen Richt- und Warnwerte für abgepackte Mischsalate aufgeführt.

Tabelle 1: Richt- und Warnwerte der DGHM für Mischsalate
Mittelwerte für abgepackte Ware bei Abgabe an den Verbraucher

	Richtwert	Warnwert
Aerobe mesophile Koloniezahl	5,0·10 ⁷ KbE/g	-
<i>Escherichia coli</i>	1,0·10 ³ KbE/g	-
Shigella spp.	-	nicht nachweisbar in 25 g
Salmonella spp.	-	nicht nachweisbar in 25 g
<i>Listeria monocytogenes</i> *	1,0·10 ² KbE/g	-

* EU-Empfehlung

Des Weiteren empfiehlt die DGHM für abgepackte Mischsalate, dass das Mindesthaltbarkeitsdatum nicht mehr als 6 Tage betragen soll, wobei die Ware nach Verlassen des Herstellerbetriebes unter Kühlung bis maximal 6°C gehalten werden soll. Hinweise darüber sollen auf der Packung zu finden sein.

5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Projekt ist Teil des Verbundprojektes „Verbesserung der Umweltverträglichkeit landwirtschaftlicher Produktionsverfahren durch Entwicklung innovativer Sensorik und Gestaltung der Produktionsprozesse im Sinne eines integrierten Umweltschutzes“ und in das am ATB vorhandene Kompetenznetz „ProSenso.net“ eingebunden. Mit Fragen des Qualitätserhalts von gartenbaulichen Produkten im Nacherntebereich beschäftigt sich am ATB die Abteilung „Technik im Gartenbau“. Bearbeitet werden Fragen zur produktschonenden Ernte und Mechanisierung von Erntemethoden ebenso wie Fragen zur Physiologie der Produkte, der schonenden Aufbereitung, der Klimatisierung, Verpackung und Lagerung.

Die Anwendung von Ozon ist in Deutschland im Bereich von ‚ready to eat‘ Produkten bisher nicht üblich. Ursachen hierfür sind unzureichende Forschungsergebnisse sowie die ungeklärte rechtliche Lage. Mit dem Thema Ozon zur Aufbereitung von verzehrfertigen Produkten beschäftigte sich in Deutschland unseres Wissens nur eine weitere Forschergruppe um Prof. Hammes an der Universität Hohenheim. Die von dieser Gruppe erarbeiteten Ergebnisse sollen in unsere Arbeit einfließen. Da Prof. Hammes 2004 pensioniert wurde, existiert diese Arbeitsgruppe nicht mehr. Die Untersuchungen werden auf dem Gebiet von seinem Nachfolger nicht weiter betrieben.

Des Weiteren ist im Verlauf des Projektes durch Gespräche mit anderen potenziellen Nutzern, wie Waschanlagenherstellern und Produzenten von abgepacktem Obst und Gemüse, zu klären, ob der Einsatz von Ozon auf Akzeptanz stößt oder ob es Vorbehalte gibt und welcher Art diese sind.

Eine weitere Voraussetzung für den Einsatz von Ozon ist die Einhaltung der Arbeitsschutzbestimmungen. Dazu müssen die bestehenden Gesetzesvorlagen beachtet und gegebenenfalls mit den zuständigen Behörden diskutiert werden.

II Ausführliche Ergebnisdarstellung

1 Erzielte Ergebnisse

1.1 Ozonerzeugung und -messung

1.1.1 Ozonerzeugung im Labormaßstab

Zum Projektbeginn wurde ein Labor mit Waschstrecke und Analysenstand zur Ozonerzeugung und -bestimmung eingerichtet (**Bild 3**).



Bild 3: Ozonlabor

Der von der Firma BWT zur Verfügung gestellte Ozongenerator „Bewazon 1“ (**Bild 4** und **Bild 5**) wurde so modifiziert, dass eine Entnahme von ozoniertem Wasser möglich ist, sowie eine interne Kühlung des Wassers bereits in der Ozonanlage erfolgen kann. Dazu wurde das Wasser im Vorratsbehälter des Ozongenerators über einen Kälte-Umwälz-Thermostat F 12-EC (Firma Windaus Labortechnik GmbH & Co. KG) temperiert. Die Regulierung der Wassertemperatur erwies sich als notwendig, da das Wasser bei Raumtemperatur, nicht die gewünschte Menge an Ozon aufnimmt. Mit der Absenkung der Wassertemperatur sollte auch eine Annäherung an die in der Industrie gängigen Temperaturen des Waschwassers von 5 bis 7°C erreicht werden.



Bild 4: Ozongenerator, Vorderansicht



Bild 5: Ozongenerator, Rückansicht mit Umbauten

1.1.2 Ozonerzeugung im Praxismaßstab

Für die zum Ende des Projektes durchgeführten Industrierversuche bei der Firma HAVI-TA Berlin Frischgemüse GmbH wurde nach Auswertung der Laborversuche von der Firma BWT der Prototyp eines Ozongenerators „Coolzon 8“ (**Bild 6**) entwickelt und gebaut, der für diese Versuche eingesetzt wurde.



Bild 6: Ozongenerator „Coolzon 8“ mit vorgeschaltetem Grobschmutzfilter (rechts) und Kiesfilter (Mitte, blau)

Die Menge des erzeugten Ozons ist in 4 Stufen regulierbar (**Tabelle 2**).

Tabelle 2: Regelung der Leistung des Ozongenerator „Coolzon 8“

Stufe	Primärspannung [V]	Primärstrom [A]	Ozonleistung [g/h]
1	400	3,4	1,99
2	400	7,0	3,52
3	400	10,6	5,13
4	400	14,2	7,18

Der Ozongenerator ist zusätzlich mit einer Redoxregelung ausgestattet, der eine online Bestimmung des Redoxpotenzials des Wassers gestattet.

1.1.3 Ozonmessverfahren

Nach Abwägung der zur Verfügung stehenden Analysenmethoden für Ozon, haben wir uns bei den Laborversuchen für die photometrische Ozonbestimmung entschieden. Dazu werden dem zu analysierenden Wasser Proben entnommen. Durch Zusatz von Diethyl-p-phenylen-diamin (DPD) entsteht ein roter Farbstoff, dessen Farbintensität der Ozonkonzentration in der Probe proportional ist.

Die Ozonmessung erfolgte mit dem Photometer LASA^R 2 plus der Firma Bruno Lange, Düsseldorf und dem dazu angebotenen Küvettentest Chlor/Ozon der Firma bzw. gemäß der Analysenvorschrift des DVGW-Arbeitskreises. Beide Messverfahren beruhen auf derselben Methode.

Analysenvorschrift des DVGW-Arbeitskreises:

Benötigte Reagenzien:

1. Pufferreagenz: 20 g KI
 7,3 g Na₂HPO₄ x 2H₂O
 3,5 g KH₂PO₄ pro Liter

DPD-Reagenz: 4 g H₂SO₄ (97 %) im 100 ml-Kolben mit H₂O verdünnen;
 1,5 g DPD-Sulfat dazugeben und auf 100 ml auffüllen

Durchführung:

In einem 25 ml-Kolben werden 5 ml Pufferreagenz vorgelegt, dazu wird möglichst schnell 20 ml ozonhaltige Lösung gegeben, d.h. der Kolben wird bis zur Markierung aufgefüllt. Nach Durchmischen werden 0,2 ml DPD-Reagenz einpipettiert, geschüttelt

und nach 2 Minuten vom Zeitpunkt der DPD-Zugabe im Photometer bei 510 nm gemessen (**Bild 7** und **8**).



Bild 7: Probenentnahme zur Bestimmung der Ozonkonzentration



Bild 8: Photometer LASA^R 2 plus mit Probe

Diese Methode eignet sich jedoch ausschließlich, um die Ozonkonzentration in sauberem Wasser zu bestimmen. Dieser Fakt stellt ein Problem dar, wenn man die Ozonkonzentration in industriellem Salatwaschwasser messen will, da es hier schon bei geringem Salatsatz zu Verfärbungen des Wassers kommt. Diese werden nur zu einem geringen Anteil durch am Salat anhaftenden Verschmutzungen verursacht. Der Hauptanteil der Verfärbungen ist auf austretendes Zellmaterial zurückzuführen, das aus zerstörten Zellen austritt, die beim Zerschneiden des Salates entstehen. Für die Ozonversuche im Industriebetrieb wurden daher alternative Messmethoden zur Ozonbestimmung gesucht. Es wurden 2 Messverfahren gewählt und genutzt. Zum einen hat die Firma BWT den eigens für die Industrieversuche gebauten Ozongenerator mit einem Messfühler ausgestattet, der das Redoxpotenzial des Wassers misst. Das Redoxpotenzial ist allerdings ein Summenparameter, der keine genauen Rückschlüsse auf die Ozonkonzentration im Wasser zulässt, sondern nur einen Hinweis auf eine steigende Ozonkonzentration liefert. Zum anderen wurde ein Ozonmessgerät eingesetzt, das amperometrisch arbeitet, selektiv auf Ozon reagiert und eine online Messung ermöglicht. Das Messgerät besteht aus folgenden Bauteilen: dem Analysator 54 eA, dem Sensor 499A und der Durchflusszelle für niedrige Volumenströme P/N 23728-00 (alle Bauteile Fisher-Rosemount).

1.1.4 Ozonstabilität

Die Stabilität von Ozon in Lösung hängt stark von der Temperatur des Lösungsmittels und dessen Turbulenz ab.

Nach einer Einarbeitungszeit in die Ozonanalytik wurden Versuche zum Abbau von Ozon in Wasser durchgeführt. Dazu wurden sowohl die Wassertemperatur als auch die Wasserbewegung variiert.

Versuchsdurchführung:

Ozoniertes Wasser wurde mit dem Ozongenerator erzeugt. Die Temperatur des Wassers wurde über den angeschlossenen Thermostaten reguliert. Es wurden Versuche bei folgenden Wassertemperaturen durchgeführt: 20°C, 15°C, 10°C und 5°C. Um die Wassertemperatur während der Messungen konstant zu halten, wurden die ozonhaltigen Wasserproben mit Eiswasser gekühlt. Die Konstanz der Proben temperatur wurde mit einem Thermometer geprüft.

Des Weiteren wurden Turbulenzen in den Wasserproben erzeugt. Dazu wurden die Wasserproben für die Dauer der Messungen durch einen regelbaren Magnetrührer gerührt. Es wurden folgende Wasserbewegungen untersucht: ungerührt, $U = 500/\text{min}$, $1000/\text{min}$.

Damit ergaben sich 12 Abbauvarianten, die untersucht wurden.

Vergleicht man die Abbaukurven der ungerührten Wasserproben (**Bild 9**) miteinander, kann festgestellt werden, dass der Ozonabbau erwartungsgemäß umso schneller stattfindet, je höher die Wassertemperatur ist.

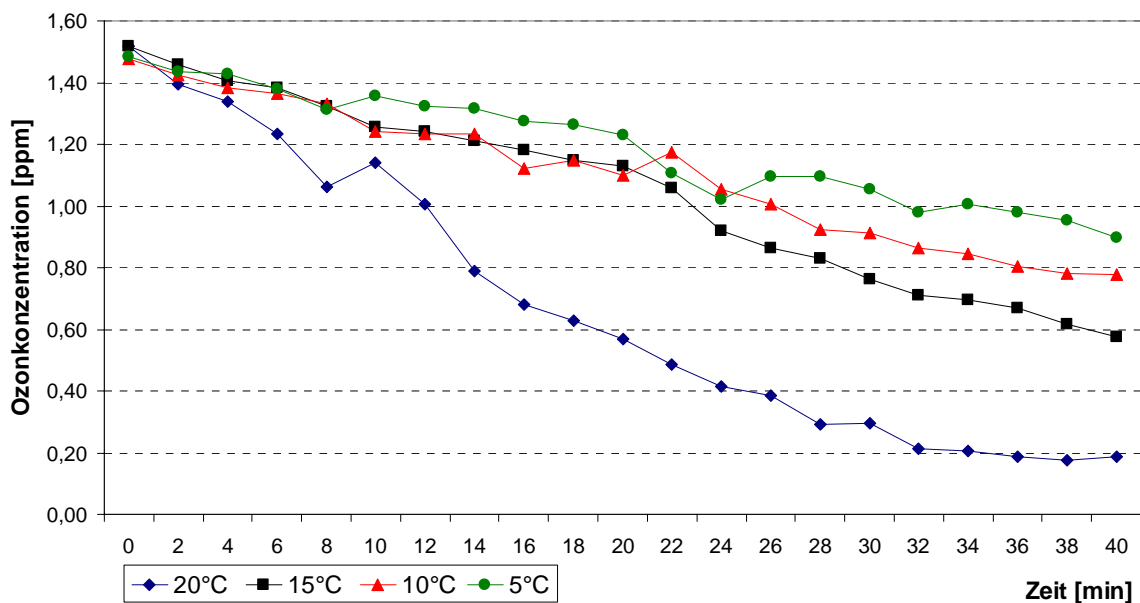


Bild 9: Ozonabbau in ungerührtem Wasser bei unterschiedlichen Wassertemperaturen

Gleiches gilt für die unterschiedlichen Rührgeschwindigkeiten. Je turbulenter die Bewegungen im Wasser sind, desto schneller findet der Abbau von Ozon im Medium statt (**Bild 10** und **11**). Benötigt man für den kompletten Abbau des Ozons in einer gerührten ($U = 1000/\text{min}$) Wasserprobe (**Bild 11**) mit einer Ozonstartkonzentration von 1,5 ppm und einer Wassertemperatur von 5°C etwa 40 Minuten, so findet man in einer ungerührten Referenzprobe nach dem gleichen Zeitraum noch etwa 0,9 ppm Ozon wieder.

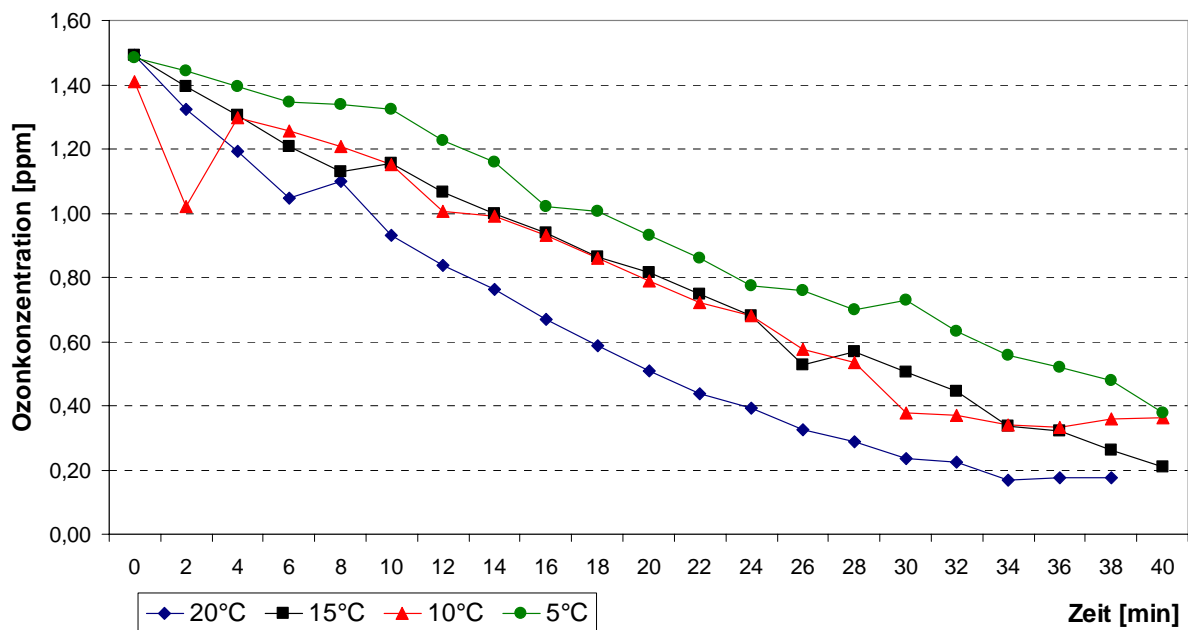


Bild 10: Ozonabbau in gerührtem Wasser ($U = 500/\text{min}$) bei unterschiedlichen Wassertemperaturen

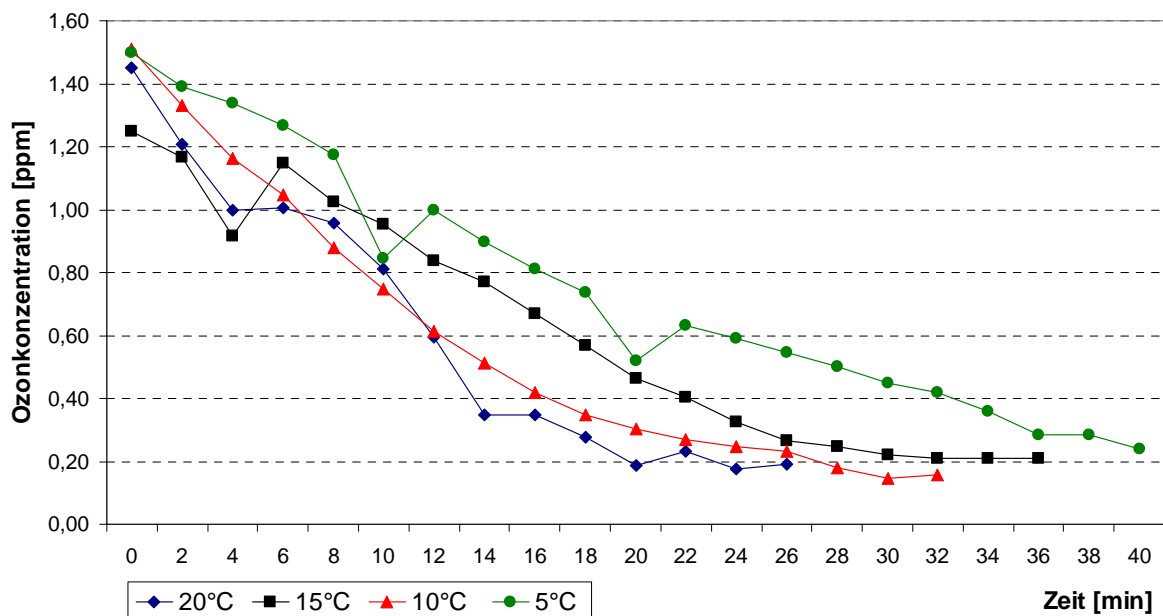


Bild 11: Ozonabbau in gerührtem Wasser ($U = 1000/\text{min}$) bei unterschiedlichen Wassertemperaturen

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sowohl zunehmende Wassertemperaturen als auch zunehmende Turbulenzen in der Lösung, den Ozonabbau befördern und daher weitgehend zu vermeiden sind.

1.2 Einfluss von Ozon auf Testkeime in wässrigen Lösungen

In diesen Versuchen sollte die Sensibilität der einzelnen Keime auf ozoniertes Wasser bestimmt werden. Dazu wurden einzelne Keimlösungen mit einer bestimmten Keimanzahl hergestellt sowie ozoniertes Wasser mit bestimmten Ozonkonzentrationen. Beide Lösungen wurden dann vereinigt und die Wirkung des ozonierten Wassers auf die Keimgruppen ermittelt. Eine schematische Übersicht wird in **Bild 12** gegeben:

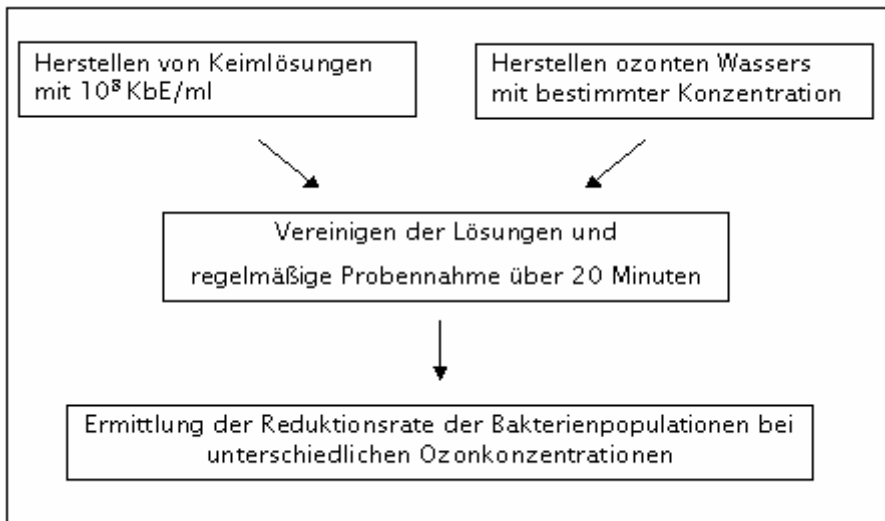


Bild 12: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes mit Keimlösungen

1.2.1 Auswahl und Kultivierung der Testorganismen

Entsprechend der Empfehlungen der DGHM zur mikrobiellen Untersuchung von Mischsalaten wurden zwei *E. coli*-Stämme, ein Salmonellenstamm, sowie ein Sporenbildner und ein Listerien-Stamm für die Untersuchungen zur Testung von ozoniertem Wasser auf Einzelstämme ausgewählt. Die Mikroorganismen wurden aus der Sammlung der DSMZ in Braunschweig entnommen. Die Stammhaltungsdaten sind in **Tabelle 3** zusammengestellt.

Tabelle 3: Daten der Teststämme

Spezies	Stammnummer der DSMZ	Haltungsmedium	Inkubationszeit und -temperatur	Besonderheiten
<i>Escherichia coli</i>	DSM 5923,	Luria Bertoni Bouillon (Merck)	24h / 37°C	pathogen
	DSM 1116			nicht pathogen
<i>Bacillus cereus</i>	DSM 31	Nährbouillon (Merck)	48h / 30°C	Sporenbildner
<i>Salmonella choleraesuis</i>	DSM 554	Nährbouillon (Merck)	24h / 37°C	
<i>Listeria monocytogenes</i>	DSM 20600	Bacto™ Hirn-Herz-Infusions-Bouillon (BD)	48h / 30°C	

1.2.2 Wirkung von Ozon auf *Salmonella choleraesuis*

Die Wirkungen verschiedener Ozonkonzentrationen auf wässrige Lösungen von *Salmonella choleraesuis* sind in **Bild 13** dargestellt. Bei hohen Ausgangskeimgehalten von ca. $5 \cdot 10^7$ KbE/ml kommt es innerhalb der ersten Minuten zu einer Reduzierung um eine log-Einheit. Die Konzentration verändert sich auch nach längerer Verweilzeit nicht wesentlich. Auch höhere Ozonkonzentrationen vermögen diesen Stamm nicht stärker zu reduzieren. Bei der höchsten Ozonkonzentration ist ein Anstieg nach 4-minütiger Kontaktzeit zu beobachten, der bis zum Ende der Versuchszeit anhält.

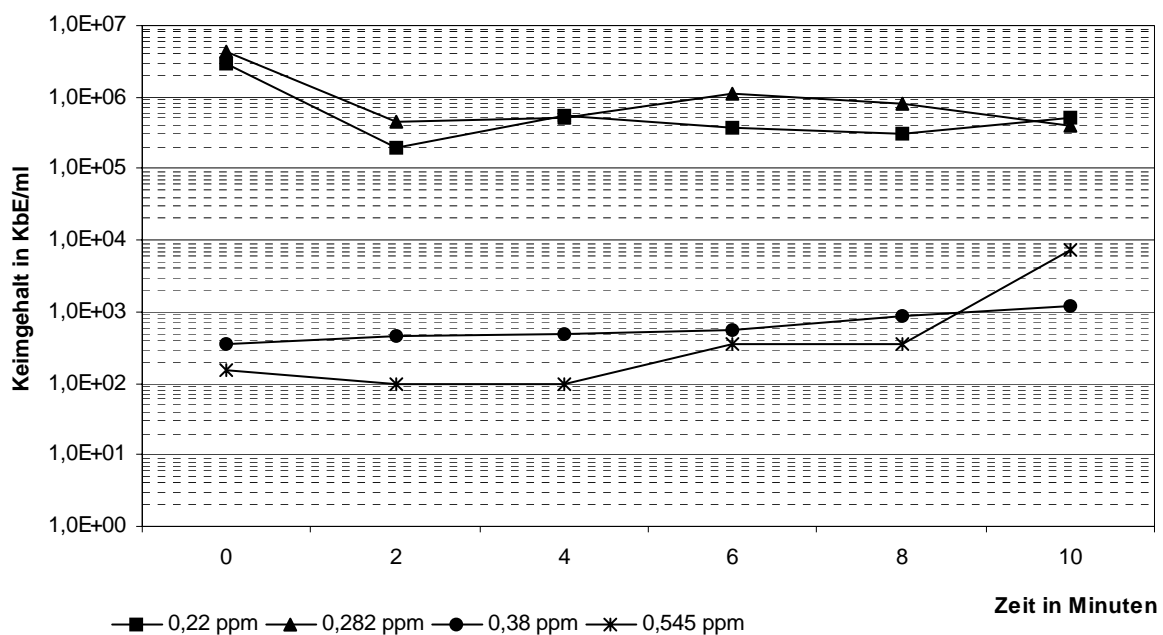


Bild 13: Einfluss unterschiedlicher Ozonkonzentrationen auf *Salmonella choleraesuis* DSM 554

1.2.3 Wirkung von Ozon auf *Bacillus cereus*

Die Wirkungen von Ozon auf wässrige Lösungen von *Bacillus cereus* sind in **Bild 14** dargestellt. Hier werden deutliche konzentrationsabhängige Wirkungen sichtbar. Geringe Ozonkonzentrationen bis 0,4 ppm verringern den Keimgehalt lediglich um eine log-Stufe, während höhere Konzentration von 0,6 ppm und 0,7 ppm bereits nach kurzer Kontaktzeit den Keimgehalt unter die Nachweisgrenze von 10^2 KbE/ml verringern. Diese Wirkung hält bis zu 20 Minuten an.

