

Aus dem Institut für Umwelt- und Tierhygiene
sowie Tiermedizin mit Tierklinik
der Universität Hohenheim

Eingereicht über das Institut für Hygiene
und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Entwicklung einer sicheren Methode zur Bioabfallhygienisierung mit Kalk

INAUGURAL-DISSERTATION
Zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
VERONIKA SCHIRM

Gießen 2005

Aus dem Institut für Umwelt- und Tierhygiene
sowie Tiermedizin mit Tierklinik
der Universität Hohenheim

Betreuer: Dr. W. Phillip; Prof. Dr. R. Böhm

Eingereicht über das Institut für Hygiene
und Infektionskrankheiten der Tiere
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Im Fachbereich vertreten durch: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

Entwicklung einer sicheren Methode zur Bioabfallhygienisierung mit Kalk

INAUGURAL-DISSERTATION
Zur Erlangung des Doktorgrades beim
Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von
VERONIKA SCHIRM
Tierärztin aus Haan

Gießen 2005

Mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. M. Reinacher

1. Berichterstatter: Prof. Dr. R. Böhm
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Dr. habil. G. Baljer

Tag der mündlichen Prüfung: 22. März 2005

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----|
| 1. Einleitung..... | 1 |
| 2. Literatur | 2 |
| 2.1 Substrate | 2 |
| 2.1.1 Klärschlamm..... | 2 |
| 2.1.1.1 Klärschlamm unter hygienischen Gesichtspunkten | 4 |
| 2.1.2 Gärrückstand | 6 |
| 2.1.2.1 Gärrückstand unter hygienischen Gesichtspunkten..... | 7 |
| 2.1.3 Panseninhalt und Stroh | 9 |
| 2.1.3.1 Panseninhalt und Stroh unter hygienischen Gesichtspunkten..... | 10 |
| 2.2 Entseuchung mit Kalk..... | 10 |
| 2.2.1 Branntkalk (CaO)..... | 11 |
| 2.2.2 Mischtechniken | 12 |
| 2.3 Gesetzliche Bestimmungen | 12 |
| 2.3.1 KrW-/AbfG | 13 |
| 2.3.2 Bioabfallverordnung (BioAbfV) | 13 |
| 2.3.3 Klärschlammverordnung (AbfKlärV) | 14 |
| 2.3.4 Weitere gesetzliche Bestimmungen | 14 |
| 2.3.5 Internationale Richtlinien und Verordnungen..... | 15 |
| 2.4 Charakterisierung der in den Untersuchungen verwendeten Bakterien..... | 16 |
| 2.4.1 <i>Salmonella senftenberg</i> | 16 |
| 2.4.2 Fäkalstreptokokken (Enterokokken, D-Streptokokken)..... | 18 |
| 2.4.3 <i>Escherichia coli</i> | 19 |
| 2.4.4 <i>Clostridium perfringens</i> | 20 |
| 2.5 Charakterisierung der in den Untersuchungen verwendeten Viren | 21 |
| 2.5.1 Bovines Parvovirus (BPV) | 21 |
| 2.5.2 Rinder Enterovirus (enteric cytopathogenic bovine orphan, ECBO) | 22 |
| 2.6 Charakterisierung der in den Untersuchungen verwendeten Parasiten..... | 22 |
| 2.6.1 <i>Ascaris suum</i> | 22 |
| 2.7 Eignung der beschriebenen Mikroorganismen als Indikator- bzw. Testkeim .. | 24 |
| 2.7.1 Rechtsvorgaben für die Hygienisierung | 26 |
| 3. Material und Methoden | 27 |
| 3.1 Bakteriologische Methoden | 27 |
| 3.1.1 Allgemeine bakteriologische Methoden | 27 |
| 3.1.1.1 Herstellung einer Verdünnungsreihe | 27 |
| 3.1.1.2 Das MPN-Verfahren | 28 |
| 3.1.1.3 Herstellung der Keimsuspensionen | 28 |
| 3.1.2 Spezielle bakteriologische Verfahren | 29 |
| 3.1.2.1 Untersuchung auf <i>Escherichia coli</i> | 29 |
| 3.1.2.2 Untersuchung auf Fäkalstreptokokken | 29 |
| 3.1.2.3 Untersuchung auf Salmonellen..... | 30 |
| 3.1.2.4 Untersuchung auf <i>Clostridium perfringens</i> Sporen | 31 |
| 3.2 Virologische Methoden | 32 |
| 3.2.1 Allgemeine virologische Methoden | 33 |
| 3.2.1.1 Zellkulturtechnik..... | 33 |
| 3.2.1.2 Virusvermehrung | 34 |
| 3.2.1.3 Virusnachweis..... | 34 |
| 3.2.2 spezielle virologische Methoden..... | 35 |
| 3.2.2.1 Untersuchung auf Bovine Parvoviren | 35 |

| | | |
|---------|--|----|
| 3.2.2.2 | Untersuchung auf ECBO-Viren..... | 36 |
| 3.3 | Parasitologische Untersuchungsmethoden | 36 |
| 3.4 | Keimträgermethoden | 37 |
| 3.4.1 | Sandwichkeimträger | 37 |
| 3.4.2 | Gaze-Keimträgertechnik..... | 38 |
| 3.4.3 | Stahlkeimträger | 39 |
| 3.4.4 | Holzkeimträger | 40 |
| 3.5 | Physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden..... | 40 |
| 3.5.1 | pH-Wert | 40 |
| 3.5.2 | Temperaturmessung..... | 40 |
| 3.5.3 | Trockensubstanzgehaltsbestimmung (TS) | 41 |
| 3.5.4 | CaO- Bestimmung | 41 |
| 3.5.5 | Ammoniumbestimmung | 41 |
| 3.5.6 | Ammoniakmessung | 41 |
| 3.5.7 | Homogenitätsbestimmung | 41 |
| 3.6 | Darstellungen der Teilabschnitte | 43 |
| 3.7 | Vorversuche | 44 |
| 3.7.1 | Hygienische Beschaffenheit der Ausgangsprodukte | 44 |
| 3.7.2 | Einmischversuche verschiedener Bioabfälle und Branntkalk..... | 44 |
| 3.7.2.1 | Bioabfall (grüne Tonne) | 45 |
| 3.7.2.2 | Klärschlamm | 45 |
| 3.7.2.3 | Panseninhalt..... | 45 |
| 3.7.2.4 | Gärrückstand | 45 |
| 3.7.2.5 | Rindermist | 46 |
| 3.7.3 | Versuche zur Neutralisation der gekalkten Substrate | 46 |
| 3.7.4 | Versuche zur Basisinaktivierung der Mikroorganismen | 46 |
| 3.8 | Versuche im halbtechnischen Maßstab | 47 |
| 3.8.1 | Mischaggregate | 47 |
| 3.8.2 | Versuchsaufbau..... | 48 |
| 3.8.3 | Substrate | 48 |
| 3.8.4 | Testorganismen..... | 49 |
| 3.8.5 | Branntkalk (CaO)..... | 49 |
| 3.9 | Praxisversuche | 49 |
| 3.9.1 | Mischaggregat | 49 |
| 3.9.2 | Versuchsaufbau..... | 50 |
| 3.9.3 | Versuchssubstrate | 51 |
| 3.9.4 | Testorganismen..... | 51 |
| 3.9.5 | Branntkalk (CaO)..... | 51 |
| 4. | Ergebnisse..... | 52 |
| 4.1 | Ergebnisse der Vorversuche | 52 |
| 4.1.1 | Hygienische Beschaffenheit der Substrate | 52 |
| 4.1.2 | Einmischversuche mit den verschiedenen Bioabfällen und Branntkalk | 53 |
| 4.1.2.1 | Bioabfall (grüne Tonne) | 53 |
| 4.1.2.2 | Klärschlamm | 54 |
| 4.1.2.3 | Panseninhalt..... | 55 |
| 4.1.2.4 | Gärrückstand | 57 |
| 4.1.2.5 | Rindermist | 59 |
| 4.1.2.6 | Homogenität der Kalk-Substrat-Gemische | 59 |
| 4.1.3 | Versuche zur Neutralisation der gekalkten Substrate | 60 |
| 4.1.4 | Versuche zur Basisinaktivierung der Mikroorganismen | 61 |
| 4.2 | Ergebnisse der Versuche im halbtechnischen Maßstab | 62 |

| | |
|--|-----|
| 4.2.1 Klärschlamm..... | 62 |
| 4.2.1.1 Tenazitätsversuche mit Askarideneier..... | 62 |
| 4.2.1.2 Tenazitätsversuche mit dem Bovinen Parvovirus..... | 66 |
| 4.2.1.3 Tenazitätsversuche mit dem Rinder Enterovirus (ECBO)..... | 68 |
| 4.2.1.4 Tenazitätsversuche mit Bakterien..... | 69 |
| 4.2.2 Panseninhalt..... | 77 |
| 4.2.2.1 Tenazitätsversuche mit Askarideneiern..... | 77 |
| 4.2.2.2 Tenazitätsversuche mit dem Bovinen Parvovirus (BPV)..... | 83 |
| 4.2.2.3 Versuche mit dem Rinder Enterovirus (ECBO)..... | 86 |
| 4.2.2.4 Tenazitätsversuche mit Bakterien..... | 89 |
| 4.2.3 Gärrückstand..... | 98 |
| 4.2.3.1 Tenazitätsversuche mit Askarideneiern..... | 98 |
| 4.2.3.2 Tenazitätsversuche mit dem Bovinen Parvovirus (BPV)..... | 103 |
| 4.2.3.3 Tenazitätsversuche mit dem Rinder Enterovirus (ECBO)..... | 106 |
| 4.2.3.4 Tenazitätsversuche mit Bakterien..... | 109 |
| 4.2.4 Vergleichende Ergebnisdarstellung..... | 118 |
| 4.2.4.1 Tenazitätsuntersuchungen mit Askarideneier..... | 118 |
| 4.2.4.2 Tenazitätsuntersuchungen mit dem Bovinen Parvovirus..... | 118 |
| 4.2.4.3 Tenazitätsuntersuchungen mit dem Rinder Enterovirus..... | 119 |
| 4.2.4.4 Tenazitätsuntersuchungen mit Bakterien..... | 120 |
| 4.3 Ergebnisse der Praxisversuche..... | 122 |
| 4.3.1 Klärschlamm..... | 124 |
| 4.3.1.1 Versuche KS I-III..... | 125 |
| 4.3.1.2 Versuche KS IV und V..... | 128 |
| 4.3.2 Gärrückstand..... | 131 |
| 4.3.3 Homogenität..... | 134 |
| 5. Diskussion..... | 136 |
| 5.1 Ergebnisse der Vorversuche..... | 136 |
| 5.2 Ergebnisse der Hauptversuche (halbtechnischer Maßstab)..... | 137 |
| 5.2.1 Beurteilung der Temperatur und pH-Wert-Profile..... | 138 |
| 5.2.2 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit Askarideneiern..... | 139 |
| 5.2.3 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit BPV..... | 141 |
| 5.2.4 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit ECBO..... | 141 |
| 5.2.7 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit Fäkalstreptokokken..... | 144 |
| 5.2.8 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit den Sporen von..... | 144 |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 144 |
| 5.2.9 Beurteilung der Praxisversuche..... | 145 |
| 5.3 Schlussfolgerung..... | 148 |
| 6. Zusammenfassung..... | 150 |
| 7. Summary..... | 152 |
| 8. Literaturverzeichnis..... | 153 |
| 9. Anhang..... | 167 |
| 9.1. Abbildungsverzeichnis..... | 167 |
| 9.2. Bildverzeichnis..... | 170 |
| 9.3. Tabellenverzeichnis..... | 171 |
| 9.4. Tabellen..... | 177 |
| 9.5. Abkürzungen..... | 179 |
| 9.6. Puffer und Lösungen..... | 180 |

1. Einleitung

Mit dem Kreislaufwirtschafts- und Abfallgesetz (KrW-/AfG), das am 7. Oktober 1996 in Kraft trat, wurden die Weichen für eine Abfallbehandlung im Sinne einer Kreislaufwirtschaft gestellt (PHILIPP & BÖHM, 1997). Ziel dieses Gesetzes ist, gemäß §1, die Kreislaufwirtschaft zur Schonung der natürlichen Ressourcen zu fördern und die umweltverträgliche Beseitigung von Abfällen zu sichern (ANONYM, 1994).

Bioabfälle, wie z.B. Reststoffe aus der Landwirtschaft, der Verarbeitung landwirtschaftlicher Produkte und aus der Abfallentsorgung, sind in Abhängigkeit ihrer Konsistenz, Herkunft und Behandlung unterschiedlich häufig und stark mit obligat oder fakultativ pathogenen Bakterien, Viren und Parasiten behaftet. Bei der landwirtschaftlichen Verwertung von Bioabfällen besteht deshalb ein Hygienierisiko (STRAUCH, 1991; BÖHM, 1999). Bevor Bioabfälle in den Verkehr gebracht werden können, sind sie daher nach der Bioabfallverordnung einer Behandlung zu unterziehen, die eine seuchen- und phytohygienische Unbedenklichkeit gewährleistet (ANONYM, 1998).

Die Hygienisierung mittels Kalkzugabe ist ein Verfahren, das auch Erzeuger kleinerer Abfallmengen wirtschaftlich, zeit- und energiesparend durchführen können. Die gekalkten Produkte sind schon nach kurzer Zeit ausbringfähig, das Endprodukt kann zusätzlich als Kalkdüngung des Bodens eingesetzt werden und ist durch den hohen pH-Wert gegen Rekontamination geschützt.

Eine Hygienisierung von biogenen Abfallstoffen kann mit Kalkhydrat (gelöschtem Kalk) oder Calciumoxid (Branntkalk) erfolgen. Da wir in dieser Arbeit, vor allem im Hinblick auf die Inaktivierung von parasitären Dauerstadien, nicht auf den Synergismus von alkalischem pH- Wert und Temperatur verzichten wollten, wurde auf eine Hygienisierung mit Branntkalk (CaO) zurückgegriffen.

Ziel dieser Arbeit ist es, nachzuweisen, dass Branntkalk großtechnisch mit der notwendigen Betriebssicherheit und Wirtschaftlichkeit zur Erzeugung hygienisch einwandfreier Bioabfälle die sich als Dünger nutzen lassen eingesetzt werden kann.

Bisher durchgeführte Untersuchungen haben gezeigt (OSTERTAG, 1987), dass der Hygienisierungseffekt des Branntkalkes vor allem von der homogenen Einmischung in das jeweilige Substrat abhängig ist. Deshalb wurde in dieser Arbeit mit Substraten unterschiedlicher Konsistenz und mit unterschiedlichen Mischanlagen gearbeitet. Der Erfolg des Hygienisierungsprozesses wurde anhand der Reduzierung bzw. Inaktivierung widerstandsfähiger Bakterien, Viren und parasitärer Dauerstadien als Indikatorkeime überprüft.

Die Untersuchungen wurden in drei Abschnitte gegliedert. Im labor- und halbtechnischen Maßstab wurden Erkenntnisse bezüglich der Prozessbedingungen (Temperaturverlauf, Kalkbedarfsmenge und Keimreduktionsrate) ermittelt, danach wurden die Ergebnisse im Hinblick auf einen betriebssicheren Einsatz unter Praxisbedingungen verifiziert.

Die durchgeführten Untersuchungen fanden im Rahmen eines durch AiF geförderten und finanzierten Forschungsvorhabens statt und wurden in Kooperation mit dem Forschungsinstitut der Forschungsgemeinschaft Kalk und Mörtel eV. vom Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim erarbeitet.

2. Literatur

2.1 Substrate

2.1.1 Klärschlamm

Klärschlamm wird in der Klärschlammverordnung (AbfKlärV) § 2, Absatz 2 definiert als „bei der Behandlung von Abwasser in Abwasserbehandlungsanlagen einschließlich zugehöriger Anlagen zur weitergehenden Abwasserreinigung anfallender Schlamm, auch entwässert oder getrocknet oder in sonstiger Form behandelt“ (ANNONYM, 1992).

Die Abwasserrichtlinie (91/271/EWG) schreibt EU-weit vor, dass bis spätestens zum Jahresende 2005 alle Kommunen mit mehr als 2000 Einwohnern (Einwohneräquivalente) mit einer Abwasserleitung in Binnengewässer und von mehr als 10.000 Einwohner (Einwohneräquivalente) mit einer Abwasserleitung in Küstengewässer mindestens zweistufige Verfahren zur Abwasserbehandlung einsetzen müssen. Hieraus dürfte in den Ländern der EU ein Anstieg des Klärschlammmanfalls von 7,6 Mio. MG TS im Jahr 1995 auf ca. 15-20 Mio. MG TS/a bis zum Jahr 2005 resultieren (FRICKE, 2002).

Gegenwärtig fallen in den Abwasserbehandlungsanlagen der Bundesrepublik Deutschland im EU- Vergleich die meisten Klärschlämme an; gemäß den von der EU zur Verfügung gestellten Angaben waren dies im Jahr 1993 rund 3,2 Mio. t Klärschlamm (Trockenmasse-mT), was einem Anteil von mehr als 40% des damaligen EU-Klärschlammaufkommens von 7,6 Mio. t entsprach (BANNICK et al., 2002).

Dieser Klärschlamm kann auf verschiedenen Wegen entsorgt werden. Derzeit wird der größte Teil, nämlich 45%, in die Landwirtschaft verbracht. Danach erfolgt die Verbrennung mit 19%, die Rekultivierung mit 12%, die Deponierung mit 11% und die Kompostierung mit 10% (FRITSCHE, 2001).

Die Deponierung von Klärschlamm wird mit der Umsetzung der EU-Deponierichtlinie 94/904/EG in der AbfAbIV (Verordnung über die umweltverträgliche Ablagerung von Siedlungsabfällen und über biologische Abfallbehandlungsanlagen) ab dem Jahre 2005 entfallen (ANONYM, 2001 a).

Die landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm hat, insbesondere in ländlichen Regionen, eine lange Tradition. Seine Gehalte an Stickstoffverbindungen, vor allem aber des Phosphat begründet diese lange Tradition seiner Verwertung in der Landwirtschaft (FEHRENBACH, 2001).

Dies soll im Sinne des Kreislaufwirtschafts- und Abfallgesetzes (KrW-/AbfG) auch weiterhin gefordert werden, denn die Verwertung der Klärschlamm-Nährstoffe als Düngemittel in der landwirtschaftlichen Produktion erhält höchste Priorität, hauptsächlich deshalb, weil Phosphor eine begrenzte Ressource ist, dass aus den bekannten Quellen nur noch etwa 100 Jahre verfügbar sein wird.

Daneben besitzt Klärschlamm eine Wirkung als Kalkdünger (JEPSEN, 2001).

Es bleibt in diesem Zusammenhang festzustellen, dass die landwirtschaftliche bzw. landbauliche Verwertung von Klärschlämmen und Bioabfällen trotz objektiv gestiegener Produktqualitäten unter wesentlichen Akzeptanzmängeln bei möglichen Anwendern und großen Teilen der indirekt betroffenen Verbrauchern leidet (LOLL,

2000). Diese ist nicht nur in Deutschland, sondern in allen westeuropäischen Ländern zu beobachten, wie BAUMGÄRTNER (2001) aus der Schweiz berichtet: Die Akzeptanz der Klärschlammverwertung ist in der Schweiz- wie auch in anderen Nachbarländern einem ständigen Wandel unterzogen. Zuerst sorgten die Schwermetalle, dann die organischen Schadstoffe und seit dem letzten Jahr die Diskussion um BSE (Bovine spongiforme Enzephalopathie) für Zündstoff in der Öffentlichkeit.

Die landwirtschaftliche Klärschlammverwertung erreichte in der Schweiz ihren Höhepunkt Mitte der neunziger Jahre und nahm dann auf Grund der größeren Risikoeinschätzung wieder ab.

Diese negativ behaftete Diskussion um die landwirtschaftliche Klärschlammverwertung ist wissenschaftlich nicht begründet, denn ein Vergleich der Schwermetalleinträge in den Boden aus verschiedenen Quellen zeigt, dass Klärschlamm eine wichtige, aber nicht eine dominierende Quelle darstellt. Er liefert je nach Metall zwischen rund 5 und 10% der Gesamteinträge (CANDINAS & CHASSOT, 1997). Zu denselben Schlussfolgerungen kommen AKRIVOS et al. (2000). In ihren Studien über die landwirtschaftliche Verwertung von gekalktem Klärschlamm stellten sie keine Erhöhung der Schwermetallbelastung des Bodens fest, aber eine Ertragssteigerung der Ernte durch den Düngeeffekt des Klärschlammes.

Die Befürchtung, dass TSE-Erreger über die Abwässer verbreitet werden können wird von METZNER (2001) nicht geteilt. Er geht davon aus, dass nach den vorliegenden Erkenntnissen BSE-Prionen in der Umwelt überwiegend an Feststoffe gebunden sind und dass Tiere mit auffälliger BSE-Problematik nicht in Schlachthöfen geschlachtet werden. Dennoch kann eine Freisetzung von Prionen über den Pfad Abwasser /Klärschlamm auch nach Auffassung des zuständigen Fachreferates beim StMAS (Bayerisches Staatsministerium für Arbeit und Sozialordnung, Familie, Frauen und Gesundheit) nicht von vornherein ausgeschlossen werden. Das Risiko einer Gewässergefährdung mit BSE-Prionen durch Schlachthofabwasser wird, sowohl bei betriebseigener als auch bei kommunalen Kläranlagen, in die Schlachthofabwasser eingeleitet wird, jedoch nach Aussage des StMAS (Bayerisches Staatsministerium für Arbeit und Sozialordnung, Familie, Frauen und Gesundheit) als sehr gering eingeschätzt sofern die vorgeschriebene Sorgfalt eingehalten wird (METZNER, 2001).

Trotz dieser vorliegenden Fakten ist die Diskussion um Sinn und Zweck der landwirtschaftlichen Klärschlammverwertung in den letzten Jahren nicht beendet wurden. In der Schweiz hat die fehlende Akzeptanz der Lebensmittelhersteller und der Verbraucher laut einem Bericht von CHARDONNENS und CANDINAS (2001) schon zu einem fast vollständigen Verzicht der landwirtschaftlichen Klärschlammverwertung geführt.

Ähnliche Voraussetzungen sind in Deutschland gegeben. Die Ausbringung von Klärschlamm auf landwirtschaftliche Flächen wird vom Verbraucher nicht mehr akzeptiert. Besonders in Baden-Württemberg sucht man die Verwertung in der Verbrennung und stellt fest, dass bundesweit ausreichende Kapazitäten zur Klärschlammverbrennung vorhanden sind. Die Kostenbelastung für die Verbrennung beläuft sich auf wenige Cent pro Kubikmeter Abwasser (BW-agrar, 2002).

Das Bundesland Nordrhein-Westfalen stellte dazu in einer Studie fest, dass bei Betrachten aller Wirkungskategorien die Beseitigung (Verbrennung) von

Klärschlamm tendenziell mehr ökologische Vorteile gegenüber der Verwertung aufweist, wobei nach § 5 Abs. 5 des KrW-/AbfG ...der Vorrang der Verwertung von Abfällen entfällt, wenn deren Beseitigung die umweltverträglichste Lösung darstellt (FRIEDRICH et al., 2002).

Die Autoren BÖHM (2001) und SCHAAF (2001) berichten dagegen, dass die Produktion hochwertiger Nahrungsmittel von klärschlammgedüngten Flächen, auch unter Berücksichtigung der Anforderung des vorsorgenden Bodenschutzes, mit einer gewissen Sicherheitspanne gewährleistet werden kann. Darum soll mit der Umsetzung neuer Qualitätssicherungen die Verunsicherung des Verbrauchers beendet werden.

In vielen Bereichen wurden schon als Qualitätssicherung Standards für bestimmte Verfahren ermittelt und festgesetzt. Für den Bereich Klärschlamm wird zurzeit eine Gütesicherung als standardisierte Qualitätssicherung erarbeitet. In der Diskussion steht dabei die Behandlung von Klärschlamm nach Verfahren mit unterschiedlichen technischen Standards. Zum Erreichen dieser Kategorien werden bestimmte Verfahren festgesetzt. In Diskussion ist unter anderem die Verwendung von Branntkalk zur Hygienisierung von Klärschlamm, wobei durch die Kalkkonditionierung ein pH Wert >12 und mindestens zwei Stunden lang Temperaturwerte von mindestens 55°C erreicht werden müssen (ANONYM, 2003).

Bei der Diskussion, ob die landwirtschaftliche Verwertung oder die Verbrennung für Klärschlamm sinnvoller ist, muss man zusätzlich bedenken, dass in Ballungsräumen der Klärschlamm immer in Konkurrenz zu den Wirtschaftsdüngern stehen wird, besonders da in Ballungsräumen immer ein ungleiches Verhältnis von anfallendem Klärschlamm zu vorhandener Bodenfläche besteht.

Nach der guten fachlichen Praxis, geregelt durch die Düngeverordnung, dürfen Nährstoffe nur in den Maßen aufgebracht werden, in dem auch ein entsprechender Bedarf der Pflanzen vorhanden ist, unter Einbeziehung der bereits bestehenden Nährstoffversorgung der Böden (FRIEDRICH, 2001).

Die rechtlichen Rahmenbedingungen der landwirtschaftlichen Klärschlammverwertung sind in der AbfKlärV (Abfallklärschlammverordnung) niedergelegt.

Klärschlamm darf auf landwirtschaftlich oder gärtnerisch genutzter Böden nur so aufgebracht werden, dass das Wohl der Allgemeinheit nicht beeinträchtigt wird und die Aufbringung nach Art, Menge und Zeit auf den Nährstoffbedarf der Pflanzen unter Berücksichtigung der im Boden verfügbaren Nährstoffen und organischen Substanzen sowie der Standort- und Anbaubedingungen ausgerichtet wird. Im Übrigen gelten für das Aufbringen von Klärschlamm die Bestimmungen des Düngemittelrechts entsprechend (§3(1)) (ANONYM, 1992).

2.1.1.1 Klärschlamm unter hygienischen Gesichtspunkten

Kontamination der Abwässer und damit der Klärschlämme mit den unterschiedlichsten Erregern sind außer menschlichen und tierischen Ausscheidungen vor allem Krankenhäuser, Schlacht- und Viehhöfe, Tierkörperbeseitigungsanstalten, Fischmehl- und Eipulverproduzenten, Leimfabriken, Gerbereien, Betriebe der Häute-, Fell- und Borstenverarbeitung u.a.m. (STRAUCH, 1964; KAFKA, 1979; KNOLL, 1981; zit. bei PFUDERER 1985).

Als weitere Ausgangsstoffe tierischer Herkunft, denen unter dem Aspekt der Seuchenhygiene die größte Bedeutung zukommt, sind vor allem Verarbeitungsabfälle (Schlachthofabfälle, Molkereiprodukte, Nebenprodukte der Fisch- und Krebsverarbeitung, Abfälle aus der Fett-, Leim-, Leder-, Naturseide und der Fleischverarbeitung), Siedlungsabfälle (Haushaltsabfälle, Abfälle aus Großküchen und Kantinen) sowie weitere landwirtschaftliche Abfallstoffe (Tierkadaver, Brütereiabfälle) zu nennen (BÖHM, 1999).

Damit umfasst das Spektrum der im Abwasser vorkommenden Krankheitserreger eine Vielzahl von Bakterien, Viren und parasitären Erregern, Hefen und Pilze (STRAUCH und PHILIPP, 1983), dargestellt in Tabellen 1 bis 3 nach STRAUCH (1991).

Tab. 1: Auswahl von Viren, die vom Menschen ausgeschieden werden und deren Vorkommen im Klärschlamm erwartet werden kann (STRAUCH, 1991; modifiziert nach BÖHM, 2002)

| Virusgruppe | Auswahl von Typen | Hervorgerufene Krankheiten oder Symptome |
|-----------------------------|-------------------|--|
| Enterovirus | | |
| Poliovirus | 3 | Poliomyelitis, Meningitis, Fieber |
| Coxsackievirus A | 24 | Herpangina, Atemwegsinfektionen, Meningitis |
| Coxsackievirus B | 6 | Myocarditis, Herzmissbildungen, Meningitis, Atemwegserkrankungen, Hautausschlag, Fieber |
| Echovirus | 34 | Meningitis, Atemwegserkrankungen, Durchfall, Fieber, Hautausschlag, |
| Weitere Enteroviren | 4 | Meningitis, Atemwegserkrankungen, Fieber, haemorrhagische Konjunktivitis |
| Adenovirus | 41 | Atemwegserkrankungen, Augeninfektionen |
| Reovirus | 3 | Nicht definiert |
| Hepatitis A-Virus | 1 | Hepatitis |
| Rotavirus | 4 | Erbrechen und Durchfall |
| Astrovirus | 5 | Gastroenteritis |
| Calicivirus (Norwalk agent) | 2 | Erbrechen und Durchfall |
| Coronavirus | 1 | |
| Adeno-associated Virus | 4 | Erkältung Nicht genau definiert aber mit Atemwegserkrankungen bei Kindern vergesellschaftet |
| Parvovirus | 2 | Ein Typ steht möglicherweise mit Darminfektionen in Zusammenhang |

Salmonellen lassen sich nach einschlägigen Untersuchungen der letzten Jahre in 80-90% der Proben von Frischschlamm aus Kläranlagen städtischer Einzugsgebiete nachweisen (ROLLE und MAYR, 1993). Dabei sind nach Untersuchungen von KARUNIAWATI (2001) folgende Salmonellenserovare aus Kläranlagenablaufproben nachweisbar; sie sind nach Häufigkeit ihres Nachweises geordnet:

S. Enteritidis > S. Typimurium > S. Hadar > S. Derby, S. Oranienburg, S. Subspezies I, S. Tennessee > S. Agona, S. Bareilly, S. der Gruppe D₁, S. Give, S. Panama, S. senftenberg, S. Subspezies IIIA.

