



ATB
Agrartechnik Bornim



**Entwicklung eines
Dekontaminationsverfahrens
für zukünftiges
Qualitätsmanagement im
Nacherntebereich**

**Development of a
decontamination process
to future quality management in
post harvest chains**

Gefördert vom:



Bornimer Agrartechnische Berichte

Heft 58

Potsdam-Bornim 2006

**Entwicklung eines
Dekontaminationsverfahrens
für zukünftiges
Qualitätsmanagement im
Nacherntebereich**

Development of a
decontamination process
to future quality management in post
harvest chains

Gefördert vom: 
Otto von Guericke

Bornimer Agrartechnische Berichte

Heft 58

Potsdam-Bornim 2006

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. agr. Martin Geyer

Projektpartner:

Schneider Fördertechnik GmbH
Herr Klaus Liesenfeld

Typographische Gestaltung:

Andrea Gabbert

Oktober 2006

Herausgegeben vom Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V. (ATB) mit Förderung im Rahmen des PROgramms „INNOvationskompetenz“ (PRO INNO) des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie (BMWi) im Rahmen eines Kooperationsprojektes (AiF) "Produktbezogene Vorlauforschung und anwendungsorientierte Basiskonzeption spezieller Verfahrensschritte in der Nachernte"
Förderprojekt-Nr.: 0096309KMD3

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 2006

Inhaltsverzeichnis

1	Motivation und beabsichtigte technologische Entwicklung	7
2	Ozon zur Hygienisierung von Möhren und Kartoffeln	9
2.1	Einleitung	9
2.2	Laboruntersuchungen zum Temperatur-, Konzentrations- und Zeitverhalten von Ozon	11
2.2.1	Material und Methoden	11
2.2.2	Untersuchungen zur Ozonstabilität in Wasser	12
2.2.3	Einfluss der Tropfengröße und des Düsenabstandes auf den Ozonabbau.....	15
3	Hygienisierung von Möhren und Kartoffeln mit ozontem Wasser.....	17
3.1	Auswahl der Testorganismen	17
3.1.1	<i>Pectobacterium carotovorum</i>	17
3.1.2	<i>Phytophthora infestans</i>	18
3.1.3	<i>Thielaviopsis basicola</i>	19
3.2	Kultivierung der Testorganismen	20
3.3	Anzucht der Teststämme für die Versuche	20
3.4	Einfluss von Ozon auf Testkeime in wässrigen Lösungen	22
3.4.1	Einfluss von Ozon auf <i>Pectobacterium carotovorum</i> in wässriger Lösung.....	22
3.4.2	Einfluss von Ozon auf <i>Phytophthora infestans</i> in wässriger Lösung.....	23
3.4.3	Einfluss von Ozon auf <i>Thielaviopsis basicola</i> in wässriger Lösung	25
3.4.4	Zusammenfassung	26
3.5	Einfluss von Ozon auf Mikroorganismen auf der Produktoberfläche	27
3.5.1	Verwendete Produkte und Herkünfte	27
3.5.2	Einfluss von Ozon auf <i>Pectobacterium carotovorum</i> auf Möhren	28
3.5.3	Einfluss von Ozon auf <i>Phytophthora infestans</i> auf Kartoffeln	29
3.5.4	Einfluss von Ozon auf <i>Thielaviopsis basicola</i> auf Möhren	31
3.5.5	Zusammenfassung	32
3.6	Bestimmung der Qualitätsparameter von Möhren und Kartoffeln nach Ozonbehandlung	33
3.6.1	Vitamin C Bestimmung in Möhren.....	33
3.6.2	Zucker-Bestimmung in Möhren	34
3.6.3	Atmung und Wasserdampfleitfähigkeit von Möhren.....	36
3.6.4	Vitamin C Bestimmung in Kartoffeln	37
3.6.5	Zusammenfassung	40

4	UV-Bestrahlung zur Hygienisierung von Möhren und Kartoffeln	40
4.1	Einleitung	40
4.2	Einfluss von ultraviolettem Licht auf Testkeime in wässrigen Lösungen	42
4.2.1	Einfluss von UV Licht auf <i>Pectobacterium carotovorum</i> in wässriger Lösung	42
4.2.2	Einfluss von UV Licht auf <i>Phytophthora infestans</i> in wässriger Lösung	43
4.2.3	Einfluss von UV Licht auf <i>Thielaviopsis basicola</i> in wässriger Lösung	44
4.2.4	Zusammenfassung	45
4.3	Einfluss von ultraviolettem Licht auf Mikroorganismen auf der Produktoberfläche	45
4.3.1	Einfluss von UV Licht auf <i>Pectobacterium carotovorum</i> auf Möhren.....	46
4.3.2	Einfluss von UV Licht auf <i>Phytophthora infestans</i> auf Kartoffeln	47
4.3.3	Einfluss von UV Licht auf <i>Thielaviopsis basicola</i> auf Möhren	49
4.3.4	Zusammenfassung.....	50
4.4	Bestimmung der Qualitätsparameter von Möhren und Kartoffeln nach UV-Bestrahlung.....	51
4.4.1	Vitamin C Bestimmung in Möhren	51
4.4.2	Vitamin C Bestimmung in Kartoffeln	52
4.4.3	Zusammenfassung.....	53
5	Einfluss von ozontem Wasser und ultraviolettem Licht in Kombination auf Mikroorganismen auf der Produktoberfläche.....	54
5.1	Einfluss auf <i>Pectobacterium carotovorum</i> auf Möhren.....	54
5.2	Einfluss auf <i>Phytophthora infestans</i> auf Kartoffeln	55
5.3	Einfluss auf <i>Thielaviopsis basicola</i> auf Möhren	58
5.4	Zusammenfassung.....	59
5.5	Bestimmung der Qualitätsparameter von Möhren und Kartoffeln nach einer kombinierten Behandlung mit ozontem Wasser und UV-Bestrahlung.....	60
5.5.1	Vitamin C Bestimmung in Möhren	60
5.5.2	Vitamin C Bestimmung in Kartoffeln	61
5.5.3	Zusammenfassung.....	62
5.6	Untersuchungen zur Nachhaltigkeit der entwickelten Methode zur kombinierten Ozon- und UV-Behandlung – Lagerungsversuche	62
5.6.1	Entwicklung von <i>Pectobacterium carotovorum</i> auf Möhren während der Lagerung.....	62
5.6.2	Entwicklung von <i>Phytophthora infestans</i> auf verletzten Kartoffeln während der Lagerung	63

5.6.3	Entwicklung von <i>Phytophthora infestans</i> auf unverletzten Kartoffeln während der Lagerung	66
5.6.4	Entwicklung von <i>Thielaviopsis basicola</i> auf Möhren während der Lagerung	67
5.6.5	Zusammenfassung	69
6	Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse.....	70
6.1	Vergleich der Hemmung der Testorganismen durch ozontes Wasser in Lösung und auf der Produktoberfläche	70
6.2	Vergleich der Hemmung der Testorganismen durch UV-C Bestrahlung in Lösung und auf der Produktoberfläche	71
6.3	Vergleich der nachhaltigen Hemmung der Testorganismen durch ozontes Wasser und UV-Bestrahlung in Kombination auf Möhren und Kartoffeln.....	72
7	Umsetzung der Ergebnisse in eine Pilotanlage	73
8	Literaturverzeichnis	74
	Bildverzeichnis.....	75
	Tabellenverzeichnis.....	77
	In der Reihe Bornimer Agrartechnische Berichte erschienen.....	79

Entwicklung eines innovativen Dekontaminationsverfahrens als Technologieantwort auf zukünftiges Qualitätsmanagement im Nacherntebereich

1 Motivation und beabsichtigte technologische Entwicklung

Zu den wichtigen gärtnerischen bzw. landwirtschaftlichen Kulturpflanzen gehören Wurzelfrüchte wie Möhren und Kartoffeln. Sie spielen wegen ihrer ernährungsphysiologischen Bedeutung eine tragende Rolle in der menschlichen Ernährung.

Möhren und Kartoffeln sind nach der Ernte sehr anfällig gegen Schädlinge und Krankheitserreger. Große Probleme bestehen insbesondere bei gewaschenen, aufbereiteten und verpackten Möhren und Kartoffeln auf ihrem Weg bis zum Verbraucher. Hohe Temperaturen und Luftfeuchte in den Verpackungen bieten Mikroorganismen beste Wachstumsbedingungen. Die Verderbnisrate ist, insbesondere in Jahren mit hohem Befallsdruck durch Mikroorganismen, sehr hoch.

Gegenwärtig sind die zur Verfügung stehenden Möglichkeiten zur Bekämpfung von Erkrankungen bei Wurzelfrüchten stark limitiert und beschränken sich auf eine verletzungsrme Ernte, schnelles Abtrocknen der Früchte und eine gute Durchlüftung im Lager. Trotz dieser Maßnahmen sind die Verluste durch mikrobiellen Befall sehr hoch. EU-weit werden die Verluste an Lebensmitteln durch Mikroorganismen auf etwa 30% geschätzt.

Das Ziel des FuE-Vorhabens war es, die derzeit beträchtlichen, mikrobiell bedingten Verluste von Möhren und Kartoffeln auf dem Weg von der Aufbereitung über den Handel zum Verbraucher zu minimieren. Im Rahmen des von der Fa. Schneider Förder-technik GmbH und dem ATB beantragten Kooperationsprojektes sollte daher das Potenzial von ozontem Wasser zur keimabtötenden Behandlung von Wurzelgemüseoberflächen nach der Wäsche untersucht werden, um, basierend auf grundlagenwissenschaftlichen Experimenten, eine Desinfektionsanlage im Pilotmaßstab zu entwickeln.

Obwohl im Bereich der mikrobiellen Qualitätssicherung ein erhöhter Bedarf seitens der verarbeitenden Betriebe besteht, ist eine derartige Desinfektionsanlage bisher nicht auf dem Markt erhältlich und sollte im Rahmen des innovativen Lösungskonzeptes entwickelt werden.

Beispiel für eine Möhrenerkrankung ist die Schwarzfleckigkeit, verursacht durch die Pilze *Alternaria radicina* und *Mycocentrospora acerina*, die zum Verderb der Möhren führt.

Beispiele für Erkrankungen bei Kartoffeln sind die Schwarzbeinigkeit und die Nassfäule, hervorgerufen durch die Bakterien *Pectobacterium carotovorum* spp. *carotovorum* und *atroseptica*. Diese sind besonders gefährlich, da sie zum Totalverlust der Ernte führen können. Befallen werden sowohl die Kartoffelpflanze als auch die Knollen. Andere Erkan-

kungen, wie die Schleimkrankheit, hervorgerufen durch das Bakterium *Ralstonia solanacearum*, unterliegen der Meldepflicht und haben ein 4-jähriges Anbauverbot zur Folge.

Die Verbreitung der Bakterien ist vielfältig. Neben der Übertragung auf dem Feld durch das Bodenwasser können die Knollen im Lager, beim Sortieren und Abpacken kontaminiert und infiziert werden. An der letztgenannten Stelle sollte der Lösungsansatz greifen und die Übertragung der Mikroorganismen durch Desinfektion mit ozontem Wasser minimiert werden. Bekannt ist, dass Ozon sowohl bakterizid als auch fungizid wirkt. Darauf aufbauend sollte ermittelt werden, bei welchen Ozonkonzentrationen und Einwirkdauern eine Wirkung auf die bei Möhren und Kartoffeln relevanten Mikroorganismen zu verzeichnen ist, und daraus, gemeinsam mit dem Industriepartner, eine Methode zur Applikation des Ozons auf der Gemüseoberfläche erarbeitet werden. Daraus resultierend sollte von der Fa. Schneider Fördertechnik GmbH eine Desinfektionsanlage im Pilotmaßstab entwickelt und gebaut werden.

Das vom ATB zu bearbeitende **Teilprojekt „Untersuchungen zur Wirksamkeit von Ozon, Methodenentwicklung zur Ozonapplikation“** soll folgende Aufgaben erfüllen:

Die zielgerichtete Behandlung von Wurzelgemüse mit Ozon verlangt grundlegendes Wissen über die Zusammenhänge zwischen Ozonkonzentration, Behandlungszeit, Wassertemperatur, Wasserverschmutzung und der Schädigung von Mikroorganismen. Dabei müssen die physiologischen (Oberflächenbeschaffenheit der Produkte, z.B. bei Früh- und Lagerkartoffeln) bzw. qualitativen Eigenschaften der Produkte berücksichtigt werden. Oberstes Gebot ist es, das Gemüse bei der Behandlung nicht zu schädigen.

Grundlegend für die Prozessauslegung sind die vom ATB zu ermittelnden Inaktivierungskinetiken, wobei folgende Parameter zu bestimmen sind:

- die letale Ozonkonzentration, bei der eine Schädigung der relevanten Keime auf der Produktoberfläche eintritt,
- die Abhängigkeiten der Löslichkeit von Ozon in Wasser (u.a. Temperatur, Wasserbewegung)
- die konzentrationsabhängige Behandlungszeit unter Berücksichtigung des Inaktivierungserfolges.

Aus der Gesamtheit der Ergebnisse sollen die idealen Prozessbedingungen ermittelt und in ein Anlagenmodell umgesetzt werden.

Im Anschluss an die Laborversuche soll eine geeignete verfahrenstechnische Methode entwickelt werden, die diesen Ansprüchen genügt und einen geringen Ozonverlust durch Ausgasen aufweist, d.h. eine hohe Arbeitssicherheit an der Anlage gewährleistet.

Die gewonnenen Ergebnisse sollen kontinuierlich an die Fa. Schneider Fördertechnik GmbH weitergegeben und diskutiert werden, die unter Zuhilfenahme der Forschungsergebnisse eine Desinfektionsanlage im Pilotmaßstab konstruieren, bauen und optimieren soll. Die Funktionstüchtigkeit und Sicherheit der Pilotanlage soll dann im Versuchsbetrieb getestet werden. Dies ist notwendig, da in den Laborversuchen zwar die optimale

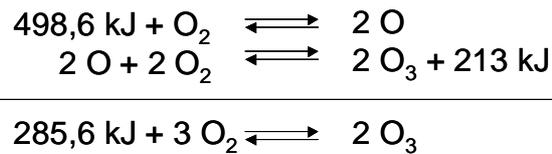
Ozonkonzentration für die Gemüsebehandlung ermittelt und Sicherheitsempfehlungen erarbeitet werden, es aber nicht sichergestellt werden kann, dass bei der Maßstabsvergrößerung die notwendige Ozonkonzentration für den Desinfektionsprozess aufrechterhalten werden kann. Ursache hierfür können Wechselwirkungen zwischen dem Ozon und Inhaltstoffen der Möhren und Kartoffeln sein, die durch Verletzungen der Wurzelfrüchte, Temperaturveränderungen der Desinfektionsflüssigkeit sowie Störeffekte durch Schmutz/Erdbpartikel bei unzureichender Wäsche auftreten können. Die Pilotanlage soll im ATB aufgebaut, das Wurzelgemüse im laufenden Betrieb beprobt und die Einhaltung der Sicherheitsstandards für Ozon überprüft werden.

2 Ozon zur Hygienisierung von Möhren und Kartoffeln

2.1 Einleitung

Am 13.3.1839 berichtete der Chemiker Christian Friedrich Schoenbein vor der Naturforschenden Gesellschaft in Basel über die Entdeckung eines neuen Stoffes, der sich bei der Elektrolyse von Wasser an der positiven Platin-Elektrode neben Sauerstoff bildete, und gab diesem Stoff den Namen Ozon (gr. ozein = riechen). Die erste schriftliche Mitteilung folgte 1840 [1]. Die erste technische Apparatur zur Erzeugung von Ozon wurde 1857 von Werner von Siemens gebaut. 1880 berichtete der irische Chemiker Walter N. Hartley über das Absorptionsspektrum des Ozons, dessen Schwerpunkt bei 265 nm lag: das Ozon war also für die Absorption des Sonnenlichtes im ultravioletten Bereich verantwortlich. Die erste exakte Bestimmung des Molekulargewichtes von Ozon gelang A. Ladenburg erst in den Jahren 1898/99 ($M=48$). Eine erste umfassende Darstellung zur Ozon-Chemie erschien im Jahre 1916 [2]. Schnell entwickelte sich Ozon nachfolgend in der organischen Chemie zum klassischen Reagenz für die Spaltung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen. Die Untersuchung der bei dieser Ozonolyse entstehenden Spaltungsprodukte, wie Aldehyde und Ketone, ermöglicht eine Strukturbestimmung des Ausgangsmoleküls [3]. Die starke Oxidationswirkung des Ozons wird auch in der organischen Synthese genutzt [4]. Seit einigen Jahren wird Ozon ebenfalls in der Trinkwasseraufbereitung eingesetzt, da man schnell erkannte, dass dieses starke Oxidationsmittel fungizid, viruzid und bakterizid wirkt.

Die Darstellung von Ozon erfolgt in der Regel über stille elektrische Entladung aus molekularem Sauerstoff O_2 . Dabei wird die Bindung eines Sauerstoffmoleküls aufgebrochen, so dass man 2 Sauerstoffatome erhält, die in einer zweiten Reaktion mit zwei weiteren Sauerstoffmolekülen zu zwei Ozonmolekülen reagieren. Die erste Reaktion ist dabei endotherm, d.h. die Reaktion findet nur unter Energiezufuhr statt, die zweite Reaktion ist exotherm, so dass in diesem Schritt wieder Energie frei wird.



In der Gesamtbilanz muss eine Bildungswärme von 142,8 kJ/mol aufgewendet werden. Ozon gehört daher zu den thermodynamisch instabilen (kinetisch metastabilen) Verbindungen und neigt unter Bildung von Sauerstoff zum Zerfall. Die Zerfallsgeschwindigkeit ist dabei stark abhängig von den äußeren Faktoren. Im Wasser zählen dazu u.a. die Temperatur und die Wasserbewegung.

Das Einbringen von Ozon in Wasser ist nicht in unbegrenztem Umfang möglich, sondern unterliegt physikalischen Gesetzmäßigkeiten. Diese sind ursächlich für die starke Temperaturabhängigkeit der Löslichkeit von Ozon in Wasser. Mit steigender Wassertemperatur nimmt die Löslichkeit des Ozons stark ab (siehe **Bild 1**), so dass ein Arbeiten mit ozontem Wasser nur bei niedrigen Wassertemperaturen von bis zu 10°C sinnvoll ist.

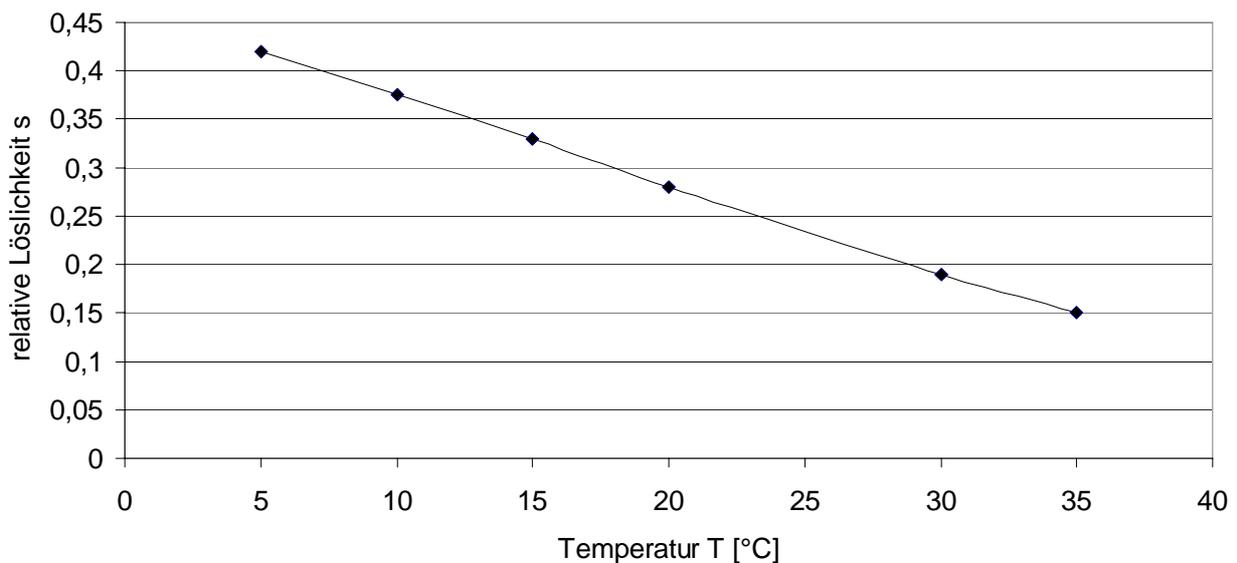


Bild 1: Ozonlöslichkeit s in Abhängigkeit von der Temperatur der Lösung

Ein weiterer Aspekt, der nicht unbeachtet bleiben darf, ist die große Reaktivität von Ozon gegenüber ungesättigten Kohlenwasserstoffverbindungen. Hier greift das Ozon gezielt die Doppelbindungen an und bricht diese auf. Dadurch entstehen neue Verbindungen, bevorzugt Alkohole, Ketone und Aldehyde mit geringeren Molekulargewichten, die leichter biologisch abbaubar sind. Für den Einsatz in der Gemüsewäsche ist diese Tatsache von großer Bedeutung, da Ozon somit auch mit allen weiteren Verunreinigungen des Waschwassers reagiert, wenn es sich dabei um Verbindungen handelt, die Doppelbindungen enthalten. Dies resultiert in einem unerwünschten Ozonverbrauch, dessen Höhe nicht abschätzbar ist.

Um ozonhaltiges Wasser zur Hygienisierung von Wurzelgemüse einsetzen zu können, bedarf es daher einer Reihe von Untersuchungen, in denen die oben genannten Einflussfaktoren untersucht werden müssen.

2.2 Laboruntersuchungen zum Temperatur-, Konzentrations- und Zeitverhalten von Ozon

Der Einsatz von ozontem Wasser zur Hygienisierung von gartenbaulichen Produkten erfordert grundlegendes Wissen über das Verhalten von Ozon in Wasser. Großen Einfluss auf die Ozonkonzentration haben dabei die Temperatur des Wassers und die Wasserbewegung. Für die Entwicklung einer Dekontaminationsanlage sind daher entsprechende Kenntnisse unabdingbar. In Laborversuchen wurden daher im ATB Versuche zum Abbau von Ozon im Wasser durchgeführt, wobei variierende Wassertemperaturen und Turbulenzen untersucht wurden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden dann an die Firma Schneider Fördertechnik weitergegeben und dienten als Grundlage zur Entwicklung einer Waschanlage.

2.2.1 Material und Methoden

Ozonerzeugung

Für die Laborversuche wurde der Ozongenerator ‚Bewazon 1‘ (BWT, BRD) mit einer Ozonleistung von 0,02 g/min Ozon eingesetzt. Die Temperatur des Wassers wurde über den angeschlossenen Kryo-Thermostaten 45 (Haake, BRD) reguliert. Die Ozonerzeugung an der von der Firma Schneider entwickelten Versuchsstrecke erfolgte mit dem Ozongenerator ‚Legiomed‘ (BWT, BRD) mit einer Ozonleistung von 0,12 g/min Ozon. Die Temperatur des Wassers wurde ebenfalls über den angeschlossenen Kryo-Thermostaten 45 (Haake, BRD) reguliert.

Ozonmessverfahren

Die Bestimmung der Ozonkonzentrationen im Wasser erfolgte photometrisch. Dazu wurden 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 (Bruno Lange, BRD) und dem dazu angebotenen Küvettentest Chlor/Ozon 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 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$
3,5 g KH_2PO_4 pro Liter

DPD-Reagenz: 4 g H_2SO_4 (97%) im 100 ml Kolben mit H_2O verdünnen;
1,5 g DPD-Sulfat dazugeben und auf 100 ml auffüllen

Durchführung:

In einem 25 ml-Kolben wurden 5 ml Pufferreagenz vorgelegt, dazu wurde möglichst schnell 20 ml ozonhaltige Lösung gegeben, d.h. der Kolben wurde bis zur Markierung aufgefüllt. Nach Durchmischen wurden 0,2 ml DPD-Reagenz einpipettiert, geschüttelt und nach 2 Minuten vom Zeitpunkt der DPD-Zugabe im Photometer bei 510 nm gemessen.