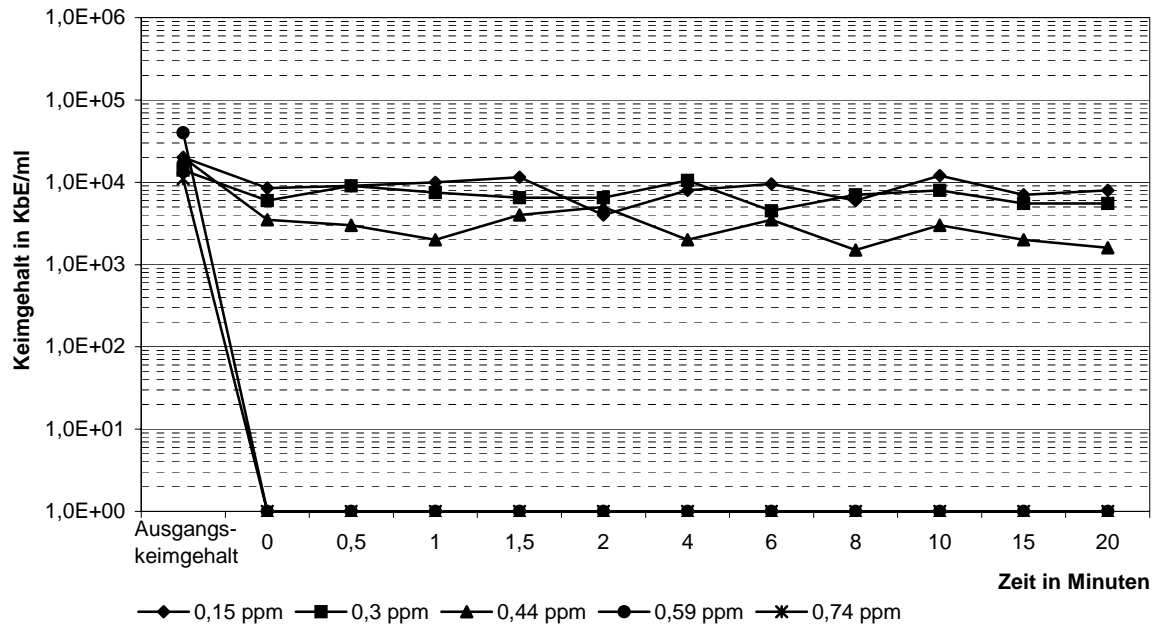


Bild 14: Einfluss unterschiedlicher Ozonkonzentrationen auf *Bacillus cereus* DSM 31

1.2.4 Wirkung von Ozon auf *Escherichia coli*

Die Wirkungen von Ozon auf einen pathogenen Stamm von *E. coli* sind in **Bild 15** dargestellt.

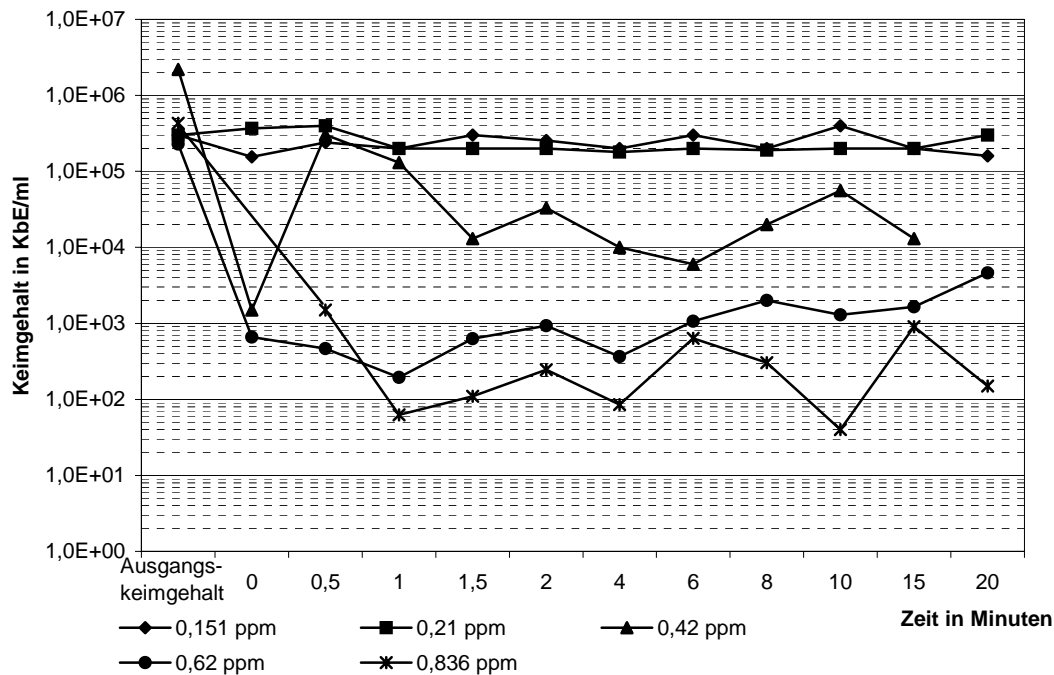


Bild 15: Einfluss unterschiedlicher Ozonkonzentrationen auf *E. coli* DSM 1116

Auch dieser Stamm reagiert konzentrationsabhängig auf Ozon. Bereits nach einer Minute reduziert eine Ozonlösung mit einer Konzentration von 0,8 ppm den Keimgehalt des Stammes um nahezu 4 log-Einheiten. Diese Wirkung hält mit geringen Schwankungen bis zum Versuchsende an. Ozonkonzentrationen unter 0,4 ppm sind nahezu wirkungslos.

1.2.5 Wirkung von Ozon auf *Listeria monocytogenes*

Die Wirkungen von Ozon auf einen Stamm von *Listeria monocytogenes* sind in **Bild 16** dargestellt. Während Konzentrationen von 0,15 ppm und 0,3 ppm nahezu wirkungslos sind, reduzieren 0,5 ppm und 0,6 ppm Ozon den Keimgehalt um eine log-Einheit. Konzentrationen von 1 ppm Ozon dagegen reduzieren bereits nach kurzer Zeit den Keimgehalt des Stammes unterhalb der Nachweisgrenze von 10^2 KbE/ml. Alle Wirkungen sind von anhaltender Dauer.

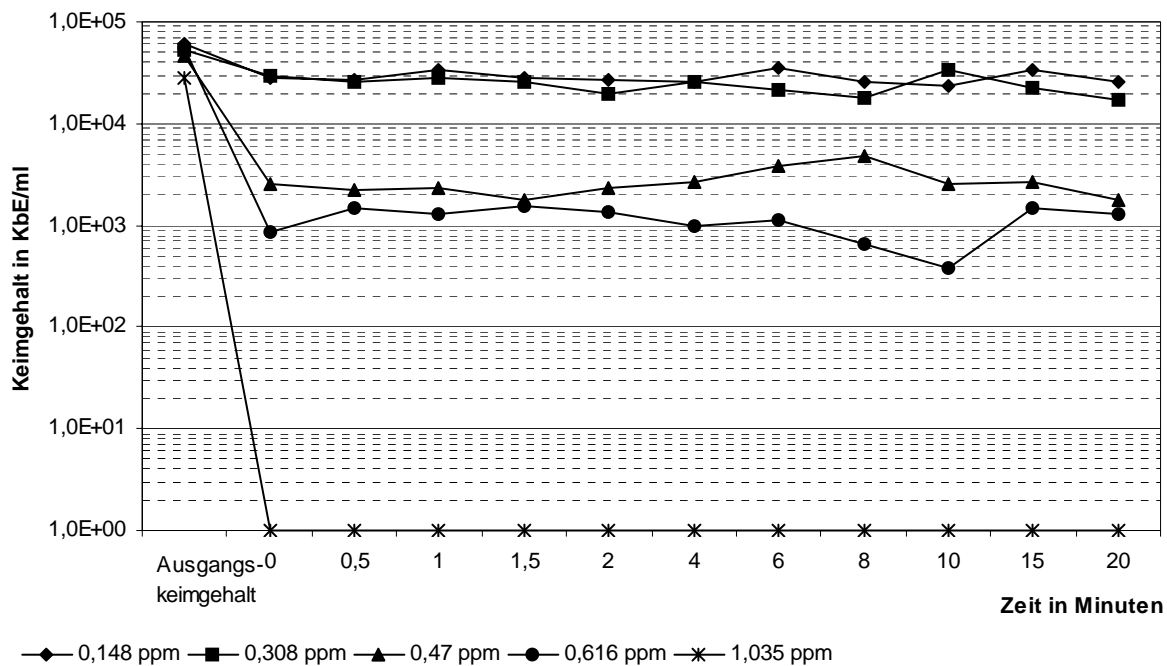


Bild 16: Einfluss unterschiedlicher Ozonkonzentrationen auf *Listeria monocytogenes* DSM 20600

1.2.6 Zusammenfassung

Diese Versuche haben gezeigt, dass die Keimgruppen sehr stark in ihrer Sensibilität gegenüber ozoniertem Wasser variieren (**Bild 17**). So reicht eine Ozonkonzentration von 0,5 ppm und eine Einwirkzeit von 2 Minuten bereits aus, um *Bacillus cereus* komplett zu hemmen. Bei *E. coli* und *S. choleraesuis* liegt die Hemmung bei gleicher Ozonkonzentration und Einwirkzeit bei nahezu 100 %. Für *L. monocytogenes* liegt die Hemmung etwas darunter bei 99,21 %. Bei einer Verdoppelung der Ozonkonzentration auf 1,0 ppm ist aber auch für *L. monocytogenes* eine 100 %ige Hemmung zu erreichen.

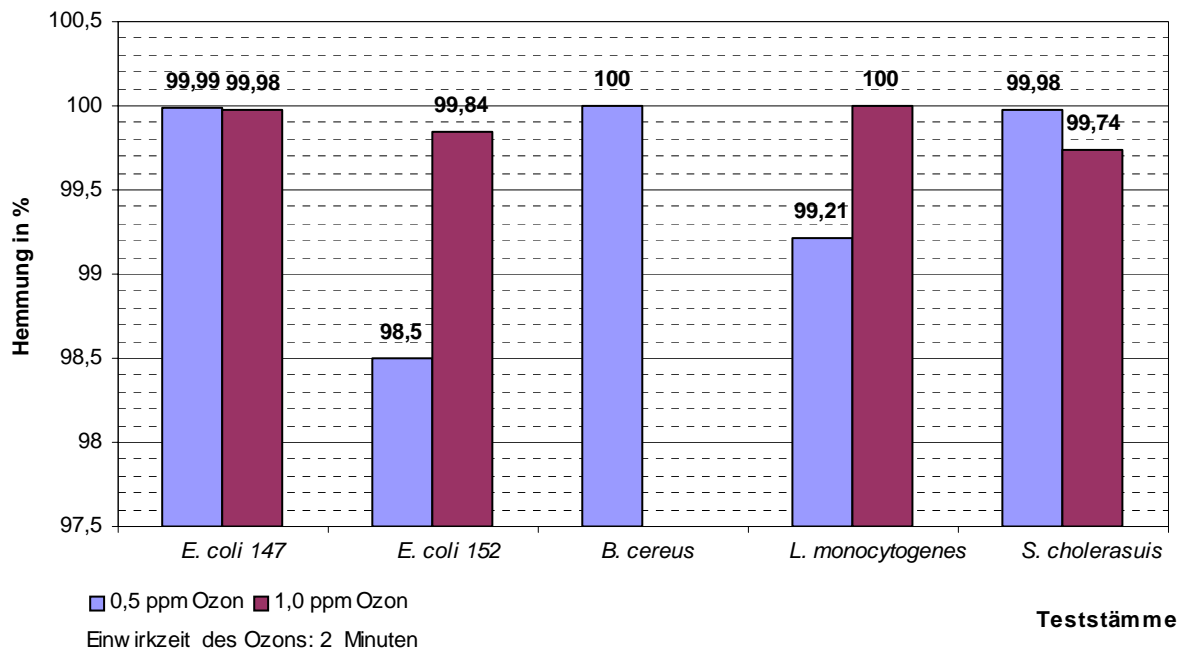


Bild 17: Hemmung einzelner Teststämme in Abhängigkeit von der Ozonkonzentration

Aus weiteren Versuchen konnten die Bedingungen für die maximale Hemmung der Stämme in Suspensionen ermittelt werden. Aus **Bild 18** ist zu entnehmen, dass bereits sehr niedrige Ozonkonzentrationen ausreichen, um eine sehr gute Hemmung zu erreichen, hierzu jedoch bis auf Ausnahme von *B. cereus* Einwirkzeiten zwischen 10 und 20 Minuten nötig sind, die für einen industriellen Einsatz indiskutabel sind.

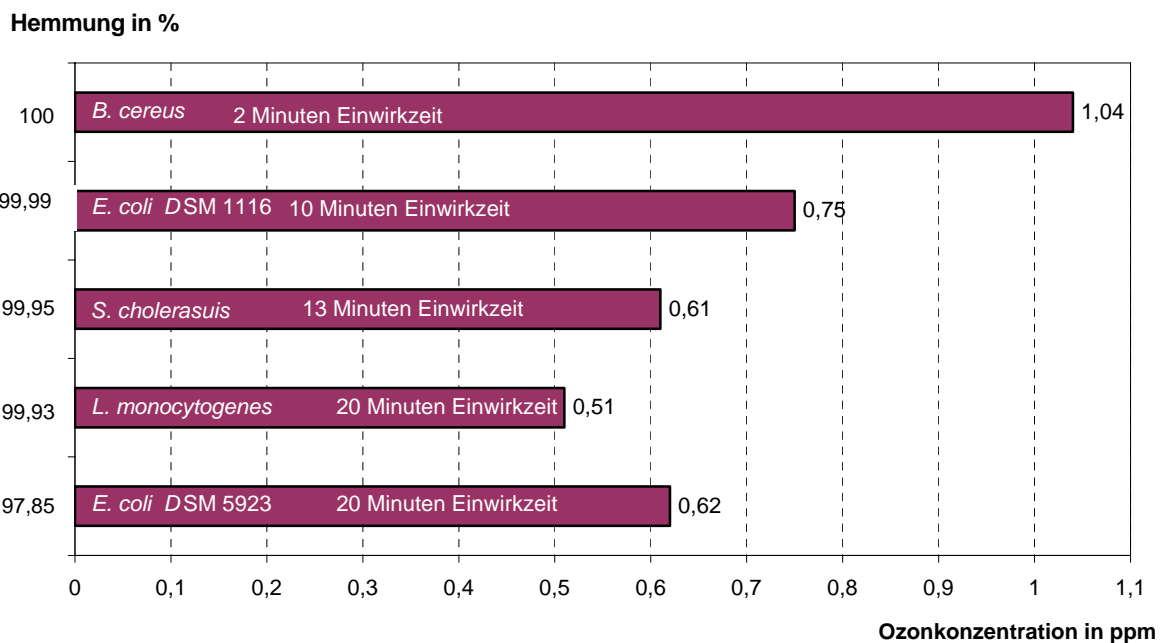


Bild 18: Bedingungen für eine maximale Hemmung der Stämme in Keimsuspensionen

Bei den nächsten Versuchsanstellungen wurde daher geprüft, ob nicht auch kürzere Einwirkzeiten bei etwas geringerer Hemmung ausreichen, um die gewünschte Qualitätssicherung zu erreichen.

1.3 Einfluss von Ozon auf inokulierte Salatblätter

1.3.1 Salatarten und Herkünfte

In der Versuchsserie wurde ausschließlich Eisbergsalat verwendet. Dieser wurde in lokalen Supermärkten erworben.

1.3.2 Inokulation der Salatblätter

Monokulturen

Um zu überprüfen, wie sich die einzelnen Mikroorganismen gegenüber ozoniertem Wasser verhalten, wurden Eisbergsalatblätter mit jeweils einem Stamm durch Eintauchen in eine Keimsuspension inokuliert (**Bild 19**). Die Keimgehalte der Tauchsuspensionen lagen zwischen 10^5 und 10^7 KbE/ml. Die Salatblätter wurden für 24 Stunden bei 4°C inkubiert, damit sich die Keime auf der Salatoberfläche etablieren konnten.



Bild 19: Inokulation von einem Blatt Eisbergsalat durch Eintauchen in eine Keimsuspension

Bakteriencocktail

Für die Versuche wurde jeweils ein Bakteriencocktail, bestehend aus den 4 oben genannten Stämmen hergestellt, für die die DGHM Richt- und Warnwerte herausgegeben hat. Die Keimgehalte der Bakterien lagen dabei zwischen 10^5 und 10^7 KbE/ml.

Der Eisbergsalat wurde analog der Versuche mit den Einzelstämmen durch Eintauchen einzelner Salatblätter in den Bakterien-„Cocktail“ inokuliert und ebenfalls 24 Stunden bei 4°C inkubiert, um eine Vergleichbarkeit zum Verhalten der Einzelstämme auf Salat zu gewährleisten.

1.3.3 Wirkung von Ozon auf inokulierte Einzelstämme

Die inokulierten Salatblätter wurden für 2 Minuten mit ozoniertem Wasser gewaschen. Die Ozonkonzentrationen lagen zwischen 0,5 und 1,5 ppm. Die dabei erzielten Ergebnisse sind in **Tabelle 4** zusammengetragen. Demnach sind alle Stämme bei 0,5 ppm Ozon bereits sehr sensibel gegenüber Ozon. Bei höheren Ozonwerten wurden allerdings zum Teil schlechtere Ergebnisse erzielt. So wurde für *E. coli* 152 bei 1,0 ppm Ozon nur eine Hemmung von 67,33 % nachgewiesen und für *Listeria monocytogenes* bei 1,5 ppm Ozon eine Hemmung von 88,00 %.

Tabelle 4: Hemmung einzelner Mikroorganismen auf Eisbergsalat durch ozoniertes Wasser nach 2 Minuten Einwirkzeit

Stamm	Hemmung [%] bei $c(\text{O}_3) = 0,5$ ppm	Hemmung [%] bei $c(\text{O}_3) = 1,0$ ppm	Hemmung [%] bei $c(\text{O}_3) = 1,5$ ppm
<i>E. coli</i> 152	99,22	67,33	97,99
<i>B. cereus</i>	99,99	99,30	99,33
<i>L. monocytogenes</i>	99,44	98,82	88,00
<i>S. choleraesuis</i>	99,75	98,83	99,63

Um die Effektivität des Ozonbehandlung beurteilen zu können, wurden parallel zu allen Versuchen Eisbergsalatblätter als Referenz mit Wasser gewaschen und untersucht (**Tabelle 5**).

Tabelle 5: Steigerung der Hemmung der Bakterienstämme durch den Einsatz ozonierten Wassers im Vergleich zu wassergewaschenen Referenzproben

Stamm	Steigerung der Hemmung [%] bei $c(\text{O}_3) = 0,5$ ppm	Steigerung der Hemmung [%] bei $c(\text{O}_3) = 1,0$ ppm	Steigerung der Hemmung [%] bei $c(\text{O}_3) = 1,5$ ppm
<i>E. coli</i> 152	9,22	-	26,99
<i>B. cereus</i>	0,02	9,30	0,33
<i>L. monocytogenes</i>	0,44	0,32	-
<i>S. choleraesuis</i>	0,75	5,83	6,63

Vergleicht man die Ergebnisse aus beiden Waschmethoden, ist zu bemerken, dass bei der Ozonbehandlung von *E. coli* 152 mit 1,0 ppm Ozon und von *Listeria monocytogenes* mit 1,5 ppm Ozon keine bessere Waschleistung zu beobachten ist. Dies lässt im Vergleich mit den Ergebnissen aus **Tabelle 4** den Schluss zu, dass diese beiden Versuche wiederholt werden müssten, da beide Stämme bereits bei einer Ozonkonzentration von 0,5 ppm sehr sensibel auf die Behandlung reagiert hatten. In allen anderen Versuchen konnte durch den Zusatz von Ozon zum Waschwasser eine verbesserte Waschleistung erzielt

werden, die sich prozentual nicht so stark bemerkbar macht, da durch einfaches Waschen mit Wasser bereits sehr gute Reinigungseffekte erreicht wurden.

1.3.4 Wirkung von Ozon auf inokulierte Bakteriencocktails

Als nächstes stellte sich die Frage, ob die Mikroorganismen das gleiche Verhalten gegenüber einer ozonhaltigen Waschlösung zeigen, wenn es sich nicht um einen Einzelstamm auf der Salatoberfläche handelt, sondern die Keime im Gemisch auftreten, wie das in der Praxis zu erwarten ist. Die erhaltenen Ergebnisse sind in **Tabelle 6** dargestellt.

Tabelle 6: Hemmung eines Bakterien-,Cocktails' auf Eisbergsalat durch ozoniertes Wasser nach 2 Minuten Einwirkzeit

Stamm	Hemmung [%] bei $c(\text{O}_3) = 0,5$ ppm	Hemmung [%] bei $c(\text{O}_3) = 1,0$ ppm	Hemmung [%] bei $c(\text{O}_3) = 1,5$ ppm
<i>E. coli</i> 152	92,18	99,95	Wachstum
<i>B. cereus</i>	89,00	99,92	32,94
<i>L. monocytogenes</i>	44,22	97,88	Wachstum
<i>S. choleraesuis</i>	75,24	98,43	62,7

Ein Vergleich der Ergebnisse bei steigender Ozonkonzentration legt nahe, dass der 3. Versuch mit einer Ozonkonzentration von 1,5 ppm kein realistisches Bild wiedergibt und wiederholt werden müsste. Da die Ergebnisse bei einer Ozonkonzentration von 1,0 ppm aber als sehr gut zu beurteilen sind, wurde auf eine Wiederholung verzichtet. Des Weiteren ist festzustellen, dass die Mikroorganismen in einem Cocktail auf der Salatoberfläche offensichtlich anders auf die Ozonbehandlung reagieren als die Einzelkulturen. Um die Waschleistung mit ozoniertem Wasser besser beurteilen zu können, wurde in dem Versuch mit der Ozonkonzentration von 1,0 ppm auch eine Referenzprobe mitgeführt, die nur mit Wasser gewaschen wurde. Die Ergebnisse dafür sind in **Tabelle 7** aufgeführt:

Tabelle 7: Hemmung der Stämme im ‚Cocktail‘ auf Eisbergsalat nach Ozonbehandlung, nach Waschen mit Wasser (Waschzeit je 2 Minuten) und Vergleich der Waschleistung bei $c(\text{O}_3) = 1,0$ ppm

Stamm	Hemmung [%] nach Ozonbehandlung	Hemmung [%] nach Waschen mit Wasser	Verbesserung der Waschleistung [%] durch Ozoneinsatz im Vergleich zur Wasser gewaschenen Probe
<i>E. coli</i> 152	99,95	Wachstum	99,95
<i>B. cereus</i>	99,92	Wachstum	99,92
<i>L. monocytogenes</i>	97,88	75,00	22,88
<i>S. choleraesuis</i>	98,43	40,74	57,69

Die beobachtete Resistenz der Mikroorganismen in einem Gemisch ist beim Waschen mit Wasser besonders groß. So ist es nicht gelungen, die Anzahl der koloniebildenden Einheiten für *E. coli* 152 und *Bacillus cereus* zu reduzieren. Auch die Hemmung von *Listeria monocytogenes* und *Salmonella choleraesuis* sind wesentlich geringer bei der Behandlung mit Wasser als beim Ozongebrauch. Als Ursache für diese Widerstandsfähigkeit kann die Bildung von Aggregationen der Bakterien vermutet werden, wie das bei *Bacillus globigii* beschrieben wurde (CURRIER R.P. *et al.* 2001).

1.3.5 Vergleich der Ergebnisse

In **Tabelle 8** sind die Ergebnisse für die Ozonbehandlung als Monokultur und im Cocktail zum Vergleich gegenübergestellt.

Tabelle 8: Hemmung der Stämme auf Eisbergsalat nach 2-minütiger Ozonbehandlung in Monokultur und im Cocktail

Stamm	Hemmung [%] bei Monokultur bei $c(\text{O}_3) = 0,5$ ppm	Hemmung [%] im Cocktail bei $c(\text{O}_3) = 0,5$ ppm	Hemmung [%] im Cocktail bei $c(\text{O}_3) = 1,0$ ppm
<i>E. coli</i> 152	99,22	92,18	99,95
<i>B. cereus</i>	99,99	89,00	99,92
<i>L. monocytogenes</i>	99,44	44,22	97,88
<i>S. choleraesuis</i>	99,75	75,24	98,43

Hier ist deutlich zu erkennen, dass eine Ozonkonzentration von 0,5 ppm, die in Monokulturen zu sehr guten Waschergebnissen geführt hat, nicht ausreicht, um eine annähernd gleich gute Hemmung zu erzielen. Erst die Verdoppelung der Ozonkonzentration auf 1,0 ppm in der Waschlösung garantiert dasselbe Waschergebnis. Besonders resistent scheint *Listeria monocytogenes* zu sein, dessen Hemmung weniger als die Hälfte im Vergleich zur Monokultur beträgt.

1.4 Einfluss von Ozon auf inokulierte Salatpflanzen

Um uns den realen Bedingungen weiter anzunähern, haben wir im nachfolgenden Versuchsblock Kopfsalat ‚Fiorella‘ in einer Klimakammer selbst angezogen, mit Mikroorganismen inokuliert, gewaschen und untersucht.