Dass sich bei der landwirtschaftlichen Verwertung ausgehend von Rest- und Abfallstoffen epidemiologische Kreisläufe für verschiedene Krankheits- und

Tierseuchenerreger schließen können, ist seit vielen Jahren bekannt und konnte für die Salmonellose eindrucksvoll in Verbindung mit der Klärschlammdüngung demonstriert werden (STRAUCH, 1988).

STRAUCH (1964) zum Beispiel berichtet über den Ausbruch von zwei *S. paratyphi-B*-Infektionen bei Rinderherden. In diesen Fällen wurde nicht pasteurisierter ausgefauter Klärschlamm als Dünger ausgebracht. Als Folge der Aufbringung von Klärschlamm auf Grünland berichtet ILSØE et al. (1990) von einer Wurminfektion von Weidevieh

Tab. 2: Auswahl von Bakterien, die im Klärschlamm vorkommen (STRAUCH, 1991; modifiziert nach BÖHM, 2002)

| Obligat Pathogene | Fakultativ Pathogene |
|-------------------------|---------------------------|
| Salmonella spp. | Escherichia |
| Shigella spp. | Klebsiella |
| Escherichia coli | Enterobacter |
| Pseudomonas aeruginosa | Serratia |
| Yersinia enterocolitica | Citrobacter |
| Clostridium perfringens | Proteus |
| Clostridium botulinum | Providencia |
| Bacillus anthracis | Multiresistente Bakterien |
| Listeria monocytogenes | |
| Vibrio Cholerae | |
| Mycobakterium spp. | |
| Leptospira spp. | |
| Campylobacter spp. | |
| Staphylococcus | |
| Streptococcus | |

Tab. 3: Auswahl von Parasiten, die meist in Form von Dauerstadien im Klärschlamm vorkommen können (STRAUCH, 1991)

| Protozoa | Cestodes | Nematodes |
|-----------------------|-------------------------|----------------------|
| Cryptosporidia parvum | Taenia saginata | Ascaris lumbricoides |
| Entamoeba histolytica | Taenia solium | Ancylostoma |
| Giardia lamblia | Diphyllobothrium latum | duodenale |
| Toxoplasma gondii | Echinococcus granulosus | Toxocara canis |
| Sarcocystea spp. | | Toxocara cati |
| | | Trichuris trichiura |

2.1.2 Gärrückstand

Unter dem Begriff Vergärung versteht man den Abbau von biogenem Material durch Mikroorganismen in Abwesenheit von Sauerstoff, d.h. unter anaeroben Bedingungen. Dabei wandeln unterschiedliche Bakterienarten biogenes Material in sog. Biogas mit einem hohen Gehalt an Methan um. Als Rückstand verbleiben nach der Aufarbeitung eine faserhaltige Fraktion (fester Gärrückstand) und eine flüssige Fraktion (flüssiger Gärrückstand) (BIOGAS-Forum, 2002).

Die Europäischen Kommission (2001) formuliert in ihrem Arbeitspapier „Die „biologische Behandlung von Bioabfällen“ (zweiter Entwurf, Feb. 2001) die anaerobe

Vergärung als biologische, sauerstofffreie Zersetzung von Bioabfällen unter kontrollierten Bedingungen durch die Aktivität von Mikroorganismen (einschließlich methanbildender Bakterien) mit dem Ziel der Erzeugung von Biogas sowie von festen Gärrückständen. Fester Gärrückstand wird in dem Arbeitspapier dem entsprechend als das Material bezeichnet, dass durch die anaerobe Vergärung getrennt gesammelter Bioabfälle entsteht und den in Anhang III des Dokuments festgelegten Umweltklassen entspricht.

Die Behandlung von Bioabfällen in anaeroben Vergärungsprozessen dient dem Zweck, die Gärfähigkeit dieser Abfälle zu reduzieren, die Erzeugung von Biogas zu maximieren und dafür zu sorgen, dass der feste Gärrückstand zum landwirtschaftlichen Nutzen oder zur ökologischen Verbesserung genutzt werden kann (Europäische Kommission, 2001).

Das Verhältnis von Kohlenstoff zu Stickstoff, Phosphor und anderen Nährstoffen und Spurenelementen wird in der vergorenen Gülle eingengt. Das vergorene Material eignet sich ausgezeichnet als landwirtschaftlicher Dünger bei einer gleichzeitigen Verminderung der Eutrophierung von Oberflächengewässern (BÖHM, 1999; WELLINGER et al., 1991).

Die Vergärung kann im mesophilen (35°C) oder im thermophilen (55°C) Temperaturbereich durchgeführt werden (ANNONYM, 1998). Die Gärtemperatur beeinflusst die Abbaurate und die Gasausbeute sowie den Grad der Hygienisierung (HOFERER, 2001).

Aufgrund der Vorteile der anaeroben Behandlung von kommunalen und gewerblichen Bioabfällen gewinnen die Vergärungsverfahren neben der Kompostierung in der biologischen Abfallbehandlung zunehmend an Bedeutung. Vorteile der anaeroben Vergärung sind die geschlossene Prozessführung, die energetische Nutzung der Abfälle, die starke Massenreduzierung sowie die relativ kurze Behandlungszeit und die Reduktion störender Geruchsemissionen von landwirtschaftlichen Abfällen. Nach der anaeroben Behandlung ist das vergorene Material praktisch geruchsfrei (STRAUCH, 1997; WELLINGER et al., 1991).

2.1.2.1 Gärrückstand unter hygienischen Gesichtspunkten

Die organischen Abfälle aus Haushalten, Großküchen und der lebensmittelverarbeitenden Industrie enthalten human- bzw. veterinär- und phytohygienisch bedeutsame Bakterien, Pilze, Viren und Parasiten unterschiedlicher Art und in wechselnder Menge, die grundsätzlich geeignet sind, die Gesundheit von Mensch, Tier und Pflanzen zu schädigen oder menschliche, tierische und pflanzliche Strukturen zu besiedeln bzw. die Umwelt zu belasten (BÖHM et al., 1989).

Unter den festgestellten Bakterienarten, die in biologischen Rest- und Abfallstoffen in Europa vorkommen können, befinden sich auch viele Zoonosenerreger, die sich unter den gegebenen Bedingungen sogar noch vermehren können. In Tabelle 4 ist eine entsprechende Zusammenstellung gegeben, die auch Hinweise auf mögliche Vektoren enthält (BÖHM, 1999).

Tab. 4: Bakterielle Zoonosenerreger, die in biologischen Rest- und Abfallstoffen in Europa vorkommen können (BÖHM, 1999)

| Erreger | Hauptreservoir, Infektionsquelle, Zwischenträger | Häufigkeit und Verbreitung |
|--|--|---|
| Brucella spec. | Haus- und Wildtiere Futter, Einstreu, Abwasser | Regional, weltweit |
| Campylobacter spec. | Haus- und Wildtiere Geflügel, Gewässer | Verbreitet, weltweit |
| Clostridium perfringens | Wasser, Boden, Darminhalt von Tieren | Sporadisch bis gehäuft, weltweit |
| Escherichia coli | Tier und Mensch, Lebensmittel | Verbreitet, weltweit |
| Erysipelothrix rhusiopathiae | Landw. Nutztiere, Dung, Kommunales Abwasser | Sporadisch oder gruppenweise, weltweit |
| Leptospira interrogans Subs. | Haus- und Heimtiere, Gewässer, Schlamm | Regional, weltweit |
| Listeria monocytogenes | Haustiere, Milchprodukte, Erdboden | Sporadisch, gruppenweise, weltweit |
| Bacillus anthracis | Erdboden (ehemals Abdeckereien), Haus- und Wildwiederkäuer, Schweine | Sporadisch, weltweit, regional |
| Staph.aureus | Mensch, Hospitalismus, Haustiere, Lebensmittel | Sporadisch, gehäuft, weltweit, |
| Strept. Pyogenes Serovare | Mensch und Haustier | Sporadisch, weltweit, regional |
| Salmonella-Serovare | Haussäugetiere, Geflügel, Reptilien, Gewässer, Abwasser | Häufig, gruppenweise bis endemisch, weltweit |
| Shigella spec. | Mensch, Abwasser | Häufig, weltweit |
| Clostridium tetani | Abwasser, Boden, Darm, Tier, Mensch | Sporadisch, weltweit |
| Yersinia spec. | Wildnagetiere, Hausschweine | Sporadisch, weltweit |
| Pasteurella spec. | Landw. Nutztiere, Haus- und Wildnagetiere | Sporadisch, weltweit |
| Chlamydia psittaci | Wild- Zier- und Hausgeflügel | Sporadisch bis Gruppenerkrankung |

Ein besonderes Hygienierisiko geht von in Biogasanlagen verarbeiteten Speiseresten und Gülle aus. Denn mit der Verarbeitung von Speiseabfällen sind entsprechende Risiken durch Bakterien, Pilze und Toxine, aber auch besonders durch Viren, wie dem Virus der Europäischen Schweinepest, dem Maul- und Klauenseuchenvirus, dem Herpesvirus suis und auch dem Virus der Afrikanischen Schweinepest gegeben. Diese Viren können im Fleisch und in Fleischerzeugnissen relativ lange überleben (BÖHM, 1999).

Wie gefährlich gerade Speiseabfälle für die Volkswirtschaft werden können, hat der Schweinepest-Seuchenzug in Deutschland 1993/1994 gezeigt. Ein nicht unerheblicher Teil der Seuchenausbrüche ist durch die illegale Verfütterung von Speiseabfällen an Schweine entstanden, weil die Vorschrift über die Erhitzung der Abfälle vor der Verfütterung von Tierbesitzern nicht eingehalten wurde (STRAUCH, 1997).

Um die seuchenhygienischen Anforderungen zu erfüllen, müssen die Speisereste vor der Vergärung auf eine Partikelgröße < 10mm zerkleinert und anschließend bei einer Temperatur von mindestens 70°C für die Dauer von mindestens 60 Minuten hygienisiert werden (ANONYM, 2001).

In mesophil betriebenen Biogasanlagen muss in den anfallenden Gärrückständen immer noch von einem teilweise erheblichen Hygienierisiko ausgegangen werden; Dies bestätigen Untersuchungen von WEILAND (2002) und KNIE et al. (1999 und 2001). Bei mesophil betriebenen Anlagen erfolgt innerhalb der üblichen Reaktorverweilzeiten keine ausreichende Minderung der seuchenhygienisch relevanten Keime, so dass der Hygieniezustand der Gülle kaum verbessert wird. Eine ausreichende Inaktivierung von seuchenhygienisch relevanten Keimen wird allerdings erst bei thermophiler Betriebsweise mit Temperaturen um 55°C erreicht, sofern eine reale Aufenthaltszeit von mindestens 24 Stunden vorliegt (WEILAND, 2002).

Bei einer Untersuchung von PHILIPP und BÖHM (2002) in 17 Biogasanlagen, welche überwiegend eine mesophile einstufige Nassvergärung mit Fermentertemperatur zwischen 27°C und max. 48°C betreiben, stellte sich heraus, dass über 50% der überprüften Anlagen in ihren Gärresten die geforderten und diskutierten „Richtwerte“ an E-coli und Fäkalstreptokokken (< 5 x 10³ KBE/g) überschritten hatten und bei einigen Proben noch Salmonellen nachzuweisen waren. PHILIPP und BÖHM stellen in diesem Zusammenhang eine generelle Erhitzung der eingebrachten Substrate, auch der Wirtschaftsdünger, oder eine Nachbehandlung der abfallenden Gärrückstände, bevor sie einer landwirtschaftlichen Verwertung zugeführt werden, zur Diskussion.

Diese Diskussion wurde im Arbeitspapier der Europäischen Kommission (2001) „die biologische Behandlung von Abfällen“ aufgegriffen. Im Anhang II des Arbeitspapiers wurde für die Betreibung von Biogasanlagen festgesetzt, dass im Falle einer Betriebstemperatur unter 55°C oder einer Aufenthaltszeit der Substrate unter 20 Tagen eine weitere Behandlung erfolgen muss. Vorgesehen sind dabei die folgenden Auswahlmöglichkeiten:

- Vorbehandlung der Bioabfälle eine Stunde bei 70°C
- Nachbehandlung der festen Gärrückstände eine Stunde bei 70°C
- Kompostierung der festen Gärrückstände

2.1.3 Panseninhalt und Stroh

Auch Abfallstoffe aus Schlachthöfen, wie Mist aus den Stallungen und Panseninhalt, eignen sich für biologische Behandlungsprozesse und können über diese Form der Verwertung in den Stoffkreislauf zurückgeführt werden (KERN, 2002).

Pansen ist der erste Vormagen der Wiederkäuer. Bei der Schlachtung wird der Pansen entleert, dabei fallen pro Rind etwa 35-50kg Panseninhalt (Wassergehalt 60-65%) an. Der Panseninhalt wird in der Regel entwässert, kompostiert oder als Cosubstrat in einer Biogasanlage verwertet.

In der Schweiz z.B. fallen jährlich 5000 t /TS Panseninhalt an, davon wurden 1500t als Futter und 1500 t im Pflanzenbau verwendet. 1500 t wurden kompostiert und 500t gingen in die Vergärung, wobei die direkte Verwertung des Panseninhaltes als Futtermittel oder im Pflanzenbau immer weiter zurückgeht, so dass der Anteil der

Kompostierung und der Vergärung ansteigt (LÖTSCHER & HUNGERBÜHLER, 1997).

Nach Angaben des Ministerium für Umwelt und Verkehr des Landes Baden Württemberg sind im Jahre 1996 in Baden Württemberg 1340t Feuchtsubstrat an Schlachtereiabfällen (Pansen, Dung und Borsten) angefallen.

In 1989 fielen insgesamt etwa 36,5 Mio. t Frischmist an, wovon nach der Lagerung etwa 22,5 Mio. t im Ackerbau eingesetzt wurden. Davon waren ca. 73 % Rindermist und 14% Schweine- und Schafmist (ZIMMERMANN, 1992).

2.1.3.1 Panseninhalt und Stroh unter hygienischen Gesichtspunkten

Besonders hohe Risiken gehen von Reststoffen tierischer Herkunft aus. Dies gilt speziell für den Magen- und Darminhalt von Schlachttieren, weil sie regelmäßig und unkontrolliert in hoher Zahl Krankheitserreger unterschiedlicher Herkunft enthalten können (BÖHM, 2001).

In Untersuchungen von Panseninhaltproben aus dem Schlachthof stellten MARTENS und BÖHM (1999) fest, dass in allen untersuchten Proben Salmonellen nachzuweisen waren; der maximal ermittelte Keimgehalt lag dabei bei $2,3 \times 10^6$ KBE/g. *E.coli* und Fäkalstreptokokken waren mit einem Keimgehalt von 10^5 bis 10^6 KBE/g nachzuweisen. Auch JOCHEMCZYK (1986) berichtet von häufigen Salmonellenbefunden in Panseninhalt von gesund geschlachteten Rindern.

Bei Stallungen enden die pathogenen Angentien in aller Regel auf dem Stallfußboden, auch wenn sie nicht über den Verdauungs- und Urogenitaltrakt emittiert werden. Dort mischen sie sich mit Stallmist, Jauche und Gülle und gelangen bei deren Entfernung aus dem Stall ebenfalls in die Lagerstätten für Fest- und Flüssigmist. Wenn infizierte Wirtschaftsdünger landwirtschaftlich verwertet werden, besteht somit die Gefahr einer Verschleppung von Seuchenerregern oder der Erreger von übertragbaren Faktorenkrankheiten (STRAUCH, 1991).

2.2 Entseuchung mit Kalk

Klärschlamm, Gärrückstand und tierische Stoffwechselprodukte müssen zum Zwecke ihrer Aufbringung auf landwirtschaftlichen Flächen in einen seuchenhygienisch unbedenklichen Zustand gebracht werden. Dies bedeutet die „selektive Verminderung und Inaktivierung von pathogenen Mikroorganismen, Viren und parasitären Dauerformen“ (SAIER, 1987). Zur Erreichung dieses Zieles stehen verschiedene Verfahren zu Verfügung. Neben den biologischen (Kompostierung) und thermischen Verfahren (Pasteurisierung) gibt es die Möglichkeit der chemischen Behandlung durch Zugabe von Kalk (WASMUS et al., 1986).

Kalk kann einerseits in der ungelöschten Form als Branntkalk (ungelöschter Kalk, Calciumoxid, CaO), andererseits in der gelöschten Form als Kalkhydrat (gelöschter Kalk, Calciumhydroxid, Ca(OH)₂) oder als wässrige Suspension (Kalkmilch) eingesetzt werden.

Die hygienisierende Wirkung beruht dabei in erster Linie auf der pH-Wert- Erhöhung. Unter diesen Milieubedingungen (pH >12,5) kann eine Vielzahl von Mikroorganismen nicht überleben. Bei der Verwendung von Branntkalk kommt zu der pH-Wert-

Steigerung noch die exotherme chemische Reaktion mit dem Wasseranteil des Substrats hinzu. Dies kann zu Temperaturerhöhungen auf ca. 70°C in den behandelten Substraten führen. Die inneren Bereiche können diese Temperatur über einen längeren Zeitraum auf hohem Niveau halten, so dass dies einer Pasteurisierung ähnelt (PHILIPP & OSTERTAG, 1986).

Untersuchungen haben gezeigt, dass die pH-Werterhöhung auf pH > 12,5 zwar zur Abtötung von Salmonellen ausreicht, nicht jedoch zur Inaktivierung der Entwicklungsfähigkeit von Spulwurmeiern führt. Zu diesem Zweck ist eine Temperaturerhöhung erforderlich (BOLANZ et al., 1988; STRAUCH & BERG, 1980). Daher wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit für alle Versuche Branntkalk verwendet.

2.2.1 Branntkalk (CaO)

Die natürliche Form von Kalk ist Kalkstein (Calcium Carbonat, CaCO₃). Zur Gewinnung von Branntkalk wird Kalkstein bei einer Temperatur zwischen 900 – 1200°C thermisch behandelt (gebrannt). Dabei wird CO₂ gem. Gl.1 freigesetzt. Bei einer Behandlung von Klärschlamm mit Calcium carbonat könnte man nur einen pH-Wert von 8,5 erreichen. Das ist der Grund weshalb man Calcium carbonat thermisch bei einer Temperatur von 1100-1200°C behandelt, um Calciumoxid (CaO) zu erhalten.



Die Qualität des Produkts (Branntkalk) ist abhängig von der Qualität des Kalksteins, der Brenntemperatur, der Brenndauer und der Art des Brennstoffes. Diese Qualität ist entscheidend für die exotherme Reaktion von Branntkalk mit Wasser (Gl. 2).



Mit dem Hinzufügen einer angemessene Menge Branntkalk kann eine pH-Wert-Steigerung bis zu 12,5 erreicht werden. Allerdings wird in Folge ein Senken des pH-Wertes beobachtet, außer wenn exzessive Mengen an CaO verwendet werden. Dies ist zum Teil auf die biologische Aktivität zu Calciumcarbonat zurückzuführen, zum Teil auf die Reaktion des gelöschten Kalks (Ca(OH)₂) mit dem Kohlendioxid aus der Atmosphäre (Gl. 3).



Anhand von Gl. 2 kann die Temperaturerhöhung theoretisch bei vollständiger Wärmenutzung, d.h. ohne Wärmeverlust, berechnet werden. Über verschiedene Untersuchungen an Klärschlammen konnte empirisch eine reale Temperaturerhöhung abgeschätzt werden (Gl. 5). Dabei wird der CaO-Gehalt des Kalkes, die prozentuale Kalkzugabe bezogen auf den Klärschlamm und der TS-Gehalt des Klärschlammes berücksichtigt.

$$\Delta T = \frac{1160x\%CaO}{4,16(100\% - \%TS) + 0,25x\%TS + 0,3x\%CaO} \quad (5)$$

Die Gleichung (5) zeigt eine annähernd lineare Zunahme von ΔT mit der CaO-Zugabe an. Für entwässerten Klärschlamm mit einem Trockensubstanzanteil von 20-30% kann somit eine theoretische Temperaturerhöhung um 3,4 bis 3,9°C pro % CaO-Zugabe (15-10kg CaO pro Tonne Klärschlamm) erwartet werden. In der Praxis sind die Temperaturerhöhungen auf Grund von Wärmeverlusten und der Qualität des Branntkalks (weniger als 100% aktives CaO) auf 60-82% des theoretischen Wertes limitiert (ANDREADAKIS, 2000).

Branntkalk kann je nach Zusammensetzung des gebrannten Kalksteines bis zu 99,5% CaO enthalten (PFUDERER, 1985).

In der Praxis haben sich nach Aussage von PESCHEN et al. (1985) schnell reagierende Branntkalke ($T_{60} < 5$ min., $T_{max} > 50^\circ C$, Prüfverfahren s. DIN 1060 Baukalk, T3 Abschnitt 10) bewährt.

Neben der hygienisierenden Wirkung des Kalkes durch die pH-Werterhöhung und den Temperaturanstieg bei der Nachbehandlung von Klärschlamm lassen sich jedoch noch weitere positive Effekte erzielen (GRALLE, 1988; RÜFFLER et al, 1983):

- Anhebung des Trockensubstanzanteils
- Verbesserung der bodenmechanischen Eigenschaften
- Verbesserung der Schlammstruktur

2.2.2 Mischtechniken

Der Bundesverband der deutschen Kalkindustrie (1986) empfiehlt für einen optimalen Reaktionsverlauf eine schonende Förderung des Mischgutes, z.B. mit Förderbändern. Als Mischer haben sich nach ihren Angaben Pflugschar-, Doppelwellen- und Paddelmischer bewährt und eine Mischdauer von 1 bis 4 Minuten bei einer Mischgeschwindigkeit von 20 bis 100 U/min.

2.3 Gesetzliche Bestimmungen

Die Bedingungen unter denen Bioabfälle auf landwirtschaftlich, forstwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Böden als Sekundärrohstoffdünger ausgebracht werden dürfen, werden in erster Linie durch die Bioabfallverordnung geregelt (BERGS, 1999; BÖHM, 1999). Sie beruht auf den Grundlagen des Gesetzes zur Förderung der Kreislaufwirtschaft und Sicherung der umweltverträglichen Beseitigung von Abfällen (KrW-/AbfG)(ANNONYM, 1994).

2.3.1 KrW-/AbfG

Die BioAbfV beruht auf den Grundlagen des Gesetzes zur Förderung der Kreislaufwirtschaft und Sicherung der umweltverträglichen Beseitigung von Abfällen (KrW-/AbfG) vom September 1994 (ANNONYM, 1994).

Zweck des Gesetzes ist die Förderung der Kreislaufwirtschaft zur Schonung der natürlichen Ressourcen und die Sicherung der umweltverträglichen Beseitigung von Abfällen (§1 KrW-/AbfG).

§5 (4) Die Pflicht zur Verwertung von Abfällen ist einzuhalten, soweit dies technisch möglich und wirtschaftlich zumutbar ist, insbesondere wenn für einen gewonnenen Stoff oder gewonnene Energie ein Markt vorhanden ist oder geschaffen werden kann. Die Verwertung von Abfällen ist auch dann technisch möglich, wenn hierzu eine Vorbehandlung erforderlich ist (ANONYM, 1994).

2.3.2 Bioabfallverordnung (BioAbfV)

Die auf der Rechtsgrundlage des §8, Abs.1 und 2 des Kreislaufwirtschafts-/Abfallgesetzes erlassene und gemäß Bundesratbeschlusses am 1. Oktober 1998 in Kraft getretene Bioabfallverordnung kommt nicht nur bei der Ausbringung von getrennt gesammelten Grüngut und Bioabfällen aus Haushalten sowie daraus hergestellten Komposten und Hydrolysereststoffen zur Anwendung, sondern auch bei Mischungen aus diesen Stoffen beispielsweise mit Gülle und bei Produkten aus der Kofermentation von Gülle mit Bioabfällen (BERGS, 1999; KRAUS, 1999).

Eine Behandlung der Bioabfälle ist vorgeschrieben (§3 Abs.1). Nach §2 Nr. 2 erfolgt dies aerob, anaerob oder mittels anderer Maßnahmen zur Hygienisierung, wobei der Behandler verpflichtet ist, Prozesse und Bioabfälle durch unabhängige Stellen untersuchen zu lassen. Ein möglicher Verzicht darauf ist im Einzelfall vorgesehen. Grenzwerte der Bioabfallverordnung gelten für das aufbereitete Material und nicht für die jeweiligen Ausgangsstoffe (§10) (EMBERT, 1999).

Die Verordnung enthält außerdem umfassende Vorgaben zur Seuchen- und Phytohygiene, die bei der Abgabe oder Aufbringung der Bioabfälle einzuhalten sind. Diese Vorgaben gewährleisten, dass keine tierischen Krankheitserreger oder Erreger von Pflanzenkrankheiten weiterverbreitet werden. Die im Detail zu beachtende Vorschrift zum Nachweis der seuchen- und phytohygienischen Unbedenklichkeit ist Bestandteil des Anhangs 2 der Verordnung (BERGS, 1999).

Die hygienische Unbedenklichkeit von Produkten aus der biologischen Abfallbehandlung wird mit Hilfe von direkter (Nr.2.2.1) und indirekter (Nr.2.2.2) Prozessprüfung und mit einer Produktprüfung (Nr.2.2.3) festgestellt (Anhang 2 Punkt 2.2 der BioAbfV) (ANONYM, 1998).

Die Produktprüfung (Endproduktkontrolle) erfolgt im Rahmen der Fremdüberwachung und soll gewährleisten, dass das Endprodukt hygienisch unbedenklich ist.

Die Prüfung gilt als bestanden, wenn in keiner der entnommenen Proben Salmonellen nachweisbar sind (in 50g Substrat n.n.) (Anhang 2 Punkt 2.2.3 der BioAbfV).

Klärschlämme aus kommunalen Kläranlagen unterliegen auch weiterhin der Klärschlammverordnung und fallen somit nicht in den Anwendungsbereich der Bioabfallverordnung (BERGS, 1999; SCHMIDT-HORNING, 1999).

2.3.3 Klärschlammverordnung (AbfKlärV)

Die Klärschlammverordnung gilt für das Aufbringen von Klärschlamm auf landwirtschaftlich oder gärtnerisch genutzten Böden (ANONYM, 1992).

Nach §3 Abs. 1 darf Klärschlamm auf landwirtschaftlich oder gärtnerisch genutzten Böden nur so aufgebracht werden, dass das Wohl der Allgemeinheit nicht beeinträchtigt wird und die Aufbringung nach Art, Menge und Zeit auf den Nährstoffbedarf der Pflanzen unter Berücksichtigung der im Boden verfügbaren Nährstoffe und organische Substanzen sowie dem Standort und den Anbaubedingungen ausgerichtet wird.

In der Klärschlammverordnung sind weiter die Ausbringung und der erlaubte Schadstoffgehalt des Klärschlammes geregelt.

Hygieneregeln sollen in einer novellierten Klärschlammverordnung definiert werden.

2.3.4 Weitere gesetzliche Bestimmungen

Seit dem 7.10.1996 unterliegen im vollen Umfang Bioabfälle und Klärschlämme unter der Bezeichnung „Sekundärrohstoffe“ auch dem Düngemittelrecht. Dies resultiert aus einer Einfügung einer entsprechenden Regelung in §1 des Düngemittelgesetzes, wodurch Klärschlämme und Bioabfälle anderen Düngemitteln- insbesondere Mineraldüngemittel- gleichgestellt werden.

Nicht zu verwechseln mit der Düngemittelverordnung ist die ebenfalls auf Grundlage des Düngemittelgesetzes erlassene Düngeverordnung; diese konkretisiert die so genannte „gute fachliche Praxis“ bei der Anwendung von Düngemitteln. Die in dieser Verordnung enthaltenen Vorschriften, die ebenfalls auch für den Bereich der Sekundärrohstoffe gelten, sollen gewährleisten, dass sich die Düngung zeitlich und mengenmäßig am Nährstoffbedarf der Pflanzen orientiert und die Nährstoffzufuhr nur unter Berücksichtigung der im Boden vorhandene Nährstoffe sowie unter Berücksichtigung der Standort- und Anbaubedingungen erfolgt (BANNICK et al., 2002).

In §1 Abs. 2 der Düngemittelverordnung wurde als zusätzliche Voraussetzung für das Inverkehrbringen die Forderung aufgenommen, dass die Materialien hinsichtlich der Verursachung von Krankheiten bei Mensch und Tier durch Übertragung von Krankheitserregern und hinsichtlich Schäden an Pflanzen, Pflanzenerzeugnissen oder Böden durch Verbreitung von Schadorganismen unbedenklich sein müssen (ANONYM, 1999).

Tierseuchenrechtliche Vorgaben, wie das tierische Nebenprodukte Beseitigungsgesetz und das Tierseuchengesetz regeln die Beseitigung von tierischen Reststoffen. Sie erfassen dabei auch die Beseitigung durch die Verarbeitung zu organischen Dünger oder durch eine anaerobe Vergärung (EMBERT, 1999).