2.2.2 Untersuchungen zur Ozonstabilität in Wasser

Versuchsdurchführung:

Es wurden Versuche bei folgenden Wassertemperaturen durchgeführt: 20°C, 15°C, 10°C und 5°C. Dazu wurde ozontes Wasser dem Ozongenerator entnommen. Das ozonte Wasser wurde in 2 Liter Bechergläser gefüllt. Um die Wassertemperatur während der Messungen konstant zu halten, wurden die ozonhaltigen Wasserproben mit Eiswasser gekühlt. Die Konstanz der Probertemperatur wurde mit einem Thermometer geprüft. Um das Ausgasen von Ozon aus dem Wasser weitgehend zu vermeiden, wurden die Bechergläser mit Uhrgläsern abgedeckt.

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

Damit ergaben sich 12 Abbauvarianten, die untersucht wurden.

Ergebnisse:

Vergleicht man die Abbaukurven der ungerührten Wasserproben miteinander (**Bild 2**) kann festgestellt werden, dass die Ozon-Abbaugeschwindigkeit mit zunehmender Wassertemperatur steigt.

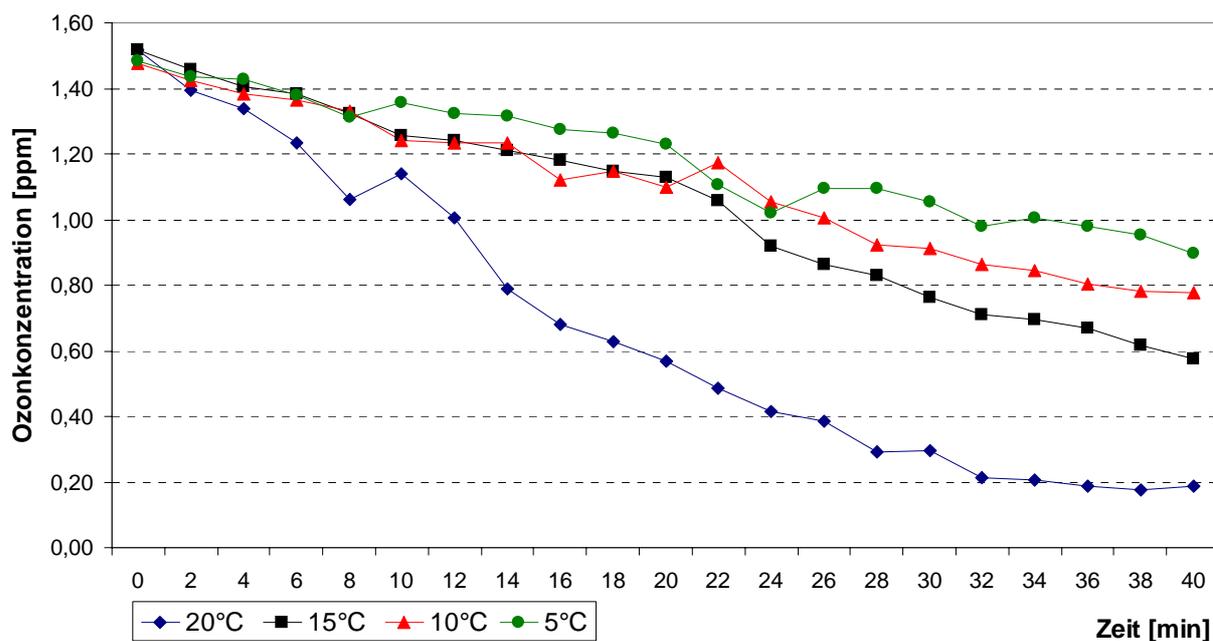


Bild 2: Ozonabbau in ungerührtem Wasser bei unterschiedlichen Wassertemperaturen

Entsprechendes gilt für die unterschiedlichen Rührgeschwindigkeiten. Je turbulenter die Bewegungen im Wasser sind, desto schneller findet der Abbau von Ozon im Medium statt (**Bild 3** und **Bild 4**). Benötigt man für den kompletten Abbau des Ozons in einer gerührten ($U = 1000/\text{min}$) Wasserprobe (**Bild 4**) 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.

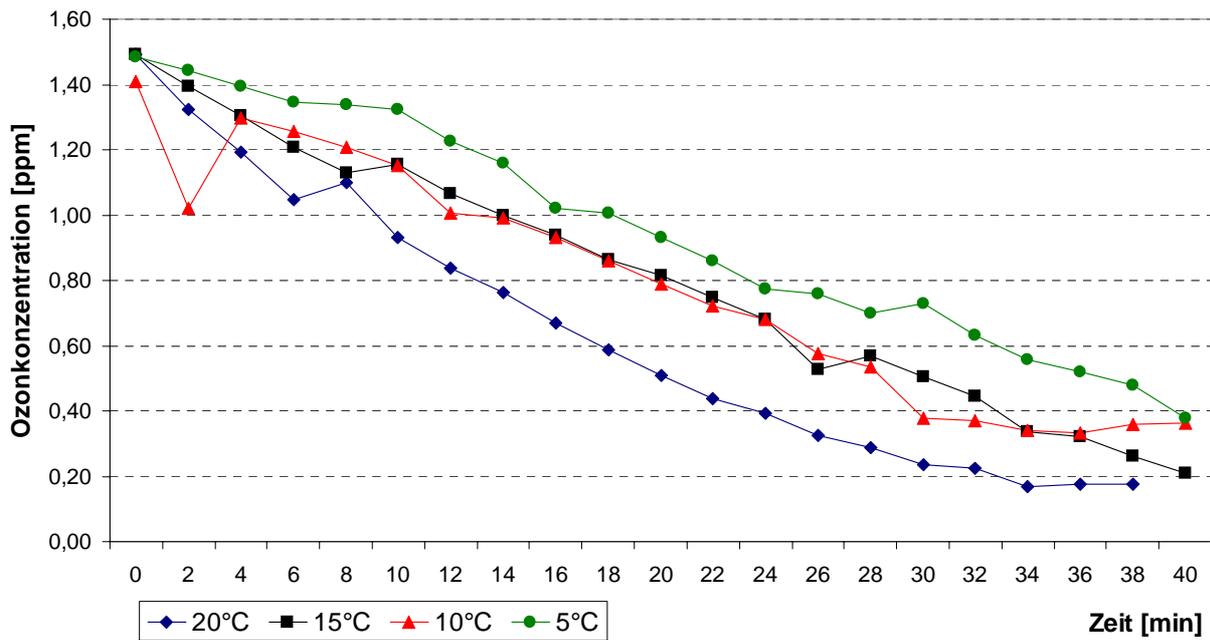


Bild 3: Ozonabbau in gerührtem Wasser ($U = 500 / \text{min}$) bei unterschiedlichen Wassertemperaturen

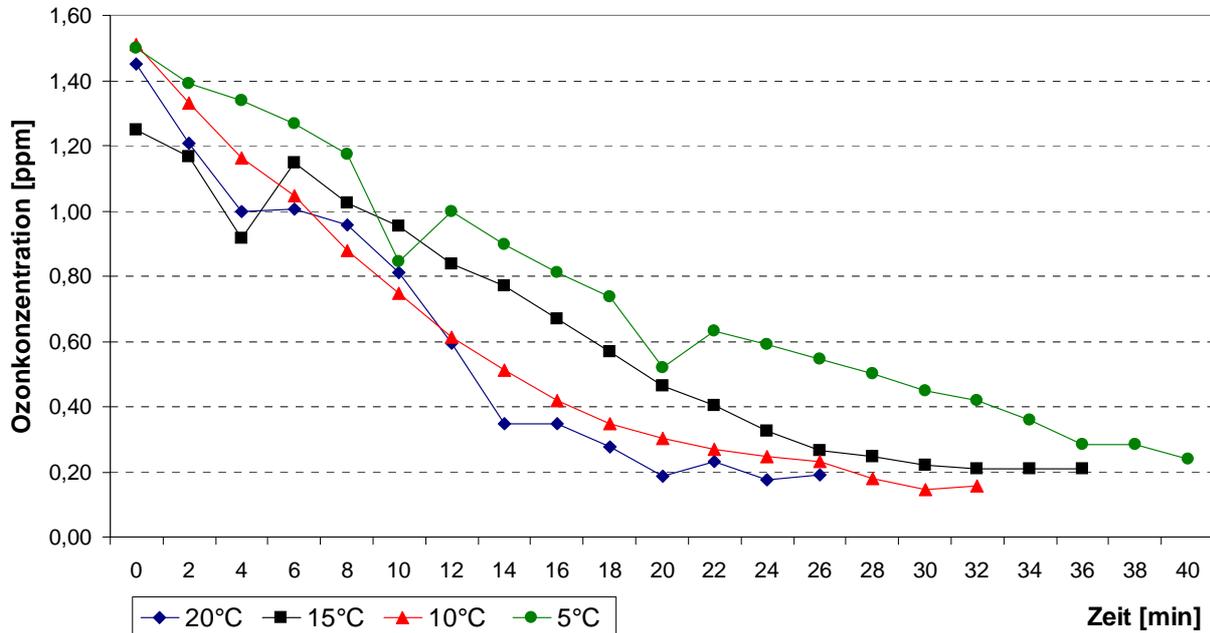


Bild 4: Ozonabbau in gerührtem Wasser ($U = 1000 / \text{min}$) bei unterschiedlichen Wassertemperaturen

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass sowohl zunehmende Wassertemperaturen als auch zunehmende Turbulenzen im Wasser den Ozonabbau fördern. Beim Bau einer Desinfektionsanlage durch die Firma Schneider Fördertechnik muss daher

darauf geachtet werden, dass Wasserturbulenzen weitgehend vermieden werden. Des Weiteren sollte die Anlage bei Temperaturen zwischen 5 und 10°C betrieben werden, da bei höheren Temperaturen eine konstant hohe Ozonkonzentration nicht gewährleistet werden kann.

2.2.3 Einfluss der Tropfengröße und des Düsenabstandes auf den Ozonabbau

Nach der Ermittlung der letalen Ozon-Dosen für die relevanten Mikroorganismen war geplant, das ozonhaltige Wasser über Düsen auf das Wurzelgemüse zu applizieren. Im Verlauf der Untersuchungen wurde jedoch eine Arbeit von japanischen Wissenschaftlern veröffentlicht, die zu einer Änderung unserer Planungen geführt hat und daher an dieser Stelle nicht unerwähnt bleiben darf. Fujiwara und Fuji [5] untersuchten den Einfluss der Tropfengröße und des Abstandes Düse-Produkt auf die Ozonkonzentration im Wasser, wenn Düsen eingesetzt werden. Der verwendete Versuchsaufbau ist in **Bild 5** dargestellt:

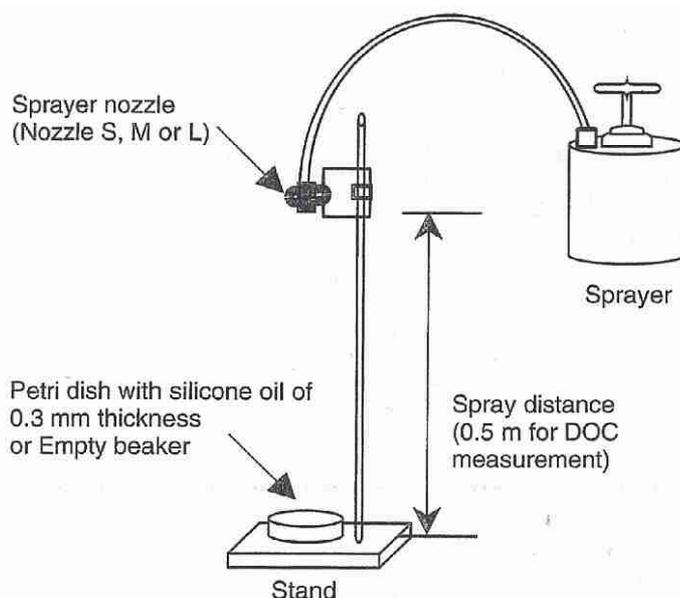


Bild 5: Versuchsanordnung zur Bestimmung des Einflusses von Tropfengröße und Düsenabstand auf die Ozonkonzentration im Wasser [5]

Ausgehend von einer Ozonkonzentration von 2,2 ppm direkt vor der Düse sank die Ozonkonzentration je nach Düsenart auf Werte zwischen 0,65 und 0,4 ppm Ozon direkt nach Verlassen der Düse (Abstand Düse – Probenahmeort: 5 cm). Der Ozonverlust nahm mit zunehmendem Abstand zu, so dass in einem Abstand von 75 cm fast kein Ozon mehr im Wasser enthalten war, unabhängig von der Düsenart. Einen Überblick über die Versuchsergebnisse gibt **Bild 6**.

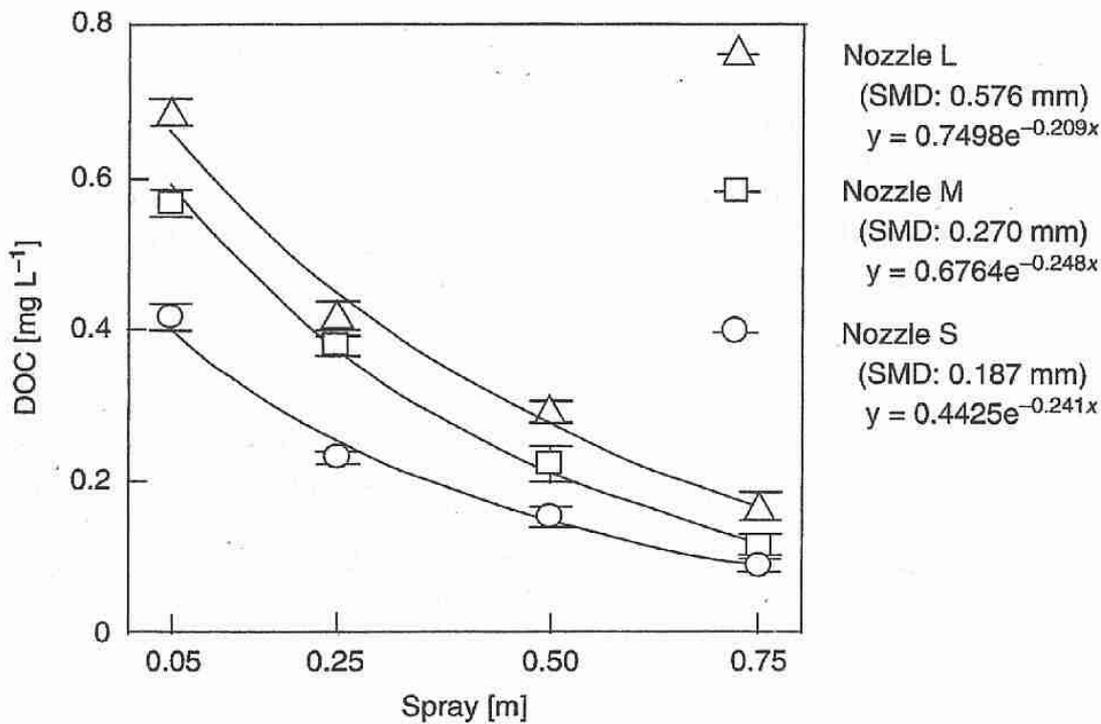


Bild 6: Ozonkonzentration im Wasser in Abhängigkeit von Tropfengröße und Abstand [5]

Diese Veröffentlichung zeigt deutlich, dass eine Applikation von ozontem Wasser auf der Produktoberfläche von Möhren und Kartoffeln durch Sprühen wirkungslos bleiben muss, da nahezu kein Ozon mehr im Sprühstrahl enthalten ist, wenn das Wasser auf dem Produkt auftrifft. In Folge dessen musste der Plan einer Sprühapplikation verworfen werden. Eine alternative Behandlungsart zur Desinfektion der Produkte musste daher gefunden werden.

In enger Zusammenarbeit mit der Firma Schneider Fördertechnik wurde entschieden, die Produkte durch Eintauchen in ozontes Wasser zu hygienisieren. Auf Grund einer Arbeit von Pschera [6] und den Erfahrungen des ATB ist es hierbei nötig, die Produkte im Durchfluss zu behandeln, um eine konstant hohe Ozonkonzentration im Wasser garantieren zu können. Ursache ist die große Reaktivität des Ozons mit allen Doppelbindungen in Kohlenwasserstoffverbindungen. Das Eintauchen in ozontes Wasser resultiert damit in einer raschen Abnahme der Ozonkonzentration und würde ebenso wirkungslos bleiben wie das Besprühen mittels Düsen. Die Produkte sollten daher mit ozontem Wasser im Durchfluss umspült werden.

3 Hygienisierung von Möhren und Kartoffeln mit ozontem Wasser

3.1 Auswahl der Testorganismen

Im Rahmen des Projektes sollte die Wirkung von Ozon auf 3 Mikroorganismen untersucht werden, die große wirtschaftliche Schäden bei Möhren und Kartoffeln verursachen können. Die Wahl fiel dabei auf das Bakterium *Pectobacterium carotovorum* und die Pilze *Thielaviopsis basicola* und *Phytophthora infestans*. Alle 3 Mikroorganismen führen zum vorzeitigen Verderb der Produkte und sollen nachfolgend vorgestellt werden.

3.1.1 *Pectobacterium carotovorum*

P. carotovorum zählt zu der Familie der *Enterobacteriaceae* und ist als phytopathogen eingestuft. Bis vor einigen Jahren wurde das Bakterium als *Erwinia carotovora* bezeichnet [7]. Es handelt sich dabei um bewegliche gram-negative, fakultativ-anaerobe, begeißelte Stäbchen (0,5-1 x 1-3 µm) (**Bild 7**, links).

Das Bakterium ist der Erreger der bakteriellen Nassfäule und der Schwarzbeinigkeit. Sein Befall verursacht hohe Ernteverluste und Lagerschäden an Gemüse. Die entstehenden Verluste in der Welt durch Nassfäulen werden auf 50 bis 100 Millionen Dollar allein bei Kartoffeln geschätzt [8].

Die Gattung *Pectobacterium* ist in fünf Unterarten unterteilt [9]. Viele der Subspezies verursachen irreversible Schäden an den Pflanzen. *P. carotovorum* spp. *carotovorum* verursacht Nassfäule bei Möhren, Kohlarten, Gurken, Salat und Zwiebeln. Die Ausbreitung des Bakteriums im Gemüse bewirkt einen breiigen Zerfall des Gewebes, das letztlich nur noch durch die Schale zusammengehalten wird [10]. Durch verschiedene Hydrolasen werden die Mittellamellen und die Zellwände des pflanzlichen Gewebes angegriffen. Das feste Gewebe wird in eine wässrige, schwammige Masse verwandelt, die als Nassfäule bezeichnet wird. Die Zellmembran wird so stark geschädigt, dass lösliche Zellinhaltsstoffe in die Interzellularen austreten. Die dadurch anfallenden Stoffe und bei der Hydrolyse entstehende Monosaccharide dienen den Bakterien als Nahrungsquelle. Zur Visualisierung des Befalls an einer Kartoffel dient **Bild 7**, rechts.

Reine Fäule weist einen modrig-muffigen Geruch auf, im Fall von Mischfäule mit anderen Bakterien oder Pilzen ist der Geruch als widerlich stinkend zu bezeichnen.

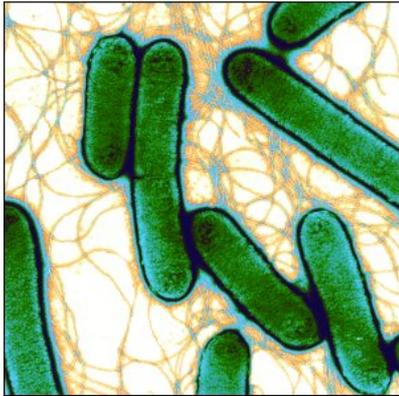


Bild 7: *P. carotovorum* (links; <http://www.sanger.ac.uk/Info/News-releases/2004/040720.shtml>), mit *P. carotovorum* befallene Kartoffel (rechts; http://www.agri.gov.il/gilat-molcho/blackleg_hebrew.html)

3.1.2 *Phytophthora infestans*

P. infestans zählt zur Familie der *Pythiaceae* und gehört zum Gattungstyp einer Pilzgruppe mit etwa 60 Arten, von denen die meisten hoch wirtsspezifisch und Urheber verschiedener Pflanzenkrankheiten sind [11]. Morphologisch sind sie durch ein vielkerniges, unseptiertes Myzel ausgezeichnet, dessen Wände – im Gegensatz zu den meisten übrigen Pilzen – aus Glukanen und Zellulose statt aus Chitin bestehen. Der Pilz kann sich sowohl asexuell als auch sexuell vermehren. Die asexuelle Entwicklung verläuft über die Bildung von nierenförmigen Zoosporen, die meist in zitronenförmigen Sporangien gebildet werden (siehe **Bild 8**, links) [12].



Bild 8: *P. infestans* (links; <http://ipm.cornell.edu/nysipm/publications/blight/de>), mit *P. infestans* befallene Kartoffel (rechts; <http://www.fito-info.bf.uni-lj.si/SI/Org-anizmi/sistemat/b1.htm>)

Da *P. infestans* bezüglich seiner Wirte hochspezialisiert ist, ist der Wirtskreis sehr klein. Kartoffeln und Tomaten sind die wichtigsten, landwirtschaftlich genutzten Wirtspflanzen.

Die Infektion von Kartoffelknollen erfolgt durch weit geöffnete Lentizellen, über Augen, Wachstumsrisse und durch mikroskopisch kleine Verletzungen sowie Haarrisse [13, 14, 15]. Am häufigsten erfolgt eine Infektion bei der Ernte, wenn mit Sporangien verseuchte Erde in feine Haarrisse gedrückt wird. Auf der Knollenoberfläche entstehen dann unregelmäßige, bleigraue Flecke, die während der Lagerung etwas einsinken. Beim Aufschneiden der Knollen finden sich braune Verfärbungen, die nicht deutlich gegen das gesunde Gewebe abgegrenzt sind (siehe **Bild 8**, rechts). Der Befall mit *P. infestans* ist von großer wirtschaftlicher Bedeutung, da der Pilz zu vollständigen Ernteverlusten führen kann.

3.1.3 *Thielaviopsis basicola*

T. basicola ist ein bodenbürtiger Pilz, der zu den *Deuteromyceten (Fungi imperfecti)* gehört. In der Literatur findet man den Pilz noch oft unter seinem alten Namen: *Chalara elegans*.

Über die morphologischen Variationen und die genetische Vielfalt des Pilzes ist bislang wenig bekannt [16]. Der Pilz vermehrt sich durch die Bildung von Endoconidien und dickwandigen pigmentierten Chlamydosporen (siehe **Bild 9**, links).



Bild 9: *T. basicola* (links; <http://www.ext.vt.edu/pubs/plantdiseasefs/450-606/450-606.html>), mit *T. basicola* befallene Möhren (rechts; <http://plantpathology.tamu.edu/Textlab/Vegetables/Carrot/brr.html>)

Der Pilz verursacht bei vielen Kulturen eine schwarze Wurzelfäule, die sich an den oberirdischen Pflanzenteilen durch unspezifische Nährstoffmangel-Symptome und kümmerlichen Wuchs bemerkbar macht. Die schwarze, von Chlamydosporen besiedelte Wurzelrinde befallener Pflanzen ist weitgehend zerstört und kann keine Wasser- und Nährstofftransportaufgaben mehr wahrnehmen. Als Wirtspflanzen gelten einjährige Kulturen wie Karotten,

Bohnen, Tomaten und Paprika, aber auch mehrjährige Kulturen wie Stachel- und Johannisbeeren sowie Kirschen.

Die Infektion von Möhren erfolgt meist im Lager, weil durch die Ernte verursachte Verletzungen die Pathogene im anhaftenden Boden zur Keimung und Infektion anregen. Beim Waschen von Möhren besteht ebenfalls ein erhöhtes Infektionsrisiko, da der Pilz über verletzte Stellen leicht übertragen werden kann.