1.4.1 Pflanzenanzucht

Die Anzucht des Salates erfolgte in einer Klimakammer (Firma Viessmann) unter folgenden Bedingungen: Beleuchtung: 12h, $240 \pm 20 \mu\text{mol/m}^2\text{s}$ photosynthetisch aktive Photonenflussrate bei 30 % Luftfeuchtigkeit und 17°C ; 12h, ohne Beleuchtung bei 75 % Luftfeuchtigkeit und 13°C (**Bild 20** und **21**).



Bild 20: Kopfsalat ‚Fiorella‘ in unterschiedlichen Wachstumsstadien in der Klimakammer



Bild 21: Selbstangezogener Kopfsalat, ‚Fiorella‘ 6 Wochen nach Aussaat

1.4.2 Inokulation der Pflanzen

Monokulturen

Für diese Versuchsserie wurde etwa 6 bis 8 Wochen alter Kopfsalat mit jeweils einem Bakterienstamm inokuliert. Dazu wurden Keimlösungen aller Mikroorganismen hergestellt, die einen Keimgehalt zwischen 10^5 und 10^{10} KbE/ml hatten. Jeder Salatkopf wurde mit jeweils einem Milliliter Bakterienlösung unter Zuhilfenahme eines Zerstäubers inokuliert. Zur Etablierung der Mikroorganismen auf der Salatoberfläche wurden die noch nicht geernteten Salatköpfe in einer Inkubationsbox bei Raumtemperatur für etwa 24 Stunden aufbewahrt (**Bild 22**).



Bild 22: Aufbewahrungsbox mit Kopfsalat zur Etablierung der Mikroorganismen auf der Salatoberfläche

Für jeden Versuch wurden 5 Salatköpfe verwendet. Ein Salatkopf diente als ungewaschene Kontrolle, von dessen Oberfläche der Anfangskeimgehalt bestimmt wurde. Ein zweiter Salatkopf wurde als Referenz mit Wasser gewaschen und 3 Salatköpfe wurden mit ozoniertem Wasser behandelt. Für die Analyse wurde für jede Probe 10 g Blattmaterial geerntet, entsprechend behandelt und analysiert. Die Untersuchungen wurden bei Ozonkonzentrationen mit 1,0 und 1,5 ppm durchgeführt.

1.4.3 Wirkung von Ozon auf Einzelstämme

Bei einer Ozonkonzentration von 1,0 ppm und einer Waschdauer mit ozoniertem Wasser von 2 Minuten konnten folgende Ergebnisse registriert werden (**Tabelle 9**):

Tabelle 9: Hemmung der Bakterien auf Kopfsalat nach Waschprozess (Waschdauer 2 Minuten, $c(\text{O}_3) = 1,0 \text{ ppm}$)

Stamm	Hemmung [%] nach Waschen mit Wasser	Hemmung [%] nach Waschen mit ozoniertem Wasser
<i>E. coli</i>	28	40
<i>B. cereus</i>	n.n.	n.n.
<i>L. monocytogenes</i>	31	96
<i>S. choleraesuis</i>	34	76

Die Erhöhung der Ozonkonzentration auf 1,5 ppm bei ansonsten gleichen Versuchsbedingungen führte zu folgenden Ergebnissen (**Tabelle 10**):

Tabelle 10: Hemmung der Bakterien auf Kopfsalat nach Waschprozess (Waschdauer 2 Minuten, $c(\text{O}_3) = 1,5 \text{ ppm}$)

Stamm	Hemmung [%] nach Waschen mit Wasser	Hemmung [%] nach Waschen mit ozoniertem Wasser
<i>E. coli</i>	50	60
<i>B. cereus</i>	n.n.	n.n.
<i>L. monocytogenes</i>	94	99
<i>S. choleraesuis</i>	n.n.	50

1.4.4 Wirkung von Ozon auf Bakteriencoctails

Einstufiger Waschprozess

Analog zu den Versuchen auf Eisbergsalatblättern wurde ein Bakteriencoctail bestehend aus den 4 o.g. Mikroorganismen hergestellt. Wie bei den Versuchen zu den Monokulturen wurde jeder Salatkopf mit einem Milliliter durch Besprühen inokuliert und bei Raumtemperatur für 24 Stunden aufbewahrt. Die Ergebnisse nach den Waschvorgängen bei unterschiedlichen Ozongehalten sind in **Tabelle 11** zusammengestellt.

Tabelle 11: Hemmung der Bakterien im Cocktail auf Kopfsalat nach einstufigem Waschprozess (Waschdauer 2 Minuten) bei unterschiedlichen Ozongehalten

Ozonkonzentration Stamm	Hemmung [%] nach Waschen mit Wasser	Hemmung [%] nach Waschen mit ozoniertem Wasser
$c(\text{O}_3) = 1,0 \text{ ppm}$		
<i>E. coli</i>	90,00	Wachstum
<i>B. cereus</i>	50,00	Wachstum
<i>L. monocytogenes</i>	99,98	99,95
<i>S. choleraesuis</i>	66,67	96,67
$c(\text{O}_3) = 1,5 \text{ ppm}$		
<i>E. coli</i>	Wachstum	Wachstum
<i>B. cereus</i>	Wachstum	55,00
<i>L. monocytogenes</i>	99,98	99,99
<i>S. choleraesuis</i>	Wachstum	Wachstum
$c(\text{O}_3) = 2,0 \text{ ppm}$		
<i>E. coli</i>	Wachstum	90,00
<i>B. cereus</i>	85,00	95,00
<i>L. monocytogenes</i>	98,75	99,90
<i>S. choleraesuis</i>	95,00	65,00

Eine Hemmung aller 4 Stämme konnte erst bei einer Ozonkonzentration von 2 ppm erreicht werden. Wie bereits oben beobachtet wurde, sind die Mikroorganismen im Cocktail offenbar weniger sensibel gegen Ozon als wenn sie als Einzelstamm getestet werden.

Zweistufiger Waschprozess

Um die Effektivität des Waschprozesses zu verbessern, ohne die Ozonkonzentration erhöhen zu müssen, wurden Versuche durchgeführt, bei denen dem Waschgang mit ozoniertem Wasser ein Waschgang mit Wasser vorgeschaltet wurde, um eine Vorreinigung des Salates zu erreichen. Dazu wurde der mit dem Bakteriencocktail inokulierte Kopfsalat im ersten Waschgang für 2 Minuten mit Wasser gewaschen und im zweiten Waschgang für 2 Minuten mit ozoniertem Wasser gewaschen. Um eine Bewertung der Waschleistung zu ermöglichen, wurden in allen Versuchen Kontrollproben mitgeführt, die für 2 Minuten mit Wasser gewaschen wurden. Die Versuche wurden bei Ozonkonzentrationen von 1,0 und 1,5 ppm Ozon durchgeführt.

Tabelle 12: Hemmung der Bakterien auf Kopfsalat nach zweistufigem Waschprozess (Waschdauer: 2 Minuten mit Leitungswasser und 2 Minuten mit ozoniertem Wasser)

Stamm	c(O ₃) = 1,0 ppm		c(O ₃) = 1,5 ppm	
	Kontrolle	mit Ozon	Kontrolle	mit Ozon
<i>E. coli</i>	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Wachstum
<i>B. cereus</i>	99,00	85,67	88,88	96,89
<i>L. monocytogenes</i>	96,67	99,96	99,89	99,99
<i>S. choleraesuis</i>	90,67	25,33	Wachstum	61,19

Bei einer Ozonkonzentration von 1 ppm ist es im zweistufigen Waschprozess gelungen, auch das Wachstum von *B. cereus* zu hemmen, *E. coli* konnte in seiner Entwicklung jedoch nicht beeinträchtigt werden. Durch die Erhöhung der Ozonkonzentration auf 1,5 ppm konnte das Waschergebnis noch einmal verbessert werden, so stieg die Hemmung von *B. cereus* von 86 % auf 97 % und die von *S. choleraesuis* von 25 % auf 61 %. Eine Hemmung des Wachstums von *E. coli* konnte hier jedoch auch nicht erreicht werden. In einem Konglomerat von Mikroorganismen wird dieses Bakterium scheinbar besonders geschützt.

1.5 Bestimmung der Qualitätsparameter von Salat

Ein weiterer wichtiger Gesichtspunkt ist der Qualitätserhalt des Produktes. Dieses darf durch die Ozonbehandlung weder optisch noch inhaltlich geschädigt werden. Parallel zu den Untersuchungen bezüglich des Ozonabbaus im Wasser wurden daher Versuche zu optischen Veränderungen durch eine Ozonbehandlung durchgeführt sowie Untersuchungen zu Veränderungen der Inhaltsstoffe des Salates.

1.5.1 Salatarten und Herkünfte

Der zur Qualitätsanalyse verwendete Eisbergsalat wurde in lokalen Supermärkten erworben. Im Verlauf der Untersuchungen wurden starke saisonale Schwankungen im Vitamin C-Gehalt ermittelt. Während der warmen Jahreszeit wurden Vitamin C-Gehalte zwischen 10 und 45 mg/l gefunden. In den Wintermonaten hingegen konnten wir kein Vitamin C mehr im Eisbergsalat nachweisen. In diesen Zeiträumen wurden Versuche mit Romanasalat durchgeführt. Auch dieser Salat wurde in lokalen Supermärkten gekauft, der im Winter zwar auch weniger Vitamine enthält, aber auf Grund des von Natur aus höheren Vitamin C-Gehaltes auch während der kalten Jahreszeit soviel Vitamin C beinhaltet, dass er für unsere Untersuchungen einsetzbar war.

1.5.2 Untersuchung zur optischen Beeinträchtigung von Salat durch ozoniertes Wasser

Um einschätzen zu können, ob Salat durch den Kontakt mit ozoniertem Wasser optisch beeinflusst wird, wurde Kopfsalat ‚Fiorella‘ in der Klimakammer selbst angezogen und nach ca. 4 Wochen Wachstum für eine Minute kopfüber in ozoniertes Wasser [$c(\text{O}_3) = 1,0$ ppm] getaucht. Anschließend wurde der Salat zum weiteren Wachstum erneut in der Klimakammer aufbewahrt. Um eine Aussage treffen zu können, wurde ein zweiter unbehandelter Kopfsalat als Referenz mitgeführt. Während des weiteren Wachstums konnte keine optische Beeinträchtigung durch die Ozonbehandlung beobachtet werden, wie **Bild 23** zu entnehmen ist.



direkt nach Ozonbehandlung

7 Tage nach Ozonbehandlung

14 Tage nach Ozonbehandlung

Bild 23: Kopfsalat ‚Fiorella‘, links: ozonbehandelter Salatkopf, rechts unbehandelte Referenz

1.5.3 Vitamin C Bestimmung

Bei der Bestimmung der Inhaltstoffe wurde exemplarisch der Gehalt an Vitamin C untersucht, da:

- diese Verbindung einen Hauptinhaltsstoff in Salaten darstellt,
- Vitamin C besonders sensibel auf Ozon reagiert und
- relativ einfach zu bestimmen ist.

Die Analysen der Vitamin C-Gehalte wurden mit dem Testset ‚Reflectoquant‘ (Merck, BRD) durchgeführt (**Bild 24**). Die Proben wurden wie folgt für die Analyse vorbereitet:

Die Salatblätter wurden nach dem Waschen vorsichtig trocken getupft. Anschließend wurden die Blätter in flüssigem Stickstoff eingefroren und in gefrorenem Zustand gründlich zermörsert, so dass das Zellmaterial zerstört wurde. Die Proben wurden zentrifugiert ($U = 5000/\text{min}$ für $t = 10 \text{ min}$) und der Überstand über einen Faltenfilter filtriert. Die klare Lösung wurde für die Vitamin C-Analyse genutzt.

1.5.4 Zuckerbestimmung

Die Bestimmung der Zuckergehalte erfolgte mittels HPLC. Die Proben wurden für die Messungen analog derer zur Vitamin C-Bestimmung vorbereitet. Vor der Injektion in die HPLC wurden die Proben im Volumenverhältnis 1:1 mit destilliertem Wasser verdünnt. Das HPLC-System bestand aus folgenden Bestandteilen: Autosampler: GINA 50T (Dionex GmbH, BRD), Integrator: LCD 202 (GAT, BRD), Detektor: RI-71 (Shodex, Japan), Säule: Eurokat H (300 x 8 mm, 10 μl), Pumpe: LC 1110 (ICI Instruments, GB), Injektionsvolumen: 10 μl , mobile Phase: 0,01N H_2SO_4 , Fließrate: 0,8 ml/min, Druck: 63 bar, Temperatur: 20°C (**Bild 25**).



Bild 24: Bestimmung des Vitamin C-Gehaltes mit dem Testset ‚Reflectoquant‘



Bild 25: HPLC-Anlage zur Zuckerbestimmung

Die durchgeführten Untersuchungen werden im Folgenden beschrieben:

Untersuchungen an Eisbergsalat

Die Salatproben wurden für die Versuche wie folgt aufbereitet:

Ein Blatt Eisbergsalat wurde entlang der Mittelrippe in zwei Hälften geteilt. Die eine Hälfte wurde mit ozoniertem Wasser gewaschen, die zweite Hälfte diente als ungewaschene Referenz. Die Ozonkonzentrationen im Waschwasser betragen zwischen 0,5 und 1,5 ppm (in 0,25 ppm Schritten). Untersucht wurden Waschkauern von 0,5 und 0,75 Minuten. Diese Zeiten wurden gewählt, da Messungen beim Industriepartner HA-

VITA ergeben haben, dass sich ein Salatblatt maximal 40 Sekunden im Waschbecken befindet.

Alle Versuche wurden dreimal wiederholt. Die Mittelwerte der Ergebnisse der Untersuchungen sind in der nachfolgenden **Tabelle 13** zusammengestellt.

Tabelle 13: Wiederfindungsrate an Vitamin C in entlang der Mittelrippe halbierten Eisbergsalatblättern

c(O ₃) [ppm]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]	
	t _{Wasch} = 0,5 min	t _{Wasch} = 0,75 min
0,0	100	100
0,5	98	100
0,75	99	96
1,0	100	99
1,25	100	98
1,5	100	100

Die Versuche ergaben, von kleinen Messungenauigkeiten abgesehen, dass der Eisbergsalat bis zu einer Ozonkonzentration von 1,5 ppm und einer Waschzeit von 0,75 Minuten durch die Ozonbehandlung nicht geschädigt wird und dies obgleich durch das Zerteilen der Blätter Zellen beschädigt wurden, so dass Zellsaft ausgespült werden konnte. Diese Beobachtung ist wohl dadurch zu erklären, dass Vitamin C nicht gleichmäßig im gesamten Blatt verteilt ist, sondern hauptsächlich in den zarten grünen Außenbereichen des Blattes lokalisiert ist.

Untersuchungen an Romana-Salat

In den Versuchen sollte festgestellt werden, ob die Größe der Verletzungsfläche im Verhältnis zur Blattoberfläche einen Einfluss auf den Verlust an Inhaltsstoffen hat, der bei Eisbergsalat nicht beobachtet wurde. Die Analysen erfolgten mit Blättern von Romana-Salat, die entlang der Mittelrippen in 2 Hälften geteilt wurden. Die eine Hälfte wurde als ungewaschene Referenz genutzt, um den Ausgangsgehalt an Vitamin C vor der Behandlung zu ermitteln, die andere Hälfte wurde mit ozoniertem Wasser gewaschen. Für jede Probe wurden 10 bis 20 g Salat eingesetzt (je nach Blattgrößen 5 bis 8 halbe Blätter). Die Proben wurden für 0,5 bzw. 0,75 Minuten mit ozoniertem Wasser gewaschen. Die Ozonkonzentrationen lagen zwischen 0,5 und 2,0 ppm (in 0,25 ppm Schritten). Eine zweite Analysenreihe wurde analog durchgeführt, hierbei wurden jedoch die Mittelrippen vollständig entfernt, um die Verletzungsoberfläche zu minimieren. Zur Veranschaulichung der Proben dient **Bild 26**.

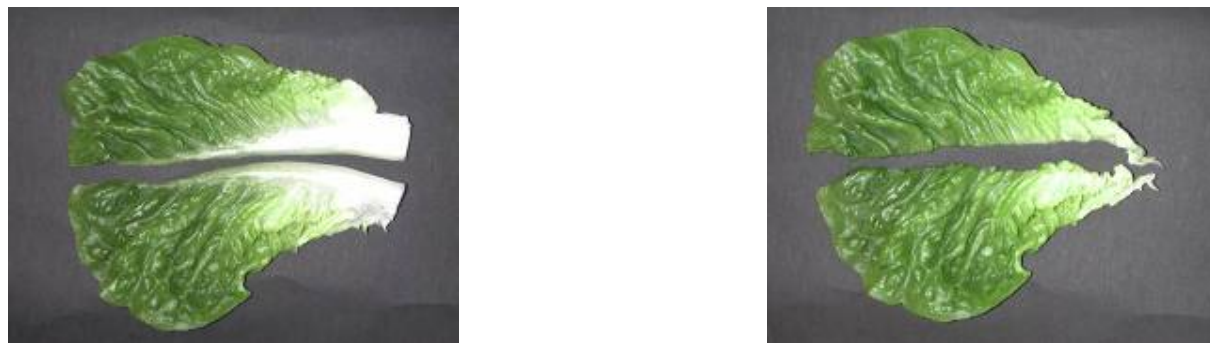


Bild 26: Für die Vitamin C Analyse vorbereitete Proben Romana-Salat; links mit Mittelrippe, rechts ohne Mittelrippe

Um eine Abschätzung vornehmen zu können, wie viel Vitamin C allein durch das Waschen mit Leitungswasser verloren geht (durch Ausspülen von verletzten Zellen), wurden außerdem ungewaschene halbe Salatblätter mit Wasser gewaschenen Salatblätterhälften verglichen (**Tabelle 14**).

Tabelle 14: Wiederfindungsrate an Vitamin C von ungewaschenen und Wasser gewaschenen halbierten Blättern Romana-Salat

Waschdauer [min]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]	
	mit Mittelrippe	ohne Mittelrippe
0,50	93,5	95
0,75	89,5	97

Diese Untersuchungen lassen folgende Schlussfolgerungen zu:

- Je größer die Verletzungsfläche, desto mehr Inhaltstoffe, hier Vitamin C, werden durch den Waschprozess ausgespült.
- Minimiert man die Verletzungsoberfläche kann die Waschdauer verlängert werden, ohne dass ein höherer Verlust an Inhaltstoffen zu verzeichnen ist.

Die Ergebnisse der Versuche mit ozoniertem Wasser, bei denen die Blätter durch die Mittelrippe geteilt wurden, sind in **Tabelle 15** dargestellt.

Tabelle 15: Wiederfindungsrate an Vitamin C in durch die Mittelrippe halbierten Romanablättern nach 0,5 bzw. 0,75 Minuten Waschzeit in ozoniertem Wasser

c(O ₃) [ppm]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]	
	t _{Wasch} = 0,5 min	t _{Wasch} = 0,75 min
0,5	100	97
0,75	94	97
1,0	90	100
1,25	87	96
1,5	83	92
1,75	90	86
2,0	89	85

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse aus **Tabelle 14**, die gezeigt haben, dass bereits beim Waschen mit Leitungswasser ein nicht unerheblicher Verlust an Inhaltsstoffen zu beobachten ist, kann aus den Ergebnissen in **Tabelle 15** geschlossen werden, dass durch den Einsatz des ozonierten Wassers kein weiterer erheblicher Verlust an Inhaltsstoffen zu verzeichnen ist. Bei einer Waschzeit von 0,5 Minuten ist eine Reduzierung ab 1 ppm Ozon zu verzeichnen, bei einer Waschzeit von 0,75 Minuten, sinken die Werte für die Wiederfindung jedoch erst ab einer Ozonkonzentration ab 1,75 ppm unter den Referenzwert. Da aber auch etwas höhere Vitamin C-Gehalte, z.B. bei einer Ozonkonzentration von 1,0 ppm und einer Waschzeit von 0,75 Minuten gefunden werden, müssen die Unterschreitungen wohl der Ungenauigkeit des Messsystems zugeschrieben werden.

Die Ergebnisse der Waschversuche, bei denen die Mittelrippen herausgetrennt wurden sind in **Tabelle 16** dargestellt.

Tabelle 16: Wiederfindungsrate an Vitamin C in halbierten Romanablättern ohne Mittelrippe nach 0,5 bzw. 0,75 Minuten Waschzeit in ozoniertem Wasser

c(O ₃) [ppm]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]	
	t _{Wasch} = 0,5 min	t _{Wasch} = 0,75 min
0,5	97	97
0,75	95	98
1,0	90	94
1,25	96	95
1,5	93	93
1,75	93	93
2,0	Kein Wert	89

Die Ergebnisse bestätigen die Beobachtungen aus dem Vorversuch, dass die Größe der Verletzungsoberfläche starken Einfluss auf den Verlust der Inhaltsstoffe haben. Je

kleiner die Fläche so geringer der Vitaminverlust, auch wenn die Waschzeit verlängert wird.

Für die Versuchsserie in der der Romana-Salat durch die Mittelrippe geteilt und für 0,75 Minuten mit ozoniertem Wasser gewaschen wurde, wurden zusätzlich die Zuckerwerte mittels HPLC bestimmt. Es wurden Saccharose, Glukose, Fruktose sowie der Gesamtzuckergehalt vor sowie nach der Wäsche mit ozoniertem Wasser ermittelt. Die Mittelwerte der Wiederfindung sind in **Tabelle 17** dargestellt. Als Referenz wurde auch hier eine Probe mit Leitungswasser gewaschen, um die Veränderungen des Zuckergehaltes bei herkömmlicher Wäsche festzustellen. Für Saccharose wurde nach der Wäsche mit Wasser ein im Mittel um 9 % höherer Wert gefunden als vor der Wäsche, für Glukose und Fruktose lagen die Werte im Mittel mit 3 % etwas unter denen der ungewaschenen Proben. Unter Berücksichtigung von Schwankungen zwischen rechter und linker Blattseite sowie einem Messfehler bei der Methode (bei $c(\text{O}_3) = 1,25$ ppm betrug die Wiederfindungsrate 108 %), kann davon ausgegangen werden, dass sich die Ozonbehandlung nicht negativ auf den Zuckergehalt auswirkt.

Tabelle 17: Wiederfindungsrate der Zuckerwerte von durch die Mittelrippe geteilten Romana-Salat-Blättern in Abhängigkeit von der Ozonkonzentration des Waschwassers nach einer Waschdauer von 0,75 min

c(O ₃) [ppm]	Wiederfindung nach der Wäsche [%]			
	Saccharose	Glukose	Fruktose	Gesamtzucker
0	109	97	97	98
0,50	105	92	95	95
0,75	99	88	90	90
1,00	109	89	90	91
1,25	105	108	109	108
1,50	108	98	100	100
1,75	99	89	91	91
2,00	107	91	96	95

Es kann zusammenfassend festgestellt werden, dass der Einsatz von ozoniertem Wasser bei der Wäsche bei kleinen Ozonkonzentrationen keinen negativen Einfluss auf die Inhaltstoffe hat, die Art des Zerschneidens der Blätter aber sehr wohl.

1.6 Salatwäsche unter Laborbedingungen

1.6.1 Art und Herkunft des Salates

Serie 1

Es wurde abgepackter Mischsalat in einem örtlichen Supermarkt gekauft (4 Tüten je 200 g ‚Pariser Salatmischung, frisch und fertig‘, Erlenhof). Die Salatmischungen bestanden aus Endivien sowie veränderlichen Gewichtsanteilen Frisee und Radicchio.

Serie 2

Für den Versuch wurden 12 Köpfe Eisbergsalat aus einem lokalen Supermarkt erworben.

Serie 3

Für den Versuch wurden Eisbergsalate in einem lokalen Supermarkt erworben. Je Variante wurden 5 kg Eisbergsalat eingesetzt.