2.3.5 Internationale Richtlinien und Verordnungen

EU-Arbeitsdokument „Die biologische Behandlung von Bioabfällen“

Das Arbeitspapier (zweiter Entwurf vom Feb. 2001) soll gewährleisten, wenn es rechtsverbindlich ist, dass die Verwendung von behandelten oder unbehandelten Bioabfällen keine negativen Auswirkungen auf die Gesundheit von Mensch, Tier und Pflanzen hat.

Kernstück des Arbeitsdokuments sind Anforderungen an verschiedenen Arten von Komposten (bzw. Gärresten)- Bioabfallkomposten, Klärschlammkomposte sowie Materialien, die durch Kompostierung von vermischten Restabfällen (sog. „stabilisierte biologisch abbaubare Abfälle“) gewonnen wurden; Deutschland hat gegenüber der EU verlauten lassen, dass letztgenannte Materialien nicht in und auf Boden verwertet werden sollten (BANNICK et al., 2002).

Im Anhang II des Arbeitspapiers ist die Anforderung für eine Hygienisierung aufgeführt. Es ist eine Prozessprüfung mit dem Indikatororganismus *Salmonella senftenberg* W 775 (H₂S negativ), Vorgaben für eine Prozessführung (Kompostierung, Vergärung und mech./biol. Behandlung) und eine Endproduktprüfung sind vorgesehen. In der Endproduktprüfung ist derzeit, außer dem anerkannten Prüfkeim *S. senftenberg*, noch *Clostridium perfringens* (nicht nachweisbar in 1g Substrat) als Indikatororganismus vorgesehen.

Die Endprodukte sind in insgesamt 3 Klassen unterteilt, wobei die dritte Klasse auf die stabilisierten biologisch abbaubaren Abfälle zugeschnitten ist.

Überarbeitung der EU-Klärschlammrichtlinie (86/278/EWG)

Die EU-Kommission bereitet derzeit eine Neufassung der Richtlinie 86/278/EWG vor, deren Regelung später auch in die nationale Klärschlammvorschriften (Klärschlammverordnung Deutschland) eingefügt werden muss.

Das aktuelle 3. Arbeitsdokument von 27. April 2000 ist durch einen positiven Grundtenor hinsichtlich der bodenbezogenen Klärschlammverwertung gekennzeichnet.

Erstmal sind in den EU-Richtlinien auch konkrete Vorgaben zur Entseuchung und maximal zulässige Werte für pathogene Keime (*Salmonella senftenberg*; *Escherichia coli*) vorgesehen. Diese Vorgaben, sofern sie verbindlich werden sollten, müssten später in die Neufassung der deutschen Klärschlammverordnung übernommen werden (BANNICK et al., 2002).

Für Klärschlämme sieht das Papier ein Stufenkonzept für den zulässigen Schadstoffgehalt vor. Unterteilt werden die Schlämme dabei durch die Art ihrer Behandlung. Die Behandlungsverfahren werden in zwei Kategorien eingeteilt; Behandlungsverfahren mit höherem technischen Standard (Hygienisierung) und konventionelle Behandlungsverfahren. Eine fast uneingeschränkte Verwendungsmöglichkeit besteht für Klärschlämme die einem Behandlungsverfahren mit höherem technischen Standard unterzogen wurden, Klärschlämme aus einer konventionellen Behandlung unterliegen strengen Auflagen bei der weiteren Verwendung (Europäische Kommission, 2000).

EPA-Richtlinie 40 Part 503

Die EPA-Richtlinien (40 CFR Part 503) der Environmental Protection Agency der USA von 1993 sieht zwei Hygienisierungsklassen, A und B, vor. Klasse A bedeutet dabei eine uneingeschränkte Verwendungsmöglichkeit der Bioabfälle. Zum Erreichen der Klasse A müssen Bioabfälle einem Behandlungsverfahren nach einem PFRP – Verfahren (Processes to Further Reduce Pathogens) unterzogen werden oder erfolgreich auf die Einhaltung folgender Grenzwerte getestet werden:

| | | | |
|-----------|-----------------|---|------|
| Klasse A: | Salmonella sp. | < 3 MPN/ 4 g Total solids | oder |
| | Fäkalcoliforme | < 1000 MPN / g Total solids | und |
| | Enterovirus | < 1 KID ₅₀ / 4g Total solids | |
| | Helminthen Eier | < 1 Ei/ 4g Total solids | |

MPN = most probable number; KID₅₀ = Kulturinfektiöse Dosis 50% (EPA, 1993)

Schlamm der Klasse B unterliegt bei der Ausbringung in Land- oder Forstwirtschaft bestimmten Bedingungen. Andere Schlämme sind grundsätzlich für diesen Einsatz unzulässig. Beide Klassen geben mehrere Alternativen der Behandlung vor, die zur Einteilung in eine der Klassen führen (EPA, 2000).

2.4 Charakterisierung der in den Untersuchungen verwendeten Bakterien

2.4.1 *Salmonella senftenberg*

Allgemeine Beschreibung

Das Genus *Salmonella* gehört mit derzeit 30 weiteren Genera zur Familie der Enterobacteriaceae.

Salmonellen sind 2-3 µm lange, plumpe, gramnegative, sporenlose, meist bewegliche, peritrich begeißelte Stäbchen, die morphologisch untereinander und von anderen gramnegativen Darmbakterien nicht zu unterscheiden sind.

Ihr Stoffwechsel ist fermentativ, meist mit Gasbildung aus Glukose. Nitratreduktion und (meist) H₂S -Bildung sind positiv, Indol- und Ureasebildung negativ.

Die *Salmonella* Spezies *Salmonella enterica* wird aufgrund genetischer, biochemischer und serologischer Merkmale in sechs Subspezies unterteilt. Die Salmonellen Serovare werden aufgrund ihrer Antigenstruktur unterteilt. Die Gesamtantigenformeln mit den lateinischen Bezeichnungen der heute bekannten Serovare sind im Kauffmann-White- Schema niedergelegt.

S. Senftenberg bezeichnet korrekterweise *Salmonella enterica (cholera suis) spp. enterica ser. senftenberg*.

Als Salmonellose werden verschiedene Infektionen und Erkrankungen bei Tieren und Menschen durch Bakterien des Genus *Salmonella* bezeichnet.

Die Salmonellosen sind weltweit verbreitet und spielen vor allem in Ländern mit intensiver Tierhaltung eine wichtige und im Zunehmen begriffene Rolle. Neben den häufig vorkommenden latenten Infektionen tritt die Salmonellose klinisch in Erscheinung als Enteritis verschieden starker Ausprägung, als Septikämie

(besonders bei Jungtieren), als Abort und als Organerkrankung (ROLLE und MAYR, 2002).

Enteritische Salmonellosen können latent bleiben. Sie sind beim Tier häufiger, aber beim Menschen nur ausnahmsweise mit anhaltender Ausscheidung (Dauerausscheider) verbunden. Salmonellosen können als gastrointestinale (enteritisch), manchmal auch als fieberhafte, septikämische Erkrankungen ablaufen. Einige Salmonellen sind tierart- bzw. menschenadaptiert und keine Zoonosenerreger. Die meisten besitzen aber nur eine geringe oder keine Wirtsspezifität und treten als Erreger alimentärer, Kontakt- oder Saprozoonosen auf (DEDIE et al., 1993).

Bei allen enteritischen Salmonellosen entsteht ein Infektionskreislauf von fäkaler Ausscheidung über die Kontamination von Wasser und Boden zur Reinfektion der Ausscheider oder Infektion anderer Arten. Das trifft für Menschen, Haus- oder Wildtiere in gleicher Weise zu und führt zu teils einfachen, teils komplizierten Infektketten, wobei meist mehrere Tierarten und nicht nur warmblütige Tiere an den Infektionskreisläufen und an der Kontamination von Wasser, Erdboden, Futter- oder Lebensmitteln beteiligt sind (HOFERER, 2001).

Zur Kontamination der Umwelt kommt es durch Salmonellen-Ausscheider bei Haus- und Wildtieren, sowie über städtische und auch industrielle Abwässer. Bei landwirtschaftlicher Verwertung von Klärschlamm, Abwasser oder Fäkalien oder durch Überflutung von Weideflächen werden der Boden und damit auch die dort wachsenden Pflanzen kontaminiert mit nachfolgender Infektion der örtlichen Fauna (Nagetier, Vögel, Insekten) sowie der landwirtschaftlichen Nutztiere (BÖHM, 1993; DEDIE et al. 1993).

Tenazität

Faktoren, die das Überleben von Salmonellen im Boden beeinflussen, sind: Ausgangskeimgehalt, Menge der aufgebrachten Gülle, Temperatur, Frost, Wassergehalt, Luftfeuchte, Sonneneinstrahlung, Sauerstoffspannung, pH-Wert, anorganische Salze, Bodenpermeabilität, Korngröße, Vorhandensein verwertbarer Substanz sowie antagonistische Wirkung der Bodenmikroflora (STRAUCH, 1997).

In feuchten Rinderkot waren Salmonellen 10-11 Monate, in getrocknetem Kot sogar 31 Monate, in Gülle über 33 Monate lang nachweisbar, in feuchter Erde blieben sie 12 Monate, in trockener Erde 16 Monate lebensfähig. Je trockener das Material ist, desto größer ist die Tenazität. Gegen Kälte sind sie resistent (ROLLE und MAYR., 1993). STRAUCH et al. (1981) bewiesen in Versuchen mit kontaminierten Klärschlamm, der an 11 verschiedenen Forststandorten ausgebracht wurde, dass Salmonellen nach Sommerausbringung zwischen 424 und 820 Tage lang isoliert werden konnten, während bei Winterausbringung die Salmonellen höchstens 350 Tage nachgewiesen werden konnten.

Nach Angaben von ROLLE und MAYR (1993) überstehen Salmonellen in Nahrungsmitteln Einfrieren und Tiefkühlen. In sauren Medien sterben sie rasch ab, im gepökelten Fleisch erst nach 75 Tagen. Durch Hitzeeinwirkung sterben sie bei 55°C nach 1 Stunde, bei 60°C nach einer halben Stunde ab, in Bouillonkultur bei 80°C nach 10 Minuten, wobei die Widerstandsfähigkeit gegen trockene Wärme größer ist als gegen feuchte Wärme. Die Hitzeempfindlichkeit von Salmonellen ist dabei abhängig von Serovar und Substrat. Als besonders thermoresistenter

„Testkeim“ wird ein Stamm von *S. senftenberg* betrachtet. *Salmonella senftenberg* wird in der Regel bei 60°C innerhalb weniger Minuten, bei 70°C innerhalb von Sekunden inaktiviert. In anderen Substraten sind höhere Temperaturen bzw. längere Einwirkzeiten notwendig (PIETSCH, 1981).

SOLDIERER (1991) ermittelte einen D-Wert von 56,7 Minuten für *S. senftenberg* W775 in Rinderflüssigmist mit 50°C und OSTERTAG et al. (1986) konnte eine Reduktion um 3 Zehnerpotenzen des Keimgehalts an Salmonellen innerhalb von 30 Minuten bei einem pH-Wert von 12,5 ermitteln. MIGNOTTE-CADIERGUES et al. (2001) eliminierten Salmonellen innerhalb von 24 Stunden bei einem pH-Wert von 10,7.

POHLIG-SCHMITT (1987) weist bei jeweils 54°C *S. senftenberg* W775 in thermophilen Faulschlamm bis 13,5 Stunden nach, im Wasserbad nur bis zu 4 Stunden. Sie führt das auf das Milieu im Faulschlamm zurück, das den Salmonellen eine gewisse Schutzfunktion bietet und somit die Inaktivierung verzögert. Denn bei einem Vergleich der D-Werte von Salmonellen in den unterschiedlichen Medien, wie sie aus der Literatur ersichtlich sind, muss in Betracht gezogen werden, dass zwischen der Thermoresistenz von Mikroorganismen in Anreicherungsmedien und der entsprechenden Tenazität in komplexen Material wie Mist oder Gülle große Unterschiede bestehen (PLYM-FORSHELL, 1995; zit. bei HOFERER, 2001).

2.4.2 Fäkalstreptokokken (Enterokokken, D-Streptokokken)

Allgemeine Beschreibung

Den Enterokokken wurde innerhalb der Gattung *Streptococcus* (D-Streptokokken, Fäkalstreptokokken) lange eine gewisse Sonderstellung eingeräumt, bis sie als eigene Gattung abgetrennt wurde. Für die Abgrenzung von den Streptokokken waren Wachstums- und Toleranzkriterien (Sherman-Kriterien) wesentlich. Sie beinhalten das Wachstum in einem Bereich von 10-45°C, bei einem pH-Wert von 9,6, in Anwesenheit von 6,5% NaCl und 40% Galle. Die meisten Enterokokken besitzen das Gruppenantigen D und einige sind beweglich (SELBITZ, 1992; ROLLE und MAYR, 2002).

Enterokokken sind grampositive runde oder ovoide Kokken, die gewöhnlich als Diplokokken vorkommen. Sie bilden spezifische Fäden, da nach einer Zellteilung der Tochterzellen paarig miteinander verbunden bleiben. Hierdurch entsteht eine fädige kettenförmige Struktur, wobei die Einzelzelle einen kugelförmigen Durchmesser von 0,5 - 1µm besitzen. Enterokokken gehören zur Normalflora des Darms von Mensch und Tier (WEBER, 1996).

Der taxonomisch nicht definierte Begriff der Fäkalstreptokokken stammt nach ALTHAUS et al. (1982) aus dem Sanitärbereich und umfasst alle mit den Faeces von Mensch und Tier ausgeschiedene Streptokokken. Beschrieben werden damit grampositive, unbewegliche und nicht sporenbildene Kugelbakterien.

Tenazität

Die Resistenz der serologisch klassifizierbaren Streptokokken gegenüber Umwelteinflüssen ist je nach Art verschieden. Am widerstandsfähigsten sind die Enterokokken (ROLLE und MAYR, 1993).

Enterokokken zeichnen sich durch hohe Thermotoleranz (60°C über 30 min. werden überstanden), Salztoleranz (Wachstum in Nährlösung mit 6,5% NaCl), und Wachstum bei pH-Werten bis 9,6 aus (WEBER, 1996; ROLLE und MAYR, 2002).

Nach Untersuchungen von BREITENFELD et. al. (1998) erwies sich der Testkeim *Enterococcus faecium* in Laborversuchen resistenter als *S. senftenberg*. Der Keim war bei 55°C noch nach 12 Stunden nachzuweisen. Erst nach 24 Stunden konnte das Bakterium nicht mehr aus dem Substrat isoliert werden.

2.4.3 Escherichia coli

Allgemeine Beschreibung

Der Gattung *Escherichia* gehört als wichtigster Vertreter die Spezies *Escherichia coli* an.

E.coli ist ein normaler Bewohner des Dickdarmes von Mensch und warmblütiger Tiere, mit Ausnahme von Meerschweinchen und Chinchilla.

Escherichia coli ist ein plumpes gramnegatives, nicht sporenbildendes Stäbchen mit abgerundeten Enden. Es ist 2-6µm lang und 1-1,5µm breit. Die meisten Stämme bilden eine Kapsel und sind durch peritriche Begeißelung beweglich, auch unbewegliche Stämme kommen vor. Viele Stämme besitzen Fimbrien und Pili, die man nach funktionellen Gesichtspunkten in Sexpili und Adhäsionspili unterteilen kann (ROLLE und MAYR, 1993).

Für die Charakterisierung von *E.coli*-Isolaten wurde eine serologische Analyse entwickelt, für die die Kenntnis der wichtigsten Antigene (O, K, F, H) die Voraussetzung ist. Für die exakte Serovarbestimmung wird seit Jahrzehnten die O:K:H-Serformel verwendet. Da nachweislich virulente Colistämme bei bestimmten O-Gruppen oder Serovaren gehäuft auftreten, kann man diese zumindest als direkte Virulenzfaktoren bzw. Indikatoren der Virulenz betrachten (SELBITZ, 1992).

Darmpathogene Colikeime werden nach ihren Virulenzfaktoren und Pathogenesemechanismen in 7 Gruppen eingeteilt (ROLLE und MAYR, 2002)

EPEC (enteropathogen), ETEC (enterotoxisch), EIEC (enteroinvasiv), STEC (Shiga-Toxin-bildene) oder EHEC (enterohaemorrhagisch), NTEC (Nekrotoxische), EaggEC (Enteroaggregative), und DAEC (diffus ädhärente).

Pathogenetisch kann man bei *E.coli* zwischen enteralen Infektionen (z.B. starker Durchfall) und nicht enteralen Infektionen (z.B. Harnwegsinfektionen und Septikämien) unterscheiden.

E.coli gelangen mit den Fäzes von Mensch und warmblütigen Tieren in großen Mengen in die Außenwelt und bleiben dort aufgrund ihrer relativ großen Widerstandskraft lange Zeit vermehrungsfähig (ROLLE und MAYR, 1993).

Tenazität

Im feuchten Milieu besitzen die Keime eine hohe Tenazität, auch in angetrockneten Kot kann *E.coli* über Monate vermehrungsfähig bleiben.

Bei Tenazitätsversuchen mit *E.coli* O157:H7 zeigte der Erreger im Misthaufen eines infizierten Schafbestands, der im Freien unter wechselnden klimatischen Bedingungen gelagert wurde, eine Überlebenszeit von 21 Monaten. Durch regelmäßiges Umsetzen verringerte sich die Überlebenszeit jedoch auf 4 Monate. Bei einem *E.coli* positivem Rindermisthaufen waren die Bakterien bis zu 47 Tagen nachweisbar. Diese lange Überlebenszeit unterstreicht die Notwendigkeit einer angemessenen Behandlung tierischer Abfälle, um die Gefahr einer Umweltkontamination mit diesem Bakterium herabzusetzen (KUDVA et al., 1998).

Durch eine Erhitzung auf 60°C lässt sich der überwiegende Teil der Stämme abtöten und die gebräuchlichen Desinfektionsmittel sind gut wirksam (ROLLE und MAYR, 2002).

2.4.4 Clostridium perfringens

Allgemeine Beschreibung

Zur Gattung Clostridium werden zurzeit mehr als 100 Spezies gerechnet, die nach phänotypischen Kriterien in verschiedene Gruppen eingeteilt werden.

Clostridien sind stäbchenförmige, grampositive, in der Mehrzahl bewegliche, streng anaerob wachsende, sporenbildene Bakterien, deren natürlicher Lebensraum der Erdboden ist.

Verschiedene Clostridienarten besiedeln auch regelmäßig den Magen-Darm-Trakt von Mensch und Tier. Besonders bei Herbivoren und Omnivoren sind sie immer im Kot nachweisbar.

Clostridium perfringens ist ein kurzes, plumpes, unbewegliches, grampositives, meist einzeln gelagertes Stäbchen. Es ist 4-8 x 0,1-1µm groß und hat gerundete Enden.

Differenziert werden die Stämme nach ihren Toxintypen.

Durch *C. perfringens* werden Enterotoxämien, (nektotisierende) Enteritiden und Gasödeminfektionen verursacht (ROLLE und MAYR, 2002).

Clostridien sind in der Lage unter ungünstigen Bedingungen Dauerzellen, so genannte Endosporen zu bilden. Diese sind unter dem Lichtmikroskop als stark lichtbrechende Körper zu erkennen (MAGIAGAN et al., 2001).

Endosporen werden innerhalb der Zelle als Reaktion auf einen Mangel an essentiellen Nährstoffen, vor allen an Kohlenstoff, Stickstoff, und/oder Phosphor gebildet. Sie überdauern lange Zeiträume und sind widerstandsfähig gegen extreme Temperaturen und pH-Werte, Austrocknung, Strahlung, chemische Substanzen und physikalische Beschädigungen (SINGLETON, 1995). Die gegenüber der vegetativen Zelle erhöhte Hitze- und Chemikalienresistenz gründet im geringen Wassergehalt des Sporenprotoplasten, der nur ca. 10 bis 30% des Wassers einer vegetativen Zelle enthält. Außerdem bewirkt die Dehydratisierung eine Inaktivierung von Enzymen (MADIGAN et al., 2001).

Die Spore stellt also ein Ruhestadium dar, in welchem nur wenige chemische Reaktionen ablaufen (SINGLETON, 1995).

Bei *Clostridium perfringens* setzt die Sporenbildung oft sehr langsam ein und ist bei den einzelnen Stämmen unterschiedlich. Die Sporen sind oval, liegen medial oder Subterminal ohne den Bazillenleib stärker aufzutreiben (ROLLE und MAYR, 1993).

Tenazität

Die Tenazität der vegetativen Formen unterscheidet sich kaum von der der aeroben Bakterien, mit Ausnahme einer besonderen Empfindlichkeit gegenüber Sauerstoff im statu nascendi. Die Sporen sind hingegen im höchsten Maße resistent gegenüber Austrocknung, Hitze, Desinfektionsmitteln und Bestrahlung. Sie überstehen 100°C für eine bis mehrere Minuten, werden jedoch in der Regel nach 10 Minuten abgetötet. Besonders widerstandsfähig sind Stämme vom Typ C und D, sie überstehen 30 Minuten bei 100°C. Manche Stämme von *Clostridium perfringens* sind noch thermoresistenter, so dass man erst nach 10min bei 121°C von einer vollständigen Inaktivierung der Sporen ausgehen kann.

Die biologische Selbsterhitzung von gepacktem Dünger mit anhaltenden Temperaturen von über 70°C wird von Clostridien ohne Schädigung überstanden (ROLLE und MAYR, 1993).

2.5 Charakterisierung der in den Untersuchungen verwendeten Viren

2.5.1 Bovines Parvovirus (BPV)

Allgemeine Beschreibung

Die Familie der Parvoviridae (von lat. Parvus= klein) ist in zwei Subfamilien untergliedert: Parvovirinae und Densovirinae.

Das Genom ist eine lineare, einsträngige DNS. Die Virionen sind isometrisch, ohne Hülle und haben einen Durchmesser zwischen 18 und 22nm. Die Vermehrung der Virusarten des Genus Parvovirus findet im Zellkern statt und ist abhängig von bestimmten Funktionen der Wirtszellen (ROLLE und MAYR, 2002).

Das Infektionsspektrum des bovinen Parvovirus scheint auf das Rind beschränkt zu sein, es verursacht vor allem bei neugeborenen Kälbern sowie bei Feten während der ersten zwei Drittel der Trächtigkeit Krankheiten mit enteritischem Charakter.

Tenazität

Parvoviren gehören zu den umweltstabilsten unter den Viren.

Das thermostabile Bovine Parvovirus kann auch durch Pasteurisierung (70°C über 30 min) nicht vollständig inaktiviert werden (SAIER, 1987; SPILLMANN et al., 1987). Überwiegend werden sie erst bei Temperaturen zwischen 80 und 90°C innerhalb von 20 Minuten bis einer Stunde inaktiviert (ROLLE und MAYR, 1993).

WEBER et. al. (1996) beschreiben, dass Parvoviren bei 100°C nach 10 Minuten und bei 60°C nach 10 Stunden inaktiviert werden.

Die Freisetzung von viruziden Ammoniak (NH₃) durch die Behandlung von Klärschlamm mit Branntkalk und einem dadurch bedingten pH-Wert-Anstieg auf über 12 führt nach STRAUCH et al. (1983) zur Inaktivierung von Polio- und Parvovirus.

2.5.2 Rinder Enterovirus (enteric cytopathogenic bovine orphan, ECBO)

Allgemeine Beschreibung

Enteroviren gehören zur Familie der Picornaviridae. Diese Familie umfasst Virusarten mit einsträngiger RNS positiver Polarität. Picornaviren sind 22 bis 30nm groß und unbehüllt. Die Virusvermehrung findet im Zytoplasma der Zelle statt. Die Enteroviren vermehren sich primär in der Darmschleimhaut. Sie sind säurestabil bis pH 3. Überwiegend sind sie nur fakultativ pathogen und rufen allenfalls unter bestimmten Bedingungen oder bei gewissen Altersklassen von Tieren Krankheitserscheinungen hervor. Dies gilt insbesondere für die Orphan-Viren, zu dem das ECBO-Virus (enteric cytopathogenic bovine orphan) gehört (ROLLE und MAYR, 2002).

Tenazität

Die Überlebensfähigkeit von Virus im Frischschlamm reicht bei Polio- und Coxsackievirus bis zu 3 Monaten. Beim in Dänemark während des Winters und im Frühjahr ausgebrachten Schlamm konnte erst nach 6 Monaten kein Virus mehr nachgewiesen werden. Bei Untersuchungen in Kanada wurden sogar noch nach 8 Monaten Virus aus getrocknetem Schlamm isoliert, meist Reo- im übrigen Enterovirus (KOCH, 1982). BERG et al. (1988) untersuchten die Stabilität von Enteroviren im Klärschlamm bei niedrigen Temperaturen: Bei 5°C bestand 38 Tage lang eine Stabilität der Viren ohne Verlust der Infektiösität.

Die Inaktivierung von Enteroviren bei Behandlungsprozessen ist gewöhnlich pH- und temperaturabhängig (GERBA et al., 2002). Das ECBO-Virus ist relativ wärmempfindlich, bei Temperaturen von 55°C geht seine Infektiösität innerhalb von 30 Minuten verloren (ROLLE und MAYR, 2002). CARRINGTON et al. (1989) konnten eine Reduzierung von Enteroviren in einer anaeroben mesophilen Anlage bei 34°C um 99% erreichen

PENDINGER (1990) stellte Literaturangaben zusammen, nach denen Enteroviren bei einem pH-Wert von 11,5 innerhalb von 60 Minuten abgetötet werden.

2.6 Charakterisierung der in den Untersuchungen verwendeten Parasiten

2.6.1 Ascaris suum

Allgemeine Beschreibung

Der Spulwurm des Schweins, *Ascaris suum* (Gotze, 1782), gehört systematisch zur Klasse der Nematoden.

Im Adultstadium leben die Schweinespulwürmer im Dünndarmlumen von Schweinen. Nach BOCH (1992) legen die Weibchen des Schweinespulwurms täglich etwa 0,2-2 Millionen Eier ab, die mit dem Kot in die Außenwelt gelangen. Die Eier sind 65-85µm x 40-60µm groß, dickschalig und haben mikroskopisch betrachtet eine braune Farbe. Charakteristisch für Askariden sind hellbraune bis gelbe, glasige Buckel an der Oberfläche der Eischale.

Die Embryonalentwicklung im Freien, die mit der infektiösen Larve III endet, ist stark

temperaturabhängig und benötigt Feuchtigkeit und Sauerstoff; bei hohen Temperaturen von 30-33°C ist sie in zwei Wochen abgeschlossen. Die Infektion neuer Wirte erfolgt über die orale Aufnahme infektiöser Larven. Die Larven schlüpfen wenige Stunden nach der Aufnahme im Magen und bohren sich im hinteren Dünndarm, vorwiegend jedoch im Zäkum und Colon in die Mesenterialvenen ein und sind bereits sechs Stunden nach der Infektion in der Leber anzutreffen. Innerhalb von 4-6 Tagen wachsen sie zum nächsten Stadium heran und wandern im Parenchym der Leber umher. Durch diese Wanderungen entsteht in der Leber ein Narbengewebe, dass bei der Schlachtung der Schweine durch die Verkalkung des Gewebes als so genannte Milk Spots zu erkennen ist. Von der Leber wandern die Larven durch die Lebervene in die Hohlvene und das rechte Herz bis in die Lunge. Im Kapillargebiet der Lunge bohren sie sich dann, nach der Entwicklung zur Larve IV, durch die Alveolen und gelangen über Bronchien und Trachea zum Pharynx. Dort werden sie abgeschluckt und siedeln sich im Dünndarm an, wo die Häutung zum adulten Wurm erfolgt. Mit der Ausscheidung von Eiern ist der Kreislauf wieder geschlossen.

Tenazität

Aufgrund ihrer dreischichtigen Schale sind die Eier von *Ascaris* in der Außenwelt gegen viele Umwelteinflüsse sehr widerstandsfähig. Die innere Schicht (75% Lipid und 25% Protein) verleiht dem Ei eine hohe Chemoresistenz, sogar gegen 10%iges Formalin. Die mittlere und stärkere Schicht (Chitin und Protein) gibt dem Ei eine hohe mechanische Stabilität. Über einer dünnen so genannten Vitelinschicht liegt außen eine unebene Lage aus Mukopolysaccharid, die klebrig ist und das Haften des Ei's an Unterlagen begünstigt. Eine Entwicklung der Eier findet bei Temperaturen über 15°C, einer relativen Feuchte von mindestens 80% und bei Sauerstoffzutritt statt.

Im feuchten Erdreich bleiben *Ascaris*-Eier 5-6 Jahre lebensfähig und infektiös, auch können sie monatelang ohne Sauerstoffzufuhr überdauern.

In Gülle blieben *Ascaris*-Eier bei 8-18°C etwa 65-85 Tage lebensfähig. Gegen Austrocknung sind sie sehr empfindlich. Bei 55-56°C z.B. gehen sie innerhalb von 10 Minuten zugrunde (ROMMEL, 2000).

STRAUCH und BERG (1980) konnten in ihren Untersuchungen bereits beweisen, dass der pH-Wert-Anstieg auf Bereiche >12 zur Abtötung von Salmonellen ausreicht, ohne Temperaturerhöhung dieses Milieu jedoch nicht zu Vernichtung von Spulwurmeiern führt. Sie schlossen aus ihrer Untersuchung, dass zur Abtötung von Askarideneiern auf den synergistischen Effekt von pH-Wert und einer hohen Temperatur nicht verzichtet werden kann. Dies wurde in Untersuchungen von OSTERTAG (1997) und PLACHEY et al. (1996) bestätigt.