3.2 Kultivierung der Testorganismen

Für die Untersuchungen zur Testung von ozontem Wasser auf Einzelstämme wurden zwei Mikroorganismen aus der Sammlung der DSMZ in Braunschweig bezogen, *Pectobacterium carotovorum* als Lyophilisat und *Thielaviopsis basicola* als Aktivkultur auf V8-Juice-Agar (Gemüsesaft-Agar). Der phytopathogene Pilz *Phytophthora infestans* ist sehr schwer als Laborstamm zu kultivieren. Deshalb wurde von diesem Pilz eine Mischung von Wildstämmen auf Kartoffelscheiben vom Institut für landwirtschaftliche Kulturen in Groß Lüsewitz bezogen. Aus den Originalkulturen von der DSMZ wurden Arbeitsstämme hergestellt, deren Stammmhaltungsdaten in **Tabelle 1** zusammengestellt sind.

Tabelle 1: Daten der Teststämme

Spezies	Stammnr.	Haltungsmedium	Inkubationszeit und -temperatur	Klassifizierung
<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovora</i>	DSM 30168	Nähragar (Merck)	48h/25°C	phytopathogenes Bakterium
<i>Phytophthora infestans</i>	Mischung aus Wildstämmen, ohne Nummer	frische Kartoffelscheiben der Sorte Bintje	7d/18°C	phytopathogener Pilz
<i>Thielaviopsis basicola</i>	DSM 6350	Malzextrakt-Agar mit Chloramphenicol (Merck)	10d/20°C	phytopathogener Pilz

3.3 Anzucht der Teststämme für die Versuche

Für Versuche mit *P. carotovorum* wurde Kulturmaterial vom Arbeitsstamm in Nährbouillon 24 Stunden bei 25°C kultiviert.

Die phytopathogenen Pilze wurden für Versuche nach den Angaben in **Tabelle 1** eingesetzt, bzw. es wurden Sporangien- und Sporensuspensionen hergestellt, wofür die Methoden bei den einzelnen Versuchen beschrieben werden.

Da die Anzucht von *P. infestans* einer besonderen Methode bedarf, wird diese nachfolgend ausführlich beschrieben.

Methode zur Anzucht und Haltung von Phytophthora infestans auf Kartoffelscheiben

Materialien:

- mit Gaze bespannter Holzrahmen ca. 30 x 50 cm Seitenlänge für ca. 32 Kartoffelscheiben
- Glasscheibe zum Abdecken des Rahmens
- grob strukturiertes Filterpapier in gleicher Größe zugeschnitten
- Fotoschale o.ä. mit glattem Boden, in die der Rahmen gesetzt werden kann
- Küchenmesser zum Schneiden der Kartoffelscheiben
- feines Teesieb
- Eppendorf-Pipette 10-100 µl zur Beimpfung der Scheiben
- Kartoffelscheiben
- Pinzette, Impfnadel zum Abheben des Myzels
- Thoma-Zählkammer zur Bestimmung der Anzahl Sporangien/ml
- kleine Bechergläser (50 ml)
- Aqua dest.
- Mensur 100 ml
- Mikroskop
- Brutschrank 18°C
- Kühlschrank

Anzucht:

Je nach Bedarf wurde eine Anzahl Kartoffeln gewaschen und abgetrocknet. Die Kartoffeln wurden in ca. 1 cm dicke Scheiben geschnitten. Die Scheiben wurden mit der kleineren Schnittfläche nach oben auf die Gaze gelegt. Mit einer Pinzette oder Impfnadel wurde reichlich Myzel von bereits bewachsenen Kartoffelscheiben abgehoben und in ca. 5 ml Aqua dest. suspendiert. Die Suspension wurde gut durchmischt und durch ein feines Sieb gegossen. Das gewonnene Filtrat enthielt die benötigten Sporangien, die unter dem Mikroskop an ihrer Zitronenform leicht zu erkennen sind. Vor der Beimpfung der Kartoffelscheiben wurde das Filtrat für ca. 1,5 Stunden in den Kühlschrank gestellt. In dieser Zeit schlüpfen die Zoosporen bei 4-6°C aus den Sporangien. Dann wurde jede Kartoffelscheibe mit 50 µl Suspension beimpft. Es wurden 3 Lagen Filterpapier in die Fotoschale gelegt und reichlich mit Wasser befeuchtet. Dann setzte man den Rahmen mit den beimpften Kartoffelscheiben auf das Filterpapier und deckte diesen mit einer genau passenden

Glasscheibe ab, so dass eine feuchte Kammer entstand. Nach einer Bebrütungszeit von 24 Stunden wurden die Kartoffelscheiben gedreht. Die Bebrütung erfolgte in Dunkelheit für 7 Tage bei 18°C. Während dieses Zeitraumes ist der Pilz durch die Kartoffelscheiben hindurch gewachsen. Nach der gesamten Bebrütungszeit hat sich auf den Kartoffelscheiben ein hellgrau bis weißes, watteartiges Myzel entwickelt.

Ausgehend von der originalen Aktivkultur auf V8-Juice-Agar, wurden Arbeitsstämme von *Thielaviopsis basicola* hergestellt. Dazu wurde *T. basicola* im Schrägröhrchen auf Malzextraktagar mit Chloramphenicol für ca. 10 Tage bei 20°C kultiviert. Vom gut bewachsenen Schrägröhrchen wurde Pilzmaterial auf eine Platte mit gleichem Nährmedium geimpft und wiederum unter den gleichen Bedingungen bebrütet. Um eine Sporensuspension zu gewinnen, wurde von dieser dicht bewachsenen Platte Pilzmyzel abgeschwemmt, das die Chlamydosporen enthielt. Die Dichte der Sporensuspension wurde durch Zählen der Sporen in der Thoma – Zählkammer ermittelt.

3.4 Einfluss von Ozon auf Testkeime in wässrigen Lösungen

Um Anhaltspunkte für die benötigten Ozonkonzentrationen und Kontaktzeiten zu erhalten, die nötig sind, um die ausgewählten Bakterien und Pilze abtöten zu können, wurden zuerst Versuche durchgeführt, in denen sich die Mikroorganismen in Lösungen befanden. Dazu wurden die Teststämme gemäß der unten stehenden Vorschriften kultiviert und jeweils eine definierte Anzahl an Bakterien bzw. Pilzen mit ozontem Wasser vereint.

3.4.1 Einfluss von Ozon auf *Pectobacterium carotovorum* in wässriger Lösung

Durchführung

10 µl einer Suspension von *P. carotovorum* wurde mit 10 ml ozontem Wasser (4 ppm) bzw. 10 ml Aqua dest. vermischt. Die Endkeimzahl in den Lösungen betrug 10^5 KbE/ml. Nach Einwirkzeiten von 10, 20 und 30 Sekunden wurden die Lösungen für je eine Minute auf einem Schüttler geschüttelt, um verbliebenes Ozon zu zerstören. Die Proben wurden nachfolgend aliquot verdünnt, ausplattiert und inkubiert. Das Experiment wurde zweimal wiederholt.

Auswertung

Unabhängig von den getesteten Einwirkzeiten wird nach der Behandlung der Bakterien-suspensionen mit ozontem Wasser kein Wachstum auf den Agarplatten beobachtet. Dies belegt die starke bakterizide Wirkung von Ozon gegenüber *P. carotovorum*. Demnach reichen eine Ozonkonzentration von 4 ppm und eine Kontaktzeit von 10 Sekunden aus, um die Keimzahl von 10^5 KbE/ml auf weniger als 10^2 KbE/ml zu reduzieren. Diese Keimzahl stellt auch die Nachweisgrenze der Methode dar.

3.4.2 Einfluss von Ozon auf *Phytophthora infestans* in wässriger Lösung

Herstellung der Sporangiensuspension

Es wurde von dicht mit *P. infestans* bewachsenen Kartoffelscheiben ausgegangen. Mit einem Glasstab wurde reichlich Myzel abgenommen und in sterilem destilliertem Wasser suspendiert. Diese Myzel und Sporangien enthaltende Suspension wurde durch ein Sieb gegeben, in dem das Myzel zurückgehalten wurde. Die so gewonnene Sporangiensuspension wurde für weitere Versuche eingesetzt. Die Anzahl der Sporangien/ml wurde mit Hilfe der Thoma-Zählkammer bestimmt.

Versuch 1

Durchführung

In 100 ml ozontes Wasser (2,5 ppm) wurde 1 ml einer Suspension von *P. infestans* ($6 \cdot 10^4$ Sporen/ml) gegeben. Der Sporengehalt im ozontem Wasser betrug 10^2 Sporen/ml. Als Kontrolle diente 100 ml Leitungswasser. Nun wurden je 6 Kartoffelscheiben in die Lösungen gegeben und für 15 sec. gerührt ($U = 180/\text{min}$). Anschließend wurden die Kartoffelscheiben aus den Lösungen genommen und in einer feuchten Kammer bei 18°C für 6 Tage bebrütet.

Auswertung

Unter den beschriebenen Bedingungen kann eine sehr gute Hemmung des Pilzes beobachtet werden. Die ozonbehandelte Variante zeigt nur ganz vereinzelt kleine Infektionsherde. Zur Veranschaulichung dient **Bild 10**:



Referenz (ohne Ozon)



nach Ozonbehandlung

Bild 10: Wachstum von *P. infestans* nach Ozonbehandlung (2,5 ppm; 15 sec) der Sporensuspension nach 6-tägiger Bebrütung bei 18°C

Versuch 2

In dem Versuch sollte überprüft werden, ob eine etwas höhere Ozonkonzentration und die Verlängerung der Einwirkzeit einen positiven Effekt auf die Hemmung des Pilzwachstums haben.

Durchführung

1 ml der Sporangiensuspension (10^4 Sporangien/ml) wurde mit 9 ml ozontem Wasser (4,1 ppm) bzw. 9 ml destilliertem Wasser (Kontrolle) vermischt. Damit ergaben sich Endkonzentrationen von 10^3 Sporangien/ml und eine Ozonkonzentration von 3,7 ppm. Nach Einwirkzeiten von 10, 20, 30, 60 und 300 sec. wurden die Lösungen für je eine Minute auf einem Schüttler geschüttelt, um verbliebenes Ozon zu zerstören.

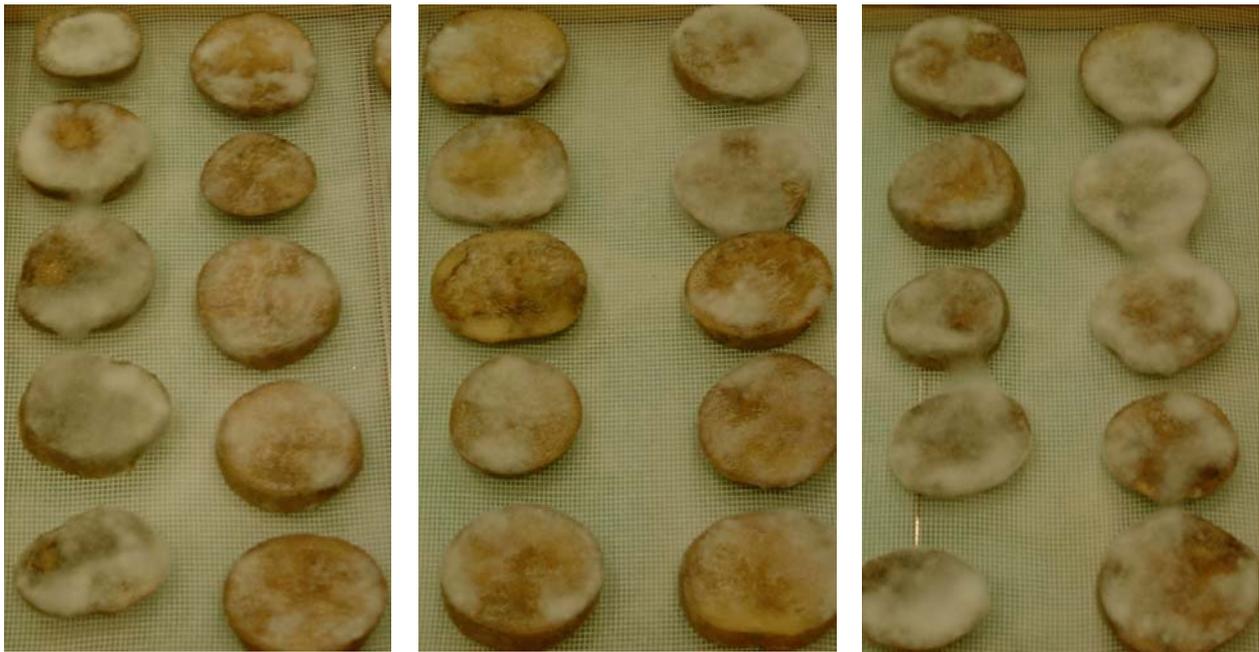
Untersuchte Varianten:

- 1) 1 ml Suspension + 9 ml aqua dest. (Kontrolle)
- 2) 1 ml Suspension + 9 ml ozontes Wasser, dann 10 sec. Einwirkzeit
- 3) 1 ml Suspension + 9 ml ozontes Wasser, dann 20 sec. Einwirkzeit
- 4) 1 ml Suspension + 9 ml ozontes Wasser, dann 30 sec. Einwirkzeit
- 5) 1 ml Suspension + 9 ml ozontes Wasser, dann 60 sec. Einwirkzeit
- 6) 1 ml Suspension + 9 ml ozontes Wasser, dann 300 sec. Einwirkzeit

Anschließend wurden 100 μ l der jeweiligen Lösung auf eine Kartoffelscheibe aufgetropft und bei 18°C für 7 Tage inkubiert.

Auswertung

Die Kontrollscheiben zeigen einen gleichmäßigen Bewuchs mit *P. infestans*. Eine begrenzte Hemmung des Pilzwachstums kann für die Varianten 2 bis 4 beobachtet werden, wobei die Variante 3 das beste Ergebnis liefert. Variante 2 und 4 zeigen ein vergleichbares Pilzwachstum. Bei einer Einwirkzeit von 1 Minute ist der Bewuchs mit dem der inokulierten Kontrolle vergleichbar. Die Verlängerung der Einwirkzeit auf 5 Minuten hat dagegen sogar einen negativen Effekt und scheint das Pilzwachstum zu fördern. Die Ergebnisse sind in **Bild 11** dargestellt.



Links: inokulierte Kontrolle
Rechts: 10 sec. Ozon

Links: 20 sec. Ozon
Rechts: 30 sec. Ozon

Links: 1 min. Ozon
Rechts: 5 min. Ozon

Bild 11: *P. infestans* nach Ozonbehandlung der Sporensuspension und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C auf Kartoffelscheiben

Es muss festgestellt werden, dass ozontes Wasser damit nur eine bedingte Wirkung auf die Hemmung des Wachstums von *P. infestans* zeigt. Die sehr guten Ergebnisse aus Versuch 1 konnten nicht reproduziert werden.

3.4.3 Einfluss von Ozon auf *Thielaviopsis basicola* in wässriger Lösung

Herstellung der Sporensuspension

Auf eine mit *T. basicola* bewachsene Agarplatte wurde 10 ml steriles Aqua dest. gegeben. Mit einem sterilen Glasstab wurde das Myzel von der Agarplatte gelöst. Die so erhaltene Sporensuspension wurde mit einer Pipette in eine sterile Flasche pipettiert. Die Konzentration der Sporen wurde durch Auszählen in einer Thomakammer bestimmt.

Durchführung

1 ml Sporensuspension (10^4 Sporen/ml) wurde in ein steriles Reagenzglas gegeben und anschließend wurden 9 ml ozontes Wasser (4 ppm) hinzugefügt. Die Endkonzentrationen in den Reagenzröhrchen betragen damit 10^3 Sporangien/ml und 3,7 ppm Ozon. Das Reagenzglas wurde verschlossen und nach einer Einwirkzeit von 10, 20 bzw. 30 sec. wurde das Reagenzglas für 60 sec. in einem Schüttler geschüttelt, um das restliche Ozon zu zerstören. Zur Kontrolle wurde parallel 1 ml Sporensuspension mit 9 ml sterilem Aqua dest. behandelt.

Untersuchte Varianten:

- 7) 1 ml Suspension + 9 ml aqua dest. (Kontrolle)
- 8) 1 ml Suspension + 9 ml ozontes Wasser, dann 10 sec. Einwirkzeit
- 9) 1 ml Suspension + 9 ml ozontes Wasser, dann 20 sec. Einwirkzeit
- 10) 1 ml Suspension + 9 ml ozontes Wasser, dann 30 sec. Einwirkzeit

Je 100 µl Probe wurde in Doppelbestimmung ausgespatelt.

Auswertung

Die Auswertung erfolgte durch Bonitur des Bewuchses der Platten und mikroskopische Begutachtung des Pilzes.

Bis zu einer Ozonkonzentration von 3 ppm kann keine Hemmung des Wachstums von *T. basicola* beobachtet werden.

Bei einer Ozonkonzentration von 3,7 ppm wird das Wachstum gehemmt. Dabei ist ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Einwirkzeit und der Hemmung des Wachstums zu erkennen. Eine Verlängerung der Behandlungszeit um 10 sec. führt jeweils zu einer Halbierung der Sporenanzahl (siehe **Tabelle 2**).

Tabelle 2: Wirkung von Ozon auf das Wachstum von *T. basicola* in Abhängigkeit der Einwirkzeit von Ozon

Behandlung	Sporen/ml
Kontrolle	$9 \cdot 10^2$
10 sec. Einwirkzeit	$5,5 \cdot 10^2$
20 sec. Einwirkzeit	$2,5 \cdot 10^2$
30 sec. Einwirkzeit	$1 \cdot 10^2$

Die auf den Agarplatten gewachsenen Kolonien sind in ihrer Größe nach der Ozonbehandlung reduziert und unter dem Mikroskop erscheinen die Sporen deutlich kleiner als die Referenz.

3.4.4 Zusammenfassung

P. carotovorum (10^5 KbE/ml) wird beim Kontakt mit ozontem Wasser (4 ppm) sofort komplett inaktiviert. In Lösung ist dieses Bakterium damit sehr sensibel gegenüber ozontem Wasser.

Das Wachstum von *P. infestans* (10^2 Sporangien/ml) in Lösung wird bei einer Ozonkonzentration von 2,5 ppm gut gehemmt. Durch eine Erhöhung der Ozonkonzentration (3,7 ppm) bei gleichzeitiger Verlängerung der Einwirkzeit konnte keine vollständige Abtötung des Pilzes (10^3 Sporangien/ml) erreicht werden. Ursache für die gegensätzlichen Ergebnisse kann die unterschiedliche Sporenanzahl in den Versuchen sein. Während im Versuch 1 eine Endkeimzahl von 10^2 Sporangien/ml untersucht wurde, lag die Konzentration im Versuch 2 bei 10^3 Sporangien/ml. Die Erhöhung der Ozonkonzentration von 2,5 auf 3,7 ppm hat hier offenbar nicht ausgereicht, um eine entsprechend gute Hemmung zu erzielen. Es kann vermutet werden, dass zur Entwicklung des Pilzes eine bestimmte Anzahl von Sporen notwendig ist. Die Erhöhung der Sporenanzahl von 10^2 auf 10^3 Sporangien/ml verbunden mit einer unvollständigen Hemmung des Pilzes reicht offenbar aus, um einen Befall auszulösen.

Bis zu einer Ozonkonzentration von 3 ppm kann keine Hemmung auf *T. basicola* in Lösung festgestellt werden. Bei 3,7 ppm erfolgt eine Hemmung, die umso stärker ist, je länger die Kontaktzeit gewählt wird. Die sich noch entwickelnden Kolonien sind im Vergleich zur Kontrolle kleiner ebenso wie die Sporen. Eine vollständige Hemmung des Pilzes kann jedoch nicht beobachtet werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass es gelingt, das Bakterium *P. carotovorum* mit ozontem Wasser vollständig zu hemmen. Die Pilze *P. infestans* und *T. basicola* sind jedoch wesentlich resistenter gegenüber Ozon. Ihr Wachstum ist lediglich gehemmt und kann nicht vollständig unterdrückt werden.

3.5 Einfluss von Ozon auf Mikroorganismen auf der Produktoberfläche

Aufbauend auf den Versuchen zur Abtötung der Mikroorganismen in Lösung sollte im nächsten Versuchsblock getestet werden, ob ozontes Wasser zumindest eine vergleichbare hemmende Wirkung besitzt, wenn sich die Testorganismen auf der Oberfläche von Möhren bzw. Kartoffeln befinden. Dazu wurden Möhren bzw. Kartoffeln vor der Wäsche mit ozontem Wasser definiert mit den Teststämmen inokuliert. Die Wäsche mit ozontem Wasser erfolgte für alle Versuche analog, indem das ozonte Wasser drucklos aus dem Vorratsreservoir des Ozongenerators entnommen wurde und die Produkte umspülte. Dadurch konnte sichergestellt werden, dass das ozonte Wasser über den Behandlungszeitraum eine konstante Ozonkonzentration aufwies.

3.5.1 Verwendete Produkte und Herkünfte

In den Versuchsserien wurden ausschließlich Möhren der Sorte ‚Nanthyra F1-Hybride‘ verwendet. Diese wurden in der Erntesaison zeitnah vor den Versuchen frisch gewaschen direkt vom Produzenten in Wiesenburg bezogen. Für die Versuche außerhalb der Saison wurde auf selbst eingelagerte Möhren des gleichen Produzenten zurückgegriffen (Lager-

bedingungen: 4°C in Klimazelle, rel. Luftfeuchte 96 – 98%) bzw. wurden Möhren in lokalen Supermärkten erworben.

Für die Versuche mit Kartoffeln wurden ausschließlich Kartoffeln der Sorte ‚Bintje‘ verwendet, die sofort nach der Ernte eingelagert wurden (Lagerbedingungen: 5°C in Klimazelle, rel. Luftfeuchte 96 – 98%). Die Kartoffeln wurden direkt von Erzeugern in der Schweiz bezogen.

3.5.2 Einfluss von Ozon auf *Pectobacterium carotovorum* auf Möhren

Inokulation der Möhren

Jeweils 2 Möhren wurden gleichzeitig für 30 Minuten in 400 ml Tauchsuspension ($5 \cdot 10^7$ KbE/ml) gegeben. Anschließend wurden die Möhren der Suspension entnommen und für eine Stunde zum Abtrocknen in sterile Aluschalen gelegt.

Versuchsdurchführung

Die Möhren wurden nach der Inokulation mit Wasser (Referenz) bzw. mit ozontem Wasser im Durchfluss gewaschen. Die Ozonkonzentration im Waschwasser betrug 4 ppm, die Behandlungszeiten wurden variiert und betragen 0,5, 1, 2, 5 und 10 Minuten. Es wurden folgende Varianten untersucht (**Tabelle 3**):

Tabelle 3: Behandlungsvarianten zur Bestimmung der Wirkung von ozontem Wasser auf *P. carotovorum* auf Möhren

Variante	Behandlung
1	Inokulierte Kontrolle
2	mit Wasser gewaschen
3	mit ozontem Wasser gewaschen; t = 0,5 min
4	mit ozontem Wasser gewaschen; t = 1 min
5	mit ozontem Wasser gewaschen; t = 2 min
6	mit ozontem Wasser gewaschen; t = 5 min
7	mit ozontem Wasser gewaschen; t = 10 min

Nach der Behandlung wurden die Möhren mikrobiologisch analysiert. Der Versuch erfolgte in Doppelbestimmung.

Versuchsauswertung

Der Einsatz von ozontem Wasser bewirkt eine Reduzierung von *P. carotovorum* auf der Möhrenoberfläche in Abhängigkeit von der Behandlungszeit. Eine maximale Hemmung

ist nach einer Einwirkzeit von 2 Minuten erreicht. Diese beträgt 1,5 log-Einheiten. Eine Verlängerung der Behandlungszeit führt zu keiner weiteren Verbesserung des Waschergebnisses. Im Vergleich zu den mit Wasser gewaschenen Varianten, bei denen die Hemmung etwa bei 0,5 log-Einheiten liegt, ist der Reinigungseffekt durch die Ozonzugabe um ca. eine log-Einheit besser. Eine vollständige Hemmung des Bakteriums wird in keinem der Versuche erzielt. Die Versuchsergebnisse sind zur Veranschaulichung in **Bild 12** dargestellt.