1.6.2 Versuchsdurchführung

Serie 1

Die Tüteninhalte wurden in einer großen Wanne vereint und gut gemischt, um eine homogene Keimverteilung zu gewährleisten. Dann wurden je 25 g Proben entnommen. Ein Teil der Proben wurden am Tag der Versuchsdurchführung direkt nach der Behandlung mikrobiologisch analysiert, die anderen Proben wurden nach der Behandlung für 3 Tage bei 4°C, 19°C bzw. 30°C aufbewahrt, um die Keimentwicklung zu beobachten. Die Salatproben wurden wie folgt behandelt: zwei Proben dienten als ungewaschene Referenzen und wurden unbehandelt mikrobiologisch untersucht, zwei Proben wurden für 45 Sekunden mit Leitungswasser gewaschen, durch Schleudern in einer Salatschleuder getrocknet und analysiert. Zwei weitere Proben wurden für 45 Sekunden mit ozoniertem Wasser ($c(\text{O}_3) = 1,5 \text{ ppm}$) gewaschen, in einer Salatschleuder getrocknet und ebenfalls analysiert. Mit den Einlagerungsproben wurde analog verfahren. Diese wurden jedoch nach der Behandlung in Tüten abgefüllt und bei der entsprechenden Temperatur gelagert. Bestimmt wurde bei diesem Versuch die anaerobe mesophile Gesamtkeimzahl und es erfolgte eine qualitative Bestimmung an *E. coli*. Zur Veranschaulichung des Versuches dient **Bild 27**

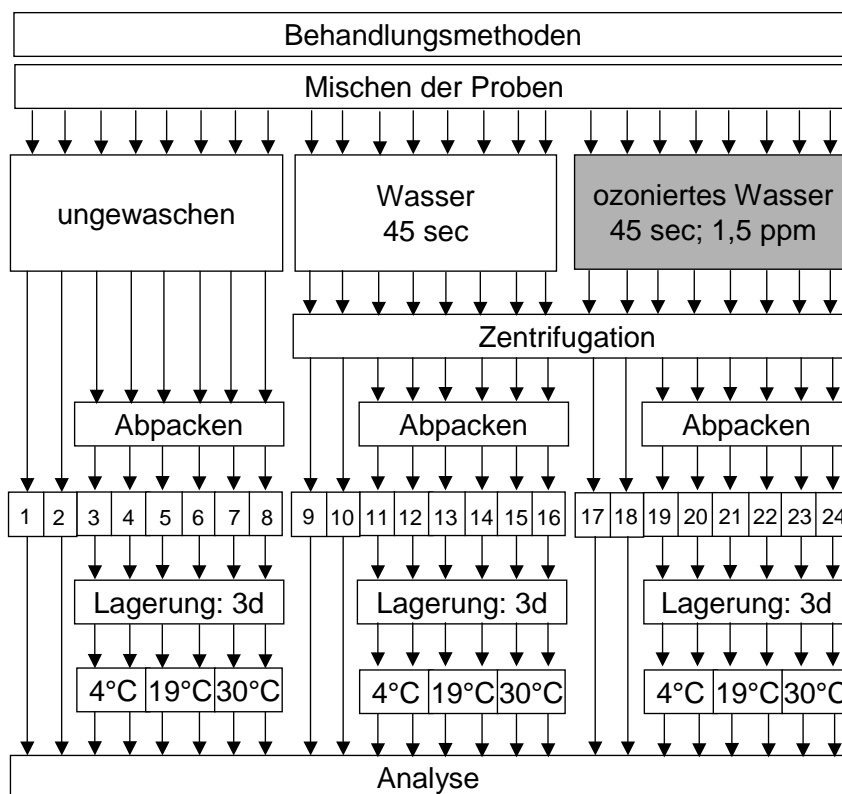


Bild 27: Waschvarianten der Serie 1

Serie 2

Die Salate wurden von den äußeren Blättern befreit, die Strünke herausgeschnitten und die Blätter in mundgerechte Stücke geschnitten. Von den Proben wurde jeweils die aerobe mesophile Keimzahl bestimmt, des Weiteren wurden alle Proben auf *E. coli* und Salmonellen untersucht. Zur Qualitätsanalyse wurde eine sensorische Prüfung durchgeführt sowie der Zucker- und Vitamin C-Gehalt, der TS-Gehalt und der pH-Wert ermittelt. Der Salat wurde mit Wasser bzw. ozoniertem Wasser gewaschen (**Bild 28**)

Jede Variante bestand aus 2 Proben. Die Waschdauer betrug jeweils eine Minute, die Lagerungszeit bei verschiedenen Temperaturen (4 bzw. 21°C) 7 Tage. Nach Ablauf der Lagerungszeit wurden alle Proben wiederum auf die oben angegebenen Parameter analysiert.

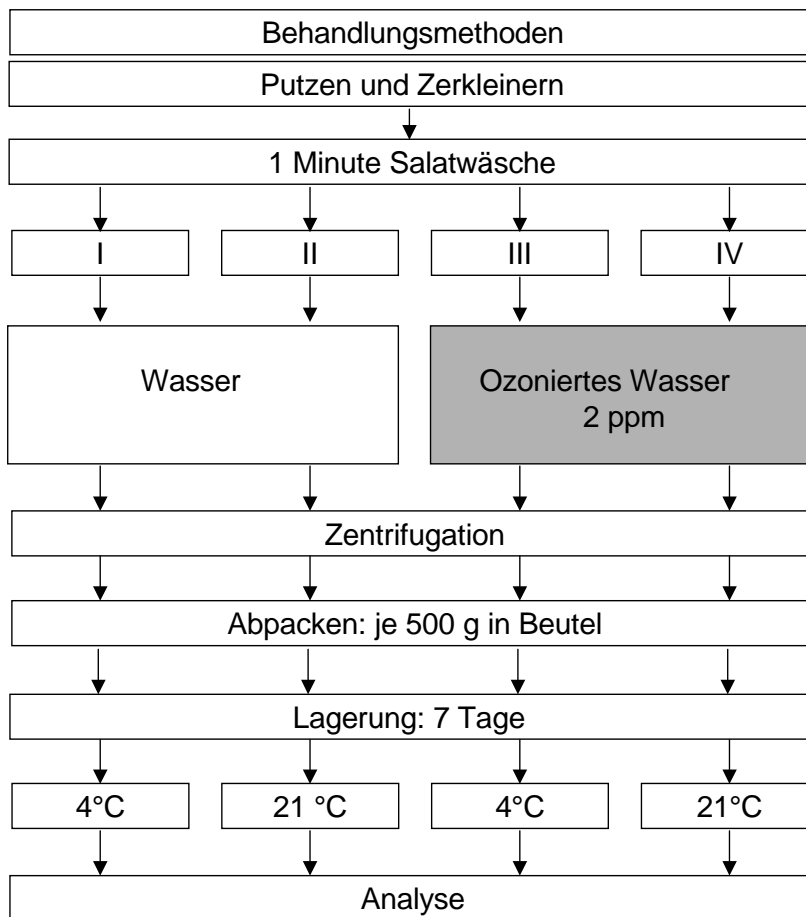


Bild 28: Waschvarianten der Serie 2

Serie 3

In einer dritten Serie wurden unterschiedliche Waschregime bezüglich ihrer Effektivität verglichen. Die untersuchten Varianten sind in **Bild 29** zusammengestellt.

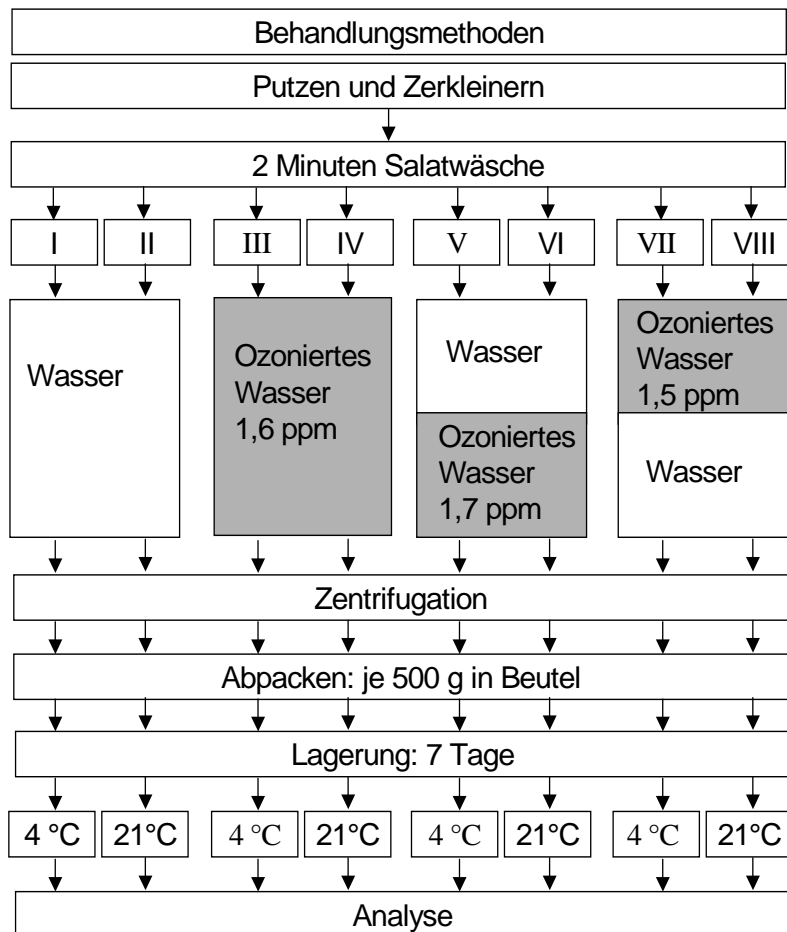


Bild 29: Waschvarianten der Serie 3

Die Waschdauer der Varianten I bis IV betrug jeweils zwei Minuten, bei den Varianten V bis VIII jeweils eine Minute pro Waschgang.

Der Salat wurde vor Versuchsbeginn von den äußeren Blättern befreit, halbiert, vom Strunk befreit und in mundgerechte Stücke geschnitten. Auf Grund des großen Probenumfangs musste die Versuchsdurchführung auf 2 Tage verteilt werden. Die benötigten Salate wurden jeweils am Tag der Durchführung im Supermarkt erworben. Gemeinsam untersucht wurden die Varianten I bis IV und die Varianten V bis VIII. Vor dem Waschen wurden jeweils 2 Proben entnommen, die als unbehandelte Referenzen analysiert wurden. Des Weiteren wurden direkt nach der jeweiligen Behandlung 2 Proben pro Variante genommen, um den Wascheffekt zu analysieren. Nach einer 7-tägigen Lagerung von je 3 Proben jeder Variante bei 4°C bzw. 21°C wurden erneut alle Parameter analysiert.

Untersucht wurden folgende Parameter: aerobe mesophile Keimzahl, *E. coli*, Salmonellen, TS-Gehalt, pH-Wert, Vitamin C-Gehalt, Zuckergehalt, Sensorik.

1.6.3 Qualität des gelagerten Salates

Serie 1

Die Ergebnisse des Versuches sind als Mittelwerte **Tabelle 18** zu entnehmen.

Tabelle 18: Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl und qualitative Bestimmung an *E. coli* auf Mischsalat nach Ozonbehandlung und unterschiedlichen Lagerbedingungen

	Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl [KbE/ml]	<i>E. coli</i> , qualitativ +/-
vor der Lagerung		
ungewaschene Probe	4,6·10 ⁶	-
mit Wasser gewaschene Probe	2,9·10 ⁶	-
ozonbehandelte Probe	2,5·10 ⁶	-
nach 3 Tagen Lagerung bei 4°C		
ungewaschene Probe	5,0·10 ⁶	-
mit Wasser gewaschene Probe	3,0·10 ⁶	-
ozonbehandelte Probe	1,1·10 ⁷	-
nach 3 Tagen Lagerung bei 19°C		
ungewaschene Probe	4,0·10 ⁷	+/-
mit Wasser gewaschene Probe	4,1·10 ⁷	+/-
ozonbehandelte Probe	4,9·10 ⁷	+/-
nach 3 Tagen Lagerung bei 30°C		
ungewaschene Probe	1,2·10 ⁸	+/-
mit Wasser gewaschene Probe	1,8·10 ⁸	+
ozonbehandelte Probe	2,1·10 ⁸	+/-

Zur besseren Veranschaulichung der ermittelten Daten dient **Bild 30**.

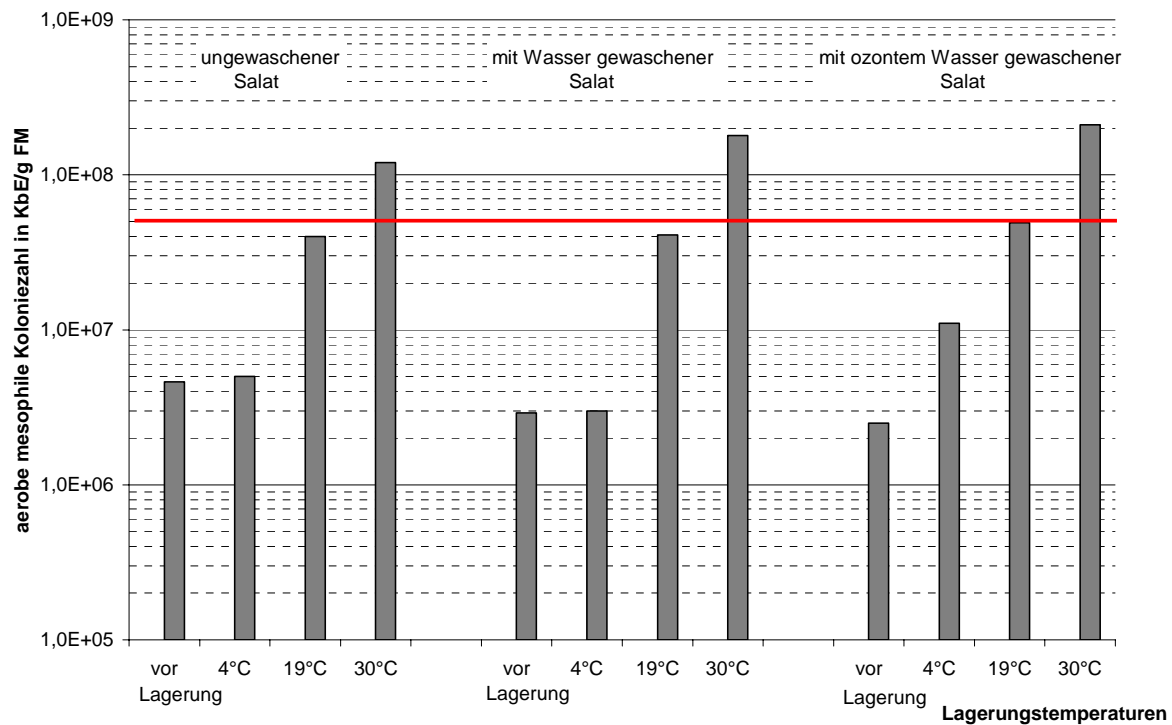


Bild 30: Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl auf Mischsalat nach Ozonbehandlung und unterschiedlichen Lagerbedingungen

Aus **Tabelle 18** und **Bild 30** wird deutlich, dass durch das Waschen mit ozoniertem Wasser ein etwas besserer Reinigungseffekt erzielt wird als mit Wasser alleine. Der Versuch hat allerdings auch ergeben, dass eine Lagerung bei 4°C sehr wichtig ist, um das Wachstum der Mikroorganismen zu hemmen, es wurden aber auch bei 4°C nach 3 Tagen Lagerung mehr Keime auf der ozongewaschenen Probe gefunden als auf der Wasser gewaschenen. Dieser Effekt war bei 19°C und 30°C nicht so stark, so dass es sich hier evt. um eine Messungenauigkeit handelt. Der von der DGHM empfohlene Richtwert von $5,0 \cdot 10^7$ KbE/g wird bei allen untersuchten Varianten, allerdings erst bei extremen Lagerungstemperaturen, überschritten.

Serie 2

Im folgenden (**Tabelle 19**) sind die Mittelwerte der Proben vor und nach der Lagerung zusammengestellt.

Tabelle 19: Einfluss verschiedener Waschvarianten und Lagerungstemperaturen auf Qualitätsparameter von Eisbergsalat

Varianten/ Lagerungstemperaturen	TS- Gehalt [%]	pH- Wert	a. m. Keim- zahl [KbE/g FM]	Coli- forme	Salmo- nellen [+/-]	Vitamin C [mg/l]	Gesamt- zucker [g/l]
vor der Lagerung							
ungewaschen	3,70	5,98	n.u.	n.u.	n.u.	43,0	32,8
mit Wasser gewaschen	3,57	5,89	$3,0 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^3$	-	34,5	26,2
ozonbehandelt	3,70	5,87	$3,3 \cdot 10^3$	$3,5 \cdot 10^2$	-	31,5	21,7
nach der Lagerung							
(I) mit Wasser gewaschen, 4°C	3,20	6,44	$2,0 \cdot 10^8$	$6,2 \cdot 10^6$	-	33,0	15,5
(II) mit Wasser gewaschen, 21°C	2,87	6,83	$1,1 \cdot 10^{10}$	$4,0 \cdot 10^7$	-	36,0	13,1
(III) ozonbehandelt, 4°C	3,30	6,41	$2,2 \cdot 10^8$	$6,4 \cdot 10^5$	-	40,0	20,6
(IV) ozonbehandelt, 21°C	2,99	7,13	$6,8 \cdot 10^9$	$1,3 \cdot 10^8$	-	37,5	10,4

Wie zu erwarten, hat weder das Waschen mit Wasser noch das Waschen mit ozoniertem Wasser Einfluss auf TS-Gehalt und pH-Wert. Alle untersuchten Proben waren vor der Einlagerung salmonellenfrei. Die Anzahl der Keime aller gewaschenen Varianten ist nahezu identisch. Es konnten keine *E. coli* nachgewiesen werden. Im Bereich der coliformen Bakterien konnte für den mit ozoniertem Wasser gewaschenen Salat ein um 0,5 log besseres Ergebnis erzielt werden als bei der mit Wasser gewaschenen Variante. Allerdings hat es in diesem Versuch den Anschein, dass sowohl der Vitamin C- als auch der Zucker-Gehalt sowohl beim Waschen mit Wasser als auch bei der Ozonbehandlung abnehmen. Ursache hierfür kann das Ausspülen des Zellsaftes aus beim Kleinschneiden verletzten Zellen sein.

Nach 7-tägiger Lagerung bei unterschiedlichen Temperaturen ist festzustellen, dass sich der TS-Gehalt aller Proben erniedrigt hat und zwar unabhängig von der Waschmethode, jedoch beeinflusst von der Lagerungstemperatur. So stimmen die Werte für die Varianten I und III gut überein, ebenso wie die Werte der Varianten II und IV. Gleiches kann für die Veränderungen der pH-Werte festgestellt werden. Alle Werte haben sich im Verlauf der Lagerung erhöht, die pH-Werte der Proben, die bei 4°C gelagert wurden liegen auch hier im gleichen Bereich, unabhängig von der Waschmethode. Im Vergleich dazu liegen die pH-Werte nach Einlagerung bei 21°C deutlich darüber.

Vergleicht man die Gesamtkeimzahlen nach der Lagerung kann festgestellt werden, dass die bei 4°C gelagerten Proben, unabhängig von der Art des Waschens, den gleichen Keimgehalt aufweisen, was auch schon direkt nach der Wäsche der Fall war. Das Waschen mit ozoniertem Wasser hat hier also weder einen positiven noch einen negativen Einfluss erbracht. Bei der bei 21°C gelagerten ozonbehandelten Proben liegen die Keimgehalte um eine halbe log-Stufe unter der mit Wasser gewaschenen Variante.

Bei der Untersuchung auf *E. coli*, bei der nur coliforme Bakterien nachgewiesen werden konnten, sind jedoch deutliche Veränderungen festzustellen. Lag der Gehalt an coliformen Bakterien direkt nach der Wäsche bei der ozongewaschenen Probe noch um eine log-Stufe unter der Wasser gewaschenen Probe, so kehrt sich das Verhältnis nach der Lagerung bei 21°C um, im Gegensatz zur Lagerung bei 4°C, wo auch nach 7 Tagen der Keimgehalt der ozongewaschenen Probe eine log-Stufe unter der Wasser gewaschenen Probe liegt. Dies zeigt wieder eindeutig, wie wichtig eine kühle Lagerung des Salates ist.

Salmonellen konnten in keiner der untersuchten Varianten nachgewiesen werden.

Als abschließendes Qualitätskriterium wurde der Salat optisch miteinander verglichen. Auch hier schnitt der bei 4°C gelagerte Salat deutlich besser ab als die bei 21°C gelagerte Variante. Die mit Wasser gewaschene Variante zeigte nach 7 Tagen Lagerung einige braune Stellen, die zum Teil auch matschig waren, die ozonbehandelte Variante zeigte nur einige braune Anschnitte und war noch knackig. Die bei 21°C gelagerten Salatproben wiesen eine deutlich schlechtere Qualität auf. Der Salat auf der Beutelunterseite beider Waschvarianten war zum größten Teil matschig. Der Salat machte einen ungenießbaren Eindruck (**Bild 31** und **Bild 32**).



Bild 31: mit Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto)



Bild 32: mit ozoniertem Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto)

Serie 3

Die Parameter der untersuchten Wasch- und Lagerungsvarianten I bis IV sind in **Tabelle 20** als Mittelwerte zusammengestellt.

Tabelle 20: Einfluss verschiedener Waschvarianten und Lagerungstemperaturen auf Qualitätsparameter von Salat

Varianten/ Lagerungstemperaturen	TS- Gehalt [%]	pH- Wert	a. m. Keim- zahl [KbE/g FM]	Coli- forme	Salmo- nellen [+/-]	Vitamin C [mg/l]	Gesamt- zucker [g/l]
vor der Lagerung							
ungewaschen	3,65	6,31	$2,6 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^5$	-	23,5	24,9
mit Wasser gewaschen	3,58	6,10	$3,7 \cdot 10^4$	$8,0 \cdot 10^3$	-	27,5	22,7
ozonbehandelt	3,28	6,11	$6,6 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^4$	-	25,5	22,4
nach der 7tägiger Lagerung							
(I) mit Wasser gewaschen, 4°C	3,26	6,39	$1,5 \cdot 10^8$	$3,6 \cdot 10^5$	-	28,7	18,0
(II) mit Wasser gewaschen, 21°C	2,52	6,58	$1,7 \cdot 10^9$	$1,7 \cdot 10^8$	-	42,0	7,6
(III) ozonbehandelt, 4°C	3,02	6,03	$4,8 \cdot 10^6$	$5,7 \cdot 10^5$	-	22,0	17,9
(IV) ozonbehandelt, 21°C	1,97	6,69	$2,8 \cdot 10^9$	$7,7 \cdot 10^8$	-	51,7	4,6

Neben einer leichten Absenkung des pH-Wertes durch das Waschen bei beiden Waschvarianten, konnte eine Reduzierung sowohl der aeroben mesophilen Keimzahl als auch der coliformen Bakterien von jeweils einer log-Stufe erreicht werden, unabhängig vom Waschverfahren.

Nach 7-tägiger Lagerung hatten sich die Parameter verändert. Der TS-Gehalt aller Proben hat abgenommen, für die Proben, die bei 21°C gelagert wurden stärker als bei denen, die bei 4°C aufbewahrt wurden. Der pH-Wert ist bis auf eine Ausnahme, wie auch in den anderen Versuchen (s. oben), angestiegen. Salmonellen konnten in keiner Variante nachgewiesen werden. Vergleicht man die aerobe mesophile Keimzahl, die direkt nach dem Waschen beider Varianten in der gleichen Größenordnung lag, so konnte nach 7 Tagen Lagerung ein deutlich kleinerer Wert für die ozonbehandelte Probe (4°C) ermittelt werden. Der Wert lag um 1,5 log-Stufen unter dem der mit Wasser gewaschenen Probe, die ebenfalls bei 4°C gelagert wurde. Wie wichtig eine kühle Lagerung ist, wird auch in diesem Versuch belegt, wenn man sich die Messergebnisse der 21°C-Lagerproben anschaut. Hier wurden für beide Behandlungsmethoden hohe Keimbelastungen im Bereich von 10^9 KbE/g Frischmasse nachgewiesen. Die Belastungen mit coliformen Bakterien waren identisch, unabhängig von der Waschmethode.

Zum Aussehen der Proben nach Ende der Lagerung konnte folgendes festgestellt werden:

Die bei 4°C gelagerten Proben beider Varianten I (Waschen mit Wasser) und III (Waschen mit ozoniertem Wasser) zeigten wenige braune Stellen und machten einen knackigen Ein-

druck. Im Gegensatz dazu sind die bei 21°C gelagerten Proben nach der Lagerung ungenießbar. Der Salat war in beiden Fällen zum größten Teil matschig, im Falle der Variante II hatte sich Flüssigkeit im Beutel gesammelt (**Bild 33** und **Bild 34**).



Bild 33: mit Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto)



Bild 34: mit ozoniertem Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto)

In der **Tabelle 21** sind die Mittelwerte der Wasch- und Lagerungsvarianten V bis VIII vor und nach der Lagerung zusammengestellt.

Tabelle 21: Einfluss verschiedener Waschvarianten und Lagerungstemperaturen auf Qualitätsparameter von Salat

Varianten/ Lagerungstemperaturen	TS- Gehalt [%]	pH- Wert	a. m. Keimzahl [KbE/g FM]	Coli- forme	Salmo- nellen [+/-]	Vitamin C [mg/l]	Gesamt- zucker [g/l]
vor der Lagerung							
ungewaschen	3,58	6,28	$3,5 \cdot 10^5$	$4,5 \cdot 10^3$	-	28,0	19,2
mit Wasser gewaschen, ozonbehandelt	3,32	6,06	$1,8 \cdot 10^5$	$6,5 \cdot 10^3$	-	23,5	19,3
ozonbehandelt mit Was- ser gewaschen	3,52	6,10	$7,0 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^3$	-	28,0	19,9
nach der Lagerung							
(V) mit Wasser gewa- schen, ozonbehandelt, 4°C	3,50	6,32	$2,6 \cdot 10^6$	$3,7 \cdot 10^4$	-	31,3	13,8
(VI) mit Wasser gewa- schen, ozonbehandelt, 21°C	2,80	6,66	$1,7 \cdot 10^9$	$2,2 \cdot 10^8$	-	37,3	8,3
(VII) ozonbehandelt, mit Wasser gewaschen, 4°C	3,51	6,04	$2,1 \cdot 10^7$	$4,3 \cdot 10^3$	-	40,3	17,6
(VIII) ozonbehandelt, mit Wasser gewaschen, 21°C	2,74	6,53	$3,4 \cdot 10^9$	$6,0 \cdot 10^8$	-	52,7	4,9

In Analogie zu den vorhergehenden Versuchen konnte auch hier ein Anstieg der pH-Werte verzeichnet werden, der bei den bei 21°C gelagerten Proben etwas stärker war als bei den bei 4°C gelagerten Proben. Mit dem Anstieg des pH-Wertes nimmt auch in diesem Versuch der TS-Gehalt des Salates ab. Die aerobe mesophile Keimzahl wird wiederum stark von der Lagerungstemperatur beeinflusst. Die Zunahme des Keimgehaltes liegt bei Variante V bei nur einer log-Stufe, erhöht sich jedoch bei einer Lagertemperatur von 21°C um 4 log-Stufen. Eine größere Zunahme der Keimzahl musste bei Variante VII festgestellt werden. Hier lag der Anfangskeimgehalt direkt nach dem Waschen mit $7,0 \cdot 10^4$ KbE/g Frischmasse am niedrigsten, der Wert erhöhte sich aber bei einer Lagerung von 4°C um 3 log-Stufen auf $2,1 \cdot 10^7$ KbE/g Frischmasse, bei 21°C-Lagerung (Variante VIII) sogar um 5 log-Stufen auf $3,4 \cdot 10^9$ KbE/g Frischmasse, so dass bei beiden Lagertemperaturen nach 7 Tagen eine jeweils höhere Keimbelastung vorlag als in den Varianten V und VI.