BANAS et al. (2002) konnten in ihren Untersuchungen nachweisen, dass ein pH-Wert über 11,5 zusätzlich zu Temperaturen von über 50°C unterstützend auf die Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern einwirkt, indem die benötigte Inkubationszeit zur Abtötung von Spulwurmeiern verkürzt wird.

OSTERTAG (1987) schloss aus ihren Untersuchungen, dass man der Branntkalkzugabe zu Klärschlamm ohne Temperaturanstieg nur eine schwache Wirkung hinsichtlich der Entwicklungshemmung von Askarideneiern bescheinigen kann. Sie stellte zusätzlich in ihren Untersuchungen fest, dass der Zeitfaktor einen wichtiger Parameter darstellt. Nach einer Lagerung von 2-3 Wochen bei 20-37°C konnte sie erst Schädigungen an den Askarideneiern erkennen. Bei 42°C konnte sie

nach einer Woche Einwirkzeit sowohl in einer mit Branntkalk aufgekalkten Probe, als auch in einer unbehandelten Probe keine entwicklungsfähigen Eier mehr nachweisen.

SCHUH (1984) konnte ebenfalls in einem auf pH 12,5 aufgekalkten Faulschlamm erst nach zwei Monaten Einwirkzeit die darin lokalisierten Wurmeier erheblich schädigen. Sie nimmt an, dass der Faulschlamm an sich schon eine hemmende Wirkung auf die Eier von *Ascaris suum* ausübt. ERIKSEN et al. (1995) geben eine Lagerungszeit von mindestens 3 Monate für einen auf pH >12 aufgekalkten Klärschlamm an, um die Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier ausreichend reduzieren zu können.

LANG (1987) stellte in seinen Untersuchungen fest, dass eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Spulwurmeier bei 50°C nach einer Stunde, bei 55°C nach 20 Minuten und bei 60°C nach 15 Minuten erfolgt.

BANAS et al. (2002) ermittelten in ihren Laborversuchen ähnliche Werte für die Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern. Sie stellten fest, dass eine Kalkbehandlung, die zu Temperaturen von 50-57°C führt, die inkubierten Askarideneier innerhalb von zwei Stunden ausreichend reduziert. Beim Erreichen von Temperaturen von über 57°C geben sie eine Zeit von 10 Minuten an.

2.7 Eignung der beschriebenen Mikroorganismen als Indikator- bzw. Testkeim

Indikatorkeime werden als Vertreter einer Gruppe pathogener Keime ausgewählt; nach LANG (1987) sollten sie verschiedenen Anforderungen gerecht werden:

- Vorkommen in großer Anzahl im zu untersuchenden Material.
- Zuverlässige, schnelle, routinemäßige, quantitative Nachweismöglichkeit mit standardisierten Methoden.
- Zugehörig oder verwandt zu untersuchenden pathogenen Spezies.
- Weitgehend ähnliche Eigenschaften zu den zu untersuchenden pathogenen Spezies.
- Gleiche oder geringfügig größerer Resistenz als die relevanten Krankheitserreger gegenüber den zu untersuchenden Behandlungsprozessen besitzen.

Außerdem dürfen Indikatororganismen auch im Falle eines Austretens in die Umgebung, wie es beispielsweise bei der Überprüfung von Praxisanlagen möglich wäre, kein umwelthygienisches Risiko darstellen (HOFERER, 2001).

Die Nutzung von ***Salmonella senftenberg*** W 775 (H₂S negativ) als Indikatorkeim ist vielfach erprobt (BRAUNMILLER et al. 2000; HOFERER, 2001 und KNIE et al., 2001).

Der Keim wird aufgrund seiner guten Indikatoreigenschaften auch als Prüfkeim in der Bioabfallverordnung und im Arbeitsdokument „Biologische Behandlung von biologisch abbaubaren Abfällen“ der Europäischen Kommission genannt.

Salmonella senftenberg hat außer seiner erhöhten Thermoresistenz gegenüber anderer Salmonellen Serovaren den Vorteil anhand seines natürlichen Markers (H₂S negativ) leicht von Kontamination unterschieden werden zu können.

In Versuchen zur Tenazität neun verschiedener Salmonellen-Serovare die in Rinderflüssigmist auf 60°C erhitzt wurden, konnte gezeigt werden, dass 12 der 13 untersuchten Stämme bereits nach 2-7 Minuten nicht mehr nachweisbar waren, während dies bei *S. senftenberg* W 775 noch nach 18 Minuten gelang. Da die 12 inaktivierten Stämme aus Flüssigmist isoliert wurden, konnte die Vermutung, dass ein solches Isolat aufgrund einer gewissen Adaption an das Substrat den bekanntermaßen sehr thermoresistenten *S. senftenberg* überlegen sein könnten, nicht bestätigt werden (SOLDIERER & STRAUCH, 1991).

In Untersuchungen von BRAUNMILLER et al. (2000) und MOOS & HAAS (2000) konnte außerdem gezeigt werden, dass *Salmonella senftenberg* W 775 aufgrund seiner höheren Tenazität bei der Kompostierung als „Testkeim“ für viele seuchenrelevanten viralen Erreger eingesetzt werden kann.

WESTPHAL und CHRISTIANSEN (1983) und FEACHEM et al. (1983) propagieren die Verwendung von **Fäkalstreptokokken (Enterokokken)** als Indikatororganismen, da diese gegenüber pH- und Temperaturerhöhungen wesentlich widerstandsfähiger als Fäkalcoliforme, *Salmonella* spp. und einige Enteroviren sind.

In der Lebensmittelhygiene werden Fäkalstreptokokken als Indikator für fäkale Verunreinigung eingesetzt (ROLLE und MAYR, 1993), wobei man nach SOLDIERER (1991) Fäkalstreptokokken nur im Beisein von *E.coli* als Fäkalindikatoren verwenden sollte.

Coliforme Keime und ***Escherichia coli***, gelten als ideale bakteriologische Indikatoren für fäkale Verunreinigung und werden daher auch als Indikatoren für die Wirksamkeit von Desinfektionsmaßnahmen genutzt (ROLLE und MAYR, 2002; JIMENEZ et al., 2002).

Das thermostabile **Bovine Parvovirus (BPV)** dient als „Indikatorvirus“ zur Überprüfung der hygienischen Wirksamkeit von Anaerobanlagen, die tierkörperbeseitigungspflichtige Abfälle (z.B. Speiseabfälle) verwerten (PHILIPP, 2001). Aufgrund seiner Thermostabilität und seiner „Seuchenrelevanz“ kann das bovine Parvovirus als geeigneter Maßstab für Behandlungsverfahren betrachtet werden, deren wesentliche Komponente in der thermischen Inaktivierung besteht. Der Nachweis seiner Inaktivierung über drei bis vier Zehnerpotenzen erlaubt den Rückschluss, dass mit einem hinreichend großen Sicherheitsspielraum alle relevanten Tierseuchenerreger und fast alle anderen vegetativen Bakterien und Viren sicher inaktiviert worden sind (MARTENS et al., 2000).

Unter dem Aspekt einer möglichst hohen Thermostabilität bieten sich in erster Linie die bovinen Parvoviren zur Überprüfung von chemo-thermischen und thermischen Behandlungsverfahren im Temperaturbereich von 50-89°C an. Deren q-Wert (Abhängigkeit der Inaktivierungsrate von der Temperatur) ist wesentlich höher als der der Enteroviren, weshalb sich die Stabilität der Parvoviren im Vergleich zu den Enteroviren vor allem in den höheren Temperaturbereichen auswirkt (BRÄUNINGER et al., 1994; SPILLMANN et al., 1987; HOFERER, 2001).

Aufgrund ihrer Thermostabilität wird das Bovine Parvovirus auch als Modellvirus für das Hepatitis B-Virus (HBV) verwandt (BRAUNINGER et al., 2000).

Enteroviren werden vom Europäische Komitee für Normung als Modell-Virus für die Viruzidie-Prüfung in der Desinfektionsmittelprüfung verwandt, denn sie repräsentieren eine klinisch relevante Virusgruppe, die Picornaviren (z.B. Coxsackie

Viren A und B). Aufgrund ihrer hohen Resistenz gegen chemische und physikalische Desinfektionsmittel sind sie auch als Modell- Virus für andere wichtige Virusgruppen einsetzbar (CEN, 2002). Behüllte Viren wie das Aujeszkyvirus (AKV, PrV), das Virus der Bovinen Virus Diarrhöe (BVDV) oder das Virus der Europäischen Schweinepest (ESPV, CSFV) zeigten sowohl bei der Lagerung als auch bei der anaeroben Behandlung von Gülle meist eine wesentlich geringere Tenazität als Parvo- oder Picornavirus (HOFERER, 2001).

Nach Böhm (2001) besitzen **Spulwurmeier (Ascaris suum)** zusammen mit Salmonellen und Enteroviren eine besondere epidemiologische Bedeutung bei der Klärschlammverwertung und bestimmen den mikrobiziden Behandlungsprozess. Ihre hohe Widerstandsfähigkeit machen sie nach Erfahrungen von LANG (1987) und SCHWARZ (2002) zu idealen Indikatororganismen um die Effizienz verschiedener Verfahren zur Abtötung parasitärer Dauerstadien zu überprüfen. Nach einer 11-monatigen Lagerung von anaerobem und aerobstabilisiertem Klärschlamm waren nach Untersuchungen von HAIBLE (1989) noch 14% der untersuchten Askarideneier entwicklungsfähig.

2.7.1 Rechtsvorgaben für die Hygienisierung

Als Maßstab für die Anforderung an den Hygienisierungsprozess, der Entseuchung der Substrate, wurde die Reduzierung der verschiedenen Indikatororganismen eingesetzt. Die Anforderungen zur Hygienisierung sind dem Begriff der Desinfektion in unterschiedlichen internationalen Rechtsvorgaben entnommen.

Desinfektion selbst wird als Maßnahme bezeichnet, die durch Abtötung, Reduzierung, Inaktivierung bzw. Entfernung von pathogenen Mikroorganismen (Bakterien, Viren, Pilzen, Protozoen) ein Material in einen nichtinfektiösen Zustand versetzt (PSCHYREMBEL, 1994).

Das Europäische Komitee für Normung setzt in einem Arbeitspapier vom Januar 2002 für die Desinfektionsmittelprüfung eine Reduktion um 4 Zehnerpotenzen zur Überprüfung der viruziden Wirkung voraus (CEN, 2002).

Für die Überprüfung der bakteriziden Wirkung stellt das CEN-Komitee in einem Arbeitspapier ebenfalls die Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen in Diskussion (CEN, 2001 A). Nach den Vorgaben der Europäischen Norm EN 1040 muss das geprüfte Produkt jedoch noch bei den Prüfkeimen eine Reduktion der Lebendkeimzahl um mindestens den Faktor 10^5 logarithmisch erreichen (CEN, 1997).

Als Anforderung an die sporozide Wirkung von Desinfektionsmitteln wird eine logarithmische Verminderung der Lebendkeimzahl um mindestens 4 Zehnerpotenzen gefordert, als Prüfkeim sollten zu diesen Untersuchungen *Bacillus subtilis* und *Bacillus cereus*-Sporen eingesetzt werden (CEN, 2001 B). In einem anderen CEN-Arbeitspapier wird eine Reduzierung um den Faktor 10^3 gefordert (CEN, 2001 C).

Auf europäischer Ebene werden zurzeit Vorgaben für validierte Verfahren zur Hygienisierung von Klärschlamm diskutiert. Zur Inaktivierung von parasitären Dauerstadien (Wurmeier) gilt derzeit die Vorgabe dass die Entwicklungsfähigkeit von exponierten *Ascaris suum* Eiern um 99,9% gesenkt werden muss (BÖHM, 2002).

Eigene Untersuchungen

3. Material und Methoden

3.1 Bakteriologische Methoden

Vor der Kalkzugabe wurde dem jeweiligen Substrat eine definierte Bakteriensuspension zugegeben und danach, zur Bestimmung der Ausgangskonzentration, je zwei parallele Nullproben gezogen und die jeweilige Ausgangskeimzahl ermittelt. Zur Bestimmung der nativen Keimflora wurden die Substrate vorab auf ihren Gehalt an Salmonellen, *E.coli*, Fäkalstreptokokken und *Clostridium perfringens* untersucht.

Nach der Probeentnahme erfolgte die Neutralisation des gekalkten Materials, um ein weiteres Einwirken des hohen pH-Wertes zu verhindern.

3.1.1 Allgemeine bakteriologische Methoden

3.1.1.1 Herstellung einer Verdünnungsreihe

Verwendete Medien und Geräte:

- 0,9% Natrium-Chlorid-Lösung¹
- 0,2n Natriumhydrogenphosphat Monohydrat-Lösung²
- Elektronische Waage
- Flaschenschüttler
- Reagenzglasschüttler

Für die quantitative Untersuchung muss bei allen Keimarten eine Verdünnungsreihe hergestellt werden.

Es werden 20g des zu untersuchenden Substrates in 180ml einer 0,9%igen Natrium-Chlorid-Lösung (NaCl) eingewogen.

Um eine Neutralisation der Suspension zu erreichen ist das NaCl mit 0,2n Natriumhydrogenphosphat Monohydrat (NaH_2PO_4) angereichert und wird nach einer gründlichen Vermischung sofort weiter verarbeitet.

Aus der hergestellten Vorverdünnung (10^{-1}) erfolgt der Ansatz einer dekadischen Verdünnungsreihe, d.h. es wird 1ml der Lösung entnommen, in 9ml steriler 0,9%iger NaCl verbracht und auf einem Reagenzglasschüttler vermischt. Dieser Vorgang wird wiederholt, indem jeweils nach dem Aufschütteln 1ml der Lösung in 9ml steriler NaCl-Lösung pipettiert und wieder vermischt wird. Diese Reihe wird bis zur Verdünnungsstufe, die der erwarteten Keimzahl entspricht, fortgesetzt.

¹ Merck, D-64271 Darmstadt; Art.Nr. 1.06400.9025

² Merck, D-64271 Darmstadt; Art.Nr. 1.06346.1000

3.1.1.2 Das MPN-Verfahren

Um eine quantitative Keimbestimmung zu erhalten wird das MPN - Verfahren (Most-probable-Number) angewandt.

Dies ist ein statistisch abgesichertes Schätzverfahren mit dem in der Mikrobiologie Keimzahlbestimmungen ohne Koloniezähler durchgeführt werden.

Dabei wird aus der oben beschriebenen Verdünnungsreihe je 1ml in drei parallele Röhrchen der jeweiligen Bakterienart entsprechenden Nährbouillons überimpft. Diese werden dann gemäß den entsprechenden Vorschriften bebrütet.

Danach erfolgt die Überimpfung auf (Selektiv-) agar, indem die Agarplatte in drei Teile unterteilt wird und die jeweiligen drei Parallelen ausgestrichen werden. Mit einer ausgeglühten Drahtöse wird dabei in das entsprechende Reagenzglas eingetaucht und der entnommene Tropfen auf je ein Drittel der unterteilten Platten ausgestrichen. Die fertigen Agarplatten werden wieder (aerob oder anaerob) bebrütet.

Nach 24h-48h können die Agarplatten ausgewertet werden indem die positiven gegenüber den negativem Drittel gekennzeichnet werden und der dadurch ermittelte dreistellige MPN-Code in der korrigierten MPN-Tabelle nach MAN (1983) abgelesen wird.

3.1.1.3 Herstellung der Keimsuspensionen

Die Bakteriensuspensionen werden hergestellt indem eine vorab angelegten Stammkolonie der gewünschten Bakterienart in Nährbouillon überführt wird. Als Nährbouillon wird für Salmonellen gepuffertes Peptonwasser³ und für *E.coli* und Fäkalstreptokokken (*Streptococcus faecium*) Standard-I-Nährbouillon⁴ verwendet.

In die Nährbouillon wird mit einer ausgeglühten Rundöse jeweils eine Kolonie von der auf einer Agarplatte angelegten Stammkolonie eingebracht. Anschließend wird die Bouillon einen Tag bei 37°C bebrütet.

Der Keimgehalt der so hergestellten Suspension wird bestimmt. Er liegt in der Regel bei $10^7 - 10^9$ KBE/g.

Zur Herstellung der Clostridien-Sporensuspension wird das von DUCAN und STRONG (1965) beschriebene DS-Medium⁵ verwendet.

Zuerst wird wie oben beschrieben, eine Nährbouillon aus 50ml Fluidthioglykolatmedium⁶ (FTG) mit Clostridien-Stammzellen hergestellt.

Nach 24 stündiger anaerober Bebrütung bei 39°C wird das bewachsene FTG in je 500ml DS-Medium überführt und wieder 72 Stunden anaerob bei 39°C inkubiert.

Nach der Bebrütung werden die Sporen durch 15 minütiges Zentrifugieren bei 3000 U/min und einer Temperatur von 2°C von dem Medium getrennt. Der entstandene Überstand wird abpipettiert und die Flüssigkeit mit Aqua dest. aufgefüllt. Dieser Spülvorgang wird noch zweimal wiederholt und die dann gewonnenen Sporen in Aqua dest. resuspendiert.

Die Keimdichte der gebrauchsfertigen Sporensuspension beträgt ca. 10^4-10^6 KBE/ml.

³ Oxid, GB-Hampshire, Art.Nr. CM 509

⁴ Merck, D-64271 Darmstadt; Art.Nr 1.07881.0500

⁵ Herstellung siehe Anhang

⁶ BECTON DICKINSON Deutschland GmbH, ehemals DIFCO, D-69006 Heidelberg, ArtNrn 211260

3.1.2 Spezielle bakteriologische Verfahren

3.1.2.1 Untersuchung auf *Escherichia coli*

Verwendete Medien:

- MUG-Laurylsulfat-Bouillon⁷
- 0,5% 1n Natronlauge (NaOH)⁸
- Kovačcs Reagenz⁹

Als Ausgangspunkt dient eine aus dem Probematerial hergestellte Verdünnungsreihe (siehe Pkt. 3.1.1.1). Der Nachweis der coliformen Keime erfolgt dann quantitativ mit Hilfe des MPN-Verfahrens (s. Pkt.3.1.1.2), indem eine Anreicherung in MUG-Laurylsulfat-Bouillon (9ml) erfolgt. Während der nun folgenden 48-stündigen Bebrütung bei 37°C wird das in der Bouillon enthaltene MUC von den coliformen Keimen zu Gas abgebaut. Die Röhrrchen in denen Gasbildung zu erkennen ist und welche nach Zusatz von 0,5 ml Natronlauge (zur Realkalisierung) unter UV-Licht (366nm) fluoreszieren, werden als positiv bewertet.

Zum Indolnachweis werden die MUC-positiven Ansätze zusätzlich mit 0,5 ml Kovačcs Reagenz überschichtet. In *E.coli*-positiven Röhrrchen entsteht ein roter Ring am Flüssigkeitsrand.

Diese Auswertung führt zu einem dreistelligen MPN-Code, dem mittels der korrigierten MPN-Tabelle nach DE MAN (1983) eine Bakterienzahl zugeordnet werden kann.

3.1.2.2 Untersuchung auf Fäkalstreptokokken

Verwendete Medien:

- Azid-Dextrose (AD)-Bouillon¹⁰
- Kanamycin-Äsculin-Agar (KAA)¹¹

Auch die Bestimmung der Fäkalstreptokokken erfolgt in Anlehnung an die Most Probable Number-Technik (MPN).

Als Ausgangspunkt dient die Verdünnungsreihe (siehe Pkt. 3.1.1.1), welche bereits für die quantitative Bestimmung der Anzahl der coliformen Keime herangezogen wurde.

Die Anreicherung von Fäkalstreptokokken erfolgt in AD-Bouillon (9ml). Diesem Medium ist Natriumazid zugesetzt, welches gramnegative Keim hemmt. So kommt es zur selektiven Vermehrung der grampositiven Enterokokken. Durch das Wachstum während der 48 stündigen Bebrütung bei 37°C wird das sonst klare Medium trüb gefärbt. Alle drei Reagenzröhrrchen bei denen mindestens ein Röhrrchen als positiv zu bewerten war, werden mit ausgeglühten Rundösen auf KAA-Agarplatten

⁷ Merck, D-64271 Darmstadt; Art.Nr 12588

⁸ Merck, D-64271 Darmstadt

⁹ Merck, D-64271 Darmstadt; Art.Nr 9293

¹⁰ Merck, D-64271 Darmstadt; Art.Nr 101590.0500

¹¹ Merck, D-64271 Darmstadt; Art.Nr 1.05222.0500

ausgestrichen, welche zu diesem Zweck in drei gleichgroße Teile unterteilt werden. Die Nährböden werden dann 48 Stunden bei 37°C bebrütet.

Der KAA-Agar dient zur Isolierung von D-Streptokokken. Kanamycin und Azid hemmen die Begleitflora, während Streptokokken gegen diese Stoffe wenig empfindlich sind und durch die Umsetzung von Eisen(III)-Ionen olivgrüne bis schwarze Kolonien mit dunklem Hof bilden. Diese so auf den Nährmedien zu erkennenden Flächen werden als positiv bewertet und mit Hilfe der MPN- Tabelle ausgewertet.

3.1.2.3 Untersuchung auf Salmonellen

Verwendete Medien:

- gepuffertes Peptonwasser¹²
- Rappaport-Vassiliadis-Selektivbouillon¹³
- Xylose-Lysin-Desoxycholat (XLD)-Agar¹⁴
- Brilliantgrün-Phenolrot-Lactose-Sacharose (BPLS)- Agar¹⁵
- Standard-I-Agar¹⁶

Bei Salmonellen erfolgt eine qualitative Untersuchung des Materials und eine quantitative Keimzahlbestimmung.

Bei dem quantitativen Nachweis mittels der MPN-Technik wird nach Herstellung einer Verdünnungsreihe als Nährbouillon gepuffertes Peptonwasser (9ml) verwendet, wobei die drei Parallelen in doppelter Ausführung angefertigt werden um sie bei 37 und 43°C 24h bebrüten zu können. Dies erfolgt um den verschiedenen Temperaturoptima der Salmonellenserovare gerecht zu werden.

Aus dieser Voranreicherung werden jeweils 0,1ml in eine sterile Rappaport-Vassiliadis-Selektivbouillon pipettiert, welches wie gepuffertem Peptonwasser speziell das Salmonellenwachstum fördert und durch seine Zusatzstoffe andere Keime hemmt.

Bei Bakterienwachstum ist nach 24 stündiger Inkubation bei 37°C eine Trübung der sonst klaren blauen Flüssigkeit zu erkennen.

Aus der Selektivanreicherung werden anschließend von allen Verdünnungsstufen bei dem mindestens eines der drei Reagenzgläser trüb gefärbt ist, Parallelausstriche angefertigt, wobei die Agarplatten zu diesem Zweck in je drei gleich große Teile unterteilt werden. Diese erfolgen auf XLD- und BPLS-Agar. Die Bebrütung der Platten erfolgt wieder 24 Stunden bei 37°C.

Ergeben sich daraus salmonellenverdächtige Kolonien (blassrosa auf BPLS, schwarze Kolonien auf XLD), wird eine verdächtige Kolonie im Drei-Ösen-Ausstrich auf Standard-I-Agar verbracht, um so eine Reinkultur zu erhalten. Danach erfolgt die weitere Bebrütung 24 Stunden bei 37°C.

Der Befund kann am nächsten Tag verifiziert werden, indem die Antigenstruktur des Salmonellen Serovars durch Objektträgeragglutination¹⁷ bestimmt wird. Zur exakten

¹² Oxid, GB-Hampshire, Art.Nr. CM 509

¹³ BECTON DICKINSON Deutschland GmbH, ehemals DIFCO, D-69006 Heidelberg, ArtNr.1858-17

¹⁴ BECTON DICKINSON Deutschland GmbH, ehemals DIFCO, D-69006 Heidelberg, ArtNr. 0788-17

¹⁵ BECTON DICKINSON Deutschland GmbH, ehemals DIFCO, D-69006 Heidelberg, ArtNr. 1880-17

¹⁶ Merck, D-64271 Darmstadt; Art.Nr 1.07881.5000

¹⁷ DADE Behring Vertriebs GmbH&Co, D-65835 Liederbach, Art.Nr. ORMT 191 c30 (Polyvalent I) und ORMU 191 C30 (Polyvalent II);SIFIN, D-13088 Berlin, Antisalmobnella O19;BECTON DICKISON

Bestimmung der Salmonellen-Serovare muss die Probe an das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) gesandt werden.

Zur qualitativen Untersuchung der Proben auf Salmonellen werden 10g Untersuchungsmaterial in 490ml gepuffertes Peptonwasser eingewogen. Dem Peptonwasser ist zur weiteren Neutralisation des Materials 0,2n NaH_2PO_4 zugesetzt. Diese entstandene Voranreicherung wird nun entsprechend der quantitativen Bestimmung weiterbehandelt.

Nach 24-stündiger Bebrütung bei 37°C auf einer Schüttelvorrichtung¹⁸ werden je 0,1ml in Rappaport-Vassiliadis-Bouillon überführt, 24h inkubiert und als Parallelausstrich auf XLD- und BPLS-Agar gebracht.

Nach einer weiteren Inkubationszeit von 24 Stunden können nun die verdächtigen Kolonien ausgewertet werden (s. oben).

3.1.2.4 Untersuchung auf *Clostridium perfringens* Sporen

Verwendete Medien:

- Fluid-Thioglycollat (FTG)-Bouillon¹⁹
- Blut-Glukose („Zeissler)-Agar²⁰
- Blut-Agar

Zusätzliche Gerätschaften:

- Anaerobierkammer²¹
- Gas-Pak-Töpfe²²
- AnaeroCult A²³
- O₂-Indikatorstreifen²⁴
- API 20 A²⁵

Clostridien sind streng anaerob wachsende Bakterien, deshalb erfolgen die Anzuchtung sowie die Bebrütung der festen und flüssigen Medien in einer Anaerobierkammer. Dieses geschlossene System besteht aus einer Edelstahl-Gerätebasis und einer aufblasbaren Vinyl-Plastikhaube, die gasdicht versiegelt ist. Die Kammer ist mit einem Gasgemisch aus 88% Stickstoff, 7% Wasserstoff und 5% Kohlendioxid gefüllt. Eindringender Sauerstoff wird von einem Katalysator mit Wasserstoff zu Wasser umgewandelt, die sauerstofffreie Atmosphäre wird mittels des O₂ - Indikatorstreifens überprüft.

Der Zugang zur Kammer erfolgt über eine Schleuse, welche separat begasbar ist. Bei jedem Probentransport wird die Schleusenkammer erst zweimal mit Stickstoff

Deutschland GmbH, D-69006 Heidelberg, Art. Nr. 2814-47; 2659-47; 2817-47; 2818-47; 2952-47 (Salmonella-Testsera-Anti O₂; 4; 7; 8; 9; 10)

¹⁸ Pilot-Shaker, Adolf-Kühner AG Basel, Switzerland

¹⁹ BECTON DICKINSON Deutschland GmbH, ehemals DIFCO, D-69006 Heidelberg, Art.Nr. 211260

²⁰ Merck Eurolab GmbH, D-64721 Darmstadt, Art. Nr. 1.10455.5000; Glukose 1.04074.1000; Nalgene: Sterlie Sheep Blood Defibrinated, Art. Nr. 54 34

²¹ COY Laboratory Produkts INC, Model: 12519 REC

²² BBL GasPak® System

²³ Merck, D-64271 Darmstadt; Art .Nr. 1.13829

²⁴ BECTON DICKINSON Deutschland GmbH, ehemals DIFCO, D-69006 Heidelberg, Art.Nr. 270504

²⁵ bio Meerieux sa; F-69280 Marcy l'Étoile, Art.Nr. 06430 B 20 800

(99,996 Vol. %) gespült, bevor das Prüfgas zugesetzt wird und die Schleuse zur Kammer geöffnet werden kann.

Als Alternative steht ein GasPag®-Anaerobiertopf zur Verfügung, in dem durch AnaeroCult A auf chemischen Weg ein H₂/CO₂-Gasgemisch erzeugt wird. Dieser hermetisch abzuschließende Topf kann dann bei 39°C inkubiert werden.

Die Untersuchung der Proben auf *Clostridium perfringens* erfolgt in einem qualitativen Nachweisverfahren und einer quantitativen Keimzahlbestimmung. Da ausschließlich auf Clostridien-Sporen untersucht werden soll, werden die Nährbouillons mit den eingewogenen Proben 15min in ein 70°C heißes Wasserbad verbracht, um so die vegetativen Clostridien abzutöten.

Bei dem quantitativen Nachweis mittels der MPN-Technik wird nach Herstellung einer Verdünnungsreihe als Nährbouillon Fluid-Thioglycollat (FTG)-Bouillon (9ml) verwendet. Der Bouillon ist zur weiteren Neutralisation 0,2n NaH₂PO₄ zugesetzt.

Die Ansätze werden 24h anaerob inkubiert, bei Bakterienwachstum verfärbt sich die Bouillon trüb wobei eine Schaumbildung auf das Vorhandensein von Clostridien hinweist.