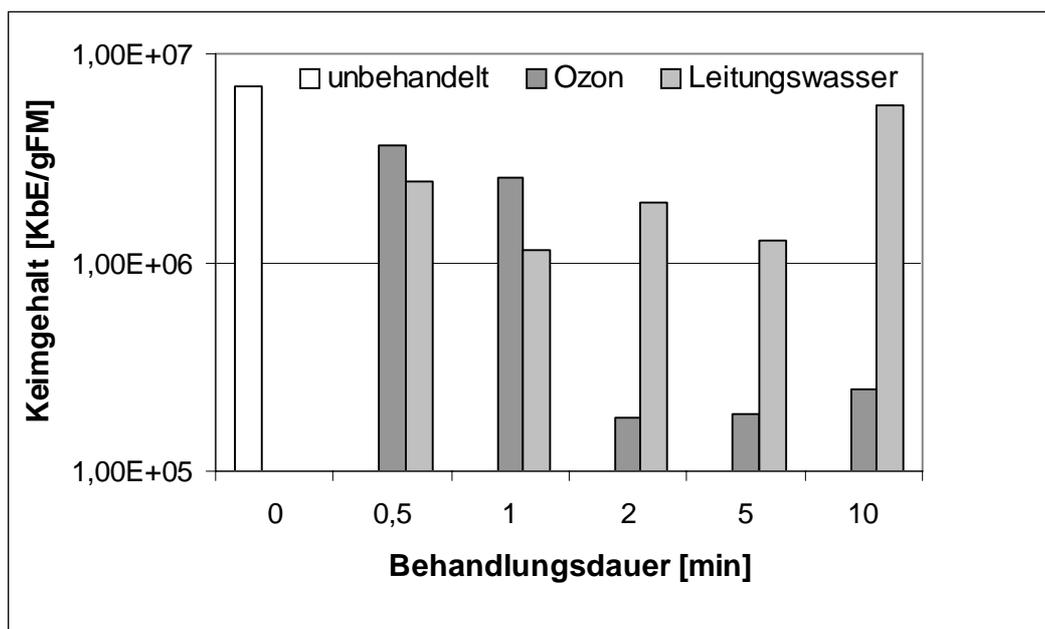


Bild 12: Reduzierung von *P. carotovorum* auf Möhren durch Leitungswasser bzw. ozontes Wasser ($c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$) in Abhängigkeit der Waschdauer

3.5.3 Einfluss von Ozon auf *Phytophthora infestans* auf Kartoffeln

Inokulation der Kartoffelscheiben

Die Inokulation mit *P. infestans* erfolgte durch Pipettieren von 50 μl Sporangiensuspension (10^4 Sporangien/ml) auf die Kartoffelscheiben.

Versuchsdurchführung

Pro Variante wurden 3 inokulierte Kartoffelscheiben behandelt. 15 Minuten nach Inokulation der Scheiben zur Etablierung der Sporen auf der Oberfläche wurde mit der Behandlung begonnen. Es wurden folgende Varianten untersucht (**Tabelle 4**):

Tabelle 4: Behandlungsvarianten zur Bestimmung der Wirkung von ozontem Wasser auf *P. infestans* auf Kartoffelscheiben

Variante	Behandlung
1	unbehandelte Kontrolle
2	inokulierte Kontrolle
3	mit Wasser gewaschene Kontrolle (30 sec. im Durchfluss waschen)
4	mit ozontem Wasser gewaschene Probe (c = 4 ppm; 30 sec. im Durchfluss)

Nach der Behandlung wurden die Kartoffelscheiben bei 18°C für 7 Tage bebrütet und anschließend bonitiert.

Versuchsauswertung

Die unbehandelte Kontrolle dient als Nachweis dafür, dass die Kartoffeln nicht vor dem Versuch mit *P. infestans* infiziert waren. Diese Kartoffelscheiben zeigen nach der Bebrütung keinen Befall. Die inokulierte Kontrolle zeigt nach diesem Zeitraum ein zartes, regelmäßig verteiltes, weißes Myzel. Der Befall ist mit den Scheiben der Wasser gewaschenen Variante vergleichbar. Die Ozon behandelten Kartoffelscheiben hingegen zeigen ein verstärktes Wachstum des Pilzes, der durch einen dichten Bewuchs mit Myzel sichtbar wird. Zur Veranschaulichung dient **Bild 13**:



Bild 13: mit *P. infestans* inokulierte Kartoffelscheiben nach Behandlung und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C

Es ist deutlich zu erkennen, dass das Waschen mit Wasser von bereits mit *P. infestans* befallenen Kartoffelscheiben keinen Einfluss auf das Wachstum des Pilzes hat. Hingegen scheint die Ozonbehandlung das Wachstum des Pilzes zu befördern.

3.5.4 Einfluss von Ozon auf *Thielaviopsis basicola* auf Möhren

Versuchsdurchführung

Je Variante wurden 2 Möhren untersucht. Die Möhren wurden vor der Behandlung mit einer Suspension (200 µl = 2 Sprühstöße) von *T. basicola* (10⁴ Sporen/ml) inokuliert. Nach 15 Minuten Wartezeit zur Etablierung des Pilzes auf der Produktoberfläche, wurden die Möhren entsprechend der nachfolgenden Varianten gewaschen (**Tabelle 5**).

Tabelle 5: Varianten zur Behandlung von *T. basicola* auf Möhren

Variante	Behandlung
1	Unbehandelte Kontrolle
2	Inokulierte Kontrolle
3	30 sec. im Durchfluss mit Wasser waschen
4	60 sec. im Durchfluss mit Wasser waschen
5	30 sec. im Durchfluss mit ozontem Wasser (c = 4 ppm) waschen
6	60 sec. im Durchfluss mit ozontem Wasser (c = 4 ppm) waschen

Um die Wirkung besonders anschaulich darzustellen, wurden die behandelten Möhren in feuchten Kammern bei 23°C gelagert und nach 4 Wochen bonitiert.

Versuchsauswertung

Im Verlauf der Lagerung hat sich erwartungsgemäß kein Befall mit *T. basicola* auf den unbehandelten Kontrollmöhren entwickelt. Die inokulierten Kontrollen zeigen einen starken Pilzbefall, der sich darin äußert, dass die Möhren über die gesamte Oberfläche schwarze Flecken aufweisen. Die Inokulation verlief damit erfolgreich.

Die Wasser gewaschenen Möhren beider Varianten zeigen einen starken Befall mit *T. basicola*, der stärker ist als der Bewuchs der inokulierten Kontrollen. Der Pilzbefall ist etwa gleich stark, unabhängig von der Waschdauer. Die Wäsche mit Wasser erbringt damit keinen Reinigungserfolg, vielmehr werden hier die Sporen über die gesamte Möhrenoberfläche gleichmäßig verteilt.

Die Möhren, die mit ozontem Wasser gewaschen wurden, sind ebenfalls mit *T. basicola* bewachsen, jedoch ist der Befall deutlich geringer als bei der inokulierten Kontrolle. Die Verlängerung der Einwirkzeit des Ozons von 0,5 auf 1 Minute führt zu einer etwas stärkeren

ren Hemmung des Pilzes. Dieser und weitere Versuche zeigen, dass es nicht gelingt, *T. basicola* vollständig in seiner Entwicklung zu hemmen. Zur Veranschaulichung der Versuchsergebnisse dient **Bild 14**:

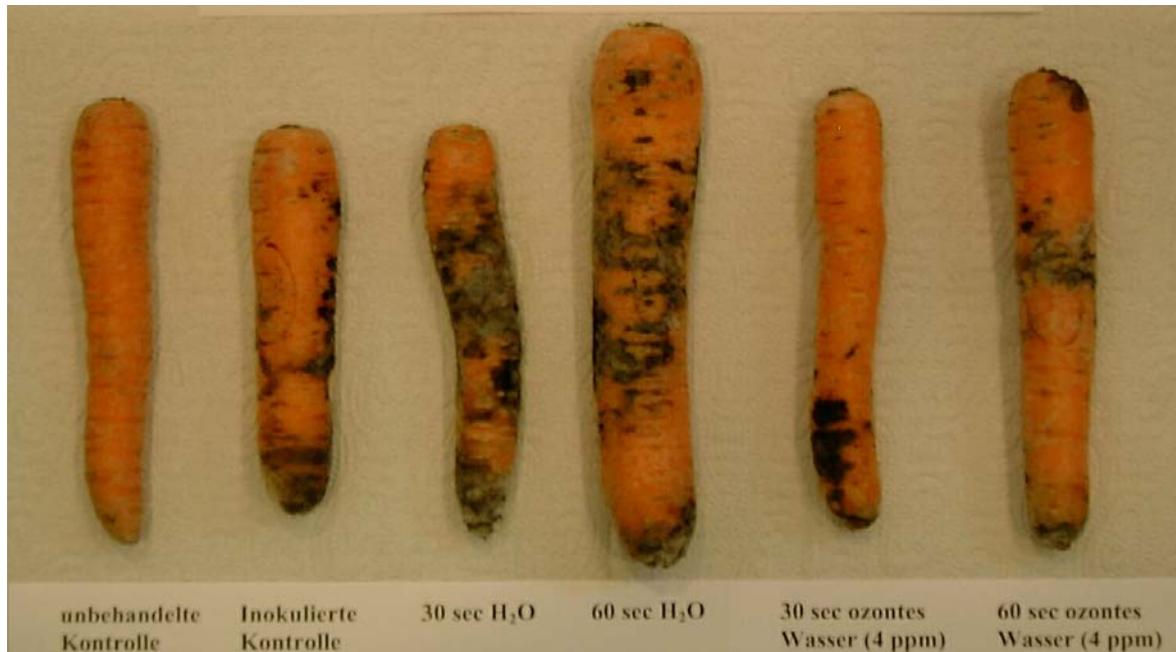


Bild 14: Mit *T. basicola* inokulierte Möhren nach Wäsche mit Wasser bzw. ozontem Wasser (4 ppm) und 2 Wochen Lagerung in feuchten Kammern bei 23°C

3.5.5 Zusammenfassung

Die Versuche ergeben ein sehr heterogenes Bild von der Wirkung ozonten Wassers auf die untersuchten Testorganismen auf den Produkten.

Es kann keine hemmende Wirkung von ozontem Wasser auf *P. infestans* beobachtet werden, wenn sich der Pilz bereits auf der verletzten Kartoffeloberfläche etabliert hat. Es ist jedoch möglich, dass die Wirkung von ozontem Wasser auf unverletzten Kartoffeln erfolgreicher sein kann, wenn der Pilz nicht so leicht in das Innere der Kartoffeln eindringen kann.

Eine vollständige Hemmung kann ebenfalls nicht für *P. carotovorum* und *T. basicola* auf Möhren erreicht werden. Allerdings ist hier eine deutliche Eingrenzung des Bakterien- bzw. Pilzbefalls zu beobachten. Die beste Wirkung, das heißt die stärkste Hemmung von *P. carotovorum*, wird nach einer 2-minütigen Behandlung bei einer Ozonkonzentration von 4 ppm erzielt. Hier beträgt die Reduktion des Bakteriums 1,5 log-Einheiten, eine Hemmung von *T. basicola* ergibt sich sowohl im Vergleich zu den Wasser gewaschenen Möhren als auch zu den inokulierten Kontrollmöhren.

Die eingeschränkte Hemmung von Mikroorganismen auf Produktoberflächen durch ozontes Wasser kann dadurch erklärt werden, dass die Produkte einen hohen TOC-Gehalt im Wasser verursachen. Dieser führt zu einem starken Ozonverlust, hervorgerufen durch die große Reaktivität von Ozon gegenüber Kohlenwasserstoffverbindungen, die Doppelbin-

dungen enthalten. Damit steht nicht mehr genug Ozon zur Hygienisierung, d.h. zum Abtöten der Mikroorganismen zur Verfügung. Vergleichbar gute Ergebnisse wie in den Versuchen in Lösung sind daher nur bei größeren Ozongehalten erreichbar.

3.6 Bestimmung der Qualitätsparameter von Möhren und Kartoffeln nach Ozonbehandlung

Ein wichtiger Gesichtspunkt ist der Qualitätserhalt der Produkte, der durch eine Behandlung nicht beeinträchtigt werden darf. Daher wurden Untersuchungen der Inhaltsstoffe nach einer Ozonbehandlung durchgeführt.

3.6.1 Vitamin C Bestimmung in Möhren

Messmethode

Die Vitamin C Bestimmung erfolgte mit dem Testset ‚Reflectoquant‘ (Merck, BRD). Für die Bestimmung des Vitamin C Gehaltes wurden die Möhren nach der Behandlung vorsichtig trocken getupft. Möhrenhälften wurden in einem herkömmlichen mechanischen Entsafter gepresst. Der Saft wurde anschließend filtriert und mit destilliertem Wasser im Volumenverhältnis 1:2 verdünnt. Gemäß der Analysenvorschrift des Herstellers wurde wie folgt weiter verfahren: In die Probe wurde für 2 sec. ein Analysestäbchen getaucht, gleichzeitig wurde die Starttaste des Reflektometers gedrückt. Das Analysestäbchen wurde aus der Probe entfernt und durch kräftiges Schütteln von überschüssiger Flüssigkeit befreit. Sobald das akustische Signal des Reflektometers ertönte (5 sec. nach Ablauf der Reaktionszeit) wurde das Stäbchen mit den Reaktionszonen zum Display hin bis zum Anschlag in den Stäbchenadapter eingeführt. Der Messwert war am Display ablesbar.

Probenvorbereitung

Die Möhren wurden für die Versuche wie folgt aufbereitet:

Jede Möhre wurde der Länge nach halbiert. Der Vitamin C Gehalt der einen Möhrenhälfte wurde gemessen, nachdem diese für 30 Sekunden in 2 l Wasser gewaschen wurde. Die zweite Hälfte wurde entsprechend nach dem Waschen für 30 Sekunden in 2 l ozontem Wasser untersucht. Die Ozonkonzentrationen im Waschwasser betragen zwischen 1,0 und 5,0 ppm (in 0,25 ppm Schritten) bei einer Waschdauer von 0,5 Minuten. Alle Versuche wurden fünfmal wiederholt.

Ergebnisse

Die Mittelwerte der Ergebnisse der Untersuchungen sind in der nachfolgenden **Tabelle 6** dargestellt:

Tabelle 6: Wiederfindungsrate von Vitamin C an in der Länge halbierten Möhren nach Ozonbehandlung (t = 30 sec.)

c(O ₃) [ppm]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]
0 (Referenz)	100±5
1,0	102
1,25	103
1,5	99
1,75	100
2,0	103
2,25	100
2,5	100
2,75	101
3,0	102
3,25	103
3,5	104
3,75	99
4,0	98
4,25	100
4,5	100
4,75	102
5,0	103

Die Versuche zeigen, dass die Möhren im untersuchten Konzentrationsbereich von 1,0 ppm bis 5,0 ppm und einer Waschzeit von 0,5 Minuten durch die Ozonbehandlung keine Schädigung des Vitamin C Gehaltes erfahren. Die beobachteten Abweichungen sind durch eine nicht ganz gleichmäßige Verteilung des Vitamin C Gehaltes in den Möhren zu erklären. Der Vergleich von halbierten, unbehandelten Möhrenhälften (n = 5) hat eine Abweichung von 5% ergeben, so dass alle gemessenen Werte innerhalb der natürlichen Schwankung liegen.

Auch die Verlängerung der Behandlungszeit auf 2 Minuten beeinflusst den Vitamin C Gehalt in den Möhren bis zu einer Ozonkonzentration von 4 ppm nicht negativ (Daten hier nicht gezeigt). Hier lag der Wert für die Wiederfindung bei 101% (n = 5).

3.6.2 Zucker-Bestimmung in Möhren

Messmethode

Der Zuckergehalt in Möhren wurde mittels HPLC ermittelt. Gemessen wurden der Gehalt an Saccharose, Glukose, Fructose sowie der Gesamt-Zucker.

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 H₂SO₄, Fließrate: 0,8 ml/min, Druck: 63 bar, Temperatur: 20°C.

Probenvorbereitung

Die Proben wurden vor der Messung analog zur Vitamin C Bestimmung vorbereitet. Vor der Messung wurde der Fruchtsaft der Möhren im Volumenverhältnis 1:1 verdünnt.

Ergebnisse

Die Zuckerwerte der Möhren wurden vor sowie nach der Wäsche mit ozontem Wasser ermittelt. Die Mittelwerte der Wiederfindung (n = 5) sind in **Tabelle 7** dargestellt:

Tabelle 7: Wiederfindungsrate der Zucker in Möhren in Abhängigkeit der Ozonkonzentration nach einer Behandlungszeit von 30 sec.

c(O ₃) [ppm]	Wiederfindung nach Ozonbehandlung [%]			
	Saccharose	Glukose	Fruktose	Gesamtzucker
1	102	99	99	101
1,25	98	94	94	96
1,5	102	101	103	102
1,75	98	100	102	99
2	97	99	100	98
2,25	101	101	101	101
2,5	102	103	104	103
2,75	106	102	101	104
3	99	98	98	99
3,25	104	97	98	102
3,5	102	104	105	102
3,75	97	94	99	97
4	101	99	98	101
4,25	105	98	99	101
4,5	99	96	97	98
4,75	102	95	95	98
5	101	101	98	99
Unbehandelte Kontrolle	104	98	97	101

Der Vergleich der Ergebnisse untereinander sowie mit der unbehandelten Kontrolle belegt, dass eine Ozonbehandlung bis zu einer Konzentration von 5 ppm und einer Einwirkzeit von 0,5 Minuten den Zuckergehalt in Möhren nicht verändert.

3.6.3 Atmung und Wasserdampfleitfähigkeit von Möhren

Messmethode

Die CO₂-Abgabe intakter Möhren wurde in einem geschlossenen System mittels Infrarotsensoren (FYA600_{CO2}, Ahlborn Mess- und Regeltechnik, BRD) bestimmt. Aus der Erhöhung der CO₂-Konzentration über einen definierten Zeitraum in geschlossenen Plexiglaszylindern und der Möhrenfrischmasse wurde die Atmungsaktivität (mg_{CO2} kg⁻¹ h⁻¹) errechnet. Die Transpiration (mmol_{H2O} kg⁻¹ min⁻¹) wurde aus dem Wasserverlust während der Lagerung unter kontrollierten Umweltbedingungen durch wiederholtes Wägen der einzelnen Möhren erfasst. Aus den Transpirationsraten und den entsprechenden Daten von Luft- und Möhrentemperaturen und Feuchte der Umgebungsluft wurde die Leitfähigkeit für Wasserdampf berechnet [17].

Probenvorbereitung

Für die Versuche wurden frische Bundmöhren in einem lokalen Supermarkt erworben, wo sie bei Raumtemperatur (~20°C) gelagert waren. Je drei Möhren wurden unbehandelt (Referenz 1), in Wasser (Referenz 2) bzw. in ozontem Wasser (c(O₃) = 1, 2, 3 ppm) für 30 Sekunden im Durchfluss gewaschen und dann für 10 Tage in wasserdampfgesättigter Atmosphäre bei 10°C bzw. 20°C gelagert. In dieser Zeit wurden sie wiederholt bonitiert.

Ergebnisse

Die Leitfähigkeit für Wasserdampf und die Atmungsaktivität, dargestellt anhand der CO₂-Abgaberaten aller untersuchten Möhren, nehmen mit der Lagerung ab, allerdings unabhängig von der Art der Behandlung bzw. von der Ozonkonzentration. Zur Veranschaulichung dient **Bild 15**.

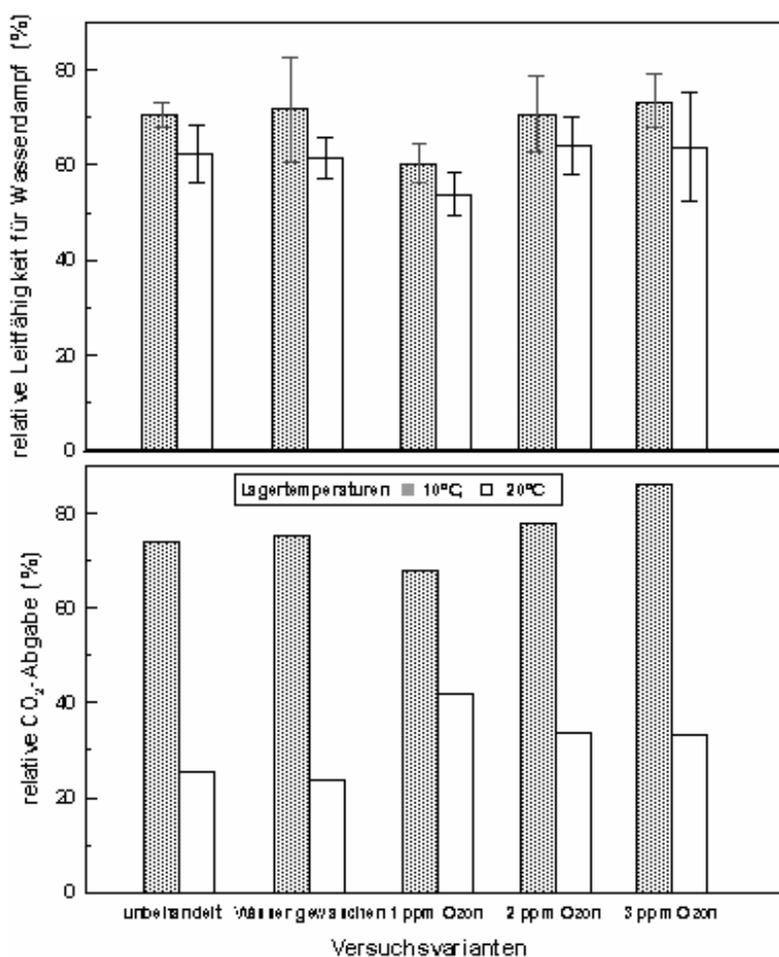


Bild 15: Relative Leitfähigkeit für Wasserdampf und relative CO₂ Abgaberate (%; jeweils bezogen auf den Ausgangswert vor der Einlagerung) der Möhren nach einer zehntägigen Lagerung bei 10°C und 20°C.

3.6.4 Vitamin C Bestimmung in Kartoffeln

Messmethode

Die Vitamin C Bestimmung erfolgte mit dem colorimetrischen Vitamin C Testset (Boehringer Mannheim, BRD). Das Set bestand aus folgenden Komponenten:

- 1) Natriumphosphat/Citrat-Puffer, pH ca. 3,5; [3-(4,5-Dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT)
- 2) Ascorbat-Oxidase Spatel
- 3) 5-Methylphenaziniummethosulfat (PMS) Lösung

Die Proben wurden gewogen und in 50 ml *meta*-Phosphorsäure (Merck, BRD) mit einem herkömmlichen Pürierstab zerkleinert. Der pH-Wert wurde mit 2 molarer KOH-Lösung auf einen Wert zwischen 3,5 und 4 eingestellt. Das Gemisch wurde in einen 500 ml Kolben überführt und bis zum Eichstrich mit dest. Wasser aufgefüllt. Anschlie-

ßend wurde die Lösung filtriert. In 2 Küvetten wurden je 1,1 ml dest. Wasser und 0,5 ml des Filtrats vorgelegt sowie 1 ml des Puffers (Komponente 1), die zuvor auf 37°C temperiert wurde. Zur Bestimmung des Leerwertes wurde in Küvette I ein Ascorbat-Oxidase Spatel (Komponente 2) gegeben und 5 sec. gerührt. Die Lösung in Küvette II wurde mit einem herkömmlichen Spatel gerührt. Anschließend wurden beide Küvetten bei 37°C im Brutschrank für 15 Minuten aufbewahrt. Dabei war die Lösung in Küvette I alle 2 Minuten umzurühren und nach Ablauf der Reaktionszeit war der Spatel zu verwerfen. Beide Lösungen wurden im Photometer vermessen. Man fügte 0,1 ml der Komponente 3 in beide Küvetten, rührte erneut mit herkömmlichen Spateln und bewahrte die Küvetten wiederum bei 37°C für 15 Minuten im Brutschrank auf. Nach Hinzufügen der Komponente 3 war darauf zu achten, dass die Proben sehr lichtempfindlich waren. Nach Ablauf der Reaktionszeit erfolgte eine erneute Messung beider Lösungen im Photometer.