Die sensorische Prüfung am Ende der Lagerung ergab folgendes Bild:

Die Proben der Varianten V und VI waren nach der Lagerung noch knackig. Die bei 4°C gelagerten Salatproben hatten nur wenig braune Anschnitte, die bei Raumtemperatur gelagerten waren etwas matschig.

Die Proben der Varianten VII und VIII machten zwar optisch noch einen guten Gesamteindruck, waren aber nicht mehr knackig. Die bei Raumtemperatur gelagerten Proben waren außerdem matschig. Einen optischen Eindruck der Proben geben **Bild 35** und **Bild 36**.



Bild 35: mit Wasser und anschließend mit ozoniertem Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto)



Bild 36: mit ozoniertem Wasser und anschließend mit Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto)

Vergleicht man nun alle Varianten miteinander kann folgendes festgestellt werden:

Die Anfangskeimbelastung von $3,5 \cdot 10^5$ KbE/g Frischmasse für die Varianten V bis VIII zeigt eine gute Übereinstimmung mit der Keimbelastung von $2,6 \cdot 10^5$ KbE/g Frischmasse für die Varianten I bis IV, so dass die Versuchsergebnisse gut gegenübergestellt werden können.

In keiner Variante konnten Salmonellen bzw. *E. coli* nachgewiesen werden. Die Zunahme der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl schwankt stark, abhängig von der Behandlungsmethode und der Lagertemperatur. Die Änderungen der aeroben mesophilen Keimzahl bei 4°C über den Lagerzeitraum sind in **Bild 37** dargestellt. Hier nimmt die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl für die Wasser gewaschene Probe (Variante I) am stärksten zu. Es wurde eine Erhöhung um 4 log-Stufen registriert. Die geringste Keimbelastung am Ende der Lagerperiode wiesen die Varianten III und V auf. Bei der mit ozoniertem Wasser gewaschenen Probe erfolgte eine Steigerung um 2 log-Stufen, beim Waschen mit Wasser und anschließender „Ozonwäsche“ betrug die Steigerung 1 log-Einheit. Da beide An-

fangskeimgehalte jedoch nahezu identisch waren, kann man schlussfolgern, dass die Vorwäsche mit Wasser andere Substanzen von der Salatoberfläche abspült, die dann nicht mehr von den verbleibenden Bakterien konsumiert werden können. Das Vorschalten eines Waschganges mit Wasser erscheint damit sinnvoll. Den umgekehrten Effekt erreicht man durch die Nachwäsche mit Wasser im Anschluss an eine Ozonbehandlung (Variante VII). Hier nahm die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl über den Lagerungszeitraum um 3 log-Stufen zu, was die Vermutung einer Rückinfektion nahe legt.

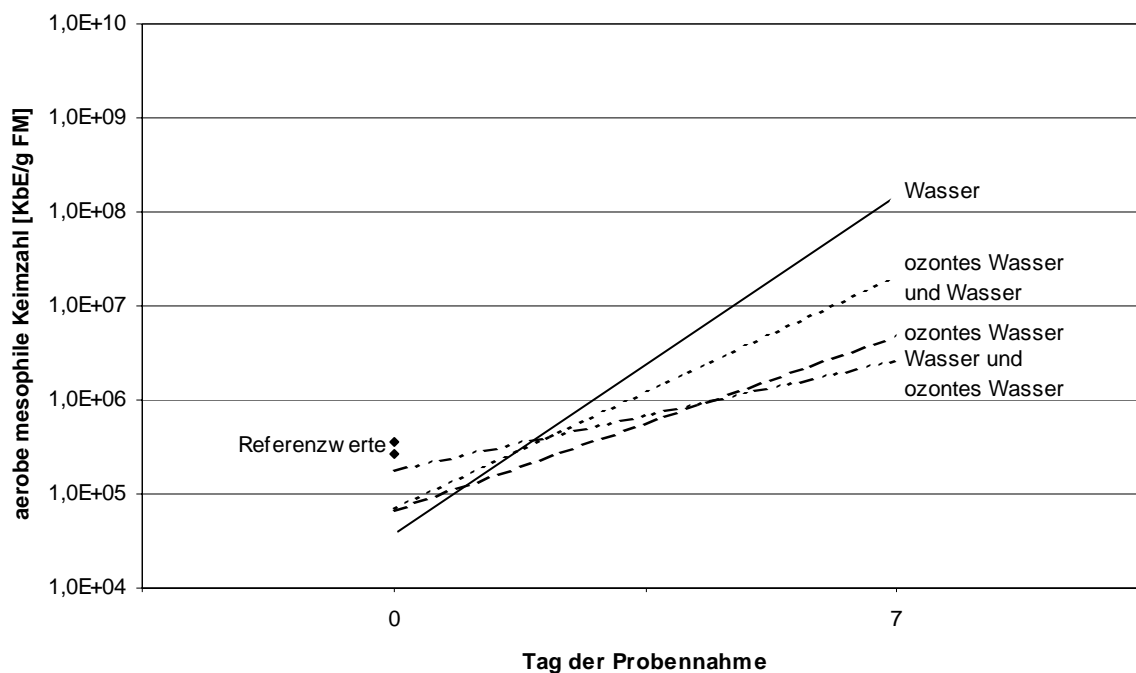


Bild 37: Entwicklung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl während der Lagerung bei 4°C über einen Zeitraum von 7 Tagen nach unterschiedlichen Waschvarianten

Ein ganz anderes Bild ergibt sich bei der Lagerung bei 21°C (**Bild 38**). Hier spielte die Behandlungsmethode keine Rolle. Durch die hohe Aufbewahrungstemperatur, die das Wachstum der Mikroorganismen begünstigt hat, wurden für alle Varianten hohe Keimbelastungen am Ende der Lagerung gefunden, die für sämtliche Proben im Bereich von 10^9 KbE/g Frischmasse lagen.

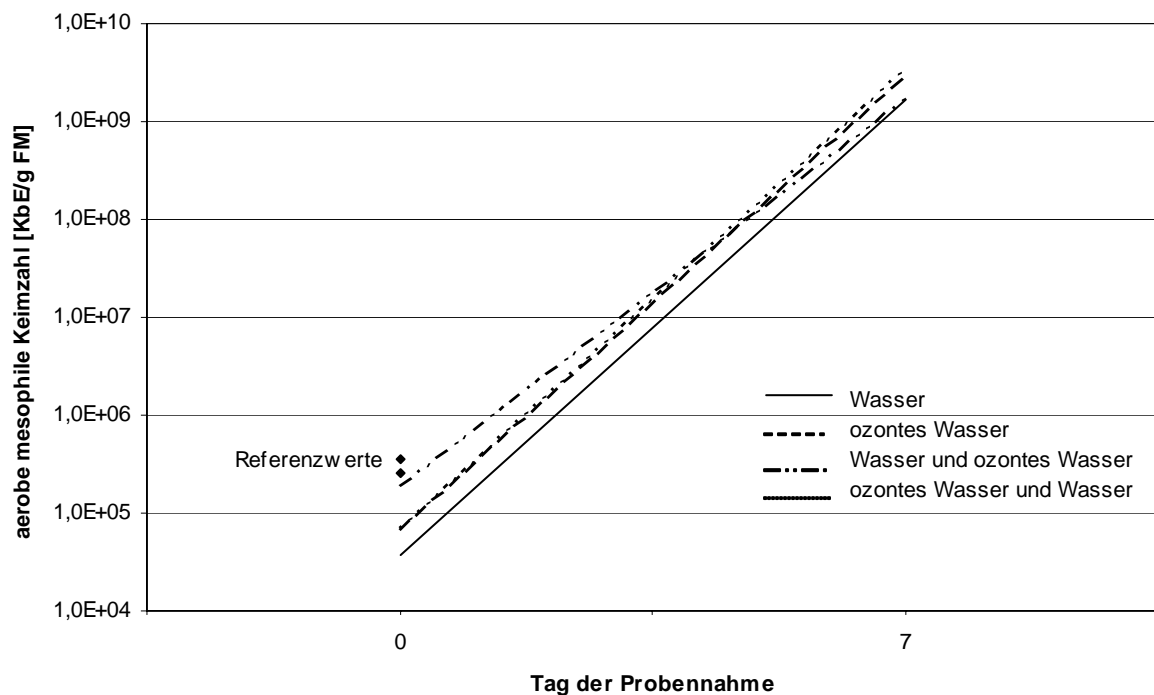


Bild 38: Entwicklung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl während der Lagerung bei 21°C über einen Zeitraum von 7 Tagen nach unterschiedlichen Waschvarianten

Zu den weiteren ermittelten Parametern kann festgestellt werden:

Durch das Waschen von Salat, unabhängig von der Waschmethode, sinkt der pH-Wert um etwa 0,2. Der Vitamin C- und Zuckergehalt wird dagegen durch das Waschen nicht beeinflusst. Die Lagertemperatur hat aber einen starken Einfluss sowohl auf den pH-Wert als auch auf die Inhaltsstoffe. So konnten keinen größeren Abweichungen beim pH-Wert gemessen werden, wenn der Salat bei 4°C aufbewahrt wurde, bei 21°C hingegen wurden Schwankungen von bis zu einer Einheit gemessen. Die Ergebnisse für Vitamin C- und Zuckergehalt sind heterogener. Hier wurden nur geringe Änderungen für den Vitamin C- und Zuckergehalt für alle Waschvarianten festgestellt, wenn die Proben bei 4°C gelagert wurden. Nach Lagerung bei 21°C hingegen wurden stark erhöhte Messwerte für Vitamin C gefunden sowie sehr geringe Werte für Zucker. Letztere Beobachtung entspricht den Erwartungen. Die Zunahme an Vitamin C kann evtl. durch den hohen Flüssigkeitsverlust der Salatblätter erklärt werden, die Proben hatten stark gesaftet, der prozentual über der Abbaurate des Vitamin C lag. Hinzu kam, dass die bei 21°C gelagerten Proben einen ungenießbaren Gesamteindruck erweckten.

Zusammenfassend kann damit gesagt werden: Durch den Einsatz von ozoniertem Wasser kann das Waschergebnis verbessert werden, eine anschließende durchgehende kühle Lagerung des Produktes ist aber Voraussetzung, um die verbesserte Qualität beizubehalten. Dass die Einhaltung von niedrigen Lagertemperaturen eine entschei-

dende Rolle beim Qualitätserhalt spielt, wird auch durch Veröffentlichungen anderer Forschergruppen belegt (RIVA *et al.* 2001, GARCIA-GIMENO & ZURERA-COSANO 1997).

1.7 Salatwäsche unter Praxisbedingungen

1.7.1 Vorbereitende Arbeiten

1.7.1.1 Untersuchungen des Prozesswassers

In Vorbereitung der Versuche bei unserem Industriepartner HAVITA wurden über vier Tage hinweg während des Produktionsprozesses alle 30 Minuten Wasserproben aus dem Salatwaschbecken entnommen, dem in den Großversuchen ozoniertes Wasser zugesetzt werden sollte. Bestimmt wurden die Temperatur des Waschwassers, der Wasserverbrauch sowie der TOC-Gehalt im Waschwasser. Des Weiteren wurde die verarbeitete Salatart und Gesamtmenge erfasst. Eine Übersicht über die Untersuchungsergebnisse gibt **Tabelle 22**.

Tabelle 22: Übersicht über die Wasseranalysen im 2. Salatwaschbecken bei HAVITA

Datum	Wassertemperatur [°C]		Wasserverbrauch [l]	TOC-Gehalt [mg/l]		Salatdurchsatz [kg/d]
	Minimum	Maximum		Minimum	Maximum	
29.09.03	5,5	11,0	7.838	59,6	275,1	2.906
30.09.03	5,0	7,5	10.028	4,0	394,4	3.640
01.10.03	4,5	5,5	14.659	17,0	244,9	2.634
02.10.03	4,5	5,0	18.720	6,2	339,3	7.290

Die Laborergebnisse der Wasserproben wurden der BWT Wassertechnik GmbH zugesandt und dienen als Grundlage zur Entwicklung eines für die Großversuche geeigneten Ozongenerators.

1.7.1.2 Erzeugung von ozoniertem Wasser mit Prototyp „Coolzon 8“

Basierend auf den Untersuchungen der Wasserproben in Kapitel 1.7.1.1 wurde von der Firma BTW Wassertechnik GmbH ein Ozongenerator entwickelt, der den Erfordernissen einer industriellen Salatwaschanlage genügt. Um Erfahrungen im Umgang mit dem Gerät zu sammeln, wurden Versuche zur Ozonierung von Leitungswasser und Salatwaschwasser gemacht. Diese sollten dazu dienen, zum einen ein Gefühl für die Leistung des Generators zu bekommen, die in 4 Stufen regelbar ist und zum anderen Erfahrungen beim Abschätzen der Werte für das Redoxpotenzial ε des Wassers liefern, da der Ozongenerator über ein integriertes Messgerät zur Bestimmung des Redoxpotenzials des Wassers verfügt, welches ein Maß für die Ozonkonzentration in Wasser darstellt. Für diese Versuche

wurde der Ozongenerator mit einem Vorratsbehälter mit einem Fassungsvermögen von 1 m^3 gekoppelt. **Bild 39** zeigt die Versuchsanlage.



Bild 39: Ozongenerator „Coolzon 8“ mit vorgeschaltetem Grobschmutz- und Kiesfilter, gekoppelt an ein 1 m^3 Vorratsgefäß

Zur Durchführung jedes Versuches wurde das Vorratsgefäß mit frischem Wasser befüllt und der Generator wurde auf die gewünschte Leistungsstufe eingestellt. Einen Überblick über die Ergebnisse gibt **Tabelle 23**.

Tabelle 23: Veränderung von Redoxpotenzial und Ozonkonzentration in 1000 l Vorratsgefäß bei der Ozonierung mit dem Gerät „Coolzon 8“ bei unterschiedlichen Leistungsstufen

Zeit [min]	Leistungsstufe des Generator							
	Stufe 1		Stufe 2		Stufe 3		Stufe 4	
	ε [mV]	c(O ₃) [ppm]	ε [mV]	c(O ₃) [ppm]	ε [mV]	c(O ₃) [ppm]	ε [mV]	c(O ₃) [ppm]
0	300	0,015	377	0,017	320	-0,009	238	-0,001
5	317	0,055	368	0,030	306	0,293	248	0,038
10	390	0,08	357	0,027	304	0,430	258	0,090
15	434	0,101	348	0,042	311	0,526	268	0,153
20	441	0,107	341	0,060	389	0,640	294	0,195
25	461	0,117	336	0,092	482	0,697	390	0,260
30	492	0,123	334	0,104	562	0,755	426	0,321
35	527	0,13	335	0,124	619	0,773	456	0,391
40	595	0,13	343	0,145	660	0,795	483	0,412
45	710	0,135	370	0,160	676	0,803	505	0,419
50	758	0,134	405	0,184	710	0,820	524	0,418
55			420	0,207	788	0,828	540	0,445
60			427	0,238	824	0,850	551	0,440
65			433	0,235	830	0,838	560	0,461
70			440	0,247	829	0,853	572	0,460
75			451	0,236			588	0,472
80			459	0,247			626	0,478
85			467	0,260			684	0,483
90			472	0,265			797	0,486
95							816	0,505
100							812	0,499

Es ist festzustellen, dass die Anfangswerte des Redoxpotenzials zu den unterschiedlichen Versuchen bereits zwischen Werten von 238 bis 377 mV schwanken. Allgemein hat sich in den Versuchen aber gezeigt, dass das Redoxpotenzial zu Beginn eines Versuches geringer ist, wenn das Vorratsgefäß nach längerer Zeit des Leerstandes wieder benutzt wird. Ursache hierfür ist, dass alle mit dem ozonierten Wasser in Berührung kommenden Schläuche und Wandungen anfänglich auch einen Ozonverzehr hervorrufen. Nach einer gewissen Reaktionszeit stellt sich jedoch eine gewisse „Sättigung“ ein. Dies wirkt sich auf das Redoxpotenzial aus, indem es anfänglich nur langsam ansteigt bzw. sogar sinkt. Nach erfolgter „Sättigung“ steigt es dann zügig an. Mit dem Ozongenerator war es möglich, Redoxpotenziale vom über 800 mV und freie Ozonkonzentrationen in Lösung von 0,85 ppm zu erzeugen.

Im Anschluss an diese Versuche wurde ein Versuch mit Salatwaschwasser durchgeführt. Dazu wurde zum Ende eines Produktionstages der Tank mit dem Salatwaschwasser des 2. Waschbeckens der HAVITA Berlin Frischgemüse GmbH gefüllt und mit Stufe 4 des Generators gearbeitet. Für den Versuch standen ca. 850 l Waschwasser zur Verfügung.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in **Tabelle 24** dargestellt. Erwartungsgemäß konnte kaum freies Ozon im Waschwasser nachgewiesen werden, da das gebildete Ozon sofort durch die Inhaltsstoffe des Wassers, besonders durch ungesättigte organische Kohlenwasserstoffe, abgebaut wird.

Tabelle 24: Veränderung von Redoxpotenzial und Ozonkonzentration in ca. 850 l Salatwaschwasser bei der Ozonierung mit dem Gerät „Coolzon 8“ bei Stufe 4

Zeit [min]	ε [mV]	c(O ₃) [ppm]
0	290	0,000
5	255	0,002
10	236	0,015
15	226	0,013
20	215	0,020
25	205	0,026
30	199	-
35	196	0,015
40	191	0,017
45	189	0,030
50	187	0,015
55	186	0,021
60	185	0,023
65	184	0,020
70	183	0,018
75	184	0,020
80	184	0,020

Zusätzlich wurde jeweils eine Probe des Salatwaschwassers vor und nach der Ozonierung genommen sowie eine Probe Stadtwasser als Referenz und durch die Firma BWT analysiert. Die Ergebnisse dieser Analysen sind in **Tabelle 25** gegenübergestellt.

Tabelle 25: Ergebnisse der Wasseranalysen von Stadt- und Salatwaschwasser

Parameter	berechnet als	Einheit	Stadt- wasser	Messwerte		Grenz- werte lt. TrinkwV
				Salatwasser vor Ozonierung	nach	
pH-Wert bei 20°C	-	-	7,29	7,05	7,12	6,5 – 9,5
Leitfähigkeit bei 25°C	-	mS/m	87,27	95,64	93,86	250
Summe Erdalkalien	-	mol/m ³	3,03	2,95	2,95	
Säurekapazität bis pH 4,3	-	mol/m ³	3,19	3,51	3,45	
Basekapazität bis pH 8,2	-	mol/m ³	0,19	0,28	0,38	
Chlorid	Cl ⁻	mol/m ³	1,76	1,84	1,83	7
Sulfat	SO ₄ ²⁻	mol/m ³	1,41	5,22	3,09	2,5 / 5,2
Nitrat	NO ₃ ⁻	mol/m ³	0,05	0,11	0,08	0,81
Phosphat	PO ₄ ³⁻	mmol/m ³	< 14,1	26,96	16,43	71*
Oxidierbarkeit	O ₂	g/m ³	3,2	29,4	21,9	5
Calcium	Ca	mol/m ³	2,57	2,48	2,49	
Magnesium	Mg	mol/m ³	0,46	0,46	0,46	
Eisen	Fe	mmol/m ³	< 0,36	5,37	1,43	3,6 / 9,0
Mangan	Mn	mmol/m ³	< 0,36	0,55	0,73	0,9 / 3,6
Kupfer	Cu	mmol/m ³	0,16	0,16	0,16	31
Zink	Zn	mmol/m ³	1,07	0,46	0,46	
Aluminium	Al	mmol/m ³	< 3,7	< 3,7	< 3,7	7,5
Natrium	Na	mol/m ³	1,55	1,57	1,47	8,7
Kalium	K	mmol/m ³	118,15	508,93	450,1	
Silizium	Si	mmol/m ³	183,01	183,37	181,94	250*
Ammonium	NH ₄ ⁺	mg/l	< 0,01	1,5	0,8	
CSB		mg/l	6,1	81,9	73,2	

* Zulässige Zugabe nach Liste der Aufbereitungsstoffe

Die Ergebnisse zeigen keine Auffälligkeiten. Wie zu erwarten war, liegen die pH-Werte des Salatwaschwassers leicht unter dem des Stadtwassers und die Leitfähigkeit ist höher durch die zusätzlichen Stoffe wie Chlorid, Sulfat, Nitrat.

Durch die Ozonbehandlung des Salatwaschwassers ist es gelungen, den CSB-Wert von 81,9 auf 73,2 mg/l zu reduzieren.

1.7.2 Waschtechnologie

In der HAVITA Berlin Frischgemüse GmbH wird der Salat zweistufig gewaschen. Der erste Waschgang dient zum Entfernen grober Verunreinigungen auf dem Salat, der zweite Waschgang dient als Nachwäsche. Vor dem Waschen wird der Salat per Hand in zwei Teile geschnitten, die äußeren Salatblätter und der Strunk werden entfernt und verworfen. Die halbierten Salatköpfe werden über ein Transportband zu einem automatischen

Schneidwerkzeug geführt, welches den Salat in mundgerechte Stücke schneidet. Von dort wird der Salat über ein Transportband zum ersten Waschbecken befördert. Direkt an das erste Waschbecken schließt sich die zweite Wäsche an. Hier wird dem Waschbecken, je nach Bedarf (optische Kontrolle der Verschmutzung des Wassers), über einen Wasserhahn Frischwasser zugeführt. Am Ende des Waschbeckens wird der Salat in Kunststoffkörben aufgefangen, manuell geschleudert und über ein Transportband der Abpackeinrichtung zugeführt.

Bei der Untersuchung wurde dem zweiten Waschbecken ozoniertes Wasser hinzugefügt. Dazu wurde Salatwaschwasser am Ende des Beckens entnommen, durch den Ozongenerator geleitet und am Anfang des Waschbeckens wieder zugegeben. Eine schematische Darstellung dieses Kreislaufes ist in **Bild 40** dargestellt.

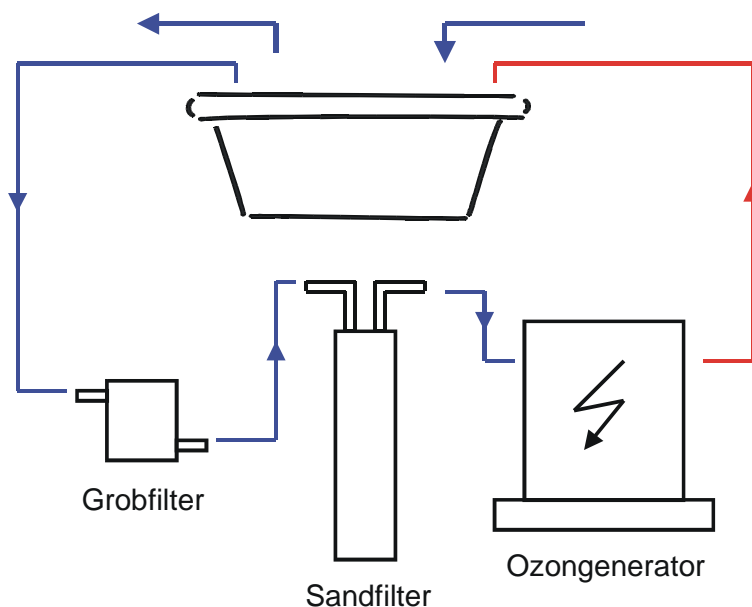


Bild 40: Schematische Darstellung des Ozonkreislaufs im zweiten Waschbecken

In der BRD gilt für Ozon ein MAK-Wert von $0,2 \text{ mg/m}^3$. Um diesen Wert nicht zu überschreiten, wurde eine Vernebelungsanlage konstruiert, gebaut und installiert, die Frischwasser über dem Waschbecken zerstäubt, um aus dem Wasser ausgasendes Ozon niederzuschlagen. Zusätzlich wurde das Waschbecken mit einer Aktivkohlematte abgedeckt. Die Zerstäubungsanlage ist in **Bild 41** dargestellt.



Bild 41: Vernebelungsanlage über dem Ozonwaschbecken zum Niederschlagen ausgasenden Ozons (links) und mit zusätzlicher Aktivkohlenfilter-Abdeckung (rechts)

Referenzversuch (ohne Ozon)

Um Vergleichswerte zum Ozoneinsatz zu haben, wurden an einem Arbeitstag, beginnend mit dem Produktionsprozess, regelmäßig Wasser- und Salatproben aus der laufenden Salatwäsche entnommen. Der Versuch wurde für die Dauer der Produktion von abgepacktem Eisbergsalat durchgeführt. Die Probenahme des Washwassers erfolgte am Ende des zweiten Waschbeckens, die Salatproben wurden nach dem Verlassen der Schleuder genommen (ca. 150 g/Probe in sterile Probennahmetüten) sowie nach dem automatischen Verpacken. Außerdem wurden zeitgleich die Wassertemperatur und die Hallentemperatur gemessen.

Der Produktionsbeginn war am Tage des Versuches 7:00 Uhr. Um 9:00 Uhr wurde die Produktion für 15 Minuten (Frühstückspause) unterbrochen. In diesem Zeitraum erfolgte keine Frischwasserzugabe in das Waschbecken. Anschließend wurde die Produktion bis um 9:45 Uhr fortgeführt. Da dann ein Produktwechsel vorgenommen wurde, wurde der Versuch abgebrochen.