Die Verdünnungsstufen, bei denen mindestens eines der drei Reagenzgläser als positiv bewertet wird, werden mittels einer ausgeglühten Rundöse auf Blut-Glukose-Agar ausgestrichen, wobei die Agarplatten zu diesem Zweck in je drei gleich große Teile unterteilt werden. Auf diesem von DÖLL und SCHMIDT (1969) empfohlenen Agar kann man *Clostridium perfringens* an ihrer typischen Koloniemorphologie mit einer zweistufigen (Doppelzonen-) Hämolyse erkennen. Die Doppelzonen entstehen durch eine vollständige Betahämolyse, an die sich ein Bereich der unvollständigen Hämolyse anschließt. Als weitere Merkmale sind der typische Geruch und eine Grünfärbung der Kolonien nach Luftsauerstoffzutritt zu erkennen.

Als Kontrolle von zweifelhaften Kolonien wird eine Reinkultur auf Blut-Agarplatten angefertigt. Nach 24h anaerober Inkubierung wird dann von der entstandenen Reinkultur ein Parallelausstrich auf Blut-Agarplatter angefertigt und jeweils eine Platte anaerob und eine aerob bebrütet. Da Clostridien strikt anaerob wachsen, ist die Probe nur dann positiv, wenn auf der anaerob bebrüteten Platte Wachstum festzustellen ist.

Zur Überprüfung der Identität der *Clostridium perfringens*-Stämme wird stichprobenartig das API 20A-System verwendet. Dieser Test umfasst folgende Reaktionen: Indoltest, Ureasetest, Kohlenhydratabbau (insg. 16 Kohlenhydrate), Gelatinenachweis (Fähigkeit zur Gelatineverflüssigung), Hydrolyse von Äsculin und Katalasereaktion.

Zur qualitativen Bestimmung werden 50g Probenmaterial in 450ml Fluid-Thioglycollat (FTG)-Bouillon eingewogen; der Bouillon ist zur weiteren Neutralisation 0,2n NaH₂PO₄ zugesetzt. Die als positiv bestimmten Proben werden mit einer ausgeglühten Rundöse als Drei-Ösenausstrich auf Blut-Glukose-Agar ausgestrichen und dann nach den Verfahren zur quantitativen Bestimmung weiter behandelt und ausgewertet.

3.2 Virologische Methoden

Bei den Tenazitätsversuchen wurden die Viren auf Sandwichkeimträger in das schon mit dem Kalk vermischte Substrat eingebracht. Dazu sind jeweils drei Keimträger mit etwa 10g Kalk-Substrat-Gemisch in handelsübliche Zwiebelsäckchen (Maschenweite 1cm) eingepackt und dann mit diesen in das Gemisch eingebracht worden. Durch die

porenhaltigen Membranen der Keimträger (siehe 3.4.1) ist weitestgehend gewährleistet, dass alle Prozessabläufe während des Versuchs genauso auf die Viren einwirken, als wenn sie frei im Substrat vorliegen würden. Das Virus kann jedoch nicht in die Umgebung abgegeben werden.

3.2.1 Allgemeine virologische Methoden

3.2.1.1 Zellkulturtechnik

Verwendete Medien:

- Dulbeccos modifiziertes Eagle`s Medium (DMEM)²⁶
- fötales Kälberserum²⁷ (FKS)
- Nichtessentielle Aminosäure (NEA)²⁸
- Versen-Trypsin-Lösung (0,125%, 37C°; s. Anhang)

Sämtliche Zellarbeiten wurden unter sterilen Bedingungen unter einer Laminar-Flowbank ausgeführt.

Die Zellen werden bis zur ihrer Verwendung bei -80C° gelagert. Die Zelldichte im Konservierungsmedium beträgt 2 - 4 x 10⁶ Zellen/ml Medium.

Das Auftauen erfolgt möglichst rasch bei 37C° im Wasserbad. Kurz vor Ende der Auftauphase wird der Inhalt des Röhrchens zusammen mit vorgewärmten Dulbeccos modifiziertem Eagle`s Medium (DMEM) in eine 50ml Zentrifugenampulle überführt. Das Medium wird vorher mit 10%gem fötalen Kälberserum (FKS) versetzt.

Nach dem vollständigen Auftauen der Suspension wird bei 800 U/min und einer Temperatur von 25°C 10min zentrifugiert. Anschließend wird der Überstand mit einer Pipette abgesaugt und das entstandene Zellpellett in 5ml DMEM mit 10% FKS vorsichtig resuspendiert. Diese Zellsuspension wird in kleine Zellkulturflaschen (50ml) verbracht und im Brutschrank (37C° 4,5% CO²) bis zur Entstehung eines konfluenten Zellrasens bebrütet.

Die Zellen werden für die Virusvermehrung und -titration benötigt und deshalb in weitere Zellkulturflaschen umgesetzt. Dazu wird das flüssige Medium aus der Flasche entfernt und der Zellrasen mit 5ml Versen-Trypsin -Lösung unter leichten Schwenken der Flasche gespült.

Nachdem die losen Zellen durch das Abpipettieren der Versen-Trypsin-Lösung aus der Flasche entfernt wurden, wird erneut 5ml Versen-Trypsin-Lösung auf den Zellrasen aufgebracht und wieder entfernt. Nach 10 min. Inkubation im Brutschrank haben sich alle Zellen vom Kulturgefäß gelöst und werden in 4 ml sterilem DMEM mit 5% FKS gut resuspendiert.

Zur Subkultivierung werden nun jeweils 1ml der Suspension in eine neue mittlere (100ml) Zellkulturflasche überführt und diese mit 12 ml DMEM mit 5% FKS aufgefüllt. Eine weitere Verwendung der im Brutschrank inkubierten Zellen findet erst statt, wenn ein konfluenten Zellrasen vorhanden ist.

²⁶ Biochrom/Seromed® AG, D-12247 Berlin, Art. Nr. T 043-50

²⁷ Biochrom/Seromed® AG, D-12247 Berlin, Art. Nr. SO-115

²⁸ Biochrom/Seromed® AG, D-12247 Berlin, Art. Nr. K 029

3.2.1.2 Virusvermehrung

Verwendete Medien:

- Dulbeccos modifiziertes Eagle`s Medium (DMEM ,37C°)
- fötales Kälberserum (FKS)
- Phospatgepufferte Kochsalzlösung (PBS s. Anhang)

Die vorher hergestellten Zellkulturen (s.o.) werden aus dem Brutschrank entnommen, der Zellrasen auf Konfluenz lichtmikroskopisch überprüft und dann das Kulturmedium aus der Flasche abgesaugt.

Um tote Zellen zu entfernen, wird der Zellrasen einmal mit je 5ml phospatgepufferter Kochsalzlösung (PBS, 37 °C) gewaschen.

Anschließend wird jeweils 1ml Virussuspension auf die Zellen gegeben, die Schalen geschwenkt und eine Stunde im Brutschrank (37°C, 4,5% CO₂) bebrütet. Um das Inokulum gleichmäßig über den Zellrasen zu verteilen, werden die Schalen immer wieder vorsichtig geschwenkt. Im Anschluss wird die Suspension wieder abgesaugt, der Zellrasen nochmals mit PBS (37C°) gespült und dann mit 25ml eines Erhaltungsmediums (DMEM mit 2% FKS) überschichtet. Der Zellrasen wird nun weiter im Brutschrank bei 37°C bebrütet und täglich kontrolliert.

Die erfolgreiche Virusvermehrung wird an dem entstandenen cytopathischen Effekt kontrolliert. Wenn ca. 2/3 des Zellrasens zerstört sind, kann das Virus durch einen dreifachen Gefrier (-80°C) -Tau (25°C)-Zyklus von den Zellen gelöst werden. Um eine zellfreie Virussuspension zu erhalten, wird bei 2800-3000 U/min 20min zentrifugiert. Der Überstand stellt die Ausgangssuspension des Virus dar und wird zur weiteren Verwendung portionsweise in 15 ml Zentrifugenröhrchen bei -80°C tiefgefroren. Auf diese Weise wird die Infektiösität des Virus nicht beeinflusst.

3.2.1.3 Virusnachweis

Verwendete Medien:

- Dulbeccos modifiziertes Eagle`s Medium (DMEM)
- fötales Kälberserum (FKS)
- Gentamycinsulfat-Lösung²⁹
- Penicilin-G-Lösung³⁰
- Streptomycinsulfat-Lösung³¹
- Amphotericin-Lösung³²
- Beef-Extrakt-Lösung (s. Anhang)

Der Virustiter wird als kulturinfektiöse Dosis 50% (KID₅₀)/ml im Endpunkt Verdünnungsverfahren bestimmt. Zur quantitativen Virusbestimmung werden die Sandwich-Keimträger (s. Pkt. 3.4.1) nach der sterilen Probenentnahme aus der Polycarbonatfolie entnommen und in jeweils 1ml Beef-Extrakt-Lösung überführt.

²⁹ Serva,D-69124 Heidelberg, Art,Nr. 17-5182

³⁰ Biochrom/Seromed® AG, D-12247 Berlin, Art. Nr. A321-42

³¹ Biochrom/Seromed® AG, D-12247 Berlin, Art. Nr. A331-27

³² Biochrom/Seromed® AG, D-12247 Berlin, Art. Nr. A2612

Die so gefüllten Gläser werden 5 Minuten auf Eis mit Ultraschall beschallt. Dadurch tritt ein Wechsel der Ionenladung ein und das Virus löst sich von der Keimträgermembran und liegt frei im Beef-Extrakt vor. Dieser Ansatz wird nun in 2ml Zentrifugenröhrchen pipettiert und kann bis zum Virusnachweis unbeschadet bei -80°C gelagert werden.

Die quantitative Auswertung findet auf Zellkulturplatten mit 96-well-Microtiterplatten statt. Auf die Platten werden 6-12 Stunden vor der Titration Zellen gesät, indem in jede der 96 Kavitäten jeweils $100\mu\text{l}$ der Zellsuspension pipettiert werden. Die Dichte der Suspension ist dabei so bemessen, dass sich die Zellen zum Zeitpunkt der Titration bereits am Plattenboden angeheftet und einen noch nicht ganz geschlossenen Zellrasen gebildet haben. Dieser Vorgang wird lichtmikroskopisch kontrolliert.

Um den Virusgehalt quantitativ bestimmen zu können, wird eine dekadische Verdünnungsreihe hergestellt, indem $0,2\text{ml}$ der zu untersuchenden Virussuspension in $1,8\text{ml}$ steriles Zellkulturmedium (DMEM mit einem Zusatz von $0,4\%$ Gentamycinlösung, $0,4\%$ Penicillin-G-Lösung, $0,4\%$ Streptomycinlösung, $0,8\%$ Amphotericin-Lösung und 2% FKS) überführt wird.

Nach gründlicher Vermischung mit der Pipette folgen weitere Verdünnungsstufen (1:10) indem jeweils $0,2\text{ml}$ der vorherigen Suspension in steriles Zellkulturmedium weiter pipettiert werden. Je $100\mu\text{l}$ jeder Verdünnungsstufe werden nun in jeweils vier parallelen Kavitäten einer 96-well-Microtiterplatte überführt. Einige Kavitäten einer Platte werden nicht mit Virus beschickt, sie dienen später als Zellkontrolle.

Es erfolgt eine Inkubation im Brutschrank (37°C , $4,5\%$ CO_2).

Der Zellrasen in den Mikrotiterplatten wird täglich lichtmikroskopisch kontrolliert.

Als infiziert und damit viruspositiv gilt ein Well, wenn mindestens ein Herd cytopathisch veränderter Zellen zu erkennen ist. Die Endablesung erfolgt erst wenn keine Veränderung im Zellrasen mehr festgestellt wird, nach ca. 10-12 Tagen.

Als Titer wird der positive dekadische Logarithmus derjenigen Verdünnung bezeichnet bei welcher statistisch die Hälfte der Ansätze reagiert (Angaben in $\log_{10} \text{KID}_{50}/\text{Testvolumen}$).

Ermittelt wurde dieser Wert nach dem Schätzverfahren von SPEARMAN (1908) und KÄRBER (1931).

$$\log \text{KID}_{50} = (X_0 - d/2 + d \sum r/n) \quad (6)$$

X_0 = dek. Logarithmus der höchsten Verdünnung mit Reaktionsrate 1,0 (alle positiv)

d = \log_{10} des Verdünnungsfaktors

r = Anzahl der Reagenten pro Stufe

n = Anzahl der Replikate pro Stufe

3.2.2 spezielle virologische Methoden

3.2.2.1 Untersuchung auf Bovine Parvoviren

Bovines Parvovirus (Stamm HADEN) wird auf primären bovinen fetalen Lungenzellkulturen (BEL-Zellen) vermehrt.

Als Anzuchtmedium dient DMEM, versetzt mit 10% FKS.

Vor der Virustitration werden die eingefrorenen und wieder aufgetauten Proberöhrchen 20min bei 300 Umdrehungen zentrifugiert, um eventuelle

Partikelreste der Keimträgermembran, die die Zellen mechanisch beschädigen können, auszufällen. Der Virusnachweis erfolgt ebenfalls auf BEL-Zellen, eine Veränderung des Zellrasens durch den cytopathischen Effekt kann bis zu 14 Tagen dauern.

3.2.2.2 Untersuchung auf ECBO-Viren

Das ECBO-Virus (Enteric Cytopathogenic Bovine Orphan, Stamm LCR-4) wird auf bovinen embryonalen Nierenzellkulturen (MDBK-Zellen) vermehrt.

Als Anzuchtmedium dient DMEM, versetzt mit 10% FKS.

Das ECBO-Virus muss vor der Virustitration nicht zentrifugiert werden, da die MDBK-Zellen, auf denen der Virusnachweis erfolgt, wenig anfällig gegenüber Fremdstoffen sind. Die Endablesung des Zellrasens zum Virusnachweis kann nach ca. 7 Tagen erfolgen.

3.3 Parasitologische Untersuchungsmethoden

Eine bereits von LANG (1987), RAPP (1995) und NELSON et al. (2002) beschriebene „Gaze-Sack-Keimträgertechnik“ wurde in der modifizierten Form nach SCHWARZ (2002) für die Tenazitätsversuche mit Askarideneiern verwendet.

Vor Einbringen in den Versuch wurden die Keimträger zusammen mit ca. 10g des behandelten Substrats in handelsübliche Zwiebelsäckchen (Maschenweite 1cm) verpackt. Durch die geringe Maschenweite des Gazematerials ist der Kontakt der Eier zum umgebenen Milieu während des Versuches gegeben ohne dass diese ausgeschwemmt werden können. Nach der Probeentnahme werden die Gaze-Keimträger durch Abspülen von groben Verunreinigungen befreit und bis zur weiteren Bearbeitung in Wasser bei 4°C gelagert.

Die Eier von *Ascaris suum* werden auf ihre Entwicklungsfähigkeit untersucht indem die zurückgewonnenen Keimträger aufgeschnitten werden und der Inhalt in eine Petrischale mit klarem Wasser ausgespült wird. Nach einer Inkubationszeit von 4 Wochen bei 29°C in der feucht zu haltenden Petrischale werden die Eier lichtmikroskopisch auf ihre Entwicklungsfähigkeit überprüft. Als positiv gelten dabei die potentiell entwicklungsfähigen Eier, die das zweite Larvenstadium erreicht haben. Als negativ gelten alle anderen Eier, unabhängig davon ob sie sich noch nicht entwickelt haben oder als zerstörte Reste erkennbar sind (SCHWARZ, 2002).

3.4 Keimträgermethoden

3.4.1 Sandwichkeimträger

Verwendetes Material:

- Phosphate-buffered-saline (PBS s. Anlage)
- Zentapor®Membran³³
- Polycarbonatmembran³⁴

Für die Tenazitätsversuche mit Viren werden von TRAUB et al. (1986) beschriebene und von BRAUMILLER et. al. (2000) modifizierte Sandwichkeimträger verwendet.

Bei der „Filter-Sandwich-Technik“ handelt es sich um eine bereits etablierte Methode, die zum einen ein unkontrolliertes Austreten von Viren verhindert, andererseits aber einen direkten Kontakt der verschiedenen inaktivierenden oder stabilisierenden Substanzen aus der Umwelt mit dem Virus erlaubt (TRAUB et al., 1986).

Außerdem wird eine mögliche Verlängerung der Überlebenszeit von Viren in der Umwelt durch Adsorption an oder Einbettung in suspendierte Partikel durch Nachahmung dieses natürlichen Zustandes berücksichtigt (PESARO et al., 1995). Ermöglicht wird dies durch die Adsorption der Viren an eine spezielle elektropositiv geladene Membran (Zetapor®Membran), die zwischen zwei Polycarbonatmembranen, mit sehr geringer Porengröße ($\varnothing 0,1\mu\text{m}$) eingeschlossen wird (PESARO et al., 1995; SPILLMANN et al., 1987; TRAUB et al., 1986).

Zur Herstellung der Sandwichkeimträger wird zunächst die Virussuspension (3.2.1.2) aufgetaut und mit Phosphat/Beladungspuffer 1:10 verdünnt.

Aus der Zetapor® Membran werden Plättchen mit einem Durchmesser von 15 mm ausgestanzt. Diese werden dann in einen einseitig mit einem Dichtungsring versehenen Filtrationsvorsatz so eingeschraubt, dass die raue Seite nach oben in Richtung des breiteren Stutzens zu liegen kommt. Der Stutzen wird auf einem 25ml enghalsigen Erlenmeyerkolben fixiert. Eine 2ml Einwegspritze wird ohne Kolben auf den so bestückten Stutzen aufgesetzt um dann durch diesen 1ml der verdünnten Virussuspension auf die Membran zu tropfen. Nachdem die Flüssigkeit durch die Membran hindurch getropft ist, wird der Kolben vorsichtig in die Spritze eingeführt und die restliche Flüssigkeit durchgedrückt.

Nun wird die beladene Membran mit einer Membranpinzette aus dem Filterstutzen entnommen und in vorbereitete Polycarbonattütchen eingebracht. Die „Polycarbonattütchen“ wurden zuvor in einer Größe von 2,5 x 5cm ausgeschnitten, in der Mitte gefaltet und an dieser Kante verschweißt. So kann die beladene Zentapor-Membran in das nach drei Seiten geöffnete Briefchen eingeschoben und dieses dann gänzlich verschweißt werden.

Die so hergestellten „Keimträgerbriefchen“ werden bis zum Versuch zwischen mit Aqua. dest. befeuchtetem Zellstoff in einer Petrischale bei 4°C gelagert (HOFERER, 2001).

Das im Erlenmeyerkolben aufgefangene Filtrat und ein Teil des Phosphatpuffer-Gemisches werden abgefüllt, bei -80°C tiefgefroren und später mit den Versuchsproben titriert.

³³ Zentapor® Membrane, Cuno, D-55130 Mainz, Art.Nr. 64085-01-1 MDS

³⁴ Infiltec GmbH, D-67346 Speyer, Art.Nr. 19401

Um die Keimträger einem mechanischen Schutz zu unterziehen werden sie vor dem Einbringen in das Kalk-Substratgemisch zu je drei Parallelproben in handelsübliche Zwiebelsäckchen (Maschenweite 1cm) eingepackt. Die Zwiebelsäckchen wurden zuvor auf eine Größe von 10x10cm zurechtgeschnitten und geschweißt.

Nach der Probeentnahme werden die Keimträger mit Aqua dest. abgespült und zwischen mit Aqua dest. befeuchteten Zellstofflagen zur sofortigen Bearbeitung ins Labor transportiert (s. Pkt. 3.2.1.3. Virusnachweis). Durch diesen Arbeitsschritt kann ein weiteres Einwirken des Versuchsmilieus auf die in den Keimträger eingeschlossenen Viren ausgeschlossen werden.

3.4.2 Gaze-Keimträgertechnik

Wie bereits unter Pkt. 3.3. beschrieben werden für die Tenazitätsversuche mit Askarideneiern die modifizierte „Gaze-Sack-Technik“ nach SCHWARZ (2002) verwendet.

Aus einer Seidengaze³⁵ werden mit einer scharfen Schere ca. 10cm² große Blätter geschnitten. Diese werden in der Mitte gefaltet und jeweils in einem Abstand von ca. 3cm quer zur Faltnaht eine Schweißnaht gesetzt, so dass nach oben offene Tütchen entstehen, wenn die Blätter zwischen den Schweißnähten zerschnitten werden.

In die Gazetütchen wird jeweils 1ml der vorher hergestellten Eisuspension pipettiert. Die Flüssigkeit läuft durch die Gazemembran in die darunter stehende Petrischale und die Eier verbleiben durch die geringe Maschenweite der Gazeseide in den Tütchen.

Die Tüten werden oben mit Kabelbinder verschlossen und können so in Wasser bei 4°C bis zum Versuchsbeginn gelagert werden. Die aufgefangene Flüssigkeit in der Petrischale muss stichprobenartig auf Askarideneier überprüft werden um sicherzustellen, dass die Keimträger dicht verschlossen sind.

Zur Herstellung der Eisuspension werden frische weibliche Spulwürmer von mind. 15cm Länge benötigt. Diese sind am besten vom Schlachthof aus Dünndärmen frisch geschlachteter Schweine zu gewinnen. Nach der Entnahme sollten die Spulwürmer innerhalb nur weniger Tage präpariert werden, da sonst der Uterus durch den eintretenden autolytischen Prozess schon zersetzt ist.

Bei der Präparation werden die Würmer erst längs geteilt, die Bifurcation des Uterus, der fast die gesamte Körperhöhle ausfüllt, aufgesucht und dann das untere Drittel der beiden Uterusschlingen abgetrennt, da sich besonders in diesem eine hohe Anzahl befruchteter Eier befinden. In einer Petrischale mit einem ca. 3mm hohen Wasserfilm werden die Eier mit dem stumpfen Ende einer Pinzette aus dem Uterus ausgestrichen. Die so gewonnene Eiersuspension wird durch einen Gazefilter gespült, damit die Uterusreste von den gewonnenen Eiern getrennt werden. Die aufgefangenen Askarideneier werden in Wasser resuspendiert.

Die Suspension wird anschließend 24h bei 4°C geschüttelt, um eine gleiche Verteilung der Eier aus verschiedenen Spulwürmern zu erhalten. Die auf diese Weise gewonnene Eiersuspension kann bei ca. 4°C ein Jahr für die Herstellung von Keimträgern aufbewahrt werden (SCHWARZ, 2002).

Die durch lichtmikroskopische Auszählung errechnete Konzentration der Eiersuspension sollte ca. 1 Millionen Eier pro ml betragen.

Um die Keimträger einem mechanischen Schutz zu unterziehen werden sie vor dem Einbringen in das Kalk-Substratgemisch zu je zwei Parallelproben in handelsübliche

³⁵ Sefar- AG, Hinterbissastr. 25 PF Schweiz 9410 Heide

Zwiebelsäckchen (Maschenweite 1cm) eingepackt. Die Zwiebelsäckchen wurden zuvor auf eine Größe von 10x10cm zurechtgeschnitten und geschweißt. Nach der Probeentnahme werden die Gaze-Keimträger durch Abspülen mit Wasser von groben Verunreinigungen befreit und bis zur weiteren Bearbeitung in Wasser bei 4°C gelagert. Das Entfernen der Keimträger aus dem Versuchsmilieu erspart eine weitere Neutralisation der Proben.

3.4.3 Stahlkeimträger

Verwendete Medien und Material:

- Stahlkeimträger³⁶
- Glasperlen³⁷
- 70% Propanol
- Aqua dest.
- 0,9% Natriumchlorid-Lösung
- 0,2n NaH₂PO₄

Für die bakteriologischen Versuche an der Praxisanlage wurden, um ein Ausschwemmen der Keime in die Umgebung zu verhindern, Stahl- und Holzkeimträger verwendet. Die Stahlkeimträger entsprechen dem Europäischen Standard für Desinfektionsmittelprüfungen nach CEN (2001 B). In den vorliegenden Versuchen wurden die Keimträger nach den Vorgaben von SCHLACKL (2002) ohne Eiweißbelastung in die Versuche eingebracht.

Die verwendeten Stahlkeimträger haben einen Durchmesser von 2cm und bestehen aus rostfreien Stahlplättchen. Sie werden zur Reinigung in 70%igen Propanol 24 Stunden geschüttelt und dann einzeln mit Aqua dest. abgespült. Direkt im Anschluss daran werden sie zum Trocknen in Petrischalen mit geöffneten Deckeln unter einer Sterilbank (Laminar air Flow) gestellt. Nach einer vollständigen Trocknung erfolgt eine Sterilisierung der Keimträger im Trockensterilisator. Vor Versuchsbeginn werden nun die Keimträger mit 0,05ml einer Bakteriensuspension (s. Pkt. 3.1.1.3) beimpft und mit geöffneten Petrischalendeckel für 60min bei 37°C in einem Brutschrank getrocknet.

Nach der Probenahme werden die Stahlkeimträger mit der kontaminierten Oberfläche nach unten in eine mit 6g Glasperlen und 10ml 0,9%iger Natriumchloridlösung befüllten Schottflasche verbracht. Zusätzlich ist der Natriumchloridlösung zur Neutralisation der Probe 0,2n NaH₂PO₄ zugesetzt. Die Schottflaschen werden 5 min. auf einem Rundschüttler geschüttelt um die anhaftenden Keime zu lösen und den entstandenen pH-Wert der noch anhaftenden Substratgemische an den Keimträgern zu neutralisieren.

Zur Keimzahlbestimmung werden eine dekadische Verdünnungsreihe (siehe Pkt. 3.1.1.1) und der quantitative Nachweis der Bakterien (s. Pkt. 3.1.2.) durchgeführt.

³⁶ Stahlkeimträger, CMB Engineering Group, Blackpole, Worcester, WR3 8HX, UK

³⁷ Glasperle, 3-4 mm Durchmesser

3.4.4 Holzkeimträger

Verwendete Medien und Material:

- Holzkeimträger³⁸
- Caseinpepton-Sojamehlpepton-Lösung (USP)³⁹
- 0,2n NaH₂PO₄

Die verwendeten Holzkeimträger bestehen aus 1mm starken Pappelholz, welche vor Gebrauch auf 20 x 10mm Größe zugeschnitten wurde.

Nach einer 15-minütigen Sterilisation der Keimträger bei 121°C im Autoklav werden 0,1ml einer Bakteriensuspension (siehe Pkt. 3.1.1.3.) auf die in einer sterilen Petrischale befindenden Keimträger aufgebracht. Die anschließende Trocknung erfolgt 60 Minuten bei 37°C im Brutschrank.

Nach der Probeentnahme werden die Holzkeimträger in Reagenzröhrchen mit 10ml USP mit einem Neutralisationszusatz von 0,2n NaH₂PO₄ verbracht und nach dem Durchmischen auf einem Reagenzglasschüttler im Ultraschallbad 5 min. auf Eiswasser beschallt.

Zur Keimzahlbestimmung werden eine dekadische Verdünnungsreihe (siehe Pkt. 3.1.1.1) und der quantitative Nachweis der Bakterien (s. Pkt. 3.1.2.) durchgeführt.

3.5 Physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden

3.5.1 pH-Wert

Verwendete Medien und Material:

- 0,01 molare Calciumchlorid- Lösung⁴⁰
- kalibriertes pH-Meßgerät⁴¹

Der pH-Wert wird elektrometrisch mittels pH-Meter in einer Substratsuspension (0,01 molare Calciumchlorid-Lösung, Verhältnis 1:10) bestimmt. Dazu werden 20g Substrat in 200ml 0,01 molare CaCl₂ -Lösung gegeben und das Gemisch vor der Messung eine Stunde bei 4°C geschüttelt.

3.5.2 Temperaturmessung

Die Temperaturentwicklung im Kalk-Substratgemisch wurde während des gesamten Versuchs mittels eines elektrischen Thermoelementfühlers⁴² gemessen und kontinuierlich aufgezeichnet. Dabei wurde im Kernbereich und im Randbereich der Mischung jeweils ein Temperaturfühler eingebracht.

³⁸ Holz Jung GmbH&CoKG, Gießen,

³⁹ Oxoid, GB-Hampshire, Art. Nr. CM 129

⁴⁰ Carl Roth GmbH&Co 76185 Karlsruhe, Art.Nr. A119.1

⁴¹ Mikroprocessor pH Meter PH 535 Multical® Stälke GmbH D-8120 Weilheim

⁴² Thermoelementfühler, tragbarer K-Typ HI 98804, Hanna Instruments

3.5.3 Trockensubstanzgehaltsbestimmung (TS)

Der Trockensubstanzgehalt der Substratchargen war teilweise sehr unterschiedlich. Aus diesem Grund wurde die Trockensubstanz der Versuchssubstrate erst nach Einwaage und einer Vorvermischung für jeden Versuchsansatz einzeln bestimmt. Die Trockensubstanz wurde nach der Formel (7) bestimmt, indem jeweils 100g Material eingewogen (Einwaage) und zwei Tage bei 105°C getrocknet wurde. Das Gewicht des getrockneten Materials (Auswaage) wurde bestimmt und dadurch die Trockensubstanz des Materials ermittelt.

$$TS\% = \frac{\text{Auswaage}(g) - \text{Leergewicht}(g)}{\text{Einwaage}(g)} \cdot 100\% \quad (7)$$

3.5.4 CaO- Bestimmung

Die CaO-Konzentration wurde komplexometrisch in der Trockensubstanz in Anlehnung an DIN EN 196-2 bestimmt.