Die Berechnung der Konzentration c erfolgte gemäß folgender Gleichungen:

$$\Delta E = (E_2 - E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - E_1)_{\text{Probe-Leerwert}}$$

und

$$c = \frac{V \cdot MG}{\varepsilon \cdot d \cdot v \cdot 1000} \cdot \Delta E [\text{g/l}]$$

mit: V = Testvolumen [ml]

MG = Molekulargewicht der zu bestimmenden Substanz

d = Schichtdicke [cm]

v = Probevolumen [ml]

ε = Extinktionskoeffizient von MTT-Formazan bei 578 nm

$$= 16,9 [\text{l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$$

Hieraus ergab sich für die Konzentration an Vitamin C:

$$c = \frac{2,7000 \cdot 176,13}{16,9 \cdot 1,00 \cdot 0,500 \cdot 1000} \cdot \Delta E = 0,0563 \cdot \Delta E \quad [\text{g Vitamin C / l Probelösung}]$$

Der Gehalt an Vitamin C wurde abschließend auf die Einwaage bezogen:

$$\text{Gehalt}_{\text{VitaminC}} = \frac{C_{\text{VitaminC}} [\text{g/l Probelösung}]}{\text{Einwaage}_{\text{Probe}} [\text{g/l Probelösung}]} \cdot 100 [\text{g/100g}]$$

Probenvorbereitung

Vor der Vitamin C Bestimmung werden die Kartoffeln gewaschen, um anhaftenden Schmutz zu entfernen und vorsichtig trocken getupft. Anschließend wird jede Kartoffel durch Nabel und Krone halbiert. Der Vitamin C Gehalt der einen Kartoffelhälfte wird gemessen, nachdem diese für 30 Sekunden mit Wasser gewaschen wurde, die der zweiten Hälfte, nach dem Waschen für 30 Sekunden mit ozontem Wasser. Die Ozonkonzentrationen im Waschwasser betragen zwischen 1,0 und 5,0 ppm (in 0,25 ppm Schritten). Untersucht wurde eine Waschdauer von 0,5 Minuten. Alle Versuche wurden zweimal wiederholt.

Ergebnisse

Die Mittelwerte der Ergebnisse der Untersuchungen sind in der nachfolgenden **Tabelle 8** dargestellt:

Tabelle 8: Wiederfindungsrate an Vitamin C in halbierten Kartoffelhälften nach Ozonbehandlung (t = 30 sec.)

c(O₃) [ppm]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]
2,0	100
2,25	101
2,5	100
2,75	100
3,0	100
3,25	100
3,5	101
3,75	100
4,0	98
4,25	99
4,5	100
4,75	99
5,0	98
Unbehandelte Kontrolle	100±2

Auf Grund der sehr präzisen Analysenmethode wurden je Ozonkonzentration jeweils nur 2 Proben untersucht. Für die unbehandelten Kontrollen wurde eine Abweichung von 2% innerhalb der Kartoffelhälften festgestellt. Alle ozonbehandelten Proben liegen, unabhängig von der Ozonkonzentration innerhalb dieser Toleranz, so dass davon ausgegangen werden kann, dass Ozon bis zu einer Konzentration von 5 ppm und einer Be-

handlungszeit von 0,5 Minuten keine Schädigung des Vitamin C Gehaltes in Kartoffeln hervorruft.

3.6.5 Zusammenfassung

Eine Ozonbehandlung von Möhren und Kartoffeln hat keinen negativen Einfluss auf den Vitamin C und Zucker-Gehalt. Die Leitfähigkeit für Wasserdampf und die Atmungsaktivität von Möhren zeigen ebenfalls keine Unterschiede im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen. Der Einsatz von ozontem Wasser ist daher als unbedenklich zu bezeichnen.

4 UV-Bestrahlung zur Hygienisierung von Möhren und Kartoffeln

Da die Ozonbehandlung nur eine begrenzte Wirkung auf die Hemmung von *P. carotovorum* und *T. basicola* auf Möhren sowie *P. infestans* auf Kartoffeln erbracht hat, wurde nach Alternativmethoden zur Abtötung der phytopathogenen Mikroorganismen gesucht. Da die keimtötende Wirkung von UV-Strahlen bereits in anderen Bereichen wie der Wasserdesinfektion erfolgreich eingesetzt wird, sich eine UV-Bestrahlung unkompliziert in Waschabläufe integrieren lässt und eine wartungsarme Behandlungsmethode darstellt, wurde die Wirkung der besonders wirksamen UV-C Strahlung auf die Testorganismen untersucht.

4.1 Einleitung

Arthur Downes und Thomas P. Blunt entdeckten bereits 1878, dass sich Mikroorganismen unter genügender Sonnenbestrahlung nicht weiter vermehren [18]. Erst viel später erkannte man eine spezifische Wellenlängenabhängigkeit mit einem Reaktionsmaximum für den Bereich 250 bis 270 nm, einem Teil der UV Strahlung aus dem kurzwelligen C-Band (UV-C). Die nachfolgende Darstellung (**Bild 16**) zeigt die Lage der UV-C Strahlung im Spektrum der elektromagnetischen Strahlung.

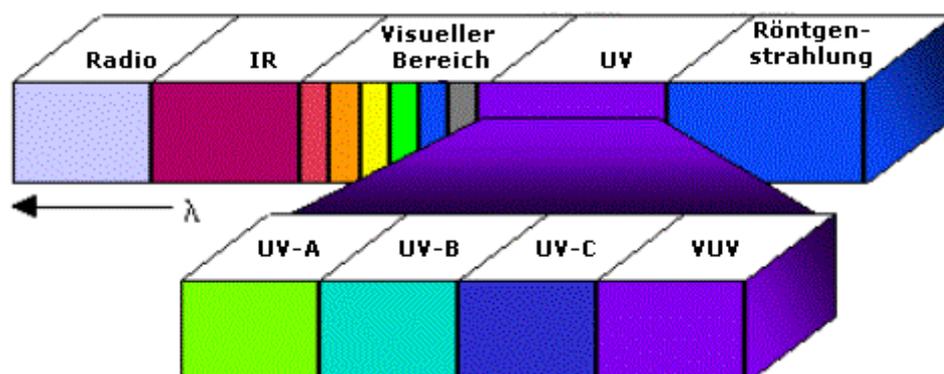


Bild 16: Spektrum elektromagnetischer Strahlung
(<http://www.lennotech.com/deutsch/UV-Info.htm>)

Die exakte Erklärung für das beobachtete Phänomen ließ lange auf sich warten und konnte erst nach der Entdeckung und mit der Erforschung der DNS in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts gegeben werden. Die Desinfektionswirkung von UV-Strahlung beruht demnach auf der Zerstörung der Fortpflanzungsmöglichkeit der Mikroorganismen. Die UV-Strahlung im Wellenlängenbereich um 260 nm hat eine starke Auswirkung auf die Eiweißstrukturen von Bakterien, da Wellenlängen in diesem Bereich von der DNA absorbiert werden. Es kommt zu strukturellen Veränderungen in der DNA. Diese bewirken eine Störung der Proteinsynthese (Replikation) und führen somit zum Zelltod.

Für eine Inaktivierung von Mikroorganismen sind folglich Strahler geeignet, die im Spektralbereich zwischen 240 und 290 nm UV-Strahlung emittieren. Die Resonanzlinie des Quecksilberstrahlers bei 254 nm erfüllt diese Bedingung sehr gut, da sie nahe der beiden Absorptionsmaxima liegt (**Bild 17**).

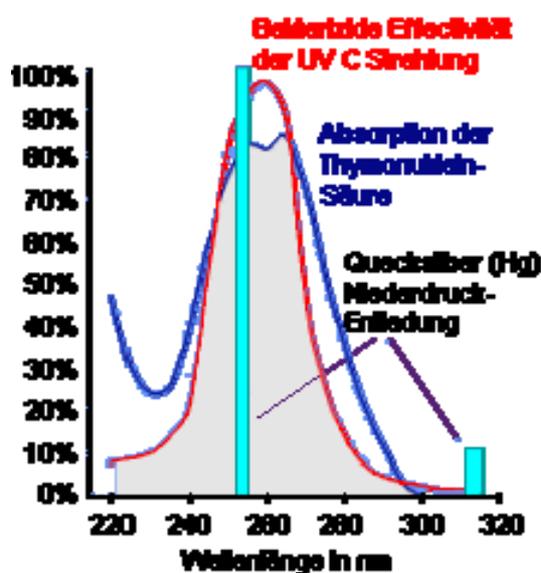


Bild 17: Absorption und Emission von Strahlung im UV-C Bereich

Die Wirksamkeit einer UV Behandlung zur Inaktivierung von Mikroorganismen steht dabei in direktem Zusammenhang mit der angewandten Dosis (= Zeit x Intensität). Hohe Intensitäten während einer kurzen Zeit oder geringe Intensitäten über einen langen Zeitraum sind praktisch austauschbar und beinahe gleichwertig in der Desinfektionswirkung.

Das nachfolgende Kapitel beschäftigt sich mit der Wirkung von UV-C Strahlung auf die ausgewählten Testorganismen.

4.2 Einfluss von ultraviolettem Licht auf Testkeime in wässrigen Lösungen

Analog zu den Versuchen mit ozontem Wasser wurde auch hier damit begonnen, die Wirkung der Behandlungsmethode auf die Mikroorganismen direkt zu ermitteln, d.h. ohne dass sich die Stämme auf der Produktoberfläche befinden. Dazu wurden die Teststämme wie in Kapitel 3.2 und 3.3 beschrieben kultiviert und jeweils 2 ml einer Keim- bzw. Sporensuspension definiert bestrahlt.

4.2.1 Einfluss von UV Licht auf *Pectobacterium carotovorum* in wässriger Lösung

Versuchsdurchführung

Für die Bestrahlung ($\lambda = 254 \text{ nm}$) der Keimsuspensionen ($2 \cdot 10^8 \text{ KbE/ml}$) wurden je Variante 2 ml Suspension in ein steriles 50 ml Becherglas pipettiert. Die Varianten wurden alle gleichzeitig bestrahlt. Es wurden gemäß **Tabelle 9** folgende Varianten untersucht:

Tabelle 9: untersuchte Varianten zur Behandlung von *P. carotovorum* in Lösung mit UV-C Strahlung

Variante	Behandlung der Keimsuspension	Bestrahlungsdichte [Ws/m^2]
1	Unbehandelte Kontrolle	-
2	60 sec. bestrahlen	150
3	120 sec. bestrahlen	300
4	180 sec. bestrahlen	450
4	240 sec. bestrahlen	600
5	300 sec. bestrahlen	750

Nach Ablauf der entsprechenden Bestrahlungszeit wurden die jeweiligen Bechergläser unter der Lampe entfernt. Jede Bestrahlungsvariante wurde in Doppelbestimmung ausplattiert und bebrütet.

Versuchsauswertung

Je länger eine Probe bestrahlt wird, desto besser ist die Hemmung des Bakteriums. Nach einer Bestrahlung von einer Minute hat sich die Keimzahl halbiert, das entspricht einer Reduktion von 0,5 log-Einheiten. Nach einer Behandlungszeit von drei Minuten hat sich die Hemmung auf 1 log-Einheit erhöht, d.h. 90% der Keime sind abgetötet. Nach 5 Minuten erhöhte sich die Reduktion auf 1,5 log-Einheiten. Dies entspricht einer 95%igen Hemmung. Zur Veranschaulichung der Ergebnisse dient **Bild 18**.

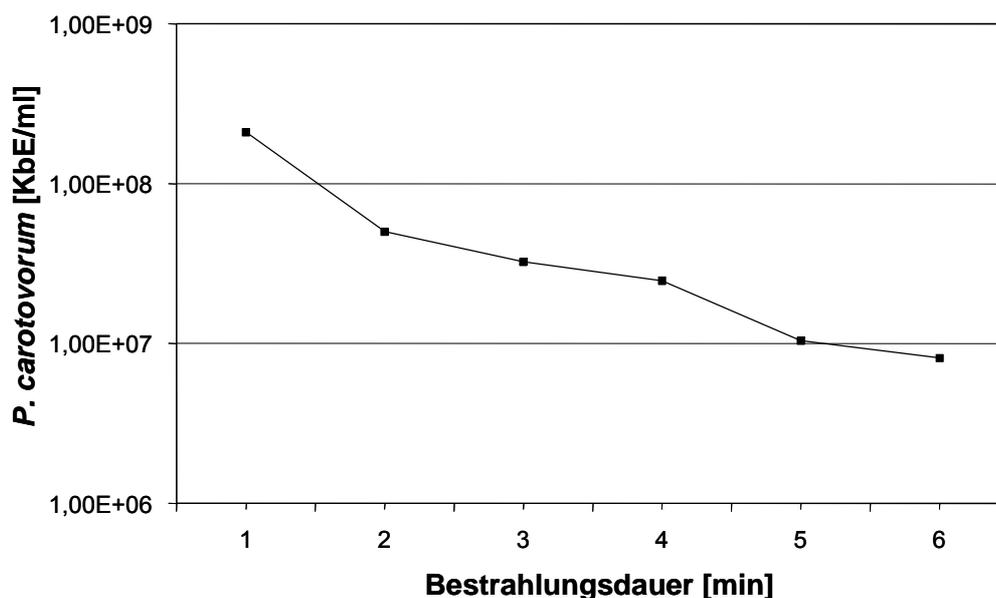


Bild 18: Reduktion von *P. carotovorum* in Lösung nach UV-Bestrahlung

4.2.2 Einfluss von UV Licht auf *Phytophthora infestans* in wässriger Lösung

Versuchsdurchführung

Je Variante wurden 5 Wiederholungen untersucht. Dazu wurden nach der UV-Bestrahlung ($\lambda = 254 \text{ nm}$) der Keimsuspensionen 5 Kartoffelscheiben mit je $50 \mu\text{l}$ *P. infestans* ($2 \cdot 10^3$ Sporen/ml) inokuliert.

Für die Bestrahlung der Sporensuspensionen wurden je Variante 2 ml Suspension in ein steriles 50 ml Becherglas pipettiert. Die Varianten (**Tabelle 10**) wurden alle gleichzeitig bestrahlt, nach Ablauf der entsprechenden Bestrahlungszeit wurden die jeweiligen Bechergläser unter der Lampe entfernt und es wurden sofort die Kartoffelscheiben beimpft. Diese wurden für 7 Tage bei 18°C bebrütet.

Tabelle 10: untersuchte Varianten der Bestrahlung von *P. infestans* in Suspension mit UV Licht

Variante	Behandlung der Sporangiensuspension	Bestrahlungsdichte [Ws/m^2]
1	Unbehandelte Kontrolle	-
2	Inokulierte Kontrolle	-
3	10 sec. bestrahlen	25
4	60 sec. bestrahlen	150
5	300 sec. bestrahlen	750

Versuchsauswertung

Erwartungsgemäß sind die Kartoffelscheiben der unbehandelten Kontrolle bis auf zwei kleine Stellen ohne Befall. Die inokulierten Kontrollscheiben zeigen einen gleichmäßigen Bewuchs. Die Kartoffelscheiben der Variante 3 ($K = 25 \text{ Ws/m}^2$) zeigen bereits eine leichte Hemmung des Pilzwachstums auf zwei Kartoffelscheiben. Der Bewuchs der drei weiteren Kartoffelscheiben entspricht dem der inokulierten Kontrolle. Variante 4 zeigt ein vergleichbares Aussehen. Eine komplette Hemmung kann bei $K = 750 \text{ Ws/m}^2$ beobachtet werden. Zur Veranschaulichung der Ergebnisse dient **Bild 19**:

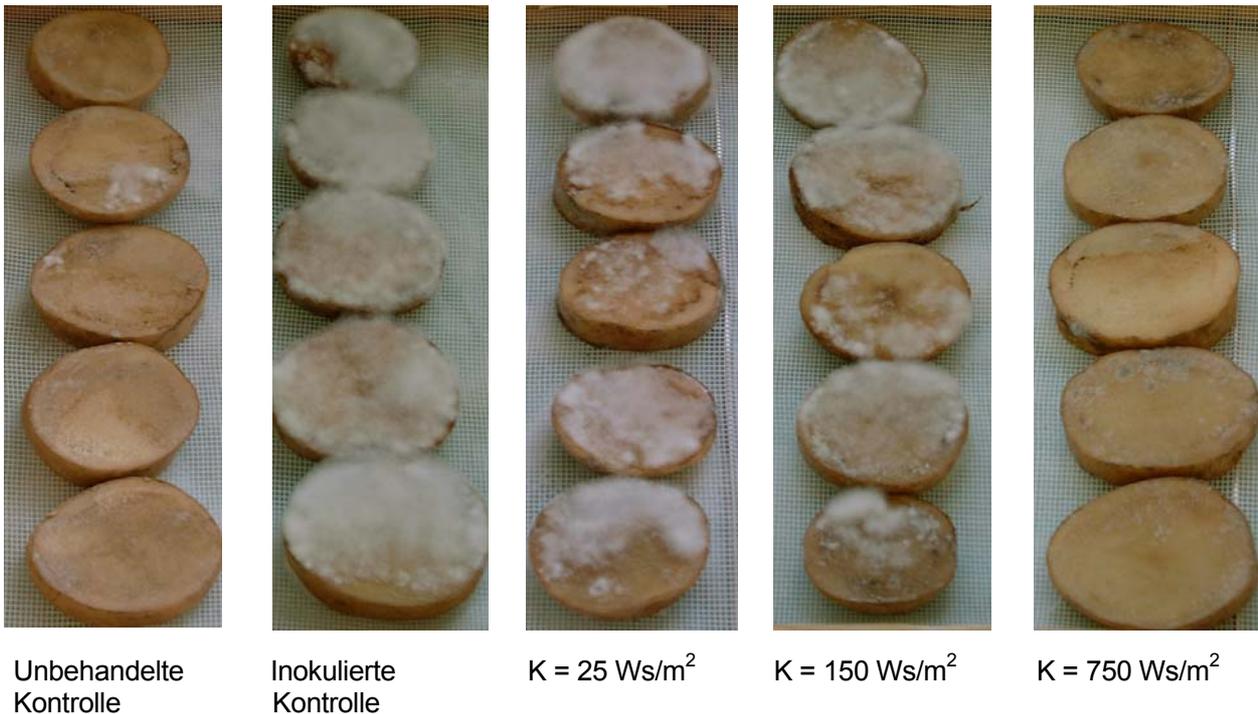


Bild 19: Wachstum von *P. infestans* nach UV-Behandlung auf Kartoffelscheiben nach 7-tägiger Bebrütung bei 18°C (K = Bestrahlungsdichte)

4.2.3 Einfluss von UV Licht auf *Thielaviopsis basicola* in wässriger Lösung

Versuchsdurchführung

Je 2 ml Sporensuspension (10^4 Sporen/ml) wurden in ein 50 ml Becherglas pipettiert. Die Suspensionen wurden gemäß **Tabelle 11** mit UV-Licht bestrahlt:

Tabelle 11: Behandlungsvarianten zur UV-Bestrahlung von *T. basicola* in Lösung

Variante	Behandlung der Sporensuspension	Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
1	Unbehandelte Kontrolle	-
2	10 sec. bestrahlen	25
3	20 sec. bestrahlen	50
4	30 sec. bestrahlen	75
5	60 sec. bestrahlen	150
6	300 sec. (5 min) bestrahlen	750

Nach erfolgter Bestrahlung wurden die Varianten in Doppelbestimmung mikrobiologisch analysiert.

Versuchsauswertung

Nach 9 Tagen Inkubationszeit sind alle Platten unabhängig von der Bestrahlungsdichte stark mit *T. basicola* bewachsen. Auch bei längeren Bestrahlungszeiten scheint der Pilz durch die Behandlung keine Schädigung zu erfahren. Ursache hierfür kann die Dickwandigkeit der Chlamydosporen sein.

4.2.4 Zusammenfassung

Auf die Bestrahlung mit UV-C Licht reagieren die Mikroorganismen erwartungsgemäß sehr unterschiedlich.

Für *P. carotovorum* nimmt die Hemmung mit der Bestrahlungsdichte zu, das beste Ergebnis konnte bei einer Bestrahlungsdichte von 750 Ws/m² erzielt werden. Dabei wird die Anzahl der Bakterien um 1,5 log-Einheiten erniedrigt.

P. infestans reagiert im Vergleich sensibler auf die Bestrahlung. Hier wird bei einer Bestrahlungsdichte von 750 Ws/m² eine vollständige Abtötung des Pilzes erhalten.

Auf das Wachstum von *T. basicola* hatte die Bestrahlung keinen Einfluss.

4.3 Einfluss von ultraviolettem Licht auf Mikroorganismen auf der Produkt-oberfläche

Aufbauend auf den Bestrahlungsversuchen in Lösung sollte im nächsten Schritt die Wirkung einer UV-C Bestrahlung ermittelt werden, wenn sich die Bakterien und Pilze bereits auf den Produkten etabliert haben. Um die optimalen Bestrahlungsdichten zu ermitteln, wurde für diese Versuche eine UV-Lampe mit einer Bestrahlungsdichte von 2,5 Ws/m² ausgewählt. Die angestrebten Bestrahlungsdosen wurden durch die Variation der Bestrahlungszeit erreicht. Zur Veranschaulichung der Versuchsanordnung dient **Bild 20**.



Bild 20: Versuchsaufbau für Bestrahlungsversuche im Labor

4.3.1 Einfluss von UV Licht auf *Pectobacterium carotovorum* auf Möhren

Versuchsdurchführung

Je Variante wurden 2 Möhren untersucht. Die Möhren wurden vor der UV-Bestrahlung durch Eintauchen in eine Bakteriensuspension mit *P. carotovorum* inokuliert. Die Tauchsuspension wurde aus 20 ml Hauptkultur und 180 ml Ringerlösung hergestellt (Endkeimgehalt an *P. carotovorum*: 10^7 KbE/ml). Nach 15 Minuten Wartezeit zur Etablierung der Mikroorganismen auf der Produktoberfläche, wurden diese steigenden Bestrahlungsdichten ($\lambda = 254$ nm) ausgesetzt und anschließend mikrobiologisch analysiert. Es wurden folgende Varianten untersucht (**Tabelle 12**):

Tabelle 12: untersuchte Varianten der Bestrahlung von Möhren, die mit *P. carotovorum* infiziert sind

Variante	Behandlung	Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
1	Unbehandelte Kontrolle	-
2	Inokulierte Kontrolle	-
3	1 min. bestrahlen	150
4	2 min. bestrahlen	300
5	3 min. bestrahlen	450
6	4 min. bestrahlen	600
7	5 min. bestrahlen	750

Versuchsauswertung

Auf den unbehandelten Kontrollen kann *P. carotovorum* nicht nachgewiesen werden. Durch die Inokulation wurden auf den Möhren $2 \cdot 10^4$ KbE/g FM appliziert. Die Bestrahlung mit UV-Licht hat bis zu einer Bestrahlungsdichte von 300 Ws/m^2 keine keimhemmende Wirkung. Durch eine Erhöhung der Bestrahlungsdichte auf 450 Ws/m^2 konnte der Keimgehalt um 0,5 log-Einheiten reduziert werden. Eine 4-minütige Behandlung (Bestrahlungsdichte: 600 Ws/m^2) führt zu einer Reduktion um eine log-Einheit, nach einer Behandlungsdauer von 5 Minuten (Bestrahlungsdichte: 750 Ws/m^2) liegt die Reduktion bei 2 log-Einheiten. Dies entspricht einer Abtötung von 99% aller Keime. Zur Veranschaulichung der Ergebnisse dient **Tabelle 13**. In weiteren Versuchen konnte nachgewiesen werden, dass bei einer Bestrahlungsdichte von 3750 Ws/m^2 das Bakterium vollständig abgetötet wird.

Tabelle 13: Hemmung von *P. carotovorum* auf der Oberfläche von Möhren nach UV-Bestrahlung

Variante	Behandlungsdauer [min]	Bestrahlungsdichte [Ws/m^2]	<i>P. carotovorum</i> [KbE/g FM]
1	Unbehandelte Kontrolle	-	n.n.
2	Inokulierte Kontrolle	-	$2 \cdot 10^4$
3	1	150	$5 \cdot 10^4$
4	2	300	$2 \cdot 10^4$
5	3	450	$7 \cdot 10^3$
6	4	600	$1 \cdot 10^3$
7	5	750	$5 \cdot 10^2$

4.3.2 Einfluss von UV Licht auf *Phytophthora infestans* auf Kartoffeln

Versuchsdurchführung

Je Variante wurden 6 Kartoffelscheiben untersucht. Die Kartoffelscheiben wurden 15 Minuten vor der UV-Bestrahlung ($\lambda = 254 \text{ nm}$) mit je $50 \mu\text{l}$ *P. infestans* Suspension (10^4 Sporangien/ml) inokuliert.