Ozonversuch

An einem zweiten Tag wurden nach Produktionsbeginn zeitgleich sowohl eine Wasser- als auch zwei Salatproben (eine nach dem Verlassen der Schleuder und eine nach dem automatischen Abpacken) genommen. Diese Proben dienten als ozonunbehandelte Referenz. Nach der Probennahme wurde der Ozongenerator eingeschaltet und bei maximaler Leistung (Stufe 4) betrieben. In Analogie zum Referenzversuch wurden danach regelmäßig weitere Wasser- und Salatproben entnommen sowie die Wasser- und Hallentemperatur gemessen. Zusätzlich wurden online die Werte für das Redoxpotenzial sowie die Konzentration an freiem Ozon im Waschbecken gemessen.

Der Produktionsbeginn erfolgte an diesem Tag um 7:45 Uhr. Um 8:00 Uhr wurden die Referenzproben genommen und direkt im Anschluss daran wurde mit der Ozonerzeugung begonnen. Um 9:00 Uhr wurde die Produktion ebenso wie die Ozonerzeugung für 15 Minuten (Frühstückspause) unterbrochen. Anschließend wurden Produktion und Ozonbehandlung bis 11:30 Uhr fortgesetzt.

1.7.3 Ergebnisse der Wasseranalysen

Referenzversuch (ohne Ozon)

Von den Wasserproben wurden der pH-Wert und der TOC-Gehalt bestimmt. Eine Übersicht der erhaltenen Messwerte gibt **Tabelle 26**.

Tabelle 26: Ergebnisse der Wasseranalysen des Referenzversuches (ohne Ozon)

Zeit	Wassertemperatur [°C]	Raumtemperatur [°C]	pH-Wert	TOC [mg/l]
Beginn	4,0	5,0	8,01	22,87
	4,5	6,0	7,58	76,71
	4,5	6,0	7,81	191,7
	4,5	6,0	7,76	202,0
	5,0	6,0	7,71	250,7
Ende	5,0	6,0	7,57	312,2

Die Ergebnisse zeigen, dass es im Produktionsprozess gut gelingt, sowohl die Wasser- als auch die Umgebungstemperatur konstant zu halten. Dies ist eine wichtige Voraussetzung für ein qualitativ hochwertiges Produktionsergebnis. Wie auch schon in den Vorversuchen ist eine leichte Abnahme des pH-Wertes zu beobachten, verursacht durch den sauren pH-Wert des Salates (JAY 1986, BANWART 1989) sowie ein relativ kontinuierlicher Anstieg des TOC-Gehaltes. Der Versuch repräsentiert damit einen gewöhnlichen Produktionsablauf.

Ozonversuch

Die Ergebnisse der Wasseranalysen sowie die gemessenen Redoxpotenziale und Ozonkonzentrationen des Waschwassers sind in **Tabelle 27** dargestellt.

Tabelle 27: Ergebnisse der Wasseranalysen des Ozonversuches

Zeit	Wasser- temperatur [°C]	Raum- temperatur [°C]	pH-Wert -	TOC [mg/l]	O ₃ - Konz. [ppm]	Redoxpotenzial [mV]
Beginn	5,0	9,0	7,94	7,74	-0,010	310
	6,0	8,0	7,75	65,0	0,020	281
	6,0	10,0	7,74	72,1	0,024	229
	6,0	10,0	7,31	185,8	0,029	240
	5,5	10,0	7,58	103,7	0,024	248
	5,5	11,0	7,61	152,2	0,038	243
	5,5	11,0	7,36	174,5	0,029	246
	5,5	11,5	7,56	214,4	0,027	249
Ende	5,5	11,5	7,60	242,7	0,036	250

kursiv– Messwerte vor Ozoneinsatz / Referenzen

Im Verlauf des Versuches stieg die Hallentemperatur um etwa 3°C an, die Wassertemperatur konnte aber stabil gehalten werden.

Die Messwerte um 7:15 Uhr zeigen den Wasserzustand vor Beginn der Salatwäsche, d.h. das Waschbecken ist lediglich mit Stadtwasser befüllt. Nach dem Produktionsbeginn (7:45 Uhr) wurde die nächste Wasserprobe um 8:00 Uhr genommen, direkt vor Inbetriebnahme des Ozongenerators. Hier erkennt man bereits eine leichte Absenkung des pH-Wertes, einen Anstieg des TOC-Gehaltes sowie ein Absinken des Redoxpotenzials. Nach Einschalten des Generators steigt der TOC-Gehalt bis zur Pause um 9:00 Uhr weiter an, sinkt aber während der Pause durch Zugabe von Stadtwasser wieder, so dass der Wert auch 15 Minuten nach der Pause immer noch deutlich unter dem Wert vor der Pause liegt. Dieser Wert wird erst ca. 1,5 Stunden nach der Pause wieder erreicht. Ein kontinuierlicher Anstieg des TOC-Gehaltes konnte jedoch nicht verhindert werden. Allerdings fiel das Redoxpotenzial nicht weiter ab, sondern blieb konstant zwischen 240 und 250 mV. Es ist daher davon auszugehen, dass es zukünftig sinnvoller ist, bereits vor der Salatwäsche mit der Ozonierung des Wassers zu beginnen, worauf aber in dem Versuch zugunsten der Messung von Referenzwerten verzichtet wurde.

1.7.4 Qualität des gelagerten Salates

Referenzversuch (ohne Ozon)

Am Folgetag des Versuches wurden die Salatproben aus den sterilen Probennahmetüten analysiert, um den Ausgangszustand des Salates zu bestimmen. Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen sind in **Tabelle 28** zusammengefasst, die Ergebnisse der Qualitätsanalyse in **Tabelle 29**.

Tabelle 28: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des Salates, Einlagerungszustand

Zeit Probennahme	Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	Untersuchte Keimgruppen			Salmonellen +/-
		<i>E. coli</i> KbE/g FM	Coliforme	Enterobacteriaceae	
7:15	$5,3 \cdot 10^4$	$< 10^2$	$2,2 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^5$	-
8:00	$8,6 \cdot 10^4$	$< 10^2$	$2,0 \cdot 10^2$	$6,0 \cdot 10^3$	-
9:00	$3,2 \cdot 10^4$	$< 10^2$	$2,0 \cdot 10^2$	$3,0 \cdot 10^2$	-
9:45	$1,2 \cdot 10^5$	$< 10^2$	$2,0 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^2$	-

Tabelle 29: Ergebnisse der Qualitätsanalyse des Salates, Einlagerungszustand

Zeit Probennahme	Vitamin C in mg/l	Saccharose in g/l	Glucose in g/l	Fructose in g/l	Gesamtzucker in g/l
7:15	37	2,32	12,07	15,21	29,60
8:00	43	2,75	12,00	14,93	29,68
9:00	42	2,39	11,50	14,57	28,46
9:45	42	1,98	9,63	12,17	23,79

Für die Zeit der Mindesthaltbarkeitsdauer wurden die abgepackten Salatproben bei 4°C gelagert und anschließend analysiert. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind für die mikrobiologischen Analysen in **Tabelle 30** dargestellt, die der Qualitätsanalyse in **Tabelle 31**.

Tabelle 30: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des Salates am Ende der MHD

Zeit Proben- nahme	Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	<u>Untersuchte Keimgruppen</u>			Salmonellen +/-
		<i>E. coli</i>	Coliforme	Enterobac- teriaceae	
		KbE/g FM			
7:15	$1,0 \cdot 10^8$	$< 10^2$	$4,5 \cdot 10^5$	$2,5 \cdot 10^5$	-
8:00	$6,0 \cdot 10^7$	$< 10^2$	$3,1 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^5$	-
9:00	$6,0 \cdot 10^7$	$< 10^2$	$3,4 \cdot 10^5$	$2,2 \cdot 10^5$	-
9:45	$1,2 \cdot 10^8$	$< 10^2$	$5,6 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^5$	-

Tabelle 31: Ergebnisse der Qualitätsanalyse des Salates am Ende der MHD

Zeit Probennahme	Vitamin C in mg/l	Saccharose in g/l	Glucose in g/l	Fructose in g/l	Gesamtzucker in g/l
7:15	40	0,60	8,18	10,58	19,37
8:00	27	0,53	7,63	10,29	18,45
9:00	39	0,66	8,12	10,82	19,61
9:45	25	0,54	7,59	10,36	18,48

Ozonversuch

In Analogie zum Referenzversuch wurden die Proben aus den sterilen Probennahmetüten am Folgetag des Versuches zur Bestimmung des Ausgangszustandes analysiert. Die Ergebnisse der mikrobiologischen Analysen sind in **Tabelle 32** zusammengefasst, die der Qualitätsanalyse in **Tabelle 33**.

Tabelle 32: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des Salates, Einlagerungszustand

Zeit Proben- nahme	Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	<u>Untersuchte Keimgruppen</u>			Salmonellen +/-
		<i>E. coli</i>	Coliforme	Enterobac- teriaceae	
		KbE/g FM			
Beginn	$1,0 \cdot 10^5$	$< 10^2$	$3,0 \cdot 10^4$	$3,0 \cdot 10^4$	-
	$1,6 \cdot 10^5$	$< 10^2$	$8,0 \cdot 10^3$	$9,0 \cdot 10^4$	-
	$2,0 \cdot 10^5$	$< 10^2$	$7,0 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^5$	-
Ende	$1,6 \cdot 10^7$	$< 10^2$	$1,0 \cdot 10^4$	$6,0 \cdot 10^4$	-
	$1,2 \cdot 10^5$	$< 10^2$	$1,0 \cdot 10^4$	$4,3 \cdot 10^4$	-

kursiv– Messwerte vor Ozoneinsatz / Referenzen

Tabelle 33: Ergebnisse der Qualitätsanalyse des Salates, Einlagerungszustand

Zeit Probennahme	Vitamin C in mg/l	Saccharose in g/l	Glucose in g/l	Fructose in g/l	Gesamtzucker in g/l
Beginn	49	2,21	10,68	12,83	25,72
	61	3,58	15,66	18,53	37,77
	51	2,41	11,24	13,52	27,17
	55	2,86	11,33	13,55	27,74
Ende	52	3,00	13,81	16,17	32,97

kursiv– Messwerte vor Ozoneinsatz / Referenzen

Für die Zeit der Mindesthaltbarkeitsdauer wurden die abgepackten Salatproben bei 4°C gelagert und anschließend analysiert. In **Tabelle 34** sind die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen dargestellt, in **Tabelle 35** die der Qualitätsanalyse.

Tabelle 34: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des Salates am Ende der MHD

Zeit Proben- nahme	Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl	Untersuchte Keimgruppen			Salmonellen +/-
		<i>E. coli</i>	Coliforme	Enterobac- teriaceae	
		KbE/g FM			
Beginn	$4,8 \cdot 10^7$	$< 10^2$	$3,5 \cdot 10^6$	$8,0 \cdot 10^5$	-
	$6,0 \cdot 10^7$	$< 10^2$	$2,8 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^6$	+ *
	$4,2 \cdot 10^7$	$< 10^2$	$6,7 \cdot 10^6$	$3,0 \cdot 10^5$	-
	$5,7 \cdot 10^7$	$< 10^2$	$6,8 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^6$	-
Ende	$8,7 \cdot 10^7$	$< 10^2$	$3,0 \cdot 10^6$	$1,7 \cdot 10^6$	-

kursiv– Messwerte vor Ozoneinsatz / Referenzen

* eine Salmonella-verdächtige Kolonie im Latex-Test nachgewiesen

Tabelle 35: Ergebnisse der Qualitätsanalyse des Salates am Ende der MHD

Zeit Probennahme	Vitamin C in mg/l	Saccharose in g/l	Glucose in g/l	Fructose in g/l	Gesamtzucker in g/l
Beginn	73	1,45	10,84	13,74	26,03
	62	1,17	9,86	12,55	23,58
	65	1,60	11,16	14,38	27,14
	56	1,30	12,40	15,66	29,36
Ende	55	1,65	15,74	20,07	37,46

kursiv– Messwerte vor Ozoneinsatz / Referenzen

Vergleich und Diskussion der Versuchsergebnisse

Die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl liegt am Tage des Referenzversuches bei $5,3 \cdot 10^4$ KbE/g FM und steigt während der Produktion innerhalb von 2 h um ca. 50 % auf $1,2 \cdot 10^5$ KbE/g FM an. Am Tage der Ozonierung wurde zu Beginn der Produktion ein Referenzwert (ohne Ozonierung) von $1,0 \cdot 10^5$ KbE/g FM ermittelt. Damit liegt die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl an diesem Versuchstag etwa 50 % über der des Referenzversuches. Durch den Ozoneinsatz konnte die Gesamtkeimzahl nicht gesenkt werden, auch hier steigen die Werte im Verlauf des Produktionsprozesses an und schwanken stark. So wurde ein Maximalwert von $1,6 \cdot 10^7$ KbE/g FM ermittelt. Gegen Ende des Ozonversuches war die aerobe mesophile Gesamtkeimzahl jedoch wieder auf $1,2 \cdot 10^5$ KbE/g FM gesunken und lag damit wieder im selben Bereich wie zum Produktionsbeginn.

Während der Lagerung des Salates bis zum Ende der MHD stiegen die Werte der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahlen im Referenzversuch von 10^4 KbE/g FM auf 10^7 bis 10^8 KbE/g FM an. Dies entspricht einer Zunahme von 3 bis 3,5 log-Einheiten. Alle Werte überschritten damit den Richtwert der DGHM von $5,0 \cdot 10^7$ KbE/g FM. Im Ozonversuch lagen die Ausgangswerte (bis auf eine Ausnahme) im Bereich von 10^5 KbE/g FM und stiegen während der Lagerung auf 10^7 KbE/g FM an, was einer Zunahme von 2,5 bis 3 log-Einheiten entspricht. Die Werte lagen damit im Bereich des Richtwertes, nur ein Wert lag mit $8,7 \cdot 10^7$ KbE/g FM darüber. Durch den Einsatz von Ozon ist es also gelungen, das Anwachsen der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl bis zum Ende der Lagerung um etwa 1 log-Einheit zu reduzieren.

E. coli und Salmonellen konnten in keiner Probe nachgewiesen werden und werden daher hier nicht weiter diskutiert.

Die Belastung des Salates mit Coliformen unterscheidet sich an beiden Versuchstagen stark. Beim Referenzversuch beträgt sie durchschnittlich 10^2 KbE/g FM, am Tage des Ozonversuches betrug die durchschnittliche Anzahl 10^4 KbE/g FM (bis auf eine Ausnahme). Ein Vergleich zwischen den Versuchen ist daher nicht direkt möglich. Am Ende der MHD wurden für den Referenzversuch durchschnittlich $4 \cdot 10^5$ KbE/g FM ermittelt, für den Ozonversuch lag die durchschnittliche Belastung an Coliformen bei $4,8 \cdot 10^6$ KbE/g FM. Dies entspricht einer Zunahme an Coliformen von 3,5 log-Stufen für den Referenzversuch und einer 2,5-log Stufen-Zunahme für den Ozonversuch. Eine Reduzierung des Wachstums um eine log-Stufe konnte damit durch den Ozoneinsatz erreicht werden.

Auch die Anzahl an Enterobacteriaceae lag am Tag des Referenzversuches mit durchschnittlich $5 \cdot 10^2$ KbE/g FM deutlich unter der des Ozonversuches mit $6,75 \cdot 10^4$ KbE/g FM. Der positive Einfluss des Ozons kommt hier jedoch noch deutlicher zum Tragen als bei der Belastung mit Coliformen. So betrug die Zunahme an Enterobacteriaceae über den Lagerungszeitraum im Ozonversuch lediglich eine log-Stufe, während sie beim Referenzversuch bei 2,5 log-Einheiten lag.

Übersichten der Zunahmen der mikrobiellen Belastungen in den Salatproben vom Tag der Einlagerung zum Ende der MHD sind in **Bild 42** und **Bild 43** dargestellt.

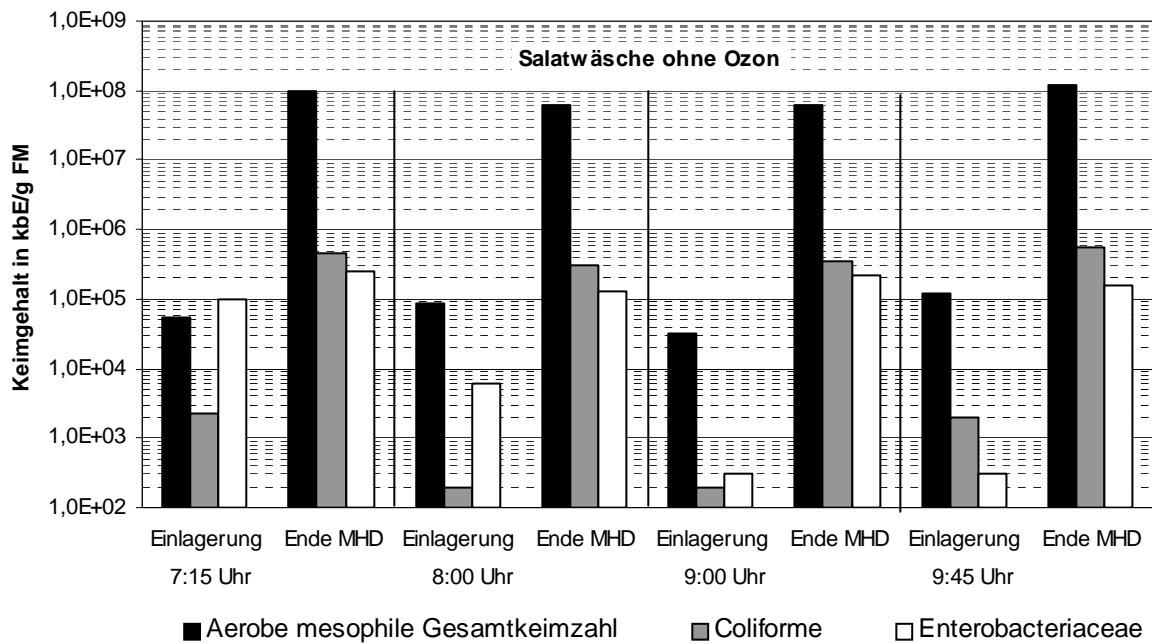


Bild 42: Gegenüberstellung der mikrobiellen Belastung der Salatproben des Referenzversuches am Tag der Einlagerung und nach 6-tägiger Lagerung bei 4°C

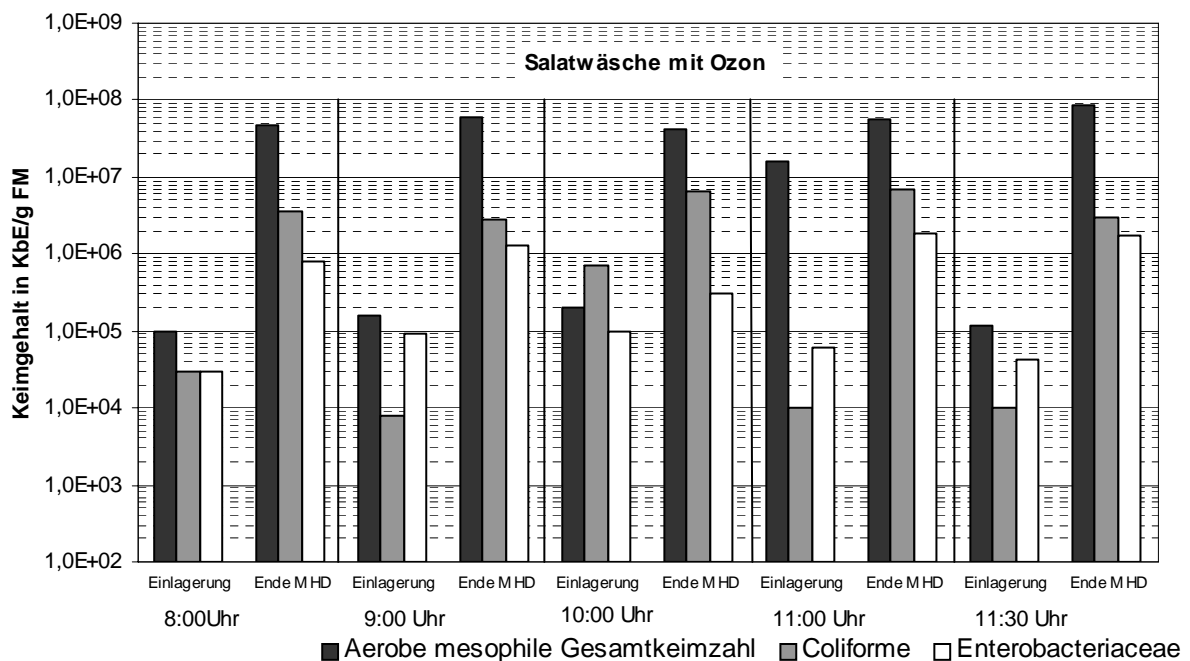


Bild 43: Gegenüberstellung der mikrobiellen Belastung der Salatproben des Ozonversuches am Tag der Einlagerung und nach 6-tägiger Lagerung bei 4°C

Die Untersuchungen der Inhaltsstoffe führten zu folgenden Ergebnissen: Die Vitamin C-Gehalte der Salatproben des Referenzversuches blieben während der Lagerung entweder konstant oder nahmen um bis zu 40 % ab. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit Beobachtungen anderer Forschergruppen (ZEPPLIN & ELVEHJEIN 1944). Der Vitamin C-Gehalt der ozonbehandelten Salatproben blieb während der Einlagerung konstant. Es wurde nur eine Ausnahme ermittelt, bei dieser Probe stieg der Vitamin C-Gehalt während der Lagerung um 27 % an. Dies muss wohl auf Inhomogenitäten des Probenmaterials zurückgeführt werden. Zu erkennen ist jedoch, dass die Ozonbehandlung keinen negativen Einfluss auf den Salat hatte, im Gegenteil, durch die Ozonbehandlung konnte die Qualität des Salates bezüglich des Vitamin C-Gehaltes verbessert werden.

Der Gesamt-Zuckergehalt der Salatproben des Referenzversuches sank während der Lagerung um 22 % bis 38 %. Dabei ist festzustellen, dass sich der Anteil an Saccharose bezogen auf den Gesamt-Zuckergehalt von ca. 8 % bis 9 % bei der Einlagerung auf 3 % bis 3,5 % am Ende des Lagerungszeitraumes verringert. Der Gehalt an Glukose und Fruktose steigt während dieses Zeitraumes von 40 % auf 41,5 % bzw. von 51 % auf 55,5 % bezogen auf den Gesamt-Zuckergehalt an. Dass der Gesamt-Zuckergehalt in Eisbergsalat während der Lagerung abnimmt, fanden auch (LOPEZ-GALVEZ *et al.* 1997). Im Ozonversuch blieb der Gesamt-Zuckergehalt, bis auf eine Ausnahme, konstant. Allerdings veränderte sich auch hier die prozentuale Zusammensetzung der Zuckerfraktionen in Analogie des Referenzversuches. Am Einlagerungstag lag der Gehalt an Saccharose in den Proben zwischen 9 % und 10 %, der Gehalt an Glukose zwischen 41 % und 41,5 % sowie der Fruktose-Gehalt bei etwa 49 %. Am Ende der Lagerung hatte sich das Verhältnis zugunsten von Glukose und Fruktose verschoben und lag zwischen 41 % und 42 % bzw. zwischen 53 % und 53,5 %. Der Saccharose-Gehalt sank gleichzeitig auf Werte zwischen 4,5 % und 6 %. Auch hier kann festgestellt werden, dass der Ozoneinsatz zum Qualitätserhalt des Salates beigetragen hat. Übersichten über die Veränderungen des Vitamin C-Gehaltes und des Gesamt-Zuckergehaltes während der Lagerung sind in **Bild 44** und **Bild 45** dargestellt.