3.5.5 Ammoniumbestimmung

Die Ammoniumbestimmung erfolgte in Anlehnung an DIN 38406 E5 und wurde vom Bundesverband der deutschen Kalkindustrie durchgeführt.

3.5.6 Ammoniakmessung

Bioabfälle enthalten unterschiedliche Konzentrationen an Ammoniumverbindungen. Bei der Zugabe von Branntkalk wird dabei Ammoniak gasförmig aus diesen Verbindungen gemäß Reaktionsgleichung (8) freigesetzt.



Der Ammoniakgehalt in der Gasphase wurde in den Praxisversuchen mittels eines handelsüblichen Dräger-Röhrchens gemessen.

3.5.7 Homogenitätsbestimmung

Die Homogenität einer Feststoffmischung hängt vom Grad der Durchmischung (Mischungsgrad) ab. So treten z.B. bei der diskontinuierlichen Herstellung von Feststoffmischungen zu Beginn des Mischvorganges an unterschiedlichen Stellen der Mischung große Unterschiede auf, während das Produkt einer kontinuierlichen Mischung bei konstanten Parametern den gleichen Mischungsgrad aufweist. Eine einfache Methode zur Ermittlung des Mischungsgrad kann über die Bestimmung der Standardabweichung (Mischgüte) eines mischbezogenen Analyseparameters erfolgen (MARTIN et al. 1987; SUCKER, 1991).

Dazu wurden im diskontinuierlichen Mischbetrieb Proben an unterschiedlichen Orten der Mischung (Kern- und Randbereich), und im stationären, diskontinuierlichen,

Betrieb zu unterschiedlichen Zeiten entnommen. Die Proben wurden dann auf die Trockensubstanz als einen aussagekräftigen Analyseparameter untersucht und daraus die jeweilige Mischgüte ermittelt.

$$s = \frac{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2}}{\sqrt{n-1}} \quad (9)$$

Hierbei bedeuten

- n = Anzahl Proben
- s = Standardabweichung
- X_i = Konzentration zum Zeitpunkt i
- \bar{X} = Mittelwert

Die theoretische initiale (=maximale) Standardabweichung (s_{max}) eines zwei-Komponentensystems lässt sich aus der Initialkonzentration (X_0) ebenfalls einfach errechnen:

$$s_{max} = \sqrt{X_0 / \bar{X} (1 - X_0 / \bar{X})}$$

Aus der initialen Standardabweichung und der relativen Standardabweichung s_R

$$s_R = \frac{s}{\bar{X}}$$

kann man nun den Mischungsgrad M bestimmen:

$$M = 1 - \frac{s_R}{s_{max}} \quad (10)$$

Der Mischungsgrad nimmt Werte zwischen 0 und 1 an; hierbei bedeuten

- $M = 1$ ideale Mischung
- $M < 1$ reale Mischung
- $M = 0$ keine Mischung

Bei der Hygienisierung von Biomasse mit Kalk besteht ein linearer Zusammenhang zwischen dem Trockensubstanz-Gehalt und dem Kalkanteil (s. Abb.1). Daher lässt sich aus der einfachen Ermittlung des Trockensubstanz-Gehaltes der Mischungsgrad direkt bestimmen.

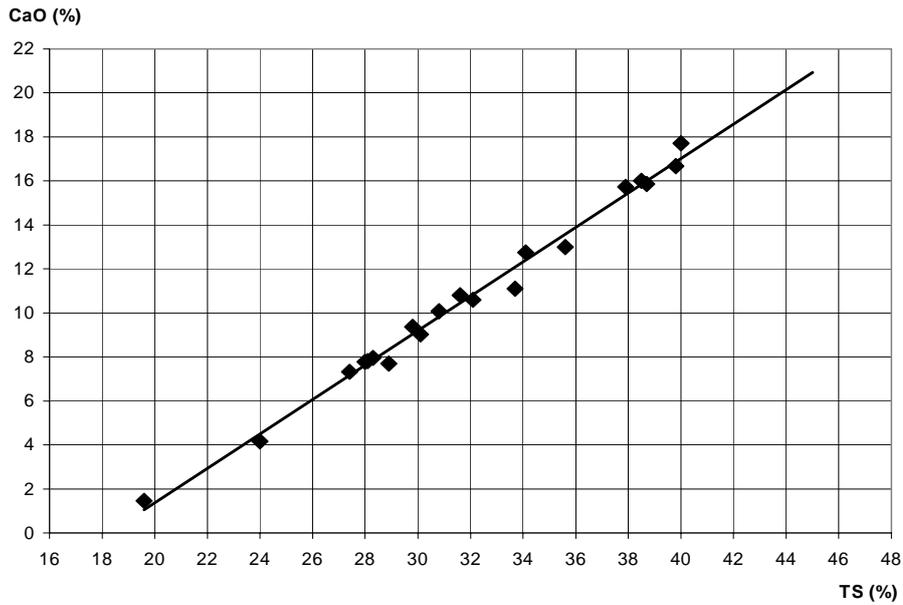


Abb.1: Darstellung des Zusammenhang zwischen Trockensubstanzgehalt und CaO – Gehalt

3.6 Darstellungen der Teilabschnitte

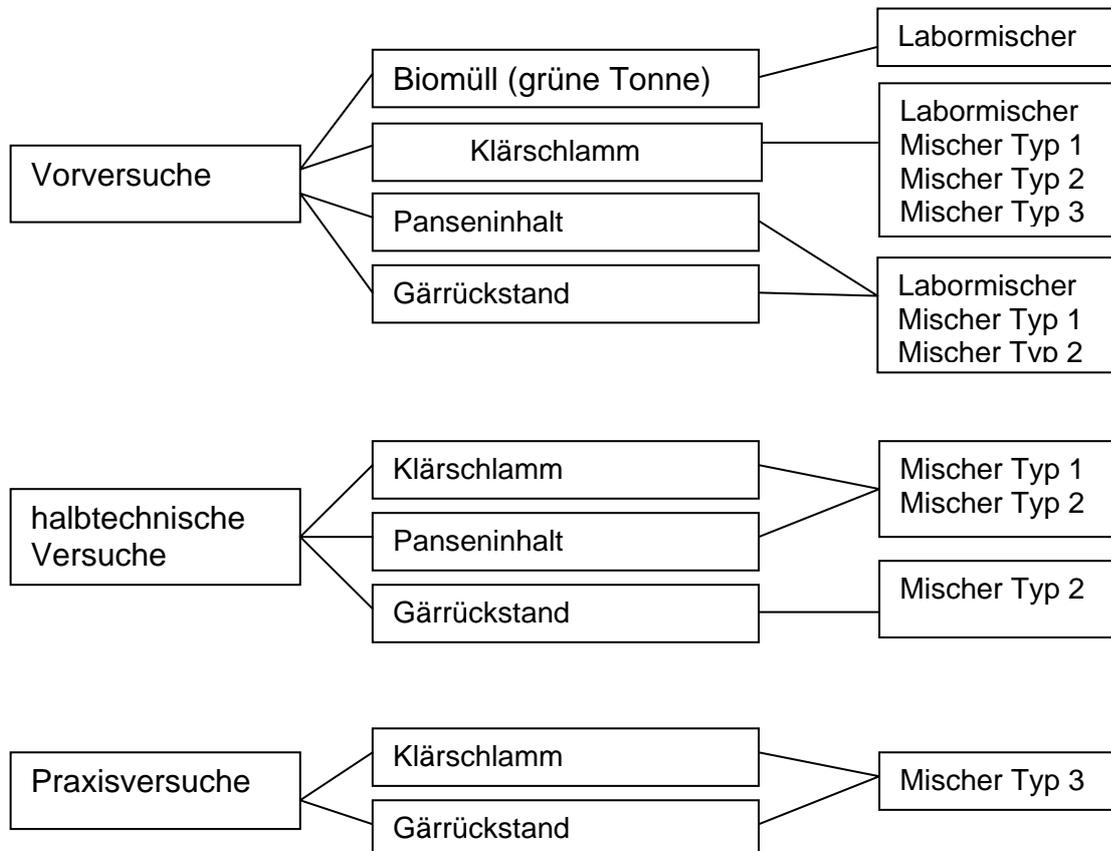


Abb. 2: Darstellung der Arbeitsabschnitte Vorversuche, halbtechnische Versuche und Praxisversuch

Die vorliegenden Untersuchungen wurden in drei Teilabschnitte untergliedert: Vorversuche, halbtechnische und großtechnische Versuche (siehe Abb. 2). In den Versuchsabschnitten wurde mit unterschiedlichen Substraten und Mischaggregaten gearbeitet. Eine detaillierte Ausführung zu den drei Teilabschnitten wird in Kapitel 3.7 (Vorversuche), Kapitel 3.8 (halbtechnische Versuche) und im Kapitel 3.9 (Praxisversuche) gegeben.

3.7 Vorversuche

Im Labormaßstab wurden zunächst Vorversuche durchgeführt, um folgende Sachverhalte als Grundlage für die Hauptversuche überprüfen zu können:

- Hygienische Beschaffenheit der Ausgangsprodukte
- Mischbarkeit des Bioabfalls mit dem Branntkalk
- Homogenität der erzielten Mischungen
- Temperatur- und pH-Wertentwicklung innerhalb des Endproduktes
- Voraussichtliche Kalkbedarfsmengen für die Hauptversuche
- Mögliche Neutralisation der entnommenen Proben
- Basisinaktivierung der Mikroorganismen in den Keimträgern

3.7.1 Hygienische Beschaffenheit der Ausgangsprodukte

Die ausgewählten Versuchssubstrate wurden auf ihren nativen Keimgehalt an Salmonellen, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens* untersucht, um einen Überblick über den Ausgangskeimgehalt der zu untersuchenden Substrate zu erhalten.

3.7.2 Einmischversuche verschiedener Bioabfälle und Branntkalk

In den Einmischversuchen wurden die homogene Einmischung von Branntkalk in die verschiedenen Substrate, der Temperaturverlauf, der pH-Wert und die voraussichtliche Kalkbedarfsmenge für die Hauptversuche überprüft.

Dabei wurden zunächst im Labormaßstab repräsentative Proben entsprechend dem jeweils vorliegenden Trockensubstanzgehalt mit unterschiedlichen Mengen an Branntkalk versetzt, um eine homogene Einmischung des Branntkalks in den Hauptversuchen gewährleisten zu können. Als Mischaggregat diente ein Hobart-Labormischer (Paddelrührer), mit einer Behandlungskapazität von 1kg. Als zweite Stufe wurde mit den halb- und großtechnischen Mischaggregaten (s. Pkt. 3.7.1 und Pkt. 3.8.2) gearbeitet, um einen betriebssicheren Praxisbetrieb darstellen zu können. Durch die Verwendung unterschiedlicher Kalkmengen und der Berücksichtigung der Temperaturentwicklung sowie des pH-Wertanstiegs wurde die Kalkzudosierung für die einzelnen Substrate im halbtechnischen Maßstab ermittelt. Als Maßstab für die Festlegung der Kalkmenge wurde das deutliche Überschreiten der 50°C-Marke bestimmt, da bei dieser Temperatur mit einer Reduktion aller ausgewählten Indikatororganismen gerechnet werden kann.

3.7.2.1 Bioabfall (grüne Tonne)

Die Einmischung des Branntkalkes in Bioabfall (grüne Tonne) wurde im Labormaßstab in zwei Varianten getestet: In den ersten Versuchen wurde mit unbearbeitetem Material gearbeitet, in weiteren Versuchen wurde das inhomogene Material vor der Einmischung in einer Getreidemühle zerkleinert. In den Versuchen wurden jeweils 100g Substrat mit bis zu vier verschiedenen Kalkkonzentrationen vermischt. Der Versuchsablauf wurde 24 Stunden beobachtet und der pH-Wert sowie die Temperatur in bestimmten Zeitintervallen ermittelt.

3.7.2.2 Klärschlamm

In den Einmischversuchen wurde Klärschlamm mit einem Trockensubstanzanteil von 22% und 18% verwendet.

Im Labormaßstab wurden 0,9kg und 1,1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz in jeweils 200g Klärschlamm (TS 22%) eingemischt. Der Versuchsablauf wurde 24 Stunden beobachtet und der pH-Wert sowie die Temperatur in bestimmten Zeitabständen ermittelt. In weiteren Versuchen wurde die homogene Einmischung von Branntkalk in Mischer 1 und 2 überprüft, dabei wurde Klärschlamm mit 18% und 22% Trockensubstanz verwendet. Die Kalkzudosierung betrug 0,9kg und 1,1kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz. Der jeweilige Versuchsaufbau für die Mischer ist im Kapitel 3.7.2. beschrieben.

Im Mischer 3 wurde ein Versuch mit Klärschlamm (TS-Gehalt 22%) durchgeführt. Bei diesem Einmischversuch wurde der Klärschlamm manuell in eine integrierte Austragsschnecke befüllt; diese sollte den Klärschlamm dann kontinuierlich in das Mischaggregat befördern. Der Branntkalk wurde mittels eines Trockendosiersystems aus einem Silo direkt in den Einlaufrichter des Mischaggregates dosiert.

3.7.2.3 Panseninhalt

Mit dem Substrat Panseninhalt wurden im Labormischer und in den Mischern 1 und 2 Einmischversuche durchgeführt.

In den Laborversuchen und in den Versuchen mit dem Mischer 1 hatte der verwendete Panseninhalt einen Trockensubstanzanteil von 28% und einen pH-Wert von 8. Im Labormaßstab wurde mit 200g und im Mischer 1 mit 10kg Material gearbeitet. Bei den Einmischversuchen im Mischer 2 wurden jeweils 10 kg Panseninhalt mit einem Trockensubstanzanteil von 16% und 28% verarbeitet.

Der Versuchsablauf wurde 24 Stunden beobachtet und der pH-Wert sowie die Temperatur in bestimmten Zeitabständen ermittelt.

3.7.2.4 Gärrückstand

Mit dem Substrat Gärrückstand wurden zum einem Versuche im Labor mit 200g und zum anderen Versuche im Mischer 2 mit 20kg Substrat durchgeführt. Bei beiden Versuchansätzen wurde jeweils mit den Kalkmengen 0,6kg, 0,8kg und 1,1kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz gearbeitet.

Im Labormaßstab wurden dabei zusätzlich vier weitere Kalkmengen (0,1kg - 0,5kg CaO/kg TS) verwendet. Der Versuchsablauf wurde 24 Stunden beobachtet und der pH-Wert sowie die Temperatur in bestimmten Zeitabständen ermittelt.

3.7.2.5 Rindermist

Um die Möglichkeit der Verarbeitung inhomogener Substrate im Mischer 2 zu testen, wurde zusätzlich zum Panseninhalt mit Rindermist gearbeitet. Es wurden drei unterschiedliche Rindermistchargen verwendet. Im Versuch I und II wurde ein sehr strohhaltiges Substrat (Strohstücke bis zu 15cm lang) verarbeitet, es hatte eine Trockensubstanz von 32%. Der dritte Versuch wurde mit sich in Rotte befindlichem Mist aus einem Ziegenlaufstall durchgeführt, dieses Substrat hat eine Trockensubstanz von 29%.

In den drei Versuchen wurde mit jeweils ca. 5kg Substrat und einer Einmischzeit von 15-20 min. gearbeitet. Der Messerkopf des Mixers 2 wurde mit 1500 und 3000 U/min betätigt.

3.7.3 Versuche zur Neutralisation der gekalkten Substrate

Vor Beginn der Tenazitätsversuche im halbtechnischen Maßstab mussten im Labor Neutralisationsversuche durchgeführt werden, damit sichergestellt ist, dass die festgestellte Reduktion der beurteilten Bakterien während der Kontaminationszeit im Kalk-Substrat-Gemisch erfolgt ist und nicht erst in den weiteren Schritten des diagnostischen Nachweises.

Die gekalkten Proben wurden nach den vorgeschriebenen Methoden zur Untersuchung der entsprechenden Bakterien in die Nährbouillons eingewogen, es erfolgte dabei immer ein Vergleich zwischen einem Ansatz ohne Neutralisationszusätze (Nullprobe) und unterschiedlichen Neutralisationsmethoden.

Der pH-Wert wurde direkt nach dem Einmischen, nach zwei und nach 24 stündiger Inkubation der Proben gemessen. Im anaeroben Milieu konnte keine pH-Wertmessung erfolgen, aus diesem Grund erfolgte in der Fluid-Thioglycollat-Bouillon keine Messung nach zwei Stunden Inkubation.

3.7.4 Versuche zur Basisinaktivierung der Mikroorganismen

Vor Beginn der Tenazitätsversuche im halbtechnischen Maßstab wurden die Keimträger in unbehandeltes Substrat verbracht und die Keimzahl nach unterschiedlichen Zeitspannen kontrolliert, damit sichergestellt ist dass die festgestellte Keimzahl-Reduktion aufgrund der Reaktion des Substrates mit dem Branntkalk erfolgte und nicht durch den alleinigen Kontakt mit den Versuchssubstraten. Weiterhin wurden die Keimträger bis zu vier Wochen im Kühlschrank gelagert, um eine durch längere Lagerung hervorgerufene Keimzahlreduzierung nachweisen zu können.

3.8 Versuche im halbtechnischen Maßstab

Sowohl die halbtechnischen Versuche, wie auch die großtechnischen Versuche sollten im kontinuierlichen Betrieb im Mischer 3 durchgeführt werden. In den Vorversuch stellte sich jedoch heraus, dass einige Einsatzmaterialien von so problematischer Konsistenz waren (Panseninhalt, Rindermist), dass sie zu Verstopfung in der Exzentrerschnecke des Mixers 3 führten. Außerdem bestand bei den genannten Substraten die Gefahr des Eintrags von Steinen, die zu einer Beschädigung des Aggregates geführt hätten.

Damit in den halbtechnischen Versuchen trotzdem die Einsatzmöglichkeit von Branntkalk zur einwandfreien Hygienisierung für alle zu untersuchenden Substrate unter vergleichbaren Bedingungen durchgeführt werden konnte, wurde als Alternative auf diskontinuierliche Mischer zurückgegriffen.

3.8.1 Mischaggregate

*Mischer 1: Freifallmischer*⁴³

Drehtrommel mit eingebauten Schikanen
V = 145 l

*Mischer 2: Chargenmischer*⁴⁴

Ein Schleuderwerk mit 2 Pflugscharschaufeln
und eingebautem Messerkopf
V = 130 l; Nutzvolumen = 40-90 l;
Messerkopf: Hakenmesser; 1500-3000 U/min



Bild 1: Photographie des Mixers 2

⁴³ handelsüblicher Betonmischer

⁴⁴ Chargen Mischer FM 130 D, Gebrüder Lödige Maschinenbau GmbH, D-33102 Paderborn

Der Mischer 2 besteht aus einer horizontalen Trommel mit eingebautem Schleudernetzwerk und pflugscharförmigen Mischerelementen. Zum Aufschließen von vorhandenen oder sich aufbauenden Agglomeraten ist in die Mischtrommel ein separat angetriebener Mehrstufen-Messerkopf eingebaut.

3.8.2 Versuchsaufbau

In den halbtechnischen Versuchen wurden 10 - 20 kg Substrat, je nach Volumen des eingesetzten Substrats, manuell in das jeweilige Mischaggregat eingebracht und mit der erforderlichen Branntkalkmenge vermischt. Die Aufenthaltszeit im Mischer 1 betrug 10min., um eine optische homogene Mischung zu erzeugen. Der Mischer 2 wurde ca. 2 min bei 80-100 U/min und wahlweise mit dem Messerkopf bei 1500 U/min betrieben.

Das Kalk-Substrat-Gemisch wurde anschließend in 60l Plastikfässer umgefüllt, damit der Temperaturverlauf während des gesamten Versuches verfolgt werden konnte. Ein Temperaturfühler wurde im Kernbereich und einer im Randbereich (3-10cm Tiefe) des Substrates angebracht war. Der pH-Wert wurde in regelmäßigen Zeitabständen ermittelt.

Für die Tenazitätsversuche wurden die Bakterien als Suspension direkt mit den Substraten vermischt, die Askarideneier und die Viren wurden nach dem Mischen in Keimträgern zugegeben. Die Probenahme (zweifacher Ansatz) erfolgte immer aus dem Kernbereich der jeweiligen Mischung, soweit wie möglich erfolgte dabei zusätzlich eine Probenahme (zweifacher Ansatz) im Randbereich (3-10cm Tiefe). Vor der Einmischung des Kalkes wurde jeweils durch einer Null-Probe (zweifacher Ansatz) der Ausgangskeimgehalt des Substrats überprüft.

Bei den Tenazitätsversuchen mit Viren bestand jede entnommene Probe aus jeweils drei Keimträgern. Der Ausgangskeimgehalt der Viren wurde durch eine Direktelution bestimmt, in dem beim Beimpfen der Keimträger zwei Keimträger direkt zum Virusnachweis vorbereitet wurden.

3.8.3 Substrate

Als Substrate für die halbtechnischen Versuche wurden Klärschlamm, Gärrückstand und Panseninhalt ausgewählt.

Der Klärschlamm stammte aus einer Kläranlage in Süddeutschland und wurde durch eine Siebbandpresse auf einen Trockensubstanzgehalt von 22% gebracht; weitere Zusätze waren nicht vorhanden.

Der Panseninhalt kommt aus einem Schlachthof Nordwürttembergs und hat je nach Leistung des Entwässerungsaggregates einen Trockensubstanzanteil von 16% bis 28%.

Der Gärrückstand wurde von einer Biogasanlage in Bayern zu Verfügung gestellt. Er hatte nach der Entwässerung einen Trockensubstanzgehalt von 25% bzw. 30%. Die Anaerobanlage verwertet Bio- und Speiseabfälle und wird im thermophilen (55-60°C) Temperaturbereich betrieben.

3.8.4 Testorganismen

Im Einzelnen wurden bei den halbtechnischen Versuchen folgende ausgewählte Indikatorkeime verwendet:

- *Salmonella senftenberg* W 775 (H₂S positiv), DSM⁴⁵10062, SIT⁴⁶100
- *Salmonella senftenberg* W 775 (H₂S negativ), DSM 10062, SIT 112
- *Escherichia coli*, DSM 498, SIT 63
- *Enterococcus faecium*, DSM 2146, SIT 13
- *Clostridium perfringens*, DSM 765
- Bovines Parvovirus (BPV, Stamm Haden)
- ECBO (enteric cytopathogene bovine orphan)
- Askarideneier (*Ascaris suum*)

3.8.5 Branntkalk (CaO)

Für alle Versuche wurde ein handelsüblicher Weißfeinkalk (Baukalk CL 90) mit einem Calciumoxidgehalt von 93,7% verwendet. Die Reaktivität des Kalkes, bestimmt mittels Nasslöschkurve nach EN 459-2, lag bei einem t60-Wert von 2,5 Minuten und bei einer maximalen Temperatur von T_{max} = 73°C. Die Schüttdichte betrug 0,95 kg/l und die Siebanalyse nach DIN 4188 ergab folgende Verteilung:

| | | |
|----------|---|-----|
| 0,63 mm | - | 0% |
| 0,1 mm | - | 6% |
| 0,063 mm | - | 18% |
| 0,04 mm | - | 29% |

3.9 Praxisversuche

Nach Beendigung der halbtechnischen Versuche wurden die dort gewonnenen Erkenntnisse auf die Praxisversuche übertragen. Zu diesem Zweck wurde das kontinuierlich zu beschickende Mischaggregat, Mischer 3, zunächst direkt hinter die Siebandpresse einer Kläranlage in Südbaden geschaltet und der anfallende Klärschlamm kontinuierlich mittels Förderband über die Mischstrecke geführt.

Als zweites Substrat für die Praxisversuche wurden Gärrückstände eingesetzt, da das ursprünglich angedachte Substrat Panseninhalt zu Verstopfung und Beschädigung der Excenterschneckenpumpe geführt hätte. Die Gärrückstände besaßen eine pumpbare Konsistenz, so dass sie kontinuierlich in das Mischaggregat gefördert werden konnten.

3.9.1 Mischaggregat

Mischer 3: Paddelmischer mit nachgeschalteter Excenterschneckenpumpe⁴⁷
Durchsatz: 0,3 – 1 m³/h

⁴⁵ Deutsche Stammsammlung für Mikroorganismen

⁴⁶ Stammsammlung des Instituts für Umwelt- und Tierhygiene(460)der Universität Hohenheim

⁴⁷ Fa. Seepex, D-46240 Bottrop

Das Mischaggregat besteht im oberen Teil aus zwei gegeneinander laufenden Paddelwellen, die eine Brückenbildung von Substrat und Kalk verhindern sollen. Unterhalb dieses Paddelmischers ist eine Schnecke angeordnet, die in eine Excenterpumpe mündet (Bild 1). Die Pumpe ist mit einer Steuereinheit ausgerüstet, die einen Niveau-Geregelten Betrieb ermöglicht. Am Austrag der Excenterschneckenpumpe ist ein Temperaturfühler (Pt 100) installiert, der direkten Kontakt mit dem Fördermedium hat.

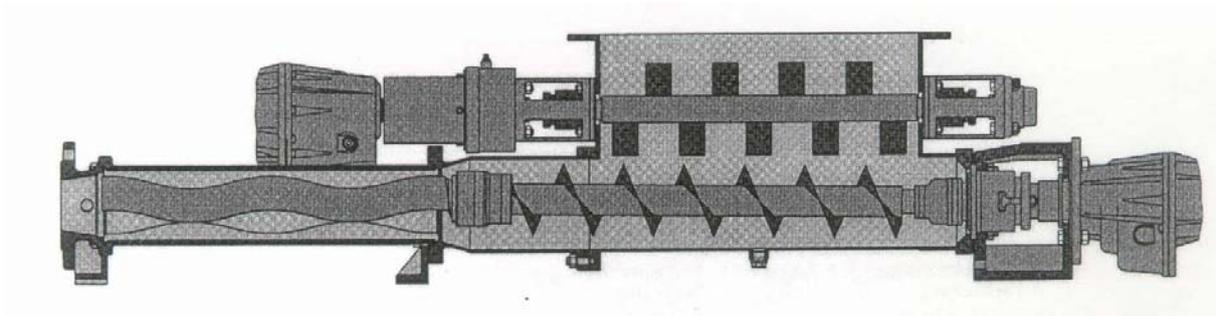


Bild 2: Schemazeichnung des Mischers 3

3.9.2 Versuchsaufbau

Das Mischaggregat wurde kontinuierlich mit dem entsprechenden Substrat (Klärschlamm aus einer Siebbandpresse bzw. Gärrückstand aus einer Schneckenpresse) beschickt. Es wurde die jeweils maximal mögliche Beschickungsmenge von 450 – 500 kg/h eingestellt. Die Dosierung von Branntkalk erfolgte temperaturabhängig aus einem handelsüblichen Silo (5m³) mittels Flachbodenaustrag und flexiblem Feindosierer direkt in den Zulaufstrom des Substrates.

Die Substrat- und Kalkzuführung wurde nach dem Füllstand geregelt, so dass die Durchsatzmenge in Anhängigkeit von den zugeführten Stoffströmen variiert wurde. Dabei wurde der Zufluss des Substrates immer konstant gehalten und die Kalkmenge für die einzelnen Versuchseinstellungen variiert. Somit stand ein Mischvolumen von 50l zu Verfügung (SCHIRM et al., 2003).

Das Substrat-Kalk-Gemisch wurde in einer Radladerschaufel aufgefangen und zu einem Haufwerk aufgetürmt. In den ersten drei Praxisversuchen (Versuche KS I-III) wurde aus dem Haufwerk der Radladerschaufel ein separater Substrathaufen gebildet, so dass die eingebrachten Keimträger erst ca. eine halbe Stunde nach der Einmischung mit dem Kalk-Substrat-Gemisch in Kontakt kamen. Der Temperaturverlauf wurde in der ausgetragenen Mischung während des gesamten Versuches automatisch gemessen, wobei immer ein Temperaturfühler im Kernbereich und einer im Randbereich (2-10cm Tiefe) angebracht wurde. Die pH-Wert-Bestimmung erfolgte in regelmäßigen Zeitabständen.

Für die Tenazitätsversuche wurden die Bakterien auf Holz- und Stahlkeimträger, die Askarideneier in Gazesäckchen und die Viren in Sandwichkeimträgern in die Mischung eingebracht. Um die Probeentnahme zu erleichtern wurden die Keimträger

jeweils für eine Probenahme in 10 x 10cm große Säckchen verpackt. Diese Säckchen wurden zuvor aus handelsüblichen Zwiebelsäcken, Maschenweite 1cm, zurechtgeschnitten und geschweißt. Die Probeentnahme (zweifacher Ansatz) erfolgte aus dem Kernbereich der Mischung, soweit wie möglich erfolgte dabei zusätzlich eine Probenahme (zweifacher Ansatz) im Randbereich (3-10cm Tiefe). Vor der Einmischung des Kalkes wurde jeweils durch einen Null-Probe (zweifacher Ansatz) der Ausgangskeimgehalt des Substrats überprüft. Bei den virologischen Tenazitätsversuchen bestand jede entnommene Probe aus jeweils drei Keimträgern. Der Ausgangskeimgehalt der Viren wurde durch eine Direktelution bestimmt, in dem beim Beimpfen der Keimträger zwei Keimträger direkt zum Virusnachweis vorbereitet wurden.

3.9.3 Versuchssubstrate

Als Versuchssubstrate für die großtechnischen Versuche wurden Klärschlamm und Gärrückstand ausgewählt.