Bei der Bestrahlung der Kartoffelscheiben wurden je Variante 3 Scheiben nach jeweils der Hälfte der Bestrahlungsdauer umgedreht, um zu überprüfen, ob beidseitiges Bestrahlen einen Einfluss auf das Versuchsergebnis hat. Eine Übersicht der untersuchten Varianten gibt **Tabelle 14**. Die Kartoffelscheiben wurden nach der Behandlung für 7 Tage bei 18°C bebrütet.

Tabelle 14: untersuchte Varianten der Bestrahlung von Kartoffelscheiben, die mit *P. infestans* infiziert sind

Variante	Behandlung	Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
1	Unbehandelte Kontrolle	-
2	Inokulierte Kontrolle	-
3	10 sec. bestrahlen	25
4	60 sec. bestrahlen	150
5	300 sec. (5 min) bestrahlen	750

Versuchsauswertung

Die unbehandelten und inokulierten Kontrollen zeigen nach der Bebrütungszeit erwartungsgemäß keinen bzw. einen gleichmäßigen Bewuchs.

Eine Bestrahlungsdichte von 25 Ws/m² zeigt bei infizierten Kartoffelscheiben keine Wirkung. Bei einer Bestrahlungsdichte von 150 Ws/m² ist eine leichte Hemmung des Wachstums zu beobachten, jedoch nur, wenn die Scheiben nicht nach der Hälfte der Zeit gedreht werden. Andernfalls ist das Wachstum vergleichbar mit dem auf den inokulierten Kontrollscheiben. Eine Bestrahlungsdichte von 750 Ws/m² verursacht eine deutliche Hemmung des Pilzwachstums, wenn die Scheiben nicht gedreht werden. Das Drehen der Kartoffelscheiben nach der Hälfte der Behandlungszeit kommt einer Halbierung der Bestrahlungsdauer gleich. Zur Veranschaulichung der Versuchsergebnisse dienen **Bild 21** und **Bild 22**.

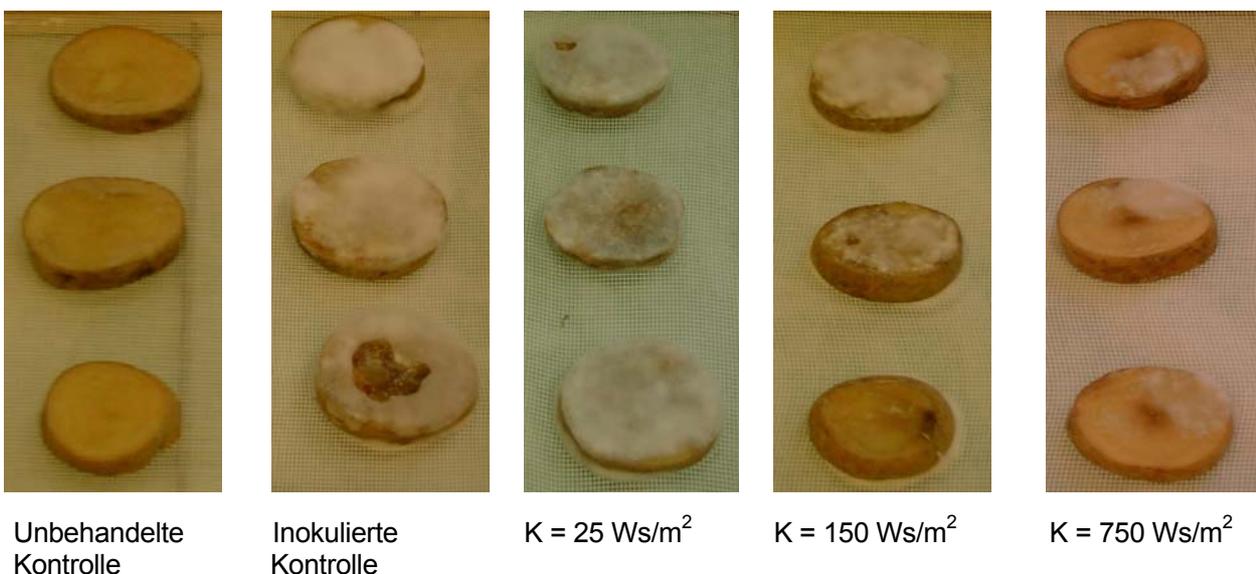


Bild 21: mit *P. infestans* inokulierte Kartoffelscheiben nach UV-Behandlung (**ungedreht**) und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C

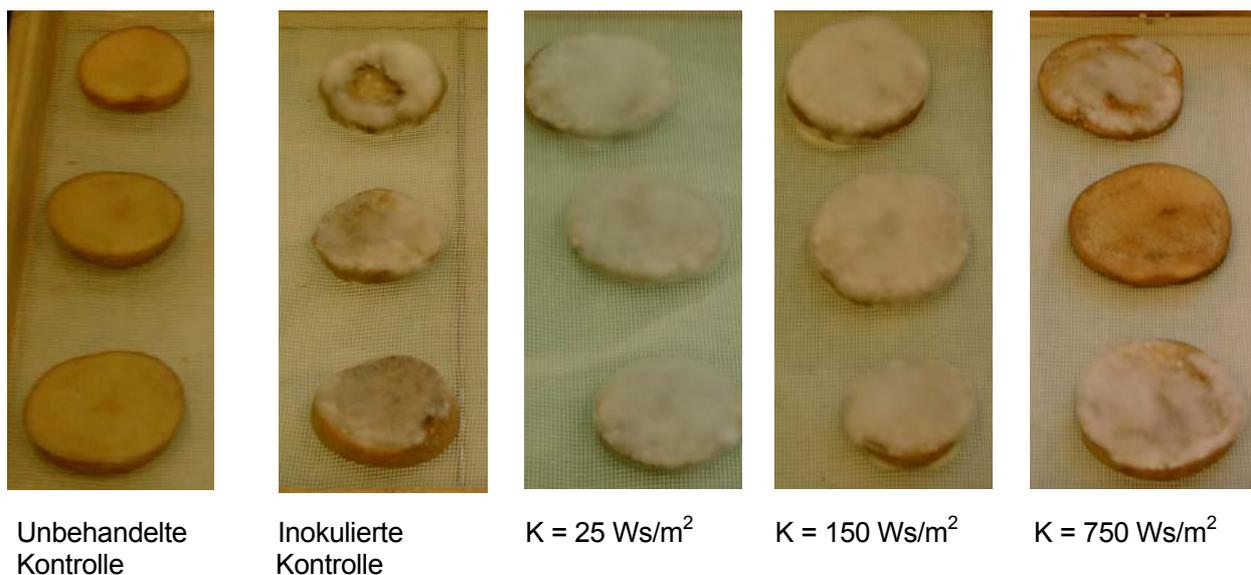


Bild 22: mit *P. infestans* inokulierte Kartoffelscheiben nach UV-Behandlung (nach jeweils der Hälfte der Bestrahlungszeit werden die Scheiben **gedreht**) und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C

4.3.3 Einfluss von UV Licht auf *Thielaviopsis basicola* auf Möhren

Versuchsdurchführung

Die Möhren wurden mit je 2 Sprühstößen einer *T. basicola* Suspension (10⁴ Sporen/ml) inokuliert. Zur Etablierung des Pilzes auf der Oberfläche wurde 15 Minuten gewartet, bevor mit der UV-Bestrahlung ($\lambda = 254 \text{ nm}$) begonnen wurde. Je Variante wurden 2 Möhren untersucht. Es wurden folgende Bestrahlungsvarianten untersucht (**Tabelle 15**):

Tabelle 15: Varianten der UV-Behandlung von mit *T. basicola* inokulierten Möhren

Variante	Behandlung der inokulierten Möhren	Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
1	Unbehandelte Kontrolle	-
2	Inokulierte Kontrolle	-
3	160 sec. bestrahlen	400
4	320 sec. bestrahlen	800
5	400 sec. bestrahlen	1000
6	640 sec. bestrahlen	1600
7	800 sec. bestrahlen	2000

Anschließend wurden alle Möhren mikrobiologisch untersucht. Dazu wurden die Möhren in sterilen Probenahmebeuteln zerkleinert. Anschließend wurden jeweils 10 g Probe mit 90 ml steriler Ringerlösung versetzt und für 2 Minuten bei max. Frequenz im Stomacher geschüttelt. Von jeder Variante wurde in Doppelbestimmung auf MEA-Cl ausgespatelt (Verdünnungsstufen 10⁻² bis 10⁻⁶). Die Platten wurden für 20 Tage bei Zimmertemperatur

bebrütet. Nach dieser Zeit wurden die Platten mikroskopisch auf Wachstum von *Thielaviopsis basicola* untersucht.

Versuchsauswertung

Eine Übersicht über die Versuchsergebnisse gibt **Tabelle 16**:

Tabelle 16: Hemmung von *T. basicola* auf Möhren nach UV-Bestrahlung

Variante	Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]	Mikroskopischer Befund auf den bebrüteten Platten
1/1 1/2	Unbehandelte Kontrolle	-
2/1 2/2	Inokulierte Kontrolle	<i>T. basicola</i>
3/1 3/2	400	<i>T. basicola</i> <i>T. basicola</i>
4/1 4/2	800	<i>T. basicola</i> -
5/1 5/2	1000	- <i>T. basicola</i>
6/1 6/2	1600	- -
7/1 7/2	2000	- -

Demnach sind die verwendeten Möhren frei von *T. basicola*. Die Platten der inokulierten Möhren sind stark mit *T. basicola* bewachsen, so dass die Inokulation erfolgreich verlaufen ist. Während bei beiden Wiederholungen der Variante 3 ($K = 400 \text{ Ws/m}^2$) noch *T. basicola* auf den Platten gewachsen ist, reduziert sich der Bewuchs in den Varianten 5 und 6 ($K = 800$ bzw. 1000 Ws/m^2) auf jeweils nur eine Wiederholung. Ab einer Bestrahlungsdichte von 1600 Ws/m^2 konnte kein Wachstum von *T. basicola* mehr beobachtet werden. Eine Erhöhung der Bestrahlungsdichte reduziert damit erwartungsgemäß die Ausbreitung des Pilzes. Hier kann sogar eine vollständige Hemmung des Pilzes erzielt werden.

4.3.4 Zusammenfassung

Der Einsatz von UV-C Licht zur Hemmung des Bakterien- und Pilzwachstums auf Möhren bzw. Kartoffeln verlief erfolgreich. Dabei sind die untersuchten Mikroorganismen erwartungsgemäß unterschiedlich stark sensibel gegen eine UV-Bestrahlung. Eine deutlich hemmende Wirkung ist bei allen untersuchten Mikroorganismen ab Bestrahlungsdichten von 750 Ws/m^2 zu beobachten. Hier liegt die Hemmung von *P. carotovorum* auf Möhren

bei 2 log-Einheiten. Eine vollständige Unterdrückung des Bakteriums gelingt jedoch erst bei einer Bestrahlungsdichte von 3750 Ws/m^2 .

Das Wachstum von *P. infestans* auf Kartoffelscheiben kann auch bei höheren Bestrahlungsdichten (Daten hier nicht gezeigt) nicht vollständig unterbunden werden. Ursache hierfür ist wahrscheinlich, dass der Pilz tief in das Gewebe hineinwächst, wo er durch die UV-Bestrahlung nicht erreicht werden kann, so dass der Behandlungserfolg begrenzt ist.

Das Wachstum von *T. basicola* auf Möhren wird ab einer Bestrahlungsdichte von 1600 Ws/m^2 vollständig unterdrückt.

Die Bestrahlung von Möhren und Kartoffeln mit UV-C Licht zur Bekämpfung von Produktverlusten, die durch *P. carotovorum*, *P. infestans* und *T. basicola* hervorgerufen werden, verläuft erfolgreich, wobei der Pilz *P. infestans* nicht vollständig gehemmt werden kann. Die Umsetzung der hohen Bestrahlungsdichten von 3750 Ws/m^2 bei Befall mit *P. carotovorum* und 1600 Ws/m^2 bei Befall mit *T. basicola* in der Praxis können durch UV-Lampen mit entsprechender Leistung erbracht werden.

Die Bestrahlung mit UV-C Licht scheint jedoch eine erfolgreiche Behandlungsmethode zumindest zur Reduzierung des Befalls mit den genannten Mikroorganismen zu sein.

In nachfolgenden Versuchen sollte daher geklärt werden, ob eine Kombination einer Wäsche mit ozontem Wasser mit nachfolgender UV-C Bestrahlung zur vollständigen Unterdrückung der Pilze bzw. des Bakteriums führt.

4.4 Bestimmung der Qualitätsparameter von Möhren und Kartoffeln nach UV-Bestrahlung

Um zu gewährleisten, dass eine UV-Bestrahlung die Qualität der Produkte nicht schädigt, wurden in Analogie zu den Ozonversuchen Untersuchungen der Inhaltsstoffe nach einer UV-Bestrahlung durchgeführt.

4.4.1 Vitamin C Bestimmung in Möhren

Messmethode

Die Vitamin C Bestimmung in den Möhren nach UV-Bestrahlung erfolgte auf die gleiche Weise wie nach der Ozonbehandlung (siehe Kapitel 3.6.1).

Probenvorbereitung

Die Möhren wurden für die Versuche wie folgt aufbereitet:

Jede Möhre wurde der Länge nach halbiert. Der Vitamin C Gehalt der einen Möhrenhälfte wurde sofort gemessen, die der zweiten Hälfte nach dem Bestrahlen mit UV-Licht. Die

Bestrahlungsdichten betragen zwischen 75 und 2000 Ws/m². Jede Variante wurde dreimal untersucht und der Mittelwert gebildet.

Ergebnisse

Um die Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, wurden unbehandelte Möhren als Referenz vermessen. Die Abweichung beträgt hier $\pm 1\%$. Alle Analysenergebnisse bis zu Bestrahlungsdichten von 2000 Ws/m² liegen innerhalb dieses Spielraums, so dass davon auszugehen ist, dass der Vitamin C-Gehalt von Möhren bis zu dieser Bestrahlungsdichte nicht geschädigt wird. Eine Ergebnisübersicht gibt **Tabelle 17**.

Tabelle 17: Wiederfindungsrate von Vitamin C in der Länge bei halbierten Möhrenhälften nach UV-Bestrahlung

Bestrahlungsdichte [Ws/m²]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]
- (Referenz)	100 \pm 1
75	99
150	100
450	100
600	101
750	99
1500	101
2000	101

4.4.2 Vitamin C Bestimmung in Kartoffeln

Messmethode

Die Vitamin C Bestimmung in Kartoffeln nach UV-Bestrahlung erfolgte auf die gleiche Weise wie nach der Ozonbehandlung (siehe Kapitel 3.6.4).

Probenvorbereitung

Vor der Vitamin C Bestimmung wurden die Kartoffeln gewaschen, um anhaftenden Schmutz zu entfernen und vorsichtig trocken getupft. Anschließend wurde jede Kartoffel durch Nabel und Krone halbiert. Der Vitamin C Gehalt der einen Kartoffelhälfte wurde sofort gemessen, die der zweiten Hälfte nach der Bestrahlung mit UV-Licht. Die Bestrahlungsdichten betragen zwischen 25 und 2000 Ws/m². Alle Versuche wurden zweimal wiederholt.

Ergebnisse

Es wurden jeweils 2 Proben untersucht und der Mittelwert gebildet. Für die unbehandelten Kontrollen wurde eine Abweichung von $\pm 1\%$ zwischen den Kartoffelhälften gefunden. Alle UV behandelten Varianten liegen innerhalb dieser Abweichungen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass eine Bestrahlungsdichte bis 2000 Ws/m^2 als unschädlich anzusehen ist. **Tabelle 18** zeigt eine Übersicht der Messergebnisse.

Tabelle 18: Wiederfindungsrate von Vitamin C in halbierten Kartoffelhälften nach UV-Bestrahlung

Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]
-	100±1
25	101
50	100
75	99
150	100
450	100
600	99
750	101
1500	100
2000	101

4.4.3 Zusammenfassung

Die Bestrahlung von Möhren und Kartoffeln mit UV-C Licht bis zu einer Bestrahlungsdichte von 2000 Ws/m^2 erfolgt ohne Beeinträchtigung des Vitamin C Gehaltes der Produkte. Die Bestrahlung kann demzufolge als unbedenklich angesehen werden.

5 Einfluss von ozontem Wasser und ultraviolettem Licht in Kombination auf Mikroorganismen auf der Produktoberfläche

Da sowohl der Einsatz von ozontem Wasser als auch die Bestrahlung mit UV-Licht nur eine begrenzte Wirkung auf die Hemmung der ausgewählten Mikroorganismen erbrachte, wurde in Absprache mit der Firma Schneider Fördertechnik beschlossen, beide Behandlungsmethoden zu kombinieren, um zu untersuchen, ob sich die hemmenden Effekte der beiden untersuchten Behandlungsmethoden kumulieren.

5.1 Einfluss auf *Pectobacterium carotovorum* auf Möhren

Versuchsdurchführung

Je Variante wurden 2 Möhren untersucht. Die Möhren wurden vor der Behandlung durch Eintauchen in eine Bakteriensuspension mit *P. carotovorum* inokuliert. Die Tauchsuspension wurde aus 20 ml Hauptkultur und 180 ml Ringerlösung hergestellt (Endkeimgehalt an *P. carotovorum*: $4 \cdot 10^7$ KbE/ml). Nach 15 min. Wartezeit zur Etablierung der Mikroorganismen auf der Produktoberfläche, wurden alle Varianten zuerst mit ozontem Wasser (4 ppm) im Durchfluss gewaschen und anschließend gemäß **Tabelle 19** steigenden Bestrahlungsdichten ($\lambda = 254$ nm) ausgesetzt. Abschließend wurden alle Möhren in Doppelbestimmung mikrobiologisch analysiert.

Tabelle 19: untersuchte Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung bei Möhren, die mit *P. carotovorum* infiziert sind

Variante	Behandlung		Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
	Dauer der Wäsche mit ozontem Wasser [min.]	Dauer der UV-Bestrahlung [min.]	
1	Unbehandelte Kontrolle		-
2	Inokulierte Kontrolle		-
3	0,5 min.	0,5 min.	75
4	0,5 min.	1 min.	150
5	0,5 min.	2 min.	300
6	0,5 min.	3 min.	450
7	0,5 min.	4 min.	600
8	0,5 min.	5 min.	750

Versuchsauswertung

Die Kombination von Ozon- und UV-Behandlung führt bereits bei einer geringen Bestrahlungsdichte von 75 Ws/m² zu einer Keimzahlreduzierung von 0,4 log-Einheiten. Bei einer Verdoppelung der Bestrahlungszeit vergrößert sich die Reduktion der Mikroorganismen auf eine log-Einheit. Nach einer weiteren Verdopplung der Bestrahlungsdichte

auf 300 Ws/m^2 kann die Hemmung der Keime auf 2 log-Einheiten erhöht werden. Weitere Erhöhungen der Bestrahlungsdichte erbringen jedoch keine weitere Hemmung des Bakteriums. Zur Veranschaulichung der Ergebnisse dient **Bild 23**.

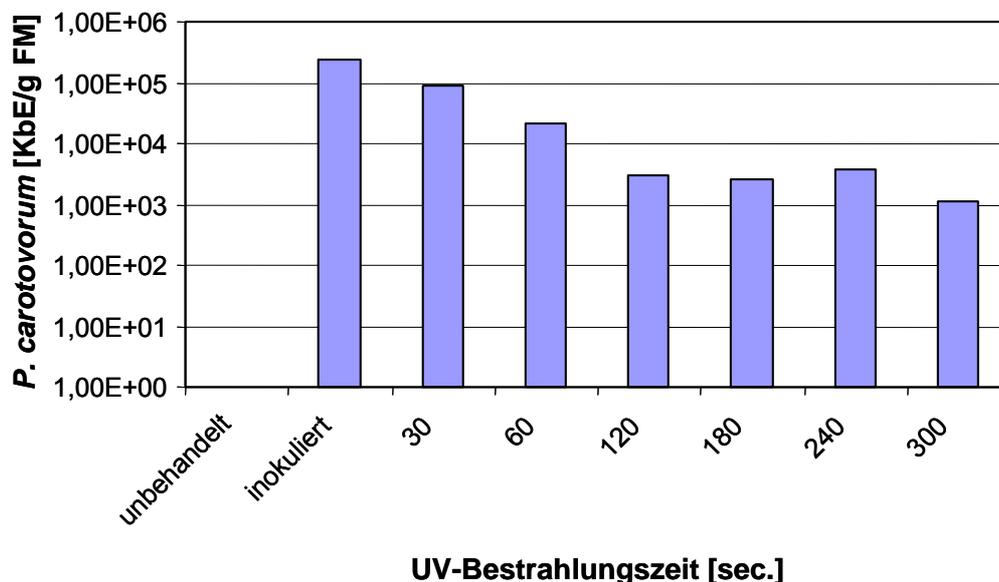


Bild 23: Reduktion von *P. carotovorum* auf Möhren nach kombinierter Behandlung mit ozontem Wasser und UV-Bestrahlung

Durch die Kombination der Wäsche mit ozontem Wasser ($c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$, $t = 0,5 \text{ min}$) und einer UV-C Bestrahlung ($K = 300 \text{ Ws/m}^2$) kann somit eine maximale Reduzierung von *P. carotovorum* um 2 log-Einheiten erzielt werden. Auch durch Verknüpfung beider Methoden ist eine vollständige Hemmung des Bakteriums nicht möglich.

5.2 Einfluss auf *Phytophthora infestans* auf Kartoffeln

Versuchsdurchführung

Je Variante wurden 3 Kartoffelscheiben untersucht. Diese wurden vor der Behandlung mit einer Suspension von *P. infestans* ($2 \cdot 10^3$ Sporen/ml) inokuliert und nach 15 Minuten Etablierungszeit auf der Produktoberfläche behandelt. Dabei wurden die Kartoffelscheiben zuerst für 30 Sekunden im Durchfluss mit ozontem Wasser ($c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$) gewaschen und anschließend bestrahlt. Es wurden folgende Varianten (**Tabelle 20**) untersucht.

Tabelle 20: untersuchte Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung bei Kartoffeln, die mit *P. infestans* infiziert sind

Variante	Behandlung		Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
	Dauer der Wäsche mit ozon-tem Wasser [min.]	Dauer der UV-Bestrahlung [min.]	
1	Unbehandelte Kontrolle		-
2	Inokulierte Kontrolle		-
3	0,5 min.	0,5 min.	75
4	0,5 min.	1 min.	150
5	0,5 min.	2 min.	300
6	0,5 min.	3 min.	450
7	0,5 min.	4 min.	600
8	0,5 min.	5 min.	750

Nach der Behandlung wurden die Kartoffelscheiben für 7 Tage bei 18°C inkubiert und anschließend bonitiert.

Versuchsauswertung

Die unbehandelten Kontrollen weisen keinen Befall mit *P. infestans* auf, so dass davon ausgegangen werden kann, dass das Probenmaterial vor dem Versuch nicht kontaminiert war. Die inokulierten Kontrollscheiben sind alle dicht mit einem weißen Myzel von *P. infestans* bewachsen. Die Inokulation war somit erfolgreich.

Eine Hemmung des Pilzes ist bereits in Variante 3 erkennbar (30 sec Wäsche mit ozon-tem Wasser und UV-Bestrahlung mit 75 Ws/m²). Das beste Ergebnis, das heißt die stärkste Hemmung des Pilzwachstums wird bei einer Bestrahlungsdauer von einer Minute (entspricht 150 Ws/m²) erreicht. 2 Scheiben zeigen hier nur Spuren von *P. infestans*, eine Kartoffelscheibe ist zu etwa 50% mit *P. infestans* bewachsen. Es zeigt sich jedoch, dass eine Erhöhung der Bestrahlungsdichte, d.h. eine Verlängerung der Bestrahlungszeit, nicht zur vollständigen Hemmung des Pilzwachstums führt, sondern dass ab einer Bestrahlungsdichte von 600 Ws/m² wieder ein verstärktes Wachstum einsetzt. Die Ergebnisse sind zur Veranschaulichung in **Bild 24** dargestellt.

Durch die Kombination von Ozon- und UV-Behandlung ist somit zwar eine deutliche Hemmung des Pilzes zu beobachten, eine vollständige Eliminierung ist jedoch nicht möglich.