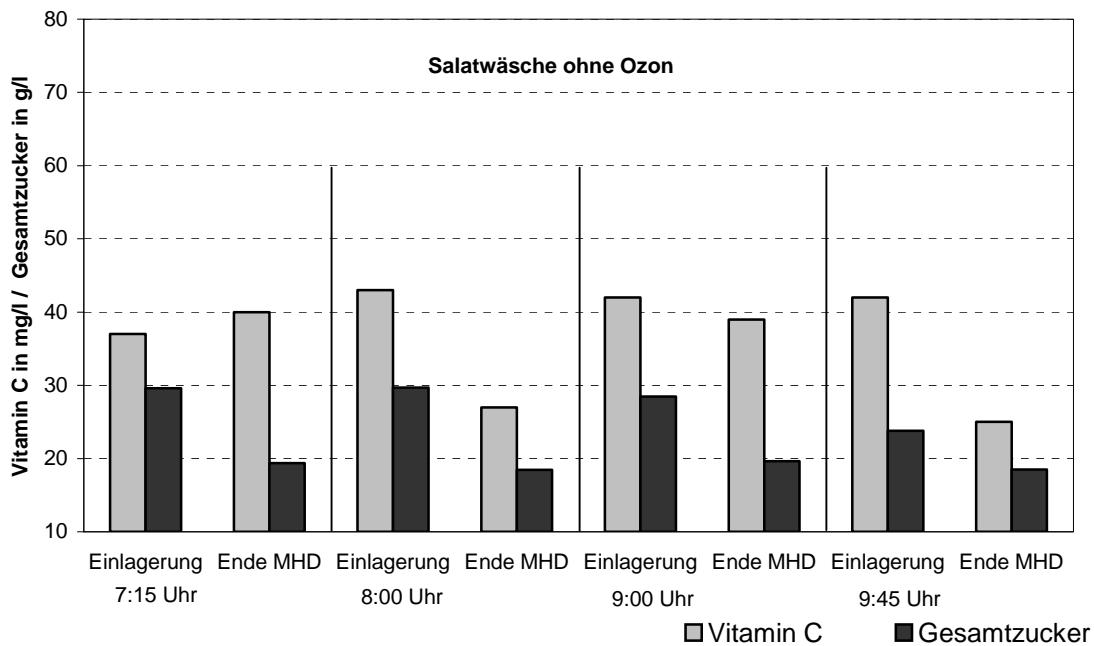


Bild 44: Gegenüberstellung der Inhaltsstoffe der Salatproben des Referenzversuches am Tag der Einlagerung und nach 6-tägiger Lagerung bei 4°C

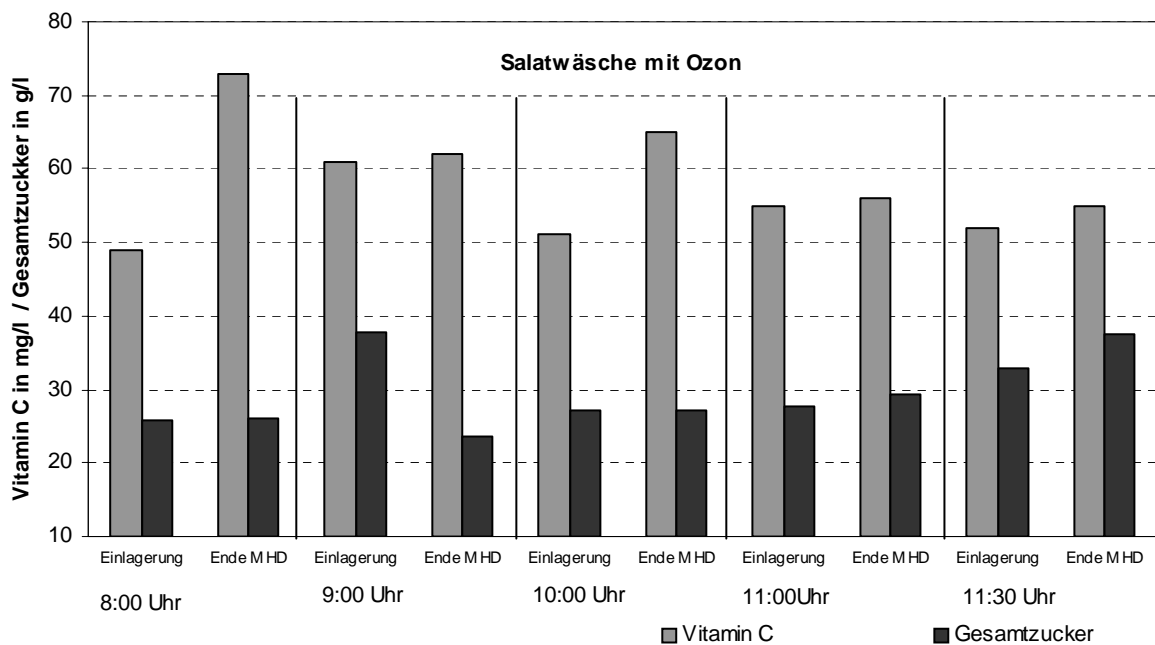


Bild 45: Gegenüberstellung der Inhaltsstoffe der Salatproben des Ozonversuches am Tag der Einlagerung und nach 6-tägiger Lagerung bei 4°C

Alle Salatproben wurden nach der Lagerung optisch bonitiert. Die Proben des Referenzversuches machten einen guten Gesamteindruck, es hatten sich jedoch schon vereinzelt braune Stellen gebildet. Die mit ozoniertem Wasser behandelten Proben machten einen sehr guten und knackigen Gesamteindruck, ein Auftreten von Verbräunungen konnte nicht beobachtet werden. Geschmacklich konnten keine Beeinträchtigungen festgestellt werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es durch den Einsatz von Ozon im Waschwasser gelungen ist, das Anwachsen der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl während der Lagerung um eine log-Einheit zu reduzieren, für die Coliformen konnte ebenfalls eine Reduzierung von einer log-Stufe beim Anwachsen erreicht werden. Der Zuwachs an Enterobacteriaceae konnte am stärksten gehemmt werden, hier lag der Zuwachs beim Referenzversuch bei 2,5-log Stufen, während er bei Ozoneinsatz bei nur einer log-Stufe lag. Gleichzeitig konnte der Verlust an Vitamin C und Zucker während der 6-tägigen Lagerung bei 4°C durch den Einsatz von Ozon unterbunden werden, so dass sowohl der Vitamin C- als auch der Gesamtzucker-Gehalt während der Lagerung nach Ozonbehandlung konstant blieben.

Um eine noch effektivere Behandlung mit Ozon zu erzielen, scheint es jedoch sinnvoll zu sein, bereits einige Zeit vor der Salatwäsche mit der Ozonierung des Waschwassers zu beginnen, um schon ein gewisses Ozonpotenzial im Wasser aufzubauen.

1.8 *Fuzzy-logic*-Steuerung der Ozonkonzentration in Waschlösungen

1.8.1 Grundlagen der *Fuzzy-logic*-Modellierung

Eine ausführliche Darstellung der *fuzzy-logic* findet sich bei (ZIMMERMANN 1991). Im folgenden sollen nur einige Begrifflichkeiten grundsätzlich erläutert werden.

Voraussetzung für die Anwendung von *fuzzy-logic* ist die Transformation von Zahlenwerten in linguistische Variablen. Diese linguistischen Variablen klassifizieren den Zahlenwert in alltäglicher Sprache, z.B. für Temperaturen sind die Variablen sehr kalt, kalt, warm, sehr warm denkbar. Neben dieser Einteilung muss noch die Zugehörigkeit eines Zahlenwerts zu dieser Variablen definiert werden. Die Zugehörigkeit (μ) wird als Wert zwischen 0 und 1 beschrieben. Hier zeigt sich auch der deutlichste Unterschied zur Dualen Logik: Während in der Dualen Logik ein Parameterwert entweder zu einer Menge gehört oder nicht, sind in der *fuzzy-logic* partielle Zugehörigkeiten eines Parameterwertes zu mehreren Mengen und zu unterschiedlichen Anteilen möglich. Die Abbildung der linguistischen Variablen und der Zugehörigkeitsfunktion stellen die *fuzzy*-Sets dar (**Bild 46**).

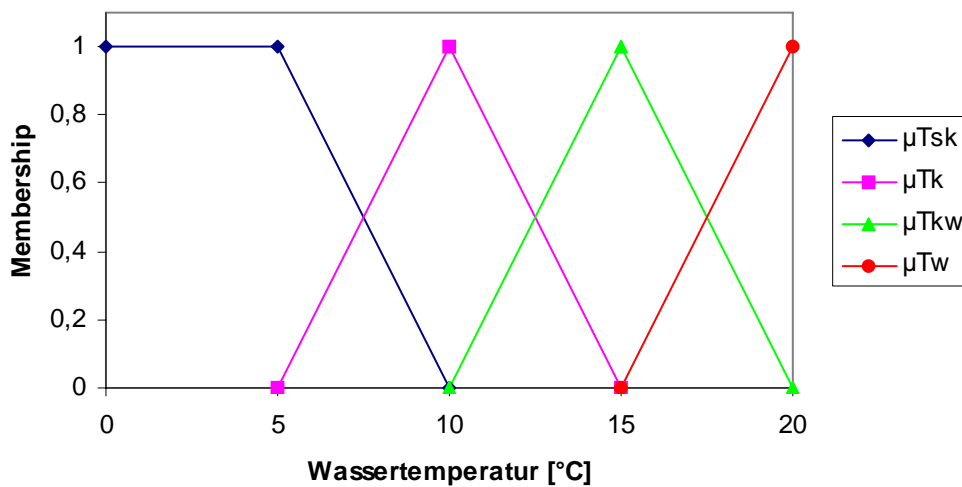


Bild 46: *fuzzy*-Sets der Wassertemperatur (sehr kalt, kalt, kalt-warm, warm) in einem Wertebereich von 0 bis 20°C

Im hier gezeigten Fall sind Dreiecks- und Trapezfunktionen für die Zugehörigkeitsfunktion ausgewählt worden. Neben diesen beiden einfachen Funktionen kann auch die Gauß Funktion genutzt werden. Diese Funktionen bieten sich an, falls kein anderer mathematischer Zusammenhang zwischen Wert und Zugehörigkeit zum *fuzzy*-Set bekannt ist.

Sind die Werte der Parameter in *fuzzy*-Sets transformiert, werden diese mit geeigneten Logik-Regeln verknüpft. Auch hier gilt, sind Zusammenhänge nicht explizit mathematisch formuliert, sind zuerst einfache Regeln wie **UND** und **ODER** einzusetzen:

Operatoren für **UND**

$$\mu_M(A \tilde{\wedge} B) = \min\{\mu_M(A); \mu_M(B)\} \quad \text{'Minimum Operator'}$$

$$\mu_M(A \tilde{\wedge} B) = \mu_M(A) \cdot \mu_M(B) \quad \text{'Algebraic Product'}$$

$$\mu_M(A \tilde{\wedge} B) = \max\{0; \mu_M(A) + \mu_M(B) - 1\} \quad \text{'Bounded Difference'}$$

Operatoren für ODER

$$\mu_M(A \tilde{\vee} B) = \max\{\mu_M(A); \mu_M(B)\} \quad \text{'Maximum Operator'}$$

$$\mu_M(A \tilde{\vee} B) = \mu_M(A) + \mu_M(B) - \mu_M(A) \cdot \mu_M(B) \quad \text{'Algebraic Sum'}$$

$$\mu_M(A \tilde{\vee} B) = \min\{1; \mu_M(A) + \mu_M(B)\} \quad \text{'Bounded Sum'}$$

Darüber hinaus sind **kompensatorische** Operatoren noch einfach anzuwenden:

$$\mu_M(A \tilde{\circ} B) = \lambda \left[\mu_M(A) \cdot \mu_M(B) \right] + (1 - \lambda) \left[\mu_M(A) + \mu_M(B) - \mu_M(A) \cdot \mu_M(B) \right] \quad \text{'Algebraic - Prod - Sum'}$$

$$\mu_M(A \tilde{\circ} B) = \left[\mu_M(A) \cdot \mu_M(B) \right]^{(1-\gamma)} \cdot \left[1 - \left((1 - \mu_M(A)) \cdot (1 - \mu_M(B)) \right) \right]^\gamma \quad \text{'Gamma - Operator'}$$

$$\mu_M(A \tilde{\circ} B) = \left[\mu_M(A)^{\delta_A} \cdot \mu_M(B)^{\delta_B} \right]^{(1-\gamma)} \cdot \left[1 - \left((1 - \mu_M(A))^{\delta_A} \cdot (1 - \mu_M(B))^{\delta_B} \right) \right]^\gamma \quad \text{'Gamma - Operator mit Gewichtung'}$$

Für die Auswahl geeigneter Operatoren können die folgenden Kriterien angesetzt werden:

- Empirische Relevanz
- Adaptionfähigkeit
- Mathematische Attraktivität
- Aggregationsverhalten
- Skalenniveau der Zugehörigkeitsfunktionen

Ein komplettes Modell ist dann die Kombination einer Vielzahl von Regeln. Die Anzahl dieser Regeln steigt mit der Anzahl der Eingangsvariablen und der Anzahl der *fuzzy*-Sets pro Variable. Dabei kommt es jedoch zu Dopplungen und zu unsinnigen Regeln. Um diese kann das Regelwerk dann reduziert werden.

Das Ergebnis eines solchen Regelwerks ist selbst wieder ein *fuzzy*-Set. Die Defuzzifizierung des Ergebnisses, d.h. die Abbildung des Ergebnisses in einen konkreten Wert, wird z.B. über die Bildung des Masseschwerpunkts des *fuzzy*-Sets erreicht.

1.8.2 Auswahl und Definition der Eingangsvariablen

Die Ozonkonzentration in der Waschlösung wird vorrangig durch die Umwälzung der Waschlösung und die Wassertemperatur bestimmt. Die Konzentration an TOC steht zum einen in Wechselwirkung mit der Ozonkonzentration, zum anderen wird die Konzentration an TOC durch den Salatdurchsatz und die Ergänzung der Waschlösung mit Frischwasser beeinflusst. In **Bild 47** sind die Zusammenhänge grafisch dargestellt, verstärkende Wirkungen sind mit einem '+' gekennzeichnet und abschwächende Wirkungen mit einem '-'.

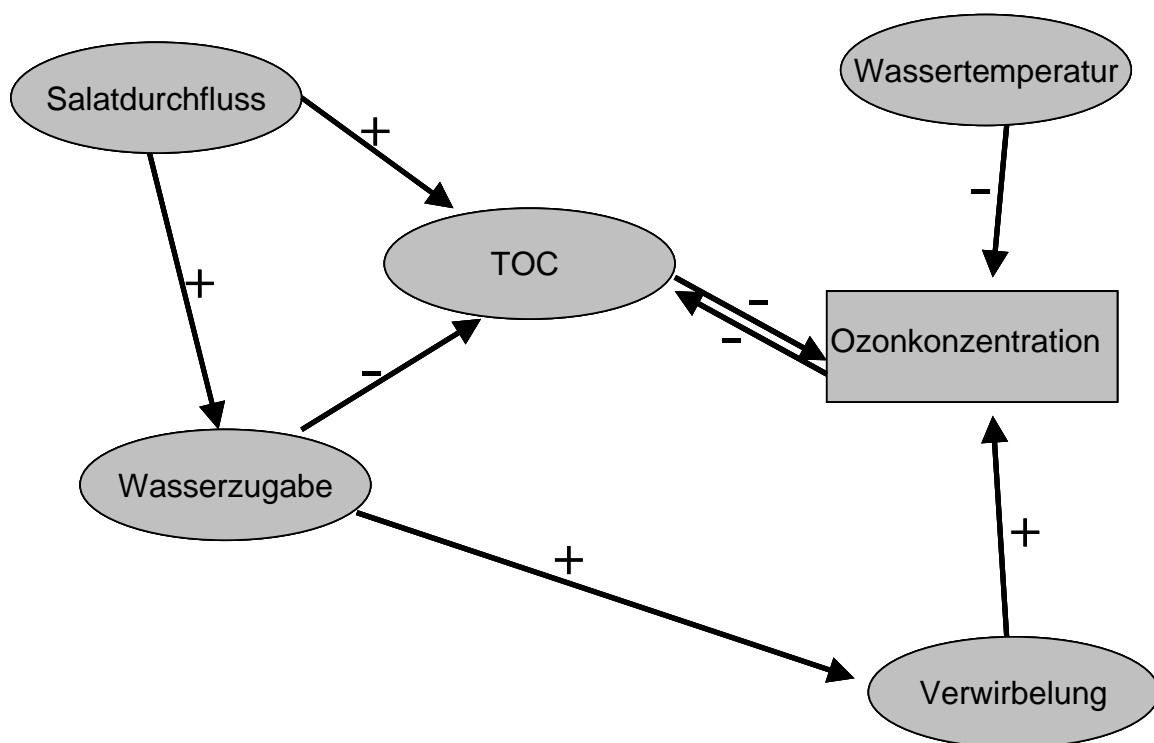


Bild 47: Beziehungsdiagramm der Eingabeparameter und der Ozonkonzentration. Verstärkende Beziehungen sind mit einem '+', abschwächende Beziehungen mit einem '-' gekennzeichnet

Die Definition der *fuzzy*-Sets sind auf Grund der Laborversuche und der Ergebnisse der Praxisversuche vorgenommen worden. In **Bild 48** sind alle Zugehörigkeitsfunktionen mit Ausnahme der Wassertemperatur (**Bild 46**) grafisch dargestellt.

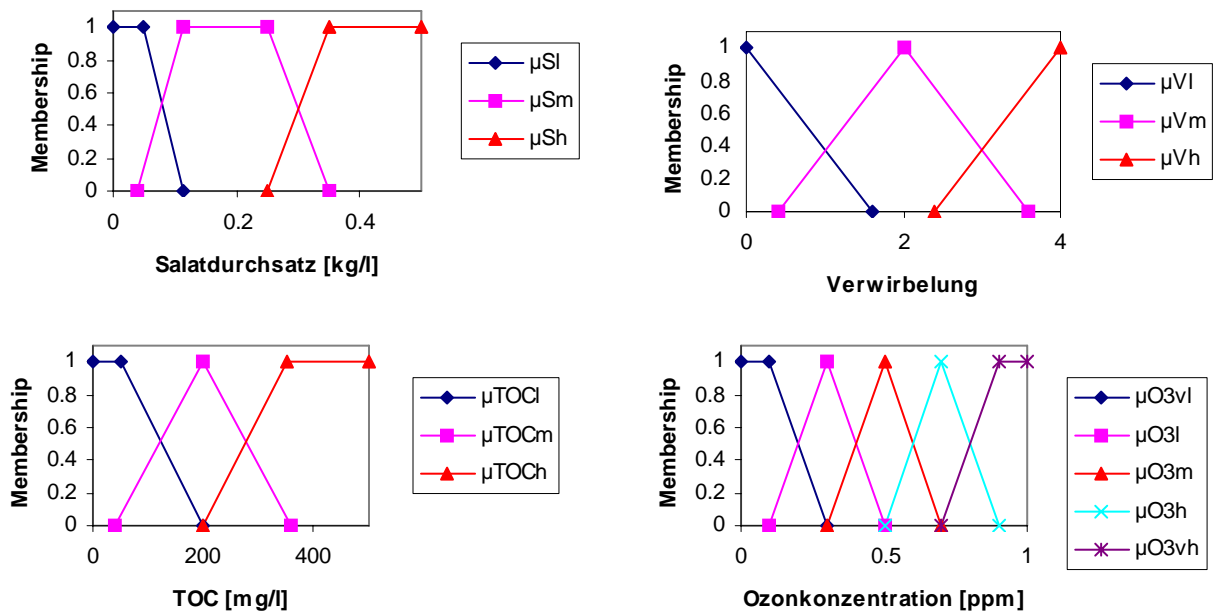


Bild 48: Die *fuzzy*-Sets der Inputparameter und des Outputs des *fuzzy*-Modells

1.8.3 Regelwerk der *Fuzzy-logic*-Modellierung

Die Beziehungen, die in **Bild 47** dargestellt sind, dienen als Grundlage zum Aufbau des Regelwerks.

Das Regelwerk wurde mit Hilfe der MatLab® Fuzzy Logic Toolbox aufgestellt. Es enthält 107 Regeln, wovon hier die Randwerte bestimmenden Regeln exemplarisch aufgeführt sind:

$$IF \mu_s^l \wedge \mu_T^{sk} \wedge \mu_V^l \wedge \mu_{TOC}^l \Rightarrow \mu_{O3}^{vh}$$

$$IF \mu_s^h \wedge \mu_T^w \wedge \mu_V^h \wedge \mu_{TOC}^h \Rightarrow \mu_{O3}^{vl}$$

In **Bild 49** bis **Bild 50** sind die Lösungsflächen für das Regelwerk für einige Kombinationen der Eingangsvariablen dargestellt.

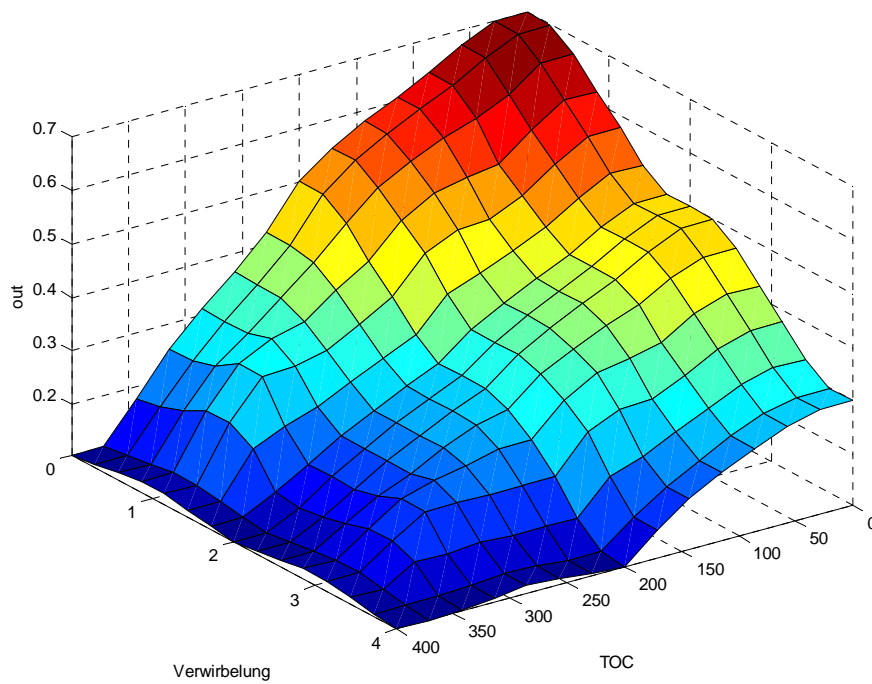


Bild 49: Oberfläche der Lösung bei Variation von TOC und Verwirbelung und konstantem Salzdurchfluss und Wassertemperatur

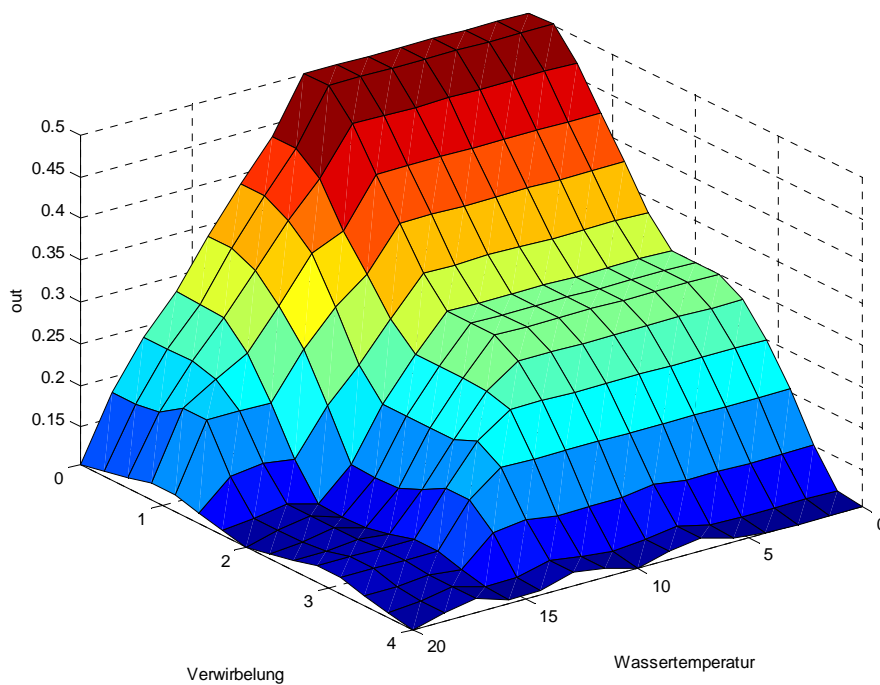


Bild 50: Oberfläche der Lösung bei Variation von Verwirbelung und Wassertemperatur und konstantem Salzdurchfluss und TOC

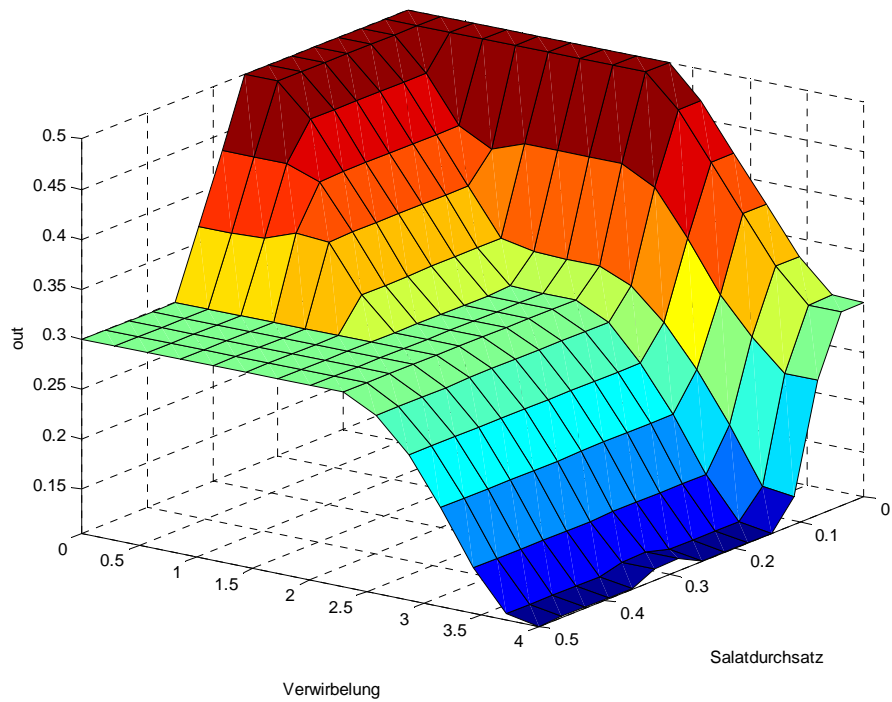


Bild 51: Oberfläche der Lösung bei Variation von Verwirbelung und Saladurchsatz und konstanten Wassertemperatur und TOC

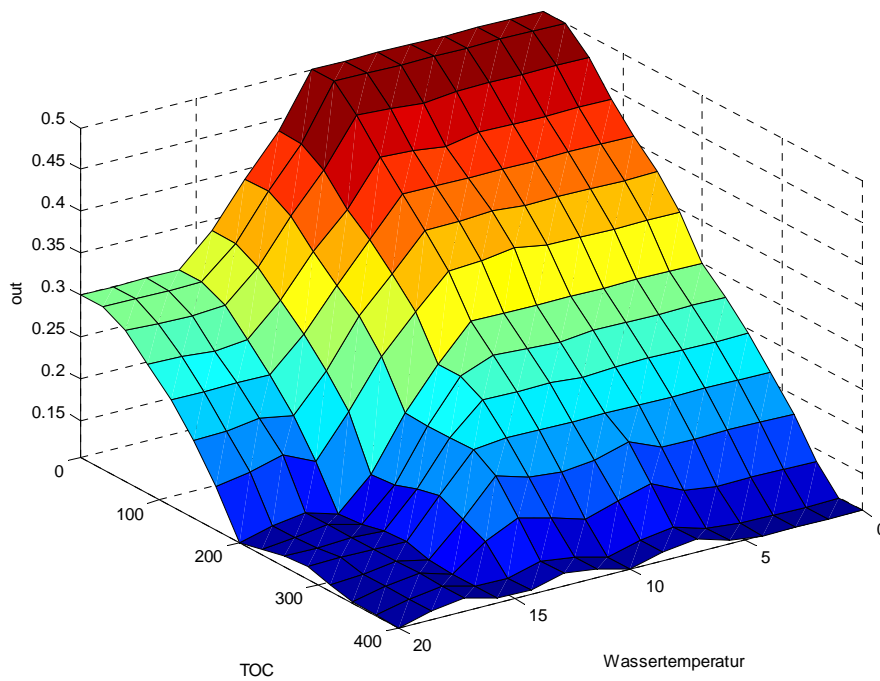


Bild 52: Oberfläche der Lösung bei Variation von Wassertemperatur und TOC und konstanten Verwirbelung und Saladurchsatz

1.8.4 Modelldiskussion

Das hier vorgestellte Modell der Ozonkonzentration in Waschlösungen beschreibt hinreichend die Einflüsse der Parameter, die auf die Ozonkonzentration einwirken. Berücksichtigt man weiter, dass die Konzentration an TOC im Praxisfall weitestgehend durch den aktuellen Salatdurchfluss bestimmt wird, könnte, bei Installation entsprechender Messeinrichtungen, auf die schwerfällige Bestimmung von TOC verzichtet werden.