Der Klärschlamm stammt aus einer Kläranlage in Südbaden und wurde durch eine Siebandpresse auf einen Trockensubstanzgehalt von 18 - 20% gebracht; weitere Zusätze waren nicht vorhanden. Der Ammoniumgehalt des Klärschlammes lag bei 0,6 - 0,8% bezogen auf den Trockensubstanzgehalt.

Der Gärrückstand stammt aus einer mesophilen (33 – 37°C) Biogasanlage in NRW und wurde mittels Schneckenpresse auf einen Trockensubstanzgehalt von 17 – 19% gebracht. Der Ammoniumgehalt des Gärrückstandes lag bei 1,8 – 2,2% bezogen auf den Trockensubstanzanteil.

3.9.4 Testorganismen

Im Einzelnen wurden bei den großtechnischen Versuchen folgende ausgewählte Indikatorkeime verwendet:

- *Salmonella senftenberg* W 775 (H₂S positiv), DSM⁴⁸10062, SIT⁴⁹100
- *Salmonella senftenberg* W 775 (H₂S negativ), DSM 10062, SIT 112
- *Enterococcus faecium*, DSM 2146, SIT 13
- Bovines Parvovirus (BPV, Stamm Haden)
- Askarideneier (*Ascaris suum*)

3.9.5 Branntkalk (CaO)

Für alle Versuche wurde ein handelsüblicher Weißfeinkalk (Baukalk CL 90) mit einem Calciumoxidgehalt von 93,7% verwendet (s. Pkt. 3.8.5).

⁴⁸ Deutsche Stammsammlung für Mikroorganismen

⁴⁹ Stammsammlung des Instituts für Umwelt- und Tierhygiene(460)der Universität Hohenheim

4. Ergebnisse

4.1 Ergebnisse der Vorversuche

4.1.1 Hygienische Beschaffenheit der Substrate

Die ausgewählten Versuchssubstrate wurden auf ihren nativen Gehalt an Salmonellen, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens* (Sporen und vegetative Form) untersucht.

Tab.5: Darstellung des Gehaltes (KBE/g) an nativen Salmonellen, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens* in unterschiedlichen Klärschlammchargen

| | E.coli | FKS | Salm. | Clost.perf. Sporen | Clost.perf. veg. |
|-------------------|-----------------|-----------------|--------------|---------------------------|-------------------------|
| Charge 1 | 9,30E+03 | 1,50E+04 | neg | 4,60E+02 | 4,30E+03 |
| Charge 2 | 2,30E+05 | 2,30E+05 | qual. pos. | 3,20E+03 | 2,30E+03 |
| Charge 3 | 4,30E+04 | 2,30E+04 | neg. | 7,60E+02 | 1,50E+03 |
| Mittelwert | 9,41E+04 | 8,93E+04 | | 1,47E+03 | 2,70E+03 |

Legende:

FKS: Fäkalstreptokokken

Salm.: Salmonellen

Clost .perf. veg.,.: Vegetative *Clostridien perfringens*

qual.pos: qualitativer Nachweis positiv, quantitativer Nachweis negativ

n.n. nicht (mehr) nachweisbar

KBE/g : Koloniebildene Einheiten

Tab.6: Darstellung des Gehaltes (KBE/g) an nativen Salmonellen, Fäkalstreptokokken, *E-coli* und *Clostridium perfringens* in unterschiedlichen Panseninhaltchargen

| | E-coli | FKS | Salm. | Clost.perf. Sporen | Clost.perf. veg. |
|-------------------|-----------------|-----------------|--------------|---------------------------|-------------------------|
| Charge 1 | 9,20E+00 | 3,60E+04 | neg. | 4,30E+02 | 2,30E+03 |
| Charge 2 | 2,30E+05 | 2,30E+04 | 2,30E+04 | 2,10E+01 | 4,30E+02 |
| Charge 3 | 1,50E+05 | 2,10E+05 | neg. | 2,30E+01 | 2,3E+02 |
| Charge 4 | 1,50E+04 | 4,30E+05 | neg. | qual.pos. | 1,50E+01 |
| Charge 5 | 1,50E+04 | 4,30E+05 | qual. pos. | qual.pos. | 1,50E+01 |
| Charge 6 | 9,30E+02 | 9,30E+04 | qual. pos. | 1,50E+02 | 4,30E+03 |
| Mittelwert | 6,58E+04 | 2,05E+05 | | 1,05E+02 | 1,22E+03 |

Legende: siehe Tabelle 5

Tab.7: Darstellung des Gehaltes (KBE/g) an nativen Salmonellen, Fäkalstreptokokken, *E-coli* und *Clostridium perfringens* in unterschiedliche Gärrückstandchargen

| | E-coli | FKS | Salm. | Clost.perf. Sporen | Clost.perf. .veg |
|-------------------|---------------|-----------------|--------------|---------------------------|-------------------------|
| Charge 1 | n.n. | 4,30E+02 | neg. | 4,30E+03 | 9,30E+02 |
| Charge 2 | n.n. | 2,30E+02 | neg. | neg. | neg. |
| Charge 3 | n.n. | 9,30E+03 | neg. | 2,30E+02 | 9,30E+01 |
| Mittelwert | n.n. | 3,32E+03 | | 1,51E+03 | 3,42E+02 |

Legende: siehe Tabelle 5

Anhand der Tabellen 5-7 ist ersichtlich, dass die untersuchten Keime in sehr unterschiedlichen Konzentrationen in den jeweiligen Substraten und Chargen vorkommen.

In den Klärschlammchargen wurden im Durchschnitt ein Keimgehalt an *E.coli* und Fäkalstreptokokken von 10^4 KBE/g nachgewiesen. *Clostridium perfringens*-Sporen und vegetativen *Clostridium perfringens* waren bis zu einem Keimgehalt von 10^3 KBE/g nachzuweisen. In einer Klärschlammprobe wurden Salmonellen gefunden. Von den sechs untersuchten Panseninhaltsproben waren drei Salmonellen-positiv, der Höchstgehalt betrug dabei 10^4 KBE/g. In den Panseninhaltsproben wurde ein Keimgehalt an *E.coli* und Fäkalstreptokokken bis zu 10^5 KBE/g nachgewiesen. Der Gehalt an vegetativen *Clostridium perfringens* lag bei 10^3 KBE/g und der versporteten *Clostridium perfringens* bei 10^2 KBE/g.

In den Gärrückstandchargen waren weder *E.coli* noch Salmonellen nachzuweisen. Fäkalstreptokokken und *Clostridium perfringens*-Sporen wurden bis 10^3 KBE/g nachgewiesen.

4.1.2 Einmischversuche mit den verschiedenen Bioabfällen und Branntkalk

In den Einmischversuchen wurden die homogene Vermischung der Substrate mit Branntkalk, der Temperaturverlauf, der pH-Wert und die voraussichtlich benötigte Kalkmenge für die Hauptversuche ermittelt. Dabei wurde versucht, eine Temperaturerhöhung auf ca. 50°C zu erreichen.

4.1.2.1 Bioabfall (grüne Tonne)

Der Bioabfall (grüne Tonne) mit einem TS-Gehalt von 37% und einem pH-Wert von 5,3 wurde sowohl unzerkleinert als auch zerkleinert in einem Labormischer mit Branntkalk vermischt. Dabei konnte jedoch in beiden Fällen keine homogene Mischung erzielt werden. In allen Versuchen lagen optisch sichtbar gut vermischte Bereiche neben weniger gut durchmischten vor, so dass keine weiteren Versuche mit diesem Substrat vorgenommen wurden.

Tab.8: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit unterschiedlichen Branntkalkmengen versetztem unzerkleinerten Bioabfall

| | Zeit | 0 | 30 min. | 1h | 2h | 3h | 24h |
|---------------------------------------|----------|-----|---------|------|------|------|------|
| 100g Probenmaterial | | | | | | | |
| Versuch I 0,1kg CaO /kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 21 | 21 | 21 | 19 |
| | pH-Wert | 5,3 | 12,8 | 12,8 | 12,1 | 12,7 | 9,6 |
| Versuch II 0,12kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 21 | 21 | 21 | 19 |
| | pH-Wert | 5,3 | 13 | 13 | 13 | 12,7 | 12,7 |
| Versuch III 0,2kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 22 | 22 | 21 | 19 |
| | pH-Wert | 5,3 | 12,9 | 13 | 13,1 | 12,9 | 12,5 |
| Versuch IV 0,3kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 22 | 22 | 21 | 19 |
| | pH-Wert | 5,3 | 13,1 | 13,1 | 13 | 12,9 | 12,6 |
| 1000g Probenmaterial | | | | | | | |
| Versuch V 0,12kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 22 | 26 | 25 | 20 |
| | pH-Wert | 5,3 | 12,9 | 12,6 | 12,7 | 12,5 | 11 |
| Versuch VI 0,2kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 25 | 28 | 30 | 21 |
| | pH-Wert | 5,3 | 12,6 | 12,7 | 12,6 | 12,7 | 12,9 |

Mit dem unzerkleinerten Substrat wurden insgesamt 6 Versuche durchgeführt. In den Versuchen I-IV wurde mit je 100g Probenmaterial und den Kalkmengen 0,1kg, 0,12kg, 0,2kg und 0,3kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz gearbeitet. Bei den Versuchen V und VI wurde ein kg Probematerial und die Kalkmengen 0,12kg und 0,2kg CaO/Kg TS verwendet.

In den Versuchen I-IV wurde eine Temperaturerhöhung von 3°C und ein pH-Wert von > 12,7 gemessen. Bei der Verwendung von einem Kilogramm Material konnten Temperaturen bis 30°C festgestellt werden. Der pH-Wert wurde dabei bei den Versuchen II-IV und Versuch VI über 24 Stunden > pH 12 gehalten (Tab. 8).

Der zerkleinerte Bioabfall wurde mit den Kalkmengen 0,1kg, 0,12kg, 0,2kg und 0,3kg CaO/kg TS vermischt. In Versuch I und II wurde eine Temperaturerhöhung von 3°C gemessen. Die ermittelte maximale Temperatur betrug im Versuch V 26°C und im Versuch IV 30°C. Der erreichte pH-Wert von > 12,5 konnte in den Versuchen II-IV über 24 Stunden gehalten werden (Tab. 9).

Tab. 9: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit unterschiedlichen Branntkalkmengen versetztem zerkleinerten Bioabfall

| | Zeit | 0 | 30 min | 1h | 2h | 3h | 24h |
|---------------------------------------|----------|-----|--------|------|------|------|------|
| Versuch I 0,1kg CaO /kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 22 | 22 | 20 | 19 |
| | pH-Wert | 5,3 | 12,7 | 12,9 | 12,8 | 12,9 | 11 |
| Versuch II 0,12kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 22 | 22 | 20 | 19 |
| | pH-Wert | 5,3 | 12,6 | 12,8 | 12,7 | 12,7 | 12,6 |
| Versuch III 0,2kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 21 | 24 | 26 | 20 |
| | pH-Wert | 5,3 | 12,9 | 13 | 12,9 | 13 | 12,7 |
| Versuch VI 0,3kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 25 | 27 | 30 | 28 | 21 |
| | pH-Wert | 5,3 | 12,9 | 13 | 13 | 13 | 12,7 |

4.1.2.2 Klärschlamm

Der verwendete Klärschlamm wies zunächst einen Trockensubstanzanteil von 22% und einen pH-Wert von 8 auf. Mit diesem Substrat wurden Versuche im Labormischer, im Mischer 1 und im Mischaggregat 3 durchgeführt.

Es stellte sich heraus, dass zur Erreichung einer Mindesttemperatur von 50°C im Labormischer eine Kalkmenge von 0,9kg CaO/kg TS benötigt wurde. Die gleiche Kalkmenge ergab im halbtechnischen Maßstab (Mischer 1) eine Temperaturerhöhung auf 58°C (Abb.3). Der pH-Wert der Mischung lag in beiden Fällen > 12,5 und wurde auch über den gesamten Beobachtungszeitraum auf diesem Niveau gehalten. Eine Erhöhung der Branntkalkmenge auf 1,1kg CaO/kg TS ergab keine wesentliche Temperatursteigerung, im Labormischer betrug die maximal Temperatur 52°C und im Mischer 1 62°C. In beiden Mixchern konnte eine homogene Kalk-Substrat-Mischung hergestellt werden, wobei es im Mischer 1 zu einer leichten Ballenbildung (ca. 1cmØ) des Substrates kam.

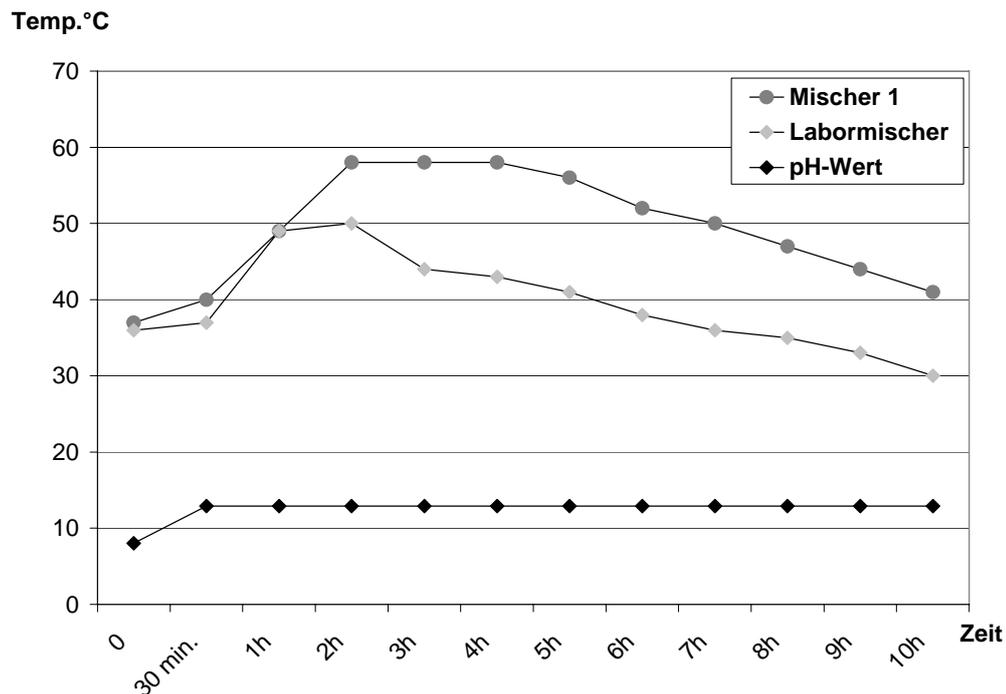


Abb. 3: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 0,9kg CaO/kg TS im Labormischer und im Mischer 1 (halbtechnisch)

Bei Versuchen mit Klärschlamm, der einen Trockensubstanzgehalt von 18% aufwies, zeigte sich sowohl im Labormischer als auch in den halbtechnischen Mixchern (1 und 2) eine ungleichmäßige Vermischung mit Kalk. Ein Teil des durch die Mischbewegungen schmierig gewordenen Klärschlammes blieb an den Mischorganen des jeweiligen Mixchers kleben. Im Mischer 1 kam es dabei zusätzlich zur vermehrten Ballenbildung. Die gebildeten Substratballen hatten einen Durchmesser von ca. 10cm.

Nachdem das entwickelte Mischaggregat 3 mit der dazugehörigen Förder- bzw. Transporteinrichtung des Kalkes auf dem Gelände der Universität Hohenheim installiert war, wurde ein Probeversuch mit Klärschlamm (TS 22%) gefahren. In diesem Versuch stellte sich heraus, dass die Maschine für einen diskontinuierlichen Betrieb nicht geeignet ist und inhomogene strukturreiche Substrate (Panseninhalt, Mist) nicht in ihr verarbeitet werden können.

4.1.2.3 Panseninhalt

Mischversuche wurden mit dem Substrat Panseninhalt, mit unterschiedlichen Trockensubstanzgehalten, im Labormaßstab und im halbtechnischen Maßstab (Mischer 1 und 2) durchgeführt.

Der Panseninhalt mit einem TS Gehalt von 28% wurde im Labormischer mit drei unterschiedlichen Kalkzugaben 0,7kg, 0,9kg und 1kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz vermischt. Dabei wurde festgestellt, dass sich das langfaserige Substrat immer wieder in den Paddelrührer verhakte. Nur durch manuelle Nachhilfe konnte ein homogenes Gemisch erzeugt werden.

Mit 0,7kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz wurde nach drei Stunden eine maximale Temperatur von 42°C gemessen, mit 0,9kg CaO/kg TS 57°C und mit 1kg Kalk pro kg Trockensubstanz nach zwei Stunden eine maximale Temperatur von 69°C. Der pH-Wert lag während des gesamten Untersuchungszeitraumes über 12 (Tab. 10).

Tab.10: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit unterschiedlichen Branntkalkmengen im Labormischer versetztem Panseninhalt

| | Zeit | 0 | ½ h | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 24h |
|-------------------------|----------|----|------|------|------|------|------|------|------|
| 0,7kg CaO /kg TS | Temp. °C | 20 | 30 | 33 | 39 | 42 | 38 | 30 | 22 |
| | pH-Wert | 8 | 12 | 12,2 | 12,3 | 12,6 | 12,4 | 12,3 | 12,1 |
| 0,9kg CaO/kg TS | Temp. °C | 20 | 30 | 34 | 46 | 57 | 53 | 50 | 22 |
| | pH-Wert | 8 | 12,6 | 12,8 | 12,7 | 12,7 | 12,5 | 12,6 | 12,6 |
| 1kg CaO/kg TS | Temp. °C | 20 | 32 | 40 | 69 | 62 | 50 | 45 | 23 |
| | pH-Wert | 8 | 12,9 | 13 | 12,9 | 13 | 12,8 | 12,8 | 12,7 |

Bei den Versuchen im Mischer 1 mit Panseninhalt mit 28% TS kam es zu Zusammenballungen, die einen Durchmesser bis zu 10 cm aufwiesen. Diese bestanden außen aus einem schmierigen Kalk-Substrat-Gemisch und im Kern aus unvermishtem Panseninhalt. Nach drei Stunden entstand in diesen Ballen ein fauliger Geruch, nach ein paar Tagen kam es zu Schimmelbildungen.

Die Einmischversuche im Mischer 1 wurden mit einer Kalkzugabe von 0,9kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz durchgeführt, dabei wurden maximale Temperaturen von 65°C und 77°C gemessen. In den gebildeten Zusammenballungen konnten nur Temperaturwerte bis 43°C gemessen werden. Der pH-Wert lag während des gesamten Untersuchungszeitraumes bei 12,9 (Tab. 11).

Tab.11: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) im Mischer 1 versetztem Panseninhalt

| | Zeit | 0 | ½ h | 1h | 2h | 3h | 4h | 5h | 24h |
|-------------------|---------------------|----|------|------|------|------|------|------|------|
| Versuch I | Temp.°C im Substrat | 20 | 33 | 44 | 65 | 64 | 60 | 55 | 24 |
| | Temp.°C im Ballen | 20 | 28 | 31 | 43 | 43 | 40 | 37 | 20 |
| | pH-Wert | 8 | 12,9 | 12,9 | 12,9 | 12,9 | 12,9 | 12,9 | 12,9 |
| Versuch II | Temp.°C im Substrat | 20 | 56 | 77 | 70 | 64 | 58 | 53 | 24 |
| | Temp.°C im Ballen | 20 | 32 | 44 | 41 | 36 | 33 | 31 | 20 |
| | pH-Wert | 8 | 12,9 | 12,9 | 12,9 | 12,9 | 12,9 | 12,9 | 12,9 |

Im Mischer 2 konnte sowohl bei einem Trockensubstanzgehalt des Panseninhalts von 28% wie auch bei 16% TS, ein homogenes Kalk-Substrat-Gemisch hergestellt werden.

4.1.2.4 Gärrückstand

Mit dem Gärrückstand, der einen TS-Gehalt von 25% und einen pH-Wert von 8 aufwies, wurden Versuche im Labormischer mit 200g Material und Versuche im halbertechnischen Maßstab (Mischer 2) mit 20kg Substrat durchgeführt.

Im Labormischer wurde zunächst mit den Kalkmengen 0,1kg, 0,2kg, 0,3kg und 0,5kg CaO/kg TS gearbeitet, dabei kam es zu einer maximalen Temperaturerhöhung auf 29°C. Der pH-Wert lag während des gesamten Untersuchungszeitraumes bei >12,5 (Tab. 12).

Tab.12: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit unterschiedlichen Brantkalkmengen im Labormischer versetztem Gärrückstand

| | Zeit | 0 | ½ h | 1h | 2h | 3h | 24h |
|-------------------------|----------|----|------|------|------|------|------|
| 0,1kg CaO /kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 23 | 23 | 21 | 19 |
| | pH-Wert | 8 | 12,7 | 12,8 | 12,8 | 13 | 12,6 |
| 0,2kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 20 | 23 | 23 | 21 | 19 |
| | pH-Wert | 8 | 12,8 | 13 | 12,8 | 13,4 | 13,2 |
| 0,3kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 24 | 25 | 24 | 22 | 20 |
| | pH-Wert | 8 | 12,9 | 13 | 12,9 | 13 | 12,7 |
| 0,5kg CaO/kg TS | Temp. °C | 19 | 26 | 29 | 25 | 23 | 20 |
| | pH-Wert | 8 | 12,9 | 13 | 12,8 | 13,4 | 12,9 |

In weiteren Versuchen wurde sowohl in Labormischer wie auch im Mischer 2 (halbtechnischer Maßstab) mit den Kalkmengen 0,6kg, 0,8kg und 1kg Brantkalk pro kg Trockensubstanz gearbeitet. Die Ergebnisse sind in Abbildung 4-6 dargestellt.

Bei den Versuchen mit 0,6kg Brantkalk pro kg Trockensubstanz wurde im Labormischer nach vier Stunden eine maximale Temperatur von 28°C, im Mischer 2 nach 5 Stunden ein maximal Wert von 48°C gemessen (Abb. 4).

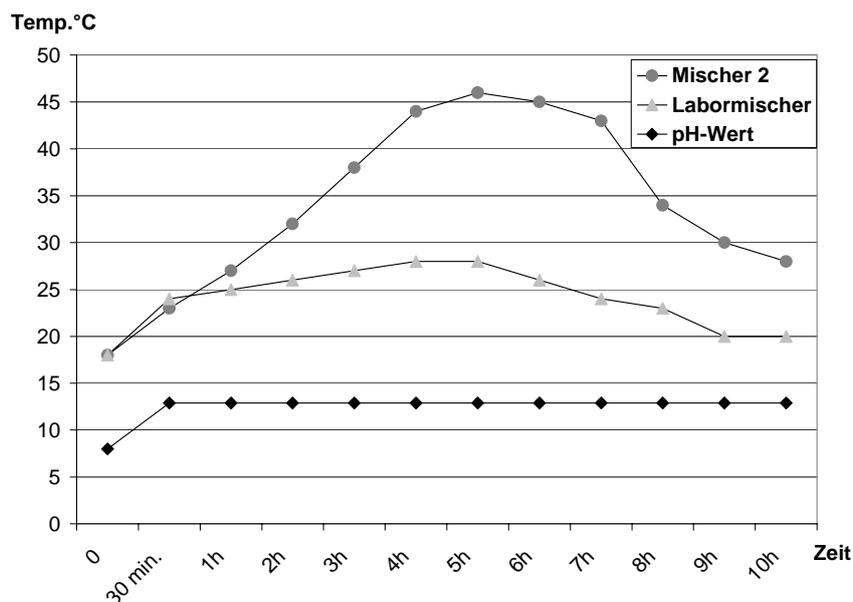


Abb.4: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes während der Labor- und halbtechnischen Versuche mit 0,6kg CaO /kg TS im Gärrückstand

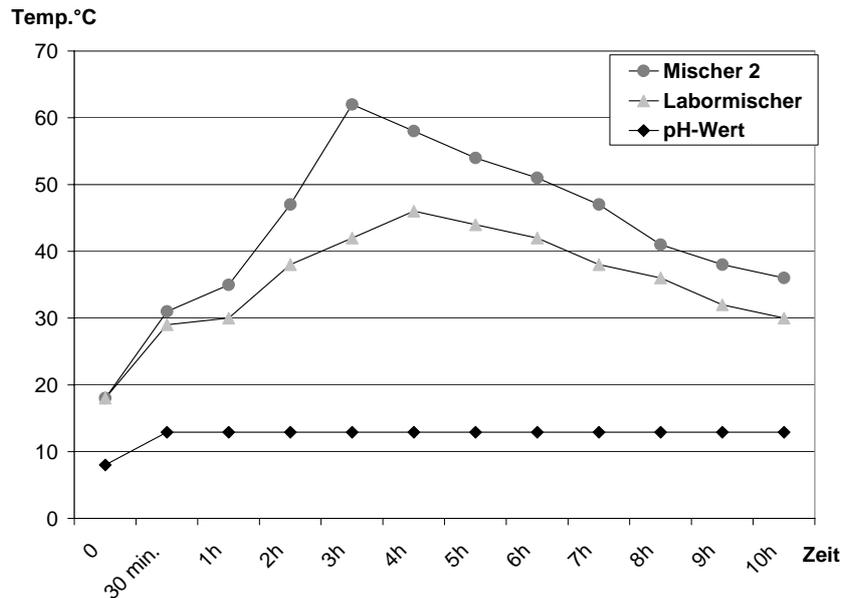


Abb. 5: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes während der Labor- und halbtechnischen Versuche mit 0,8kg CaO/kg TS im Gärrückstand

Im Labormischer wurde bei dem Versuch mit 0,8kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz eine maximale Temperatur von 46°C nach 5 Stunden und im Mischer 2 ein maximaler Wert von 62°C nach drei Stunden ermittelt (Abb. 5).

Eine erhöhte Kalkzugabe von 1kg CaO/ kg TS bewirkte im Labormischer eine Temperatursteigerung bis auf 51°C und im Mischer 2 bis auf 69°C (Abb. 6). Bei den drei verwendeten Kalkmengen konnte der pH-Wert von 12,9 über den gesamten Untersuchungszeitraum gehalten werden. Der Branntkalk konnte sowohl im Laborversuch wie auch in den Versuchen des halbtechnischen Maßstabs mit dem Substrat Gärrückstand homogen vermischt werden.

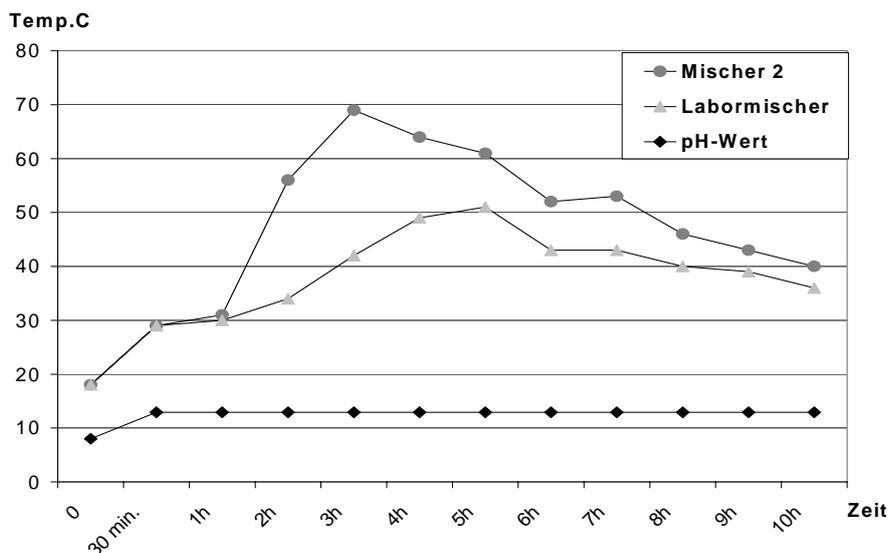


Abb. 6: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes während der Labor- und halbtechnischen Versuche mit 1kg CaO/kg TS im Gärrückstand

4.1.2.5 Rindermist

Die Mischversuche mit dem Substrat Rindermist wurden mit drei unterschiedlichen Substratchargen durchgeführt. Im Versuch I und II wurde ein sehr strohhaltiges Substrat (Strohstücke bis zu 15cm lang) verwendet. Der TS-Gehalt lag bei 32%. In einem dritten Versuch wurde ein bereits in Rotte befindlicher Mist aus einem Laufstall mit einem TS-Gehalt von 29% eingesetzt. Das Material ließ sich in allen Fällen nicht im Labormischer vermischen.

Bei der Verwendung der ersten beiden Rindermistchargen im Mischer 2 konnte der strohige Anteil des Substrats von dem Messerkopf weder bei 1500 noch bei 3000 U/min genügend zerkleinert werden. Der Strohanteil des Substrates verhakte sich immer wieder an den Paddelmischern, so dass keine homogene Vermischung stattfand; es verblieben sogar Reste von unvermischem Branntkalk im Mischer. Im Endprodukt lagen gut vermischte und nicht vermischte Anteile vor.

Im dritten Versuch mit dem bereits in Rotte befindlichen Mist konnte erst bei hoher Drehzahl des Messerkopfes im Mischer 2 (3000 U/min, 5 Minuten) das Substrat genügend zerkleinert werden, um eine homogene Vermischung zu erzielen. Bei diesem Versuch und in den gut vermischten Anteilen der beiden anderen Versuche I und II konnte ein pH-Wert von 12,9 und maximale Temperaturen von 65°C bei einer Kalkzugabe von 0,9kg CaO/kg TS erreicht werden.