Unbehandelte Kontrolle



Inokulierte Kontrolle



30 sec ozontes Wasser;
K = 75 Ws/m²



30 sec ozontes Was-
ser; K = 150 Ws/m²



30 sec ozontes Wasser;
K = 300 Ws/m²



30 sec ozontes Was-
ser; K = 450 Ws/m²



30 sec ozontes Was-
ser; K = 600 Ws/m²



30 sec ozontes Was-
ser; K = 750 Ws/m²

Bild 24: mit *P. infestans* inokulierte Kartoffelscheiben nach kombinierter Ozon- und UV-
Behandlung und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C

5.3 Einfluss auf *Thielaviopsis basicola* auf Möhren

Versuchsdurchführung

Die Möhren wurden mit je 2 Sprühstößen einer *T. basicola* Suspension (10^4 Sporen/ml) inokuliert. Diese Stelle wurde jeweils farbig markiert. Zur Etablierung des Pilzes auf der Oberfläche wurde 15 Minuten gewartet, bevor mit der UV-Bestrahlung ($\lambda = 254$ nm) begonnen wurde. Je Variante wurden 2 Möhren untersucht. Folgende Varianten wurden untersucht (**Tabelle 21**).

Tabelle 21: Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung von mit *T. basicola* inokulierten Möhren

Variante	Behandlung		Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
	Dauer der Wäsche mit ozon-tem Wasser [min.]	Dauer der UV-Bestrahlung [min.]	
1	Unbehandelte Kontrolle		-
2	Inokulierte Kontrolle		-
3	0,5 min.	1 min.	150
4	0,5 min.	2 min.	300
5	0,5 min.	3 min.	450
6	0,5 min.	4 min.	600
7	0,5 min.	5 min.	750

Anschließend wurden alle Möhren mikrobiologisch untersucht. Dazu wurden die Möhren in sterilen Probenahmebeuteln zerkleinert. Anschließend wurden jeweils 10 g Probe mit 90 ml steriler Ringerlösung versetzt und für 2 Minuten bei max. Frequenz im Stomacher geschüttelt. Von jeder Variante wurde in Doppelbestimmung auf MEA-CI ausgespatelt (Verdünnungsstufen 10^{-2} bis 10^{-6}). Die Platten wurden für 15 Tage bei Zimmertemperatur bebrütet. Nach dieser Zeit wurden die Platten mikroskopisch auf Wachstum von *Thielaviopsis basicola* untersucht.

Versuchsauswertung

Erwartungsgemäß ist nach der Bebrütung kein Wachstum von *T. basicola* auf den Kontrollplatten zu beobachten. Die Platten der inokulierten Kontrollen zeigen ein regelmäßiges Wachstum, so dass die Inokulation erfolgreich verlaufen ist. Das Wachstum von *T. basicola* der behandelten Möhren kann durch die kombinierte Behandlung leicht eingeschränkt werden, eine vollständige Hemmung ist auch bei einer Erhöhung der Bestrahlungsdichte nicht möglich. Eine Übersicht der Ergebnisse ist in **Tabelle 22** gegeben.

Tabelle 22: Ergebnisse der kombinierten Ozon- ($c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$; $t = 30 \text{ sec}$) und UV-Behandlung bei mit *T. basicola* infizierten Möhren, nach 15 Tagen Bebrütung bei Raumtemperatur

Variante	Bestrahlungsdichte [Ws/m^2]	Wachstum von <i>T. basicola</i> auf MEA-CI
1/1	- (unbehandelte Kontrolle)	0
1/2		0
2/1	- (inokulierte Kontrolle)	++
2/2		++
3/1	150	+
3/2		+
4/1	300	++
4/2		++
5/1	450	0
5/2		+
6/1	600	0
6/2		+
7/1	750	+
7/2		++

Wachstum von <i>T. basicola</i> auf Nährmedium:	kein Wachstum:	0
	schwaches Wachstum:	+
	mittelmäßiges Wachstum:	++
	starkes Wachstum:	+++

5.4 Zusammenfassung

Die Kombination einer Wäsche mit ozontem Wasser und einer UV-C Bestrahlung führt zu einer Hemmung aller 3 Testorganismen. Die Mikroorganismen werden jeweils einer Behandlung mit ozontem Wasser für 30 Sekunden mit einer Konzentration von 4 ppm Ozon unterzogen, der eine Bestrahlung mit unterschiedlichen Bestrahlungsdichten folgt.

Am meisten resistent ist hierbei der Pilz *T. basicola*, dessen Chlamydosporen besonders dickwandig und daher besonders schwer zu bekämpfen sind. Eine eindeutige Hemmung kann erst bei 450 Ws/m^2 beobachtet werden.

Etwas sensibler gegenüber der Behandlung zeigt sich der zweite untersuchte Pilz *P. infestans*. Dieser wird bereits bei 150 Ws/m^2 deutlich in seinem Wachstum gehemmt. Eine vollständige Unterdrückung kann jedoch nicht erreicht werden.

Für das untersuchte Testbakterium *P. carotovorum* liegt die maximal beobachtete Hemmung bei einer Bestrahlungsdichte von 300 Ws/m^2 und beträgt 2 log-Einheiten.

Die erhoffte kumulative Wirkung beider Behandlungsmethoden ist damit nicht nachzuweisen. In nachfolgenden Versuchen sollte jedoch abschließend geklärt werden, ob die Behandlung nachhaltig ist.

5.5 Bestimmung der Qualitätsparameter von Möhren und Kartoffeln nach einer kombinierten Behandlung mit ozontem Wasser und UV-Bestrahlung

Um zu gewährleisten, dass auch eine Kombination der zwei vorgestellten Behandlungsmethoden die Qualität der Produkte nicht schädigt, wurden auch hier Untersuchungen der Inhaltsstoffe nach der Behandlung durchgeführt.

5.5.1 Vitamin C Bestimmung in Möhren

Messmethode

Die Vitamin C Bestimmung in den Möhren nach der kombinierten Behandlung durch die Wäsche mit ozontem Wasser und einer nachfolgenden UV-Bestrahlung erfolgte auf die gleiche Weise wie nach der Ozonbehandlung (siehe Kapitel 3.6.1) und der UV-Bestrahlung (siehe Kapitel 4.4.1).

Probenvorbereitung

Die Möhren wurden für die Versuche wie folgt aufbereitet:

Jede Möhre wurde der Länge nach halbiert. Der Vitamin C Gehalt der einen Möhrenhälfte wurde sofort gemessen, die der zweiten Hälfte nach dem Waschen mit ozontem Wasser ($c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$; $t = 30 \text{ sec}$) gefolgt vom Bestrahlen mit UV-Licht. Die Bestrahlungsdichten betragen zwischen 75 und 2000 Ws/m^2 . Jede Variante wurde dreimal untersucht und der Mittelwert gebildet.

Ergebnisse

Die Versuche ergeben, dass die Möhren durch die kombinierte Ozon- und UV-Behandlung bis zu einer Bestrahlungsdichte von 2000 Ws/m^2 keine Schädigung des Vitamin C Gehaltes erfahren. Die Behandlungsmethode ist diesbezüglich als unbedenklich anzusehen. Eine Übersicht der Ergebnisse gibt **Tabelle 23**.

Tabelle 23: Wiederfindungsrate an Vitamin C in der Länge nach halbierten Möhrenhälften nach kombinierter Ozon- und UV-Behandlung

Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]
- (Referenz)	100±1
75	99
150	101
450	100
600	100
750	101
1500	100
2000	100

5.5.2 Vitamin C Bestimmung in Kartoffeln

Messmethode

Die Vitamin C Bestimmung in Kartoffeln nach der Wäsche mit ozontem Wasser und der UV-Bestrahlung erfolgte auf die gleiche Weise wie nach der Ozonbehandlung (siehe Kapitel 3.6.4).

Probenvorbereitung

Vor der Vitamin C Bestimmung wurden die Kartoffeln gewaschen, um anhaftenden Schmutz zu entfernen und vorsichtig trocken getupft. Anschließend wurde jede Kartoffel durch Nabel und Krone halbiert. Der Vitamin C Gehalt der einen Kartoffelhälfte wurde sofort gemessen, die der zweiten Hälfte nach der Behandlung mit ozontem Wasser und der Bestrahlung mit UV-Licht. Die Bestrahlungsdichten betragen zwischen 25 und 2000 Ws/m². Alle Versuche wurden zweimal wiederholt.

Ergebnisse

Es wurden jeweils 2 Proben untersucht und der Mittelwert gebildet. Für die unbehandelten Kontrollen wurde eine Abweichung von ±1% zwischen den Kartoffelhälften gefunden. Alle behandelten Varianten lagen innerhalb dieser Abweichungen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass eine Wäsche mit ozontem Wasser (4 ppm, 0,5 min) mit anschließender UV-Bestrahlung (bis 2000 Ws/m²) als unschädlich anzusehen ist.

Tabelle 24 zeigt eine Übersicht der Messergebnisse.

Tabelle 24: Wiederfindungsrate an Vitamin C in halbierten Kartoffelhälften nach kombinierter Ozon- und UV-Behandlung

Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]	Wiederfindung Vitamin C-Gehalt [%]
- (Referenz)	101
75	100
150	101
1500	100
2000	100

5.5.3 Zusammenfassung

Die Behandlung von Möhren und Kartoffeln mit ozontem Wasser (4 ppm, 0,5 min) gefolgt von einer Bestrahlung mit UV-C Licht (bis 2000 Ws/m²) erfolgt ohne Beeinträchtigung des Vitamin C Gehaltes der Produkte. Die Bestrahlung kann demzufolge als unbedenklich angesehen werden.

5.6 Untersuchungen zur Nachhaltigkeit der entwickelten Methode zur kombinierten Ozon- und UV-Behandlung - Lagerungsversuche

In Lagerungsversuchen sollte abschließend geklärt werden, ob die erzielten Hemmungen der Testorganismen über eine Lagerung erhalten bleiben und somit zu einer Reduzierung der Produktverluste beitragen können.

5.6.1 Entwicklung von *Pectobacterium carotovorum* auf Möhren während der Lagerung *Versuchsdurchführung*

Je Variante wurden 3 Möhren untersucht. Die Möhren wurden vor der Behandlung durch Eintauchen (30 Minuten) in eine Bakteriensuspension mit *P. carotovorum* inokuliert. Die Tauchsuspension wurde aus 20 ml Hauptkultur und 180 ml Ringerlösung hergestellt (Endkeimgehalt an *P. carotovorum*: $4 \cdot 10^7$ KbE/ml). Nach 15 min. Wartezeit zur Etablierung der Mikroorganismen auf der Produktoberfläche, wurden alle Varianten zuerst mit ozontem Wasser (4 ppm) im Durchfluss gewaschen und anschließend gemäß **Tabelle 25** steigenden Bestrahlungsdichten ($\lambda = 254$ nm) ausgesetzt. Nachfolgend wurden die Möhren bei Raumtemperatur in wasserdampfgesättigter Atmosphäre für 3 Wochen chargenweise gelagert und abschließend bonitiert.

Tabelle 25: untersuchte Varianten der Ozon- und UV-Behandlung bei Möhren, die mit *P. carotovorum* infiziert sind

Variante	Behandlung
1	Unbehandelte Kontrolle
2	Inokulierte Kontrolle
3	30 sec mit Wasser waschen
4	30 sec. mit ozontem Wasser waschen und 1 min (150 Ws/m ²) bestrahlen.
5	30 sec. mit ozontem Wasser waschen und 2 min (300 Ws/m ²) bestrahlen.
6	30 sec. mit ozontem Wasser waschen und 5 min (750 Ws/m ²) bestrahlen.

Versuchsauswertung

Die unbehandelten Kontrollmöhren zeigen keinen Befall von *P. carotovorum*. Der Befall mit *P. carotovorum* ist damit auf die Inokulation im Verlauf des Versuches zurückzuführen.

Die Wasser gewaschenen Möhren (Variante 3) sind bereits nach 2 Wochen Lagerung vollkommen verdorben und werden entsorgt.

Der Verderb der mit ozontem Wasser und UV-Licht behandelten Möhren nimmt mit zunehmender Bestrahlungsdichte ab. Diese Möhren weisen einen Befall der Möhrenspitzen auf, der sich darin äußert, dass eine Erweichung des Fruchtfleisches stattfindet. Die Variante 6 ist ohne Befund, d.h. es ist kein Befall mit *P. carotovorum* optisch nachzuweisen. Allerdings liegt hier offenbar auch der Grenzwert, bei dem die Möhren anfangen Schaden zu nehmen. Dies äußert sich in Wasserverlust, so dass diese Möhren nicht mehr die Knackigkeit besitzen, wie die anderen Varianten.

5.6.2 Entwicklung von *Phytophthora infestans* auf verletzten Kartoffeln während der Lagerung

Versuchsdurchführung

Je Variante wurden 3 Kartoffeln untersucht. Diese wurden vor der Behandlung an der zu behandelnden Stelle farblich markiert. Diese wurde durch das Einritzen mit einem Messer definiert verletzt und mit 100 µl einer Suspension von *P. infestans* (10⁴ Sporen/ml) inokuliert. Nach 15 Minuten Etablierungszeit des Pilzes auf der Produktoberfläche wurde mit der Behandlung begonnen. Dabei wurden die Kartoffeln zuerst für 30 Sekunden im Durchfluss mit ozontem Wasser ($c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$) gewaschen und anschließend bestrahlt ($\lambda = 254 \text{ nm}$). Es wurden folgende Varianten (**Tabelle 26**) untersucht.

Tabelle 26: untersuchte Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung bei verletzten Kartoffeln, die mit *P. infestans* infiziert sind

Variante	Behandlung	
	Dauer der Wäsche mit ozontem Wasser [min.]	Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
1	Unbehandelte Kontrolle	
2	Inokulierte Kontrolle	
3	0,5 min.	150
4	0,5 min.	300
5	0,5 min.	450
6	0,5 min.	600
7	0,5 min.	750

Nach der Behandlung wurden die Kartoffeln bei 18°C in feuchten Kammern für 4 Wochen gelagert.

Versuchsauswertung

Bereits nach 10 Tagen Inkubationszeit waren deutliche Veränderungen an den infizierten Stellen erkennbar und von den Kartoffeln ging der typische unangenehme Geruch nach *P. infestans* aus, so dass der Versuch abgebrochen wurde und die Auswertung erfolgte.

Die unbehandelten Kontrollen weisen keinen Befall mit *P. infestans* auf, so dass davon ausgegangen werden kann, dass das Probenmaterial vor dem Versuch nicht kontaminiert war. Die inokulierten Kontrollen sind mit weißem Myzel von *P. infestans* bewachsen, aus den verletzten Stellen tritt ein hellbraunes Sekret aus, hervorgerufen durch die Auflösung der Zellstruktur.

Alle behandelten Varianten zeigen ebenfalls einen deutlichen Befall mit *P. infestans*, der jedoch nicht ganz so stark erscheint, wie die inokulierten Kontrollen. Erst die mikroskopische Untersuchung des Myzels belegt, dass der Pilz bei einer Bestrahlungsdichte von 750 Ws/m² deutlich weniger Sporangien ausgebildet hat und damit deutlich in seiner Vermehrungsfähigkeit eingeschränkt ist. Zur Veranschaulichung des Befalls sind exemplarisch in **Bild 25** und **Bild 26** einige Varianten dargestellt.



Bild 25: mit *P. infestans* inokulierte Kartoffeln (verletzt) nach kombinierter Ozon- und UV-Behandlung (150 Ws/m^2) und 10-tägiger Bebrütung bei 18°C



Bild 26: Nach 10 tägiger Lagerung zerschnittene Kartoffeln zur Feststellung der Infektionsrate von *P. infestans*; von links: unbehandelte Kontrolle, inokulierte Kontrolle, behandelte Variante (Waschen mit ozontem Wasser und 150 Ws/m^2)

Der Versuch belegt aber auch nachdrücklich, wie entscheidend ein schonender Umgang mit dem Produkt ist, da die Behandlung von verletzten Kartoffeln nahezu erfolglos ist. Ursächlich hierfür ist, dass der Pilz über verletzte Stellen sehr schnell in das Innere der Kartoffel vordringt, sich etabliert und eine nachfolgende oberflächliche Hygienisierung erfolglos bleibt.

Ein nachfolgender Versuch mit unverletzten Kartoffeln und höheren Bestrahlungsdichten soll zeigen, inwieweit eine Hemmung des Pilzes bei unbeschädigten Produkten erfolgen kann und ob die Vermehrungsfähigkeit von *P. infestans* tatsächlich eingeschränkt bzw. unterbunden werden kann.

5.6.3 Entwicklung von *Phytophthora infestans* auf unverletzten Kartoffeln während der Lagerung

Versuchsdurchführung

Je Variante wurden 3 Kartoffeln untersucht. Diese wurden vor der Behandlung an der zu behandelnden Stelle farblich markiert und mit 100 µl einer Suspension von *P. infestans* (10^4 Sporen/ml) inokuliert. Nach 15 Minuten Etablierungszeit des Pilzes auf der Produktoberfläche wurde mit der Behandlung begonnen. Dabei wurden die Kartoffeln zuerst für 30 Sekunden im Durchfluss mit ozontem Wasser ($c(\text{O}_3) = 4$ ppm) gewaschen und anschließend bestrahlt ($\lambda = 254$ nm). Es wurden folgende Varianten untersucht (**Tabelle 27**):

Tabelle 27: untersuchte Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung bei unverletzten Kartoffeln, die mit *P. infestans* infiziert sind

Variante	Behandlung	
	Dauer der Wäsche mit ozontem Wasser [min.] $c(\text{O}_3) = 4$ ppm	Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
1	Unbehandelte Kontrolle	
2	Inokulierte Kontrolle	
3	0,5 min.	400
4	0,5 min.	800
5	0,5 min.	1000
6	0,5 min.	1600
7	0,5 min.	2000

Nach der Behandlung wurden die Kartoffeln bei 18°C in feuchten Kammern für 4 Wochen gelagert.

Versuchsauswertung

Die unbehandelten Kartoffeln weisen keinen Befall mit *P. infestans* auf. Die inokulierten Kartoffeln sind schwach mit einem weißen Myzel bewachsen. Die Inokulation verlief damit erfolgreich.

Bis zu einer Bestrahlungsdosis von 1000 Ws/m² ist auf ein bzw. 2 Kartoffeln je Variante ein Wachstum des Pilzes zu verzeichnen. Nach dem Aufschneiden der Kartoffeln ist jedoch lediglich das Fruchtfleisch einer Kartoffel der Variante 3 (400 Ws/m²) sichtbar durch den Pilz beschädigt. Ab einer Bestrahlungsdosis von 1600 Ws/m² ist kein Pilzbefall mehr sichtbar. Zur Veranschaulichung der Ergebnisse dienen **Bild 27** und **Bild 28**.



Bild 27: mit ozontem Wasser und UV-Licht behandelte Kartoffeln nach 4 Wochen Lagerung bei 18°C in feuchten Kammern, von links nach rechts: Variante 1 bis 7



Bild 28: mit ozontem Wasser und UV-Licht behandelte Kartoffeln nach 4 Wochen Lagerung bei 18°C in feuchten Kammern, aufgeschnitten, von links nach rechts: Variante 1 bis 7

Der Versuch belegt nachdrücklich die Vermutung, dass der Pilz sehr effektiv in seiner Ausbreitung gehemmt werden kann, wenn er mit unverletzten Kartoffeln in Kontakt kommt. Eine komplette Hemmung ist hier bereits bei einer Bestrahlungsdichte von 1600 Ws/m² möglich. Ein schonender Umgang mit den Produkten bei Ernte, Transport, Lagerung und Aufbereitung ist daher unerlässlich.

5.6.4 Entwicklung von *Thielaviopsis basicola* auf Möhren während der Lagerung

Versuchsdurchführung

Die Möhren wurden mit je 2 Sprühstößen einer *T. basicola* Suspension (10⁴ Sporen/ml) inokuliert. Diese Stelle wurde jeweils farbig markiert. Zur Etablierung des Pilzes auf der Oberfläche wurde 15 Minuten gewartet, bevor mit der Ozon- und UV-Behandlung ($\lambda = 254$ nm) begonnen wurde. Die Möhren wurden zuerst für 30 Sekunden mit ozontem Wasser (4 ppm) gewaschen und anschließend steigenden Bestrahlungsdichten ausgesetzt. Je Variante wurden 2 Möhren untersucht. Es wurden folgende Varianten untersucht (**Tabelle 28**).

Tabelle 28: Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung von mit *T. basicola* inokulierten Möhren

Variante	Behandlung		Bestrahlungsdichte [Ws/m ²]
	Dauer der Wäsche mit ozontem Wasser [sec] c(O ₃) = 4 ppm	Dauer der UV-Bestrahlung [sec]	
1	Unbehandelte Kontrolle		-
2	Inokulierte Kontrolle		-
3	30	160	400
4	30	320	800
5	30	400	1000
6	30	640	1600
7	30	800	2000

Anschließend wurden alle Möhren für 3 Wochen in feuchten Kammern bei Zimmertemperatur gelagert. Nach dieser Zeit wurden die Möhren bonitiert.

Versuchsauswertung

Erwartungsgemäß ist nach der Lagerung kein Wachstum von *T. basicola* auf den Kontrollmöhren zu beobachten, die inokulierten Möhren sind vom Pilz total zerstört, d.h. das Fruchtfleisch ist vollständig zersetzt. Bei Berührung zerfallen die Möhren, die nur noch durch die äußere Hülle zusammengehalten werden. Die Inokulation war somit erfolgreich.

Das Wachstum von *T. basicola* der behandelten Möhren kann durch die kombinierte Behandlung deutlich eingeschränkt werden. Die besten Ergebnisse werden bei Bestrahlungsdichten von 400 bis 1000 Ws/m² erzielt. Durch höhere Bestrahlungsdichten kann keine vollständige Hemmung des Pilzes erreicht werden. Zur Veranschaulichung der Ergebnisse dient **Bild 29**, WD exemplarisch von jeder Variante eine Möhre abgebildet ist.



Bild 29: Übersicht der mit *T. basicola* infizierten Möhren nach kombinierter Ozon- und UV-Behandlung und Lagerung bei Raumtemperatur für 21 Tage

Die Wäsche mit ozontem Wasser, gefolgt von einer UV-Behandlung bei Möhren schränkt den Befall bzw. die Ausbreitung von *T. basicola* auf Möhren deutlich ein. Optimal scheinen folgende Bedingungen zu sein:

- 1) Wäsche mit ozontem Wasser: $c = 4$ ppm für $t = 0,5$ min
- 2) UV-Bestrahlung mit 400 bis 1000 Ws/m^2

Da die Möhren im Anschluss an die Behandlung bei optimalen Wachstumsbedingungen für den Pilz gelagert wurden, um die Entwicklung des Pilzes zu forcieren, kann davon ausgegangen werden, dass die Wirkung der Behandlung deutlich besser ist, wenn die Möhren bei niedrigeren Temperaturen gelagert werden, die die Entwicklung des Pilzes nicht befördern.

5.6.5 Zusammenfassung

Die Kombination der Wäsche mit ozontem Wasser ($c(\text{O}_3) = 4$ ppm, $t = 0,5$ min) mit einer UV-C Bestrahlung der Produkte ermöglicht eine vollständige Unterdrückung der Ausbreitung von *P. carotovorum* und *P. infestans*. *T. basicola* kann in seiner Ausbreitung deutlich gehemmt, jedoch nicht vollständig unterdrückt werden. Die Ergebnisse sind jedoch differenziert zu betrachten:

Die Hemmung von *P. carotovorum* auf Möhren gelingt nachhaltig bei einer Ozonwäsche gefolgt von einer Bestrahlung mit 750 Ws/m^2 . Nach einer Lagerzeit von 4 Wochen ist kein Befall der Möhren zu beobachten, es wird jedoch ein Wasserverlust registriert, so dass bei dieser Bestrahlungsdichte offenbar der Grenzwert erreicht ist, bei dem die Produkte geschädigt werden.

Die vollständige Hemmung von *P. infestans* ist ab einer Bestrahlungsdichte von 1600 Ws/m^2 gegeben. Voraussetzung hierfür ist jedoch, dass es sich um unverletzte Kartoffeln handelt. Die Versuche, die Ausbreitung des Pilzes zu unterbinden, wenn dieser die Möglichkeit hatte, bereits in das Fruchtfleisch einzudringen, sind erfolglos.