In Bezug auf den Ozoninput, ist bei der Modellierung ein konstanter Fluss von 7,18 g/h angenommen worden. Für die Umsetzung des Modells in einen Steueralgorithmus wäre es notwendig, Messungen auch bei höheren Ozonleistungen durchzuführen. Der im Praxistest eingesetzte Ozongenerator war hier jedoch an seiner oberen Leistungsgrenze angelangt.

In Bezug auf die Wechselwirkung von Ozon und TOC wurde das Modell hier dahingehend vereinfacht, dass keine Rückkopplung angenommen wurde. Darüber hinaus sind hier zwei wesentliche Grundlagen zu beachten:

1. Die Modellierung bezieht sich auf TOC-Werte bei Ozonierung, d.h. diese Werte sind bereits das Resultat der Wechselwirkung von TOC und Ozon.
2. Die TOC-Anreicherung erfolgt relativ linear in Relation zum Salatdurchfluss und der relativen Wasserzugabe, dabei ist es unerheblich mit welchem Anfangsgehalt an TOC begonnen wird.

Die letzte Anmerkung führt außerdem zu dem Schluss, dass durch eine Ozonierung des Waschwassers vor Betriebsbeginn der TOC grundsätzlich auf Null gesenkt werden kann.

2 Abstract

During recent years, the consumption of prepacked 'ready to eat' produce has increased strongly in the industrial countries. The production process of such products is very simple: The fruits or vegetables are sorted, washed, dried, sorted and packaged. During storage, sensory changes, like browning and the occurrence of off-odor, and the microbial load are major quality criteria of packed cut Iceberg lettuce.

The application of chlorine and chloric compounds as sanitizers for quality assurance of perishable produce is a usual practice in several countries, for example in France and USA. However, chlorination causes the formation of hazardous by-products, such as carcinogenic trihalomethane. Consequently, the use of chlorine is restricted by German law. The strict restriction of the use of disinfecting agents during processing of 'ready to eat' produce is a problem for the manufacturer because they must guarantee a low microbial load until the end of shelf life. Produce quality is a very complex term, which includes produce appearance, feeling and taste, and the contamination with microorganisms. The consumer can only assess the optical appearance, but more important is the microbial load. The contamination with microorganisms causes the spoilage of the produce, but it can also be a risk for human health. Many outbreaks of diseases, caused by microorganisms are documented, for example, outbreaks of diarrhoea caused by *Escherichia coli* on lettuce.

To minimize the health risk for the consumer, the Committee of Food Microbiology and – Sanitation of the German Association for Sanitation and Microbiology recommended standards for prepacked mixed lettuce. These bacterial limits should be maintained by the producer. Hence, companies are inspected regularly.

The aim of the project was the modification of the washing process of perishable produce by integration of a disinfection step. Ozone was used to sanitise the surface of the products. Initially, experiments in the laboratory were arranged. The aim of these trials was to clarify the effect of ozonated water on relevant microorganisms. Furthermore, the effect of ozonated water on the quality of Iceberg lettuce (feature and ingredients) was evaluated. Based on these results, industrial trials were carried out. In the pre-existing washing process an ozone treatment was integrated. Finally a *fuzzy logic* control for the washing process was developed.

3 Literatur

- BANWART G.J. (1989):** Basic Food Microbiology 2nd ed. p. 117. New York, Van Nostrand Reinhold
- BEUCHAT L.R. (1996)** Pathogenic Microorganisms Associated with Fresh Produce. *Journal of Food Protection* 59 (2), 204-216
- BEUCHAT L.R., SOFOS J.N. (1999):** *Journal of Food Protection – Scientific editor's report – Volume 62, 1999. Journal of Food Protection* 62 (12), 1371
- BOTT R. (1991):** Ozone as a disinfectant in process plant, Extract A1 Food Control-1996, Butterworth-Heinemann Ltd., 1-3
- BURNETT S.L., BEUCHAT L.R. (2000):** Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in decontamination. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 25 (6), 281-287
- CARLIN F.C. ET AL. (1995):** Factors affecting the growth of *Listeria monocytogenes* on minimally processed fresh endive. *Journal of Applied Bacteriology* 78 (6), 636-646
- CURRIER R.P., TORRACO D.J., CROSS J.B. ET AL. (2001):** Deactivation of clumped and dirty spores of *Bacillus globigii*, *Ozone Science Eng*, 23 (4), 285-294
- DEL ROSARIO B.A., BEUCHAT L.R. (1995):** Survival and Growth of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in Cantaloupe and Watermelon. *J. Food Prot.* 58, 105-107
- DGHM (2003):** Veröffentlichte Richt- und Warnwerte zur Beurteilung von Lebensmitteln. Empfehlung der Fachgruppe Lebensmittel-Mikrobiologie und Lebensmittel-Hygiene der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM)
- FRANCIS G.A., O'BEIRNE D (1998):** Effects of the indigenous microflora of minimally processed lettuce on the survival and growth of *Listeria innocua*. *International Journal of Food Science and Technology* 33 (5), 477-488
- GARCIA-GIMENO R.M., ZURERA-COSANO G. (1997):** Determination of ready-to-eat vegetable salad shelf-life. *International Journal of Food Microbiology* 36, 31-38
- JAY J.M. (1986):** Modern food microbiology 3rd ed. p. 36, New York: Van Nostrand Reinhold
- KHADRE M.A., YOUSEF A.E. ET AL. (2001):** Microbiological aspects of ozone applications in food. A review. *Journal of Food Science* 66 (9), 1242-1252
- LMBG i.d.F.d.B.v. 9.12.1997, §14 Abs. 2 Nr.1, BGBl. I S. 2296
- LOPEZ-GALVEZ G., PEISER G., NIE X., CANTWELL M. (1997):** Quality changes in packaged salad products during storage. *Z. Lebenm. Unters. Forsch. A* 205, 64-72
- MERSON M.H., MORRIS G.K., SACK D.A., WELLS J.E., FEELEY J.C., SACK R.B., CREECH W.B., KAPIKIAN A.Z., GANGAROSA E.J. (1976):** Travelers diarrhea in Mexico. *N. Engl. J. Med.* 294, 1299-1305
- MINTZ E.D. (1994):** Enterotoxigenic *Escherichia coli*: an emerging foodborne pathogen. Abstract, Ann. Mtg., Center for Food Safety and Quality Enhancement, Univ. of Georgia, March 1-2
- RICE R.G. (2001):** Century 21 – Pregnant with Ozone. *Ozone Science and Engineering*, 24, 1-15
- RICE R.G., FARQUHAR J.W., BOLLYKY J.L. (1983):** Review of the Applications of Ozone for Increasing Storage Times of Perishable Foods. *Ozone Science and Engineering*, 4 (3), 147-163
- RIVA M., FRANZETTI L., GALLI A. (2001):** Effect of storage temperature on microbiological quality and shelf-life of ready to use salads. *Annals of Microbiology* 51, 39-52
- TAUXE R.V. (2002):** Emerging foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology* 78 (1-2), 31-41
- Verbraucherschutzbericht des Landes Brandenburg (2002)

ZEPPLIN M., ELVEHJEIN C.A. (1944): Effect of refrigeration on retention of ascorbic acid in vegetables. Food Res. 9, 100-111

ZIMMERMANN H.-J. (1991): Fuzzy Set Theory and Its Application 2nd ed. Kluwer Publ., Boston

Abkürzungsverzeichnis

DGHM		Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
DPD		Diethyl-p-phenylen-diamin
DSMZ		Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
DVGW		Deutsche Vereinigung des Gas- und Wasserfaches e.V.
FM		Frischmasse
HPLC		High Performance Liquid Chromatography
MAK		maximale Arbeitsplatzkonzentration
MHD		Mindesthaltbarkeitsdauer
n.n.		nicht nachweisbar
TOC	% FM	total organic carbon
TS	% FM	Trockensubstanz bei 105°C
VAAM		Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie
WHO		World Health Organization

Bildverzeichnis

Bild 1: Fließschema des Waschprozesses beim Industriepartner HAVITA; die zu entwickelnde Ozonapplikation ist rot gezeichnet	6
Bild 2: Fließschema der Herstellung von abgepackten Schnittsalaten	10
Bild 3: Ozonlabor	14
Bild 4: Ozongenerator, Vorderansicht	15
Bild 5: Ozongenerator, Rückansicht mit Umbauten	15
Bild 6: Ozongenerator „Coolzon 8“ mit vorgeschaltetem Grobschmutzfilter (rechts) und Kiesfilter (Mitte, blau)	15
Bild 7: Probenentnahme zur Bestimmung der Ozonkonzentration	17
Bild 8: Photometer LASA ^R 2 plus mit Probe.....	17
Bild 9: Ozonabbau in ungerührtem Wasser bei unterschiedlichen Wassertemperaturen	18
Bild 10: Ozonabbau in gerührtem Wasser (U = 500/min) bei unterschiedlichen Wassertemperaturen	19
Bild 11: Ozonabbau in gerührtem Wasser (U = 1000/min) bei unterschiedlichen Wassertemperaturen	19
Bild 12: Schematische Darstellung des Versuchsablaufes mit Keimlösungen.....	20
Bild 13: Einfluss unterschiedlicher Ozonkonzentrationen auf <i>Salmonella choleraesuis</i> DSM 554	21
Bild 14: Einfluss unterschiedlicher Ozonkonzentrationen auf <i>Bacillus cereus</i> DSM 31	22
Bild 15: Einfluss unterschiedlicher Ozonkonzentrationen auf <i>E. coli</i> DSM 1116.....	23
Bild 16: Einfluss unterschiedlicher Ozonkonzentrationen auf <i>Listeria monocytogenes</i> DSM 20600.....	24
Bild 17: Hemmung einzelner Teststämmen in Abhängigkeit von der Ozonkonzentration.....	25
Bild 18: Bedingungen für eine maximale Hemmung der Stämme in Keimsuspensionen.....	25
Bild 19: Inokulation von einem Blatt Eisbergsalat durch Eintauchen in eine Keimsuspension	26
Bild 20: Kopfsalat ‚Fiorella‘ in unterschiedlichen Wachstumsstadien in der Klimakammer	30
Bild 21: Selbstangezogener Kopfsalat, ‚Fiorella‘ 6 Wochen nach Aussaat	30
Bild 22: Aufbewahrungsbox mit Kopfsalat zur Etablierung der Mikroorganismen auf der Salatoberfläche	31
Bild 23: Kopfsalat ‚Fiorella‘, links: ozonbehandelter Salatkopf, rechts unbehandelte Referenz	34
Bild 24: Bestimmung des Vitamin C-Gehaltes mit dem Testset ‚Reflectoquant‘	35
Bild 25: HPLC-Anlage zur Zuckerbestimmung.....	35

Bild 26: Für die Vitamin C Analyse vorbereitete Proben Romana-Salat; links mit Mittelrippe, rechts ohne Mittelrippe	37
Bild 27: Waschvarianten der Serie 1	41
Bild 28: Waschvarianten der Serie 2	42
Bild 29: Waschvarianten der Serie 3.....	43
Bild 30: Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl auf Mischsalat nach Ozonbehandlung und unterschiedlichen Lagerbedingungen.....	45
Bild 31: mit Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto)	47
Bild 32: mit ozoniertem Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto).....	47
Bild 33: mit Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto)	49
Bild 34: mit ozoniertem Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto).....	49
Bild 35: mit Wasser und anschließend mit ozoniertem Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto).....	51
Bild 36: mit ozoniertem Wasser und anschließend mit Wasser gewaschener Eisbergsalat nach 7 Tagen Einlagerung bei 4°C (linkes Foto) und 21°C (rechtes Foto).....	51
Bild 37: Entwicklung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl während der Lagerung bei 4°C über einen Zeitraum von 7 Tagen nach unterschiedlichen Waschvarianten	52
Bild 38: Entwicklung der aeroben mesophilen Gesamtkeimzahl während der Lagerung bei 21°C über einen Zeitraum von 7 Tagen nach unterschiedlichen Waschvarianten.....	53
Bild 39: Ozongenerator „Coolzon 8“ mit vorgeschaltetem Grobschmutz- und Kiesfilter, gekoppelt an ein 1 m ³ Vorratsgefäß	55
Bild 40: Schematische Darstellung des Ozonkreislaufs im zweiten Waschbecken.....	59
Bild 41: Vernebelungsanlage über dem Ozonwaschbecken zum Niederschlagen ausgasenden Ozons (links) und mit zusätzlicher Aktivkohlenfilter-Abdeckung (rechts)	60
Bild 42: Gegenüberstellung der mikrobiellen Belastung der Salatproben des Referenzversuches am Tag der Einlagerung und nach 6-tägiger Lagerung bei 4°C	67
Bild 43: Gegenüberstellung der mikrobiellen Belastung der Salatproben des Ozonversuches am Tag der Einlagerung und nach 6-tägiger Lagerung bei 4°C	67
Bild 44: Gegenüberstellung der Inhaltsstoffe der Salatproben des Referenzversuches am Tag der Einlagerung und nach 6-tägiger Lagerung bei 4°C.....	69

Bild 45: Gegenüberstellung der Inhaltsstoffe der Salatproben des Ozonversuches am Tag der Einlagerung und nach 6-tägiger Lagerung bei 4°C.....	69
Bild 46: <i>fuzzy</i> -Sets der Wassertemperatur (sehr kalt, kalt, kalt-warm, warm) in einem Wertebereich von 0 bis 20°C	71
Bild 47: Beziehungsdiagramm der Eingabeparameter und der Ozonkonzentration. Verstärkende Beziehungen sind mit einem '+', abschwächende Beziehungen mit einem '-' gekennzeichnet	73
Bild 48: Die <i>fuzzy</i> -Sets der Inputparameter und des Outputs des <i>fuzzy</i> -Modells.....	74
Bild 49: Oberfläche der Lösung bei Variation von TOC und Verwirbelung und konstantem Salatdurchfluss und Wassertemperatur	75
Bild 50: Oberfläche der Lösung bei Variation von Verwirbelung und Wassertemperatur und konstantem Salatdurchfluss und TOC.....	75
Bild 51: Oberfläche der Lösung bei Variation von Verwirbelung und Salatdurchsatz und konstanten Wassertemperatur und TOC	76
Bild 52: Oberfläche der Lösung bei Variation von Wassertemperatur und TOC und konstanten Verwirbelung und Salatdurchsatz	76

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Richt- und Warnwerte der DGHM für Mischsalate Mittelwerte für abgepackte Ware bei Abgabe an den Verbraucher	12
Tabelle 2: Regelung der Leistung des Ozongenerator „Coolzon 8“	16
Tabelle 3: Daten der Teststämme	21
Tabelle 4: Hemmung einzelner Mikroorganismen auf Eisbergsalat durch ozoniertes Wasser nach 2 Minuten Einwirkzeit	27
Tabelle 5: Steigerung der Hemmung der Bakterienstämme durch den Einsatz ozonierten Wassers im Vergleich zu wassergewaschenen Referenzproben	27
Tabelle 6: Hemmung eines Bakterien-,Cocktails' auf Eisbergsalat durch ozoniertes Wasser nach 2 Minuten Einwirkzeit	28
Tabelle 7: Hemmung der Stämme im ‚Cocktail' auf Eisbergsalat nach Ozonbehandlung, nach Waschen mit Wasser (Waschzeit je 2 Minuten) und Vergleich der Waschleistung bei $c(O_3) = 1,0$ ppm	29
Tabelle 8: Hemmung der Stämme auf Eisbergsalat nach 2-minütiger Ozonbehandlung in Monokultur und im Cocktail	29
Tabelle 9: Hemmung der Bakterien auf Kopfsalat nach Waschprozess (Waschdauer 2 Minuten, $c(O_3) = 1,0$ ppm).....	31
Tabelle 10: Hemmung der Bakterien auf Kopfsalat nach Waschprozess (Waschdauer 2 Minuten, $c(O_3) = 1,5$ ppm).....	32
Tabelle 11: Hemmung der Bakterien im Cocktail auf Kopfsalat nach einstufigem Waschprozess (Waschdauer 2 Minuten) bei unterschiedlichen Ozongehalten.....	32
Tabelle 12: Hemmung der Bakterien auf Kopfsalat nach zweistufigem Waschprozess (Waschdauer: 2 Minuten mit Leitungswasser und 2 Minuten mit ozoniertem Wasser).....	33
Tabelle 13: Wiederfindungsrate an Vitamin C in entlang der Mittelrippe halbierten Eisbergsalatblättern	36
Tabelle 14: Wiederfindungsrate an Vitamin C von ungewaschenen und Wasser gewaschenen halbierten Blättern Romana-Salat	37
Tabelle 15: Wiederfindungsrate an Vitamin C in durch die Mittelrippe halbierten Romanablättern nach 0,5 bzw. 0,75 Minuten Waschzeit in ozoniertem Wasser	38
Tabelle 16: Wiederfindungsrate an Vitamin C in halbierten Romanablättern ohne Mittelrippe nach 0,5 bzw. 0,75 Minuten Waschzeit in ozoniertem Wasser	38
Tabelle 17: Wiederfindungsrate der Zuckerwerte von durch die Mittelrippe geteilten Romana-Salat-Blättern in Abhängigkeit von der Ozonkonzentration des Waschwassers nach einer Waschdauer von 0,75 min.....	39
Tabelle 18: Aerobe mesophile Gesamtkeimzahl und qualitative Bestimmung an <i>E. coli</i> auf Mischsalat nach Ozonbehandlung und unterschiedlichen Lagerbedingungen	44
Tabelle 19: Einfluss verschiedener Waschvarianten und Lagerungstemperaturen auf Qualitätsparameter von Eisbergsalat	46
Tabelle 20: Einfluss verschiedener Waschvarianten und Lagerungstemperaturen auf Qualitätsparameter von Salat.....	48

Tabelle 21: Einfluss verschiedener Waschvarianten und Lagerungstemperaturen auf Qualitätsparameter von Salat	50
Tabelle 22: Übersicht über die Wasseranalysen im 2. Salatwaschbecken bei HA-VITA.....	54
Tabelle 23: Veränderung von Redoxpotenzial und Ozonkonzentration in 1000 l Vorratsgefäß bei der Ozonierung mit dem Gerät „Coolzon 8“ bei unterschiedlichen Leistungsstufen.....	56
Tabelle 24: Veränderung von Redoxpotenzial und Ozonkonzentration in ca. 850 l Salatwaschwasser bei der Ozonierung mit dem Gerät „Coolzon 8“ bei Stufe 4	57
Tabelle 25: Ergebnisse der Wasseranalysen von Stadt- und Salatwaschwasser	58
Tabelle 26: Ergebnisse der Wasseranalysen des Referenzversuches (ohne Ozon).....	61
Tabelle 27: Ergebnisse der Wasseranalysen des Ozonversuches	62
Tabelle 28: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des Salates, Einlagerungszustand	63
Tabelle 29: Ergebnisse der Qualitätsanalyse des Salates, Einlagerungszustand	63
Tabelle 30: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des Salates am Ende der MHD.....	64
Tabelle 31: Ergebnisse der Qualitätsanalyse des Salates am Ende der MHD	64
Tabelle 32: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des Salates, Einlagerungszustand	64
Tabelle 33: Ergebnisse der Qualitätsanalyse des Salates, Einlagerungszustand	65
Tabelle 34: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen des Salates am Ende der MHD.....	65
Tabelle 35: Ergebnisse der Qualitätsanalyse des Salates am Ende der MHD	65

**In der Reihe
Bornimer Agrartechnische Berichte**

sind bisher erschienen:

Heft 1	Technik und Verfahren der Landschaftspflege	1992
Heft 2	Beiträge zur Lagerung und Verarbeitung pflanzenbaulicher Produkte	1993
Heft 3	Technik und Verfahren in der Tierhaltung	1993
Heft 4	Technik und Verfahren der Landschaftspflege und für die Verwendung der anfallenden Materialien	1994
Heft 5	Verfahrenstechnik der Aufbereitung, Lagerung und Qualitätserhaltung pflanzlicher Produkte	1994
Heft 6	Biokonversion nachwachsender Rohstoffe und Verfahren für Reststoffbehandlung	1994
Heft 7	Preußische Versuchs- und Forschungsanstalt für Landarbeit und Schlepperprüffeld in Bornim 1927 bis 1945	1995
Heft 8	Qualitätssicherung und Direktvermarktung	1996
Heft 9	Konservierende Bodenbearbeitung auf Sandböden	1996
Heft 10	Anwendung wärme- und strömungstechnischer Grundlagen in der Landwirtschaft	1996
Heft 11	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 1996	1996
Heft 12	Aufbereitung und Verwertung organischer Reststoffe im ländlichen Raum	1996
Heft 13	Wege zur Verbesserung der Kartoffelqualität durch Verminderung der mechanischen Beanspruchung	1997
Heft 14	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 1997	1997
Heft 15	Technische und ökonomische Aspekte der Nutztierhaltung in großen Beständen	1997
Heft 16	11. Arbeitswissenschaftliches Seminar	1997
Heft 17	Nachwachsende Rohstoffe im Land Brandenburg Stand Aktivitäten und Perspektiven einer zukunftsfähigen und umweltgerechten Entwicklung	1998
Heft 18	Qualität von Agrarprodukten	1998
Heft 19	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 1998	1998
Heft 20	Beiträge zur teilflächenspezifischen Bewirtschaftung	1998
Heft 21	Landnutzung im Spiegel der Technikbewertung – Methoden Indikatoren, Fallbeispiele	1998

Heft 22	Kriterien der Nachhaltigkeit in der Verfahrensentwicklung für die Nutztierhaltung	1999
Heft 23	Situation und Trends in der Landtechnik / Erneuerbare Energien in der Landwirtschaft	1999
Heft 24	Institut für Landtechnik der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin 1951 bis 1965	1999
Heft 25	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 1999 / 2000	2000
Heft 26	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2001	2001
Heft 27	Approaching Agricultural technology and Economic Development of Central and Eastern Europe	2001
Heft 28	6 th International Symposium on Fruit, Nut, and Vegetable Production Engineering	2001
Heft 29	Measurement Systems for Animal Data and their Importance for Herd Management on Dairy Cow Farms	2002
Heft 30	Produktion, Verarbeitung und Anwendung von Naturfasern	2002
Heft 31	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2002	2002
Heft 32	Biogas und Energielandwirtschaft - Potenzial, Nutzung, Grünes Gas TM , Ökologie und Ökonomie	2003
Heft 33	Sozioökonomische Aspekte zu Perspektiven des Offenlandmanagements	2003
Heft 34	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2003	2003
Heft 35	Energieholzproduktion in der Landwirtschaft Potenzial, Anbau, Technologie, Ökologie und Ökonomie	2004
Heft 36	High-Tech Innovationen für Verfahrensketten der Agrarproduktion. Statusseminar 2003	2004
Heft 37	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2004	2004
Heft 38	Die Landmaschinenprüfung in der DDR 1951-1991 und ihre Vorgeschichte	2004
Heft 39	Energieverlust und Schimmelpilzentwicklung bei der Lagerung von Feldholz-Hackgut	2005
Heft 40	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2005	2005
Heft 41	Demonstration der Langzeitwirkung bedarfsorientierter Fungizidbehandlung mit dem CROP-Meter	2005

Heft 42	Biochemicals and Energy from Sustainable Utilization of herbaceous Biomass (BESUB)	2005
Heft 43	Ozontes Waschwasser zur Qualitätssicherung leichtverderblicher Produkte - Entwicklung einer <i>Fuzzy-logic</i> -Steuerung des Waschprozesses	2005

Interessenten wenden sich an:

Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V.
Max-Eyth-Allee 100
14469 Potsdam

Tel.: (0331) 5699-820
Fax.: (0331) 5699-849
E-Mail: atb@atb-potsdam.de

Schutzgebühr: 13,- €