Die Ausbreitung des Pilzes *T. basicola* kann durch die kombinierte Wäsche mit ozontem Wasser und einer UV-Behandlung deutlich nachhaltig beeinflusst werden. Da der Pilz jedoch sehr dickwandige Chlamydosporen besitzt ist eine komplette Hemmung nicht erreicht worden.

6 Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse

6.1 Vergleich der Hemmung der Testorganismen durch ozontes Wasser in Lösung und auf der Produktoberfläche

Pectobacterium carotovorum

P. carotovorum reagiert in Lösung sehr sensibel auf ozontes Wasser (4 ppm) und wird sofort komplett inaktiviert. Die hygienisierende Wirkung ist jedoch deutlich eingeschränkt, wenn sich das Bakterium bereits auf der Oberfläche von Möhren etabliert hat. Die beste Wirkung, das heißt die stärkste Hemmung von *P. carotovorum*, wird nach einer 2-minütigen Behandlung bei einer Ozonkonzentration von 4 ppm erzielt, wobei eine Reduktion des Bakteriums um 1,5 log-Einheiten möglich ist.

Pythophthora infestans

Das Wachstum von *P. infestans* (10^2 Sporangien/ml) kann in Lösung durch ozontes Wasser deutlich eingeschränkt werden. Die Hemmung ist aber offenbar davon abhängig, wieviele Sporangien sich ursprünglich in der Lösung befunden haben. Die Versuche legen nahe, dass eine bestimmte Ausgangszahl an Sporangien erforderlich ist, um zu einer Infektion zu führen. Befinden sich die Sporangien bereits auf der Oberfläche von Kartoffelscheiben, d.h. haben sich diese bereits auf der Oberfläche etabliert, kann keine hemmende Wirkung auf *P. infestans* beobachtet werden.

Thielaviopsis basicola

Bis zu einer Ozonkonzentration von 3 ppm kann keine Hemmung auf *T. basicola* in Lösung festgestellt werden. Bei 3,7 ppm erfolgt eine Hemmung, die umso stärker ist, je länger die Kontaktzeit des Pilzes zum ozonten Wasser ist. Die sich noch entwickelnden Kolonien sind im Vergleich zur Kontrolle kleiner ebenso wie die Sporen. Eine vollständige Hemmung des Pilzes kann jedoch nicht beobachtet werden. Da der Pilz bereits in Lösung nicht vollständig abgetötet werden konnte, ist auch eine vollständige Hemmung von *T. basicola* nicht möglich, wenn dieser sich bereits auf der Oberfläche von Möhren etabliert hat. Die Hemmung des Pilzes im Vergleich zu ungewaschenen und Wasser gewaschenen Kontrollmöhren ist jedoch belegt.

6.2 Vergleich der Hemmung der Testorganismen durch UV-C Bestrahlung in Lösung und auf der Produktoberfläche

Pectobacterium carotovorum

Mit zunehmender Bestrahlungsdosis nimmt die Hemmung von *P. carotovorum* in Lösung erwartungsgemäß zu. Das beste Ergebnis wird bei einer Bestrahlungsdichte von 750 Ws/m² erzielt. Dabei wird die Anzahl der Bakterien um 1,5 log-Einheiten erniedrigt. Eine vollständige Hemmung wird nicht erreicht. Hat sich das Bakterium bereits auf der Möhrenoberfläche etabliert, wird eine deutlich hemmende Wirkung erst ab einer Bestrahlungsdichte von 750 Ws/m² beobachtet. Hier liegt die Hemmung von *P. carotovorum* auf Möhren bei 2 log-Einheiten. Eine vollständige Unterdrückung des Bakteriums gelingt jedoch erst bei einer Bestrahlungsdichte von 3750 Ws/m². Ab 750 Ws/m² ist jedoch bereits eine Gewebeschädigung bei Möhren zu beobachten.

Pythophthora infestans

P. infestans reagiert sehr sensibel auf die Bestrahlung, wenn sich der Pilz in einer Lösung befindet. Eine vollständige Abtötung wird bei einer Bestrahlungsdichte von 750 Ws/m² erhalten. Hat sich der Pilz jedoch bereits auf der Oberfläche von Kartoffelscheiben etabliert, kann das Wachstum auch bei höheren Bestrahlungsdichten nicht vollständig unterbunden werden.

Thielaviopsis basicola

Die Bestrahlung von *T. basicola* in Lösung hat auf das Wachstum des Pilzes keinen Einfluss. Auf der Oberfläche von Möhren wird der Pilz ab einer Bestrahlungsdichte von 1600 Ws/m² vollständig unterdrückt.

6.3 Vergleich der nachhaltigen Hemmung der Testorganismen durch ozontes Wasser und UV-Bestrahlung in Kombination auf Möhren und Kartoffeln

Pectobacterium carotovorum

Die nachhaltige Hemmung von *P. carotovorum* auf Möhren wird unter folgenden Bedingungen erzielt:

- 1) Wäsche mit ozontem Wasser: $c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$, $t = 0,5 \text{ min}$
- 2) UV-C Bestrahlung: $K = 750 \text{ Ws/m}^2$

Die angegebene Bestrahlungsdosis stellt aber auch gleichzeitig die Schädigungsgrenze für die Möhren dar, bei der erhöhte Transpirationsverluste während der Lagerung auftreten.

Pythophthora infestans

Die vollständige Hemmung von *P. infestans* ist bei unverletzten Kartoffeln unter folgenden Bedingungen gegeben:

- 1) Wäsche mit ozontem Wasser: $c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$, $t = 0,5 \text{ min}$
- 2) UV-C Bestrahlung: $K = 1600 \text{ Ws/m}^2$

Die Ausbreitung des Pilzes zu unterbinden gelingt nicht, wenn dieser bereits über verletzte Stellen in das Fruchtfleisch eingedrungen ist. Der sorgfältige Umgang mit den Produkten von der Ernte bis zur Verarbeitung ist daher auch bei der Anwendung der entwickelten Hygienisierungsmethode unabdingbar.

Thielaviopsis basicola

Die Ausbreitung des Pilzes *T. basicola* kann durch die kombinierte Wäsche mit ozontem Wasser und einer UV-Behandlung deutlich nachhaltig beeinflusst werden. Da der Pilz jedoch sehr dickwandige Chlamydosporen besitzt wird eine komplette Hemmung nicht erreicht. Die optimalen Behandlungsparameter sind:

- 1) Wäsche mit ozontem Wasser: $c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$, $t = 0,5 \text{ min}$
- 2) UV-C Bestrahlung: $K = 400 \text{ bis } 1000 \text{ Ws/m}^2$.

7 Umsetzung der Ergebnisse in eine Pilotanlage

Die in Kooperation mit Firma Schneider Fördertechnik entwickelte Dekontaminationsanlage im Anschluss an die Waschlinie stellt ein gutes Instrument zur Hygienisierung von stark mit Mikroorganismen belasteten Möhren und Kartoffeln dar. Für den Einsatz sind jedoch eine Reihe von Rahmenbedingungen einzuhalten, welche die breite Anwendung des Verfahrens begrenzen.

- Ozontes Waschwasser, UV-C Licht und die Kombination aus beiden Verfahren dekontaminieren die Oberfläche von Kartoffeln und Möhren nur begrenzt.
- Der sorgfältige, schonende Umgang mit den Produkten ist unverzichtbare Voraussetzung für den erfolgreichen Einsatz der Dekontaminationsanlage. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Ausbreitung von phytopathogenen Mikroorganismen bei verletzten Produkten über nachträgliche hygienisierende Maßnahmen nicht unterbunden werden kann.
- Die Behandlung mit ozontem Wasser ist nur sinnvoll, wenn die Produkte bereits vorgewaschen sind, d.h. sie frei von Erde und organischen Verunreinigungen sind. Ursache hierfür ist die große Reaktivität des Ozons mit Kohlenwasserstoffverbindungen, die Doppelbindungen enthalten. Hier resultiert ein starker Ozonverlust, so dass die hygienisierende Wirkung des Ozons nicht zum Tragen kommt.
- Abhängig vom Produkt, dem zu unterdrückenden Verderberreger und ökonomischen Faktoren ist eine Behandlung mit UV-C-Licht bzw. eine Behandlung mit ozontem Wasser in Kombination mit UV-Licht durchzuführen. Eine Bekämpfung von *P. carotovorum* und *T. basicola* auf Möhren ist vorteilhaft mit UV-C Licht durchzuführen. Eine Hemmung des Wachstums von *P. infestans* auf Kartoffeln gelingt nur durch die Kombination beider Behandlungsmethoden.
- Als Mindestbehandlungszeit sind für Ozon 0,5 Minuten vorzusehen. Damit ist die Behandlung mit ozontem Wasser in Aufbereitungsanlagen für Möhren mit bis zu 20 t je h am Ausgang der Hydrokühlung sinnvoll und bei der Kartoffelaufbereitung optional nach der Trommelwäsche vor der Trocknung durchzuführen. Wegen der starken Temperaturabhängigkeit der Geschwindigkeit des Ozonzerfalls sollte der Einsatz nur bei gekühlten Produkten (hydrogeköhlte Möhren bzw. ausgelagerte Kartoffeln) erfolgen. Entsprechend sind im gekühlten ozonten Wasser jegliche Turbulenzen zu vermeiden, um den Abbau zu verzögern. Hier erweist sich die drucklose Ausbringung über Schwerkraft als geeignet.
- Eine wirkungsvolle UV-Licht Behandlung verlangt, dass die Produkte vollständig unter den UV-Leuchten gedreht werden und in kurzer Zeit die optimale Bestrahlungsdichte appliziert wird. Dies kann nach den Trocknungswalzen direkt vor der Verpackung erfolgen. Eine zu hohe Bestrahlungsdichte, bei Möhren über 750 Ws/m^2 , verursacht Verletzungen der Epidermis.

8 Literatur

- [1] **SCHÖNBEIN C.F. (1840):** Recherches sur la nature de l'odeur qui se manifeste dans certaines actions chimiques. Comptes Rendus Acad. Sciences 10 S. 706-710
- [2] **FONROBERT E. (1916):** Das Ozon. Stuttgart: Enke
- [3] **MORRISON R.T., BOYD R.N. (1986):** Lehrbuch der organischen Chemie. 3. Aufl. Weinheim u.a.: Verl. Chemie. S. 436 ff
- [4] **SIMPKINS N.S. (1989):** 100 Modern Reagents. Nottingham: Moss, Royal Society of Chemistry. S. 129-130
- [5] **FUJIWARA K., FUJI T. (2004):** Effects of ozonated water spray droplet size and distance on the dissolved ozone concentration at the spray target. Ozone: Science and Engineering, 26: 511-516
- [6] **PSCHERA S. (1997):** Abwasserbehandlung mit Ozon: Klassifizierung von Abwasser zur optimierten Verfahrensgestaltung in der Kreislaufwirtschaft. Oldenbourg Verlag, GmbH, München
- [7] **HAUBEN L., MOORE E.R.B., VAUTERIN L., STEENACKERS M., MERGAERT J., VERDOCK L., SWINGS J. (1998):** Phylogenetic position of phytopathogens within the *Enterobacteriaceae*. Systematic Applied Microbiology 21: 384-397
- [8] **WEGENER CHR. (2000):** Die Nassfäule der Kartoffel. Forschungsreport 2/2000 (Groß Lüsewitz) S.40-43
- [9] **THOMSON S.V., HILDEBRAND D.C., SCHROTH M.N. (1981):** Identification and nutritional differentiation of the *Erwinia* sugar beet pathogen from members of *Erwinia carotovora* and *Erwinia chrysanthemi*. Phytopathology, 71: 1037-1042
- [10] **KRÄMER J. (1992):** Lebensmittelmikrobiologie, 2.Auflage, Eugen Ulmer Stuttgart
- [11] **ERWIN D.C., RIBEIRO O.K. (1996):** Phytophthora diseases worldwide. APS press. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 562 ff
- [12] **DESJARDINS P.R., ZENTMYER G.A., REYNOLDS D.A. (1969):** Electron microscopic observations of the flagellar hairs of *Phytophthora palmivora* zoospores. Ca. J. Bot. 47: 1077-1079
- [13] **LACEY J. (1967):** Susceptibility of potato tubers to infection by *Phytophthora infestans*. Ann. Appl. Biol. 59: 257-264
- [14] **ADAMS M.J. (1975):** Potato tubers lenticels: susceptibility to infection by *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* and *Phytophthora infestans*. Ann. Appl. Biol. 79: 275-282
- [15] **DARSOW U., MEINL G. (1981):** Untersuchungen zum Befall wachsender sowie unterschiedlich verletzter Kartoffelknollen mit *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. Arch. Züchtungsforsch. 11: 55-66
- [16] **PUNJA Z.K., SUN L.-J. (1999):** Morphological and molecular characterization of *Chalara elegans* (*Thielaviopsis basicola*), cause of black root rot on diverse plant species. Can J. Bot. 77 (12): 1801-1812
- [17] **VON WILLERT D.J., MATYSSEK R., HERPPICH W.B. (1995):** Experimentelle Pflanzenökologie – Grundlagen und Anwendungen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- [18] **DOWNES A., BLUNT T.P. (1878):** On the influence of light upon protoplasm, Proc. Roy. Soc. 28, 199-213

Bildverzeichnis

Bild 1: Ozonlöslichkeit s in Abhängigkeit von der Temperatur der Lösung.....	10
Bild 2: Ozonabbau in ungerührtem Wasser bei unterschiedlichen Wassertemperaturen	13
Bild 3: Ozonabbau in gerührtem Wasser ($U = 500 / \text{min}$) bei unterschiedlichen Wassertemperaturen	14
Bild 4: Ozonabbau in gerührtem Wasser ($U = 1000 / \text{min}$) bei unterschiedlichen Wassertemperaturen	14
Bild 5: Versuchsanordnung zur Bestimmung des Einflusses von Tropfengröße und Düsenabstand auf die Ozonkonzentration im Wasser [5]	15
Bild 6: Ozonkonzentration im Wasser in Abhängigkeit von Tropfengröße und Abstand [5]	16
Bild 7: <i>P. carotovorum</i> (links; http://www.sanger.ac.uk/Info/News-releases/2004/040720.shtml), mit <i>P. carotovorum</i> befallene Kartoffel (rechts; http://www.agri.gov.il/gilat-molcho/blackleg_hebrew.html)	18
Bild 8: <i>P. infestans</i> (links; http://ipm.cornell.edu/nysipm/publications/blight/de), mit <i>P. infestans</i> befallene Kartoffel (rechts; http://www.fito-info.bf.uni-lj.si/SI/Org-anizmi/sistemat/b1.htm)	18
Bild 9: <i>T. basicola</i> (links; http://www.ext.vt.edu/pubs/plantdiseasesfs/450-606/450-606.html), mit <i>T. basicola</i> befallene Möhren (rechts; http://plantpathology.tamu.edu/Textlab/Vegetables/Carrot/brr.html)	19
Bild 10: Wachstum von <i>P. infestans</i> nach Ozonbehandlung (2,5 ppm; 15 sec) der Sporensuspension nach 6-tägiger Bebrütung bei 18°C	23
Bild 11: <i>P. infestans</i> nach Ozonbehandlung der Sporensuspension und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C auf Kartoffelscheiben	25
Bild 12: Reduzierung von <i>P. carotovorum</i> auf Möhren durch Leitungswasser bzw. ozontes Wasser ($c(\text{O}_3) = 4 \text{ ppm}$) in Abhängigkeit der Waschkdauer	29
Bild 13: mit <i>P. infestans</i> inokulierte Kartoffelscheiben nach Behandlung und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C	30
Bild 14: Mit <i>T. basicola</i> inokulierte Möhren nach Wäsche mit Wasser bzw. ozontem Wasser (4 ppm) und 2 Wochen Lagerung in feuchten Kammern bei 23°C	32
Bild 15: Relative Leitfähigkeit für Wasserdampf und relative CO_2 Abgaberate (%; jeweils bezogen auf den Ausgangswert vor der Einlagerung) der Möhren nach einer zehntägigen Lagerung bei 10°C und 20°C.	37
Bild 16: Spektrum elektromagnetischer Strahlung (http://www.lenntech.com/deutsch/UV-Info.htm)	40
Bild 17: Absorption und Emission von Strahlung im UV-C Bereich	41
Bild 18: Reduktion von <i>P. carotovorum</i> in Lösung nach UV-Bestrahlung	43

Bild 19: Wachstum von <i>P. infestans</i> nach UV-Behandlung auf Kartoffelscheiben nach 7-tägiger Bebrütung bei 18°C (K = Bestrahlungsdichte)	44
Bild 20: Versuchsaufbau für Bestrahlungsversuche im Labor.....	46
Bild 21: mit <i>P. infestans</i> inokulierte Kartoffelscheiben nach UV-Behandlung (ungedreht) und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C	48
Bild 22: mit <i>P. infestans</i> inokulierte Kartoffelscheiben nach UV-Behandlung (nach jeweils der Hälfte der Bestrahlungszeit werden die Scheiben gedreht) und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C	49
Bild 23: Reduktion von <i>P. carotovorum</i> auf Möhren nach kombinierter Behandlung mit ozontem Wasser und UV-Bestrahlung	55
Bild 24: mit <i>P. infestans</i> inokulierte Kartoffelscheiben nach kombinierter Ozon- und UV-Behandlung und 7-tägiger Bebrütung bei 18°C	57
Bild 25: mit <i>P. infestans</i> inokulierte Kartoffeln (verletzt) nach kombinierter Ozon- und UV-Behandlung (150 Ws/m ²) und 10-tägiger Bebrütung bei 18°C	65
Bild 26: Nach 10 tägiger Lagerung zerschnittene Kartoffeln zur Feststellung der Infektionsrate von <i>P. infestans</i> ; von links: unbehandelte Kontrolle, inokulierte Kontrolle, behandelte Variante (Waschen mit ozontem Wasser und 150 Ws/m ²)	65
Bild 27: mit ozontem Wasser und UV-Licht behandelte Kartoffeln nach 4 Wochen Lagerung bei 18°C in feuchten Kammern, von links nach rechts: Variante 1 bis 7	67
Bild 28: mit ozontem Wasser und UV-Licht behandelte Kartoffeln nach 4 Wochen Lagerung bei 18°C in feuchten Kammern, aufgeschnitten, von links nach rechts: Variante 1 bis 7	67
Bild 29: Übersicht der mit <i>T. basicola</i> infizierten Möhren nach kombinierter Ozon- und UV-Behandlung und Lagerung bei Raumtemperatur für 21 Tage.....	69

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Daten der Teststämme.....	20
Tabelle 2: Wirkung von Ozon auf das Wachstum von <i>T. basicola</i> in Abhängigkeit der Einwirkzeit von Ozon	26
Tabelle 3: Behandlungsvarianten zur Bestimmung der Wirkung von ozontem Wasser auf <i>P. carotovorum</i> auf Möhren.....	28
Tabelle 4: Behandlungsvarianten zur Bestimmung der Wirkung von ozontem Wasser auf <i>P. infestans</i> auf Kartoffelscheiben.....	30
Tabelle 5: Varianten zur Behandlung von <i>T. basicola</i> auf Möhren.....	31
Tabelle 6: Wiederfindungsrate von Vitamin C an in der Länge halbierten Möhren nach Ozonbehandlung (t = 30 sec.)	34
Tabelle 7: Wiederfindungsrate der Zucker in Möhren in Abhängigkeit der Ozonkonzentration nach einer Behandlungszeit von 30 sec.	35
Tabelle 8: Wiederfindungsrate an Vitamin C in halbierten Kartoffelhälften nach Ozonbehandlung (t = 30 sec.).....	39
Tabelle 9: untersuchte Varianten zur Behandlung von <i>P. carotovorum</i> in Lösung mit UV-C Strahlung.....	42
Tabelle 10: untersuchte Varianten der Bestrahlung von <i>P. infestans</i> in Suspension mit UV Licht	43
Tabelle 11: Behandlungsvarianten zur UV-Bestrahlung von <i>T. basicola</i> in Lösung	45
Tabelle 12: untersuchte Varianten der Bestrahlung von Möhren, die mit <i>P. carotovorum</i> infiziert sind	46
Tabelle 13: Hemmung von <i>P. carotovorum</i> auf der Oberfläche von Möhren nach UV-Bestrahlung.....	47
Tabelle 14: untersuchte Varianten der Bestrahlung von Kartoffelscheiben, die mit <i>P. infestans</i> infiziert sind.....	48
Tabelle 15: Varianten der UV-Behandlung von mit <i>T. basicola</i> inokulierten Möhren.....	49
Tabelle 16: Hemmung von <i>T. basicola</i> auf Möhren nach UV-Bestrahlung	50
Tabelle 17: Wiederfindungsrate von Vitamin C in der Länge bei halbierten Mörenhälften nach UV-Bestrahlung	52
Tabelle 18: Wiederfindungsrate von Vitamin C in halbierten Kartoffelhälften nach UV-Bestrahlung	53
Tabelle 19: untersuchte Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung bei Möhren, die mit <i>P. carotovorum</i> infiziert sind.....	54
Tabelle 20: untersuchte Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung bei Kartoffeln, die mit <i>P. infestans</i> infiziert sind.....	56
Tabelle 21: Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung von mit <i>T. basicola</i> inokulierten Möhren.....	58

Tabelle 22: Ergebnisse der kombinierten Ozon- ($c(O_3) = 4 \text{ ppm}$; $t = 30 \text{ sec}$) und UV-Behandlung bei mit <i>T. basicola</i> infizierten Möhren, nach 15 Tagen Bebrütung bei Raumtemperatur.....	59
Tabelle 23: Wiederfindungsrate an Vitamin C in der Länge nach halbierten Möhrenhälften nach kombinierter Ozon- und UV-Behandlung	61
Tabelle 24: Wiederfindungsrate an Vitamin C in halbierten Kartoffelhälften nach kombinierter Ozon- und UV-Behandlung.....	62
Tabelle 25: untersuchte Varianten der Ozon- und UV-Behandlung bei Möhren, die mit <i>P. carotovorum</i> infiziert sind.....	63
Tabelle 26: untersuchte Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung bei verletzten Kartoffeln, die mit <i>P. infestans</i> infiziert sind.....	64
Tabelle 27: untersuchte Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung bei unverletzten Kartoffeln, die mit <i>P. infestans</i> infiziert sind.....	66
Tabelle 28: Varianten der kombinierten Ozon- und UV-Behandlung von mit <i>T. basicola</i> inokulierten Möhren.....	68

**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

Heft 44	Messsystem zur Bewertung des Unkrautvorkommens	2005
Heft 45	Anwendung der Thermographie zur Optimierung der Belüftungssteuerung bei der Lagerhaltung landwirtschaftlicher Produkte	2005
Heft 46	Membranbioreaktor zur Aufbereitung von Schlachthofabwässern	
	Prozesssteuerung von Biogasanlagen mit Kofermentation	2005
Heft 47	Verschleißeinfluss auf das Förderverhalten von Drehkolbenpumpen	2005
Heft 48	Qualitätserhaltung und Qualitätssicherung von Bioobst und Biogemüse in der Nachernte	2005
Heft 49	Miniaturisiertes Datenerfassungs-System zum Implantieren in Früchte und zur Messung ihrer mechanischen Belastung durch Ernte- und Nachernteverfahren	2005
Heft 50	Prozesskontrolle der Qualität von frischem Obst und Gemüse mit Hilfe eines Multigas-Sensors	2005
Heft 51	Entwicklung eines Echtzeitsensors für die Stärkebestimmung bei Kartoffeln als funktionaler Bestandteil eines optoelektronischen Verleseautomaten	2005
Heft 52	Optimierte Steuerung von Getreide-Schachttrocknern	2005
Heft 53	Möglichkeiten und Grenzen der energetischen Nutzung von Rizinusöl	2005
Heft 54	Non-Destructive Methods for Detecting Health-Promoting Compounds COST Action 924 Working Group Meeting	2005
Heft 55	4 th IFAC / CIGR Workshop Control Applications in Post - Harvest and Processing Technology (CAPPT 2006) 26th - 29th March 2006, Potsdam, GERMANY	2006
Heft 56	Computer-Bildanalyse in der Landwirtschaft Workshop 2006	2006
Heft 57	Kontrolle der Frische in der Nacherntekette von Ökogemüse	2006
Heft 58	Entwicklung eines innovativen Dekontaminationsverfahrens als Technologieantwort auf zukünftiges Qualitätsmanagement im Nacherntebereich	2006

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,- €