4.1.2.6 Homogenität der Kalk-Substrat-Gemische

In den diskontinuierlichen Versuchen (halbtechnischer Maßstab) wurde zur Bestimmung der erreichten Homogenität der Mischungen, Proben im Kern- und im Randbereich der Kalk-Substrat-Gemische gezogen. Die Differenzen zwischen den jeweils gemessenen Konzentrationen lagen in der gleichen Größenordnung wie bei den kontinuierlichen Versuchen, so dass die Mischungsgrade ebenfalls bei 94-95% lagen.

Tab. 13: Darstellung der TS-Gehalte im Kern- und Randbereich verschiedener Bioabfälle bei diskontinuierlichen Mischaggregaten (Mischer 2)

| Art des Bioabfalls | TS (%) | CaO (% bzg. auf TS) |
|---------------------|--------|---------------------|
| Gärrückstand (Kern) | 28,4 | 12,7 |
| Gärrückstand (Rand) | 29,7 | 11,9 |
| Gärrückstand (Kern) | 33,3 | 15,6 |
| Gärrückstand (Rand) | 32,1 | 15,8 |
| Gärrückstand (Kern) | 39,5 | 27,5 |
| Gärrückstand (Rand) | 38,9 | 28,7 |
| Panseninhalt (Kern) | 26,2 | 19,0 |
| Panseninhalt (Rand) | 24,7 | 19,9 |
| Panseninhalt (Kern) | 43,5 | 29,6 |
| Panseninhalt (Rand) | 42,4 | 29,7 |

4.1.3. Versuche zur Neutralisation der gekalkten Substrate

Vor Beginn der Tenazitätsversuche im halbertechnischen Maßstab mussten im Labor Neutralisationsversuche durchgeführt werden, damit sichergestellt ist, dass die festgestellte Reduktion der beurteilten Bakterien während der Kontaminationszeit im Kalk-Substrat-Gemisch erfolgt ist und nicht erst in den weiteren Schritten des diagnostischen Nachweises. In den Neutralisationsversuchen wurden die drei wichtigsten Medien für unsere Bakteriennachweise untersucht, das Medium Fluid-Thioglycollat (Clostridiumnachweis), gepuffertes Peptonwasser (Salmonellennachweis) und Natriumchloridlösung (zur Herstellung einer Verdünnungsreihe).

Die gekalkten Proben wurden nach den vorgeschriebenen Methoden zur Untersuchung der entsprechenden Bakterien in die Nährbouillons eingewogen, es erfolgte dabei immer ein Vergleich zwischen einem Ansatz ohne Neutralisationszusätze (Nullprobe) und unterschiedlichen Neutralisationsmethoden. Der pH-Wert wurde direkt nach dem Einmischen, nach zwei und nach 24 Stunden Inkubation der Proben gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 dargestellt.

Tab.14: Darstellung der pH-Werte unterschiedlicher Bakterienbouillons nach Einwaage von Kalk-Substrat-Gemische direkt nach dem Einmischen nach zwei und 24 Stunden mit einer Nullprobe von einem pH > 12

| | pH-Wert direkt n. Mischen | pH-Wert n. 2 h Inkubation | pH-Wert n. 24 h Inkubation |
|--|------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| FTG (450ml) | | | |
| 50g in FTG mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ | 6,3 | | 6,4 |
| 50g in FTG mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ und 10 ml HCl | 4,2 | | 5,6 |
| Pepton (450ml) | | | |
| 10g in Pepton mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ | 6,1 | 6,1 | 6,3 |
| 10g in Pepton mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ und 10 ml HCl | 3,3 | 5,2 | 5,5 |
| 50g in Pepton mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ und 15 ml HCl | 7,3 | 9,2 | 11,1 |
| NaCl (180ml) | | | |
| 20g in NaCl mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ | 6,2 | 6,5 | 8,2 |
| 20g in NaCl mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ und 9,5 ml HCl | 3 | 4,6 | 7,7 |
| 20g in NaCl mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ und 9,5 ml HCl | 6,3 | 8,3 | 7,7 |
| 20g in NaCl mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ und 9,5 ml HCl | 5,2 | 10,4 | 12,2 |
| 20g in NaCl mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ und 10 ml HCl | 2,2 | 4,5 | 4,6 |
| 20g in NaCl mit 0,2n NaH ₂ PO ₄ und 10 ml HCl | 4,5 | 5,5 | 8,5 |

Legende:

HCl: 5n Salzsäure

NaH₂PO₄ Natriumhydrogenphosphat Monohydrat

FTG: Fluid-Thioglycollat-Bouillon

NaCl: Natriumchlorid

Bei allen Versuchen wurde im Kontrollansatz, eingewogene Probe ohne Neutralisationszusätze, über den Untersuchungszeitraum pH-Werte größer 12 gemessen.

Eine Neutralisation der eingewogenen Substratproben im Medium Fluid-Thioglycollat (FTG) wurde mit der Einmischung der Puffersubstanz Natriumhydrogenphosphat Monohydrat (NaH_2PO_4 , 0,2 molare) erreicht. Im gepufferten Peptonwasser konnte mit NaH_2PO_4 erst bei Verringerung der Einwiegmenge von 50g auf 10g Material eine Neutralisation erreicht werden.

Bei Natriumchlorid (NaCl) wurde mit verschiedenen Methoden experimentiert, es stellte sich leider heraus, dass weder das Einmischen von Natriumhydrogenphosphat-Monohydrat noch das Einrühren von 5n Salzsäure ein dauerhaften neutralen pH-Wert sicherstellte. Eine Neutralisation der eingewogenen Proben wurde deshalb durch die direkte Herstellung einer Verdünnungsreihe erreicht, das heißt durch einen Verdünnungseffekt. Dabei wurden 20g Probenmaterial in mit NaH_2PO_4 angereicherten NaCl -Lösung (180ml) eingewogen und je nach Konsistenz des Materials manuell oder mit einem elektrischen Rührgerät kräftig durchmischt, danach erfolgte die direkte Weiterverarbeitung (Tab.14).

4.1.4 Versuche zur Basisinaktivierung der Mikroorganismen

Vor Beginn der Tenazitätsversuche im halbtechnischen Maßstab wurden die Keimträger in unbehandeltes Substrate verbracht und die Keimzahl nach unterschiedlichen Zeitspannen kontrolliert, damit sichergestellt ist, dass die festgestellte Keimzahlreduktion aufgrund der Reaktion des Substrates mit dem Branntkalk erfolgte und nicht durch den alleinigen Kontakt mit dem Versuchssubstrat. Weiterhin wurden die Keimträger bis zu vier Wochen im Kühlschrank gelagert, um eine durch längere Lagerung hervorgerufene Keimzahlreduzierung nachweisen zu können.

Eine Reduzierung der Ausgangskeimzahl an ECBO- Virus auf Sandwichkeimträger wurde durch eine Woche Lagerung der Keimträger bei 4°C nicht festgestellt, bei einer Lagerdauer von über 4 Wochen erfolgte eine Reduzierung um eine Zehnerpotenz. In unbehandelten Substraten wurde eine Reduzierung des Ausgangskeimgehaltes um eine Zehnerpotenz nach 24 Stunden festgestellt.

Bei Keimträgern des Bovinen Parvovirus erfolgte im Mittel während einer Lagerung von 4 Wochen bei 4°C keine Reduzierung des Keimgehaltes, bei über 45% der untersuchten Keimträger erfolgte jedoch innerhalb von 24 Stunden eine Reduzierung um bis zu einer Zehnerpotenz. Die Lagerung des BPV-Virus in unbehandeltem Substrat über 24 Stunden brachte keine Reduzierung des Keimgehaltes.

Die Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier wurde weder durch eine 4-wöchige Lagerung bei 4°C noch durch eine 24-stündige Inkubation in unbehandeltem Substrat geschädigt.

Der bakteriologische Ausgangskeimgehalt von beimpften Stahlkeimträgern wurde nach einer Inkubation von zwei Stunden in unbehandeltem Klärschlamm um bis zu einer Zehnerpotenz reduziert. Bei der Verwendung von Holzkeimträgern konnte der bakteriologische Ausgangskeimgehalt weder bei einer Lagerung über zwei Stunden in unbehandeltem Substrat noch nach einer Lagerung über zwei Tage bei 4°C reduziert werden. Eine Lagerung beider Keimträgertypen über 5 Tage bei 4°C brachte eine Reduzierung des Keimgehaltes um eine Zehnerpotenz.

4.2 Ergebnisse der Versuche im halbtechnischen Maßstab

4.2.1 Klärschlamm

4.2.1.1 Tenazitätsversuche mit Askarideneier

Für die Tenazitätsversuche mit Askarideneier wurden Kalkmengen von 0,45kg, 0,9kg und 1,1kg CaO/ kg TS eingesetzt. Der verwendete Klärschlamm hatte einen TS-Gehalt von 22%. In allen Fällen konnte im Mischer 1 eine homogene Mischung erzielt werden.

1) Versuch mit 0,45 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Bei der Verwendung von 0,45kg CaO/ kg TS wurde eine maximale Temperaturerhöhung von 2°C gemessen (Abb.7a). Der pH-Wert wurde über vier Wochen ermittelt und betrug nach der Kalkzugabe konstant 12,9.

In Abbildungen 7 ist die Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier in mit Branntkalk versetztem Klärschlamm nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation dargestellt. Nach drei Wochen Lagerung des Kalk-Substrat-Gemisches wurden im Randbereich der Mischung 28% und im Kernbereich 18 Prozent entwicklungsfähige Eier ausgezählt. Nach 8 Wochen konnten im Kernbereich des Substrates keine entwicklungsfähigen Askarideneier mehr nachgewiesen werden.

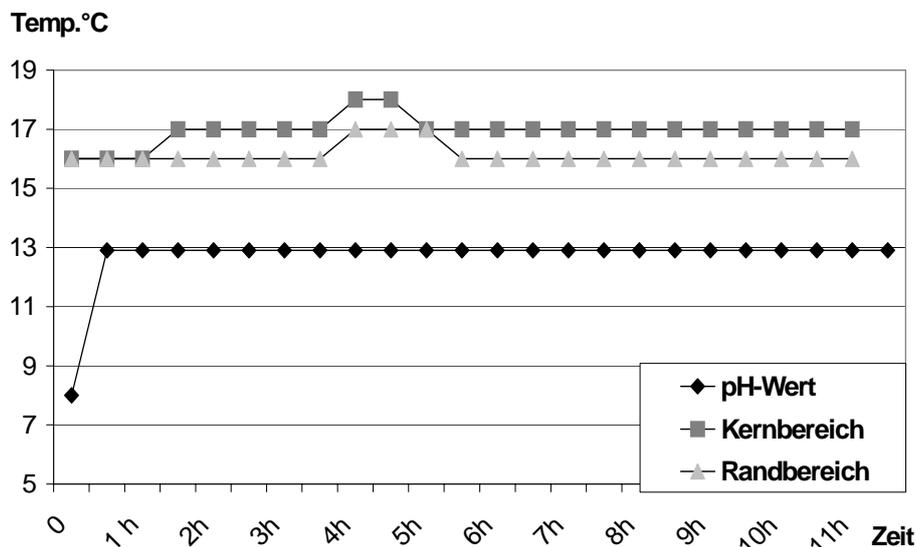


Abb. 7a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 0,45kg CaO /kg TS (zu Abb.7)

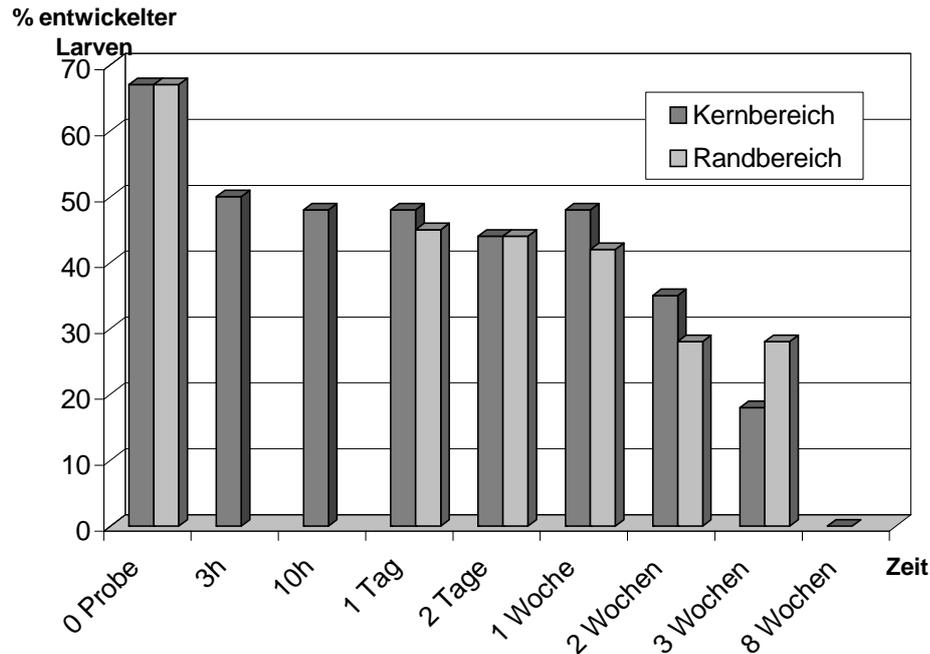


Abb. 7: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,45kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm.

2) Versuche mit 0,9 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkzudosierung entspricht einem Mischungsverhältnis von 200g Branntkalk auf ein kg Substrat. Drei Versuche wurden insgesamt mit diesem Mischungsverhältnis durchgeführt.

Aus den Ergebnissen wurde der Mittelwert ermittelt und diese in den Abbildungen 8-8a dargestellt. Die Ergebnisse der Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Nach 2½ Stunden stieg die Temperatur im Kernbereich auf über 50°C an, die maximal erreichte Temperatur betrug 57°C. Im Randbereich der Mischung wurde eine maximale Temperatur von 45°C nach 4 Stunden erreicht (Abb. 8a).

Im Kernbereich der Mischung erfolgte innerhalb von 5 Stunden eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier von 68% auf 7%, dies entspricht einer Reduzierung um 90%. Nach 10 Stunden waren keine lebenden Spulwurmeier mehr nachzuweisen. In den Randbereichen erfolgte eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit auf 34% innerhalb von 24 Stunden (Abb.8).

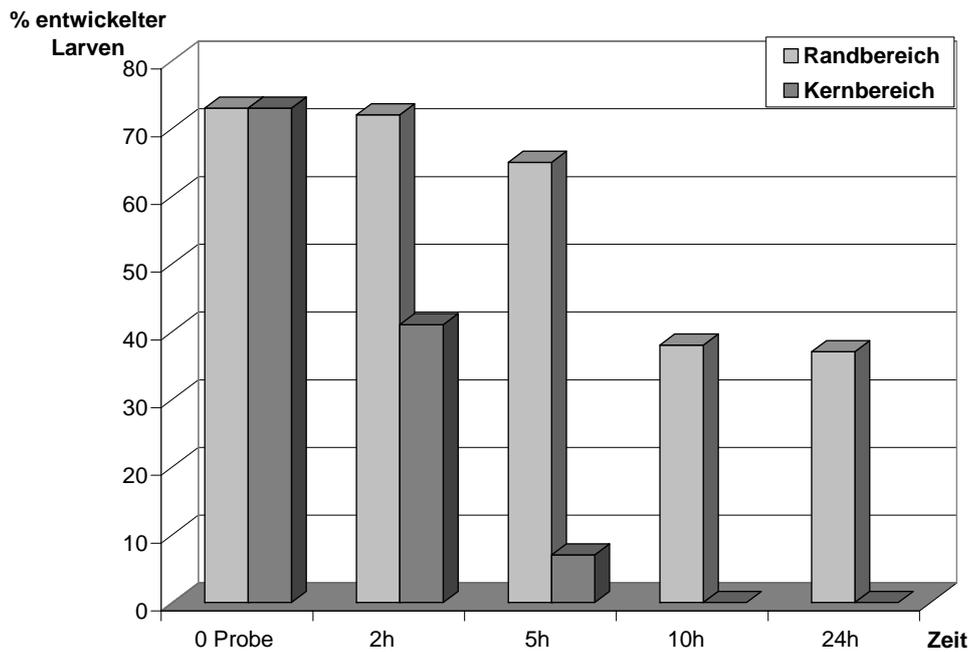


Abb. 8: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,9kg CaO /kg TS) versetztem Klärschlamm

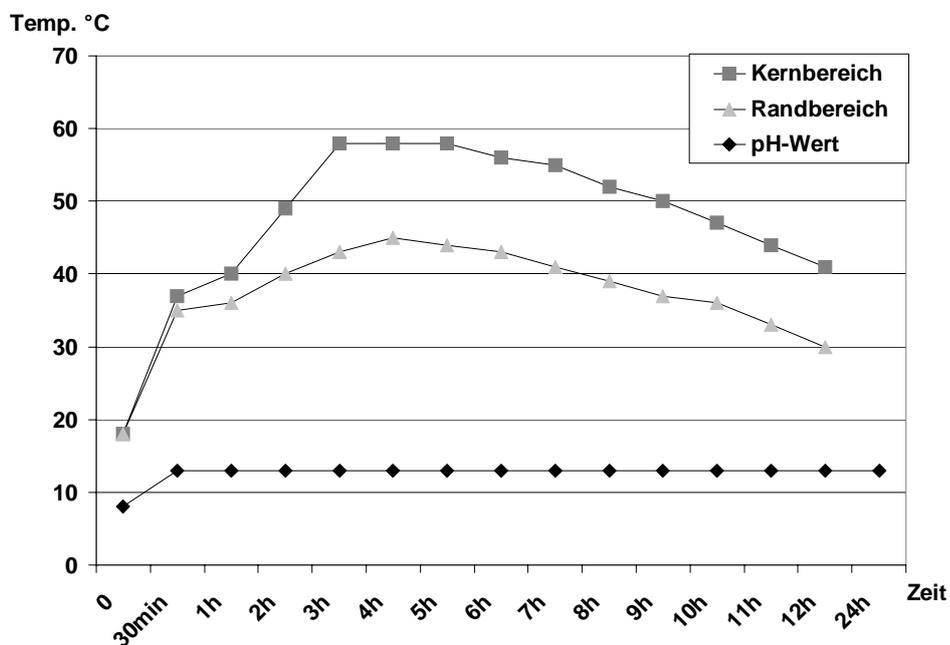


Abb. 8a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 0,9 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.8)

3) Versuche mit 1,1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkkonzentration entspricht einem Mischungsverhältnis von 250g CaO auf ein kg Klärschlamm, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 22%.

Aus den Ergebnissen der drei durchgeführten Versuche wurde der Mittelwert gebildet und in den Abbildungen 9-9a dargestellt. Die Ergebnisse der Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Bei einer Kalkzugabe von 1,1kg CaO/kg TS wurde im Kernbereich der Mischung über einen Zeitraum von 6 Stunden, eine Temperatur über 50°C gemessen. Nach 2½ Stunden wurden eine maximale Temperatur von 71°C im Kernbereich und 58°C im Randbereich der Mischung gemessen. Der pH-Wert lag bei 12,9 und blieb während des gesamten Untersuchungszeitraums konstant (Abb.9a).

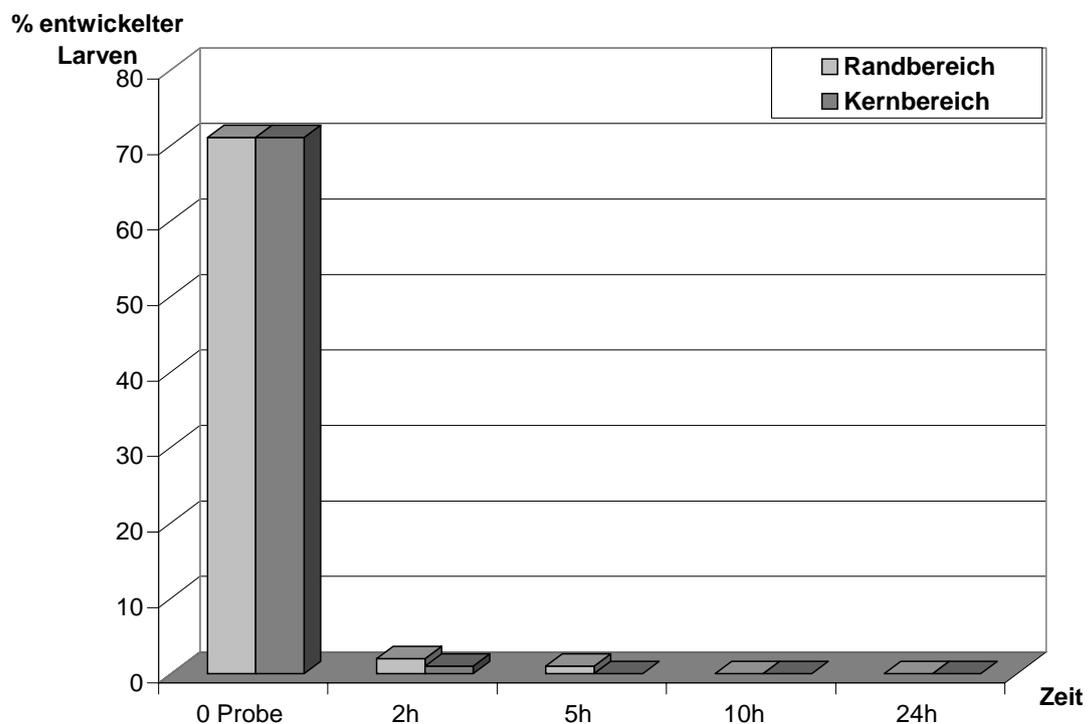


Abb. 9: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm.

Sowohl im Kernbereich wie auch im Randbereich der Mischung wurden nach zwei Stunden, also bei Erreichen der max. Temperaturen, bereits weniger als 3% entwicklungsfähige Askarideneier festgestellt. Eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit um 99,9% erfolgte im Kernbereich der Mischung innerhalb von 2-5 Stunden und im Randbereich innerhalb von 5-10 Stunden.

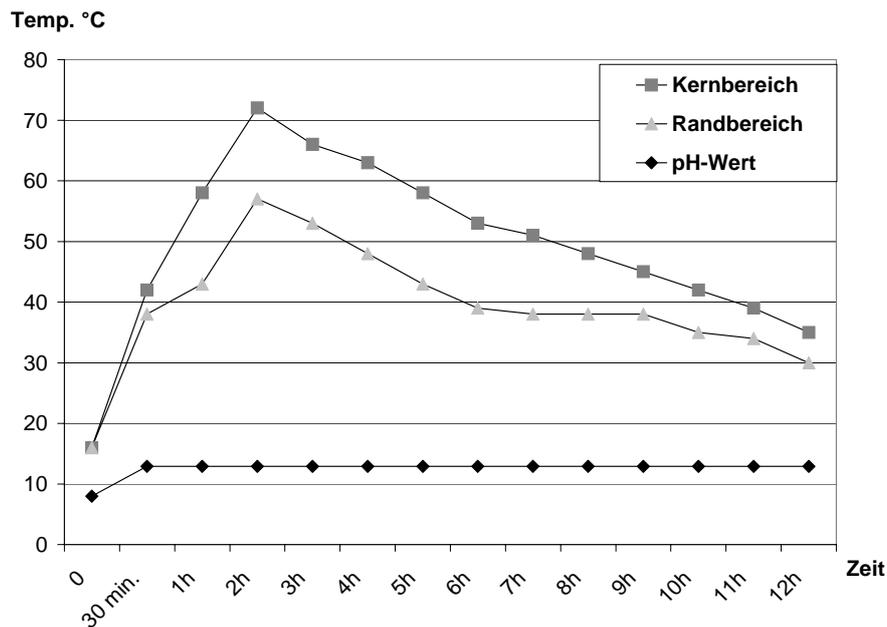


Abb. 9a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 1,1 kg CaO /kg Trockensubstanz (zu Abb.9)

4.2.1.2 Tenazitätsversuche mit dem Bovinen Parvovirus

In den Untersuchungen mit dem Bovinen Parvovirus (BPV) wurden mit den Kalkmengen 0,9kg und 1,1kg CaO /kg TS gearbeitet.

Die durchgeführten Tenazitätsuntersuchungen wurden dabei parallel zu den Untersuchungen mit Askarideneiern durchgeführt. Die Temperatur- und pH-Wert-Profile entsprechen den Abbildungen 8a und 9a.

1) Versuch mit 0,9 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

0,9kg CaO /kg TS entsprechen einem Mischungsverhältnis von 200g Branntkalk auf ein kg Klärschlamm, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 22%. Die ermittelten Mittelwerte der Versuchsergebnisse sind in Abbildung 10 dargestellt. Die Ergebnisse der Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Nach 2½ Stunden stieg die Temperatur im Kernbereich auf über 50°C an, die maximal erreichte Temperatur betrug 57°C. Im Randbereich wurde eine maximale Temperatur von 45°C nach 4 Stunden erreicht (s. Abb. 8a).

Im Kern- und Randbereich der Mischung erfolgte eine Reduzierung des Bovinen Parvovirus innerhalb von 10 Stunden um 3 Zehnerpotenzen. Von einem Ausgangswert von $2,3 \times 10^5$ KID₅₀/ml bis auf $1,77 \times 10^2$ KID₅₀/ml. In Abb. 10 ist zu erkennen, dass die größte Abnahme im Bereich 2-3h erfolgt, also einhergeht mit einem starken Temperaturanstieg.

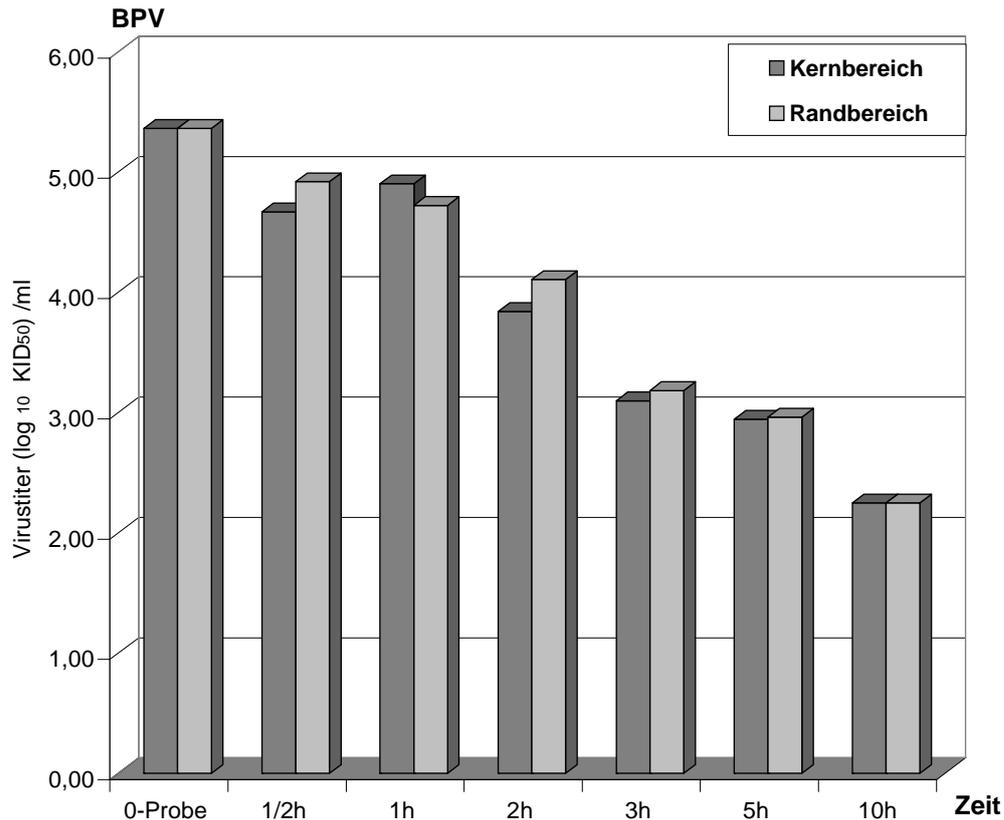


Abb. 10: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus, durch Darstellung des Restkeimgehaltes des Virus nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

2) Versuch mit 1,1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkzudosierung von 1,1kg CaO/ kg TS entspricht einem Mischungsverhältnis von 250g Branntkalk auf ein kg Substrat. Drei Versuche wurden mit diesem Konzentrationsverhältnis durchgeführt.

Aus den Ergebnissen der Tenazitätsuntersuchungen wurde der Mittelwert ermittelt und in der Abbildungen 11 dargestellt. Die Ergebnisse der Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Bei einer Kalkzugabe von 1,1kg CaO/kg TS wurde im Kernbereich der Mischung über einen Zeitraum von 6 Stunden, eine Temperatur über 50°C gemessen. Nach 2½ Stunden wurden eine maximale Temperatur von 71°C im Kernbereich und 58°C im Randbereich der Mischung gemessen. Der pH-Wert lag bei 12,9 und blieb während des gesamten Zeitraums konstant (siehe Abb.9a).

Im Kernbereich der Mischung erfolgte innerhalb von zwei Stunden eine Reduzierung des Bovinen Parvovirus (BPV) um 5 Zehnerpotenzen. Nach einer Stunde waren noch $5,7 \times 10^3$ KID₅₀/ml an BPV nachzuweisen. Im Randbereich erfolgte nach drei Stunden eine Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen (Abb.11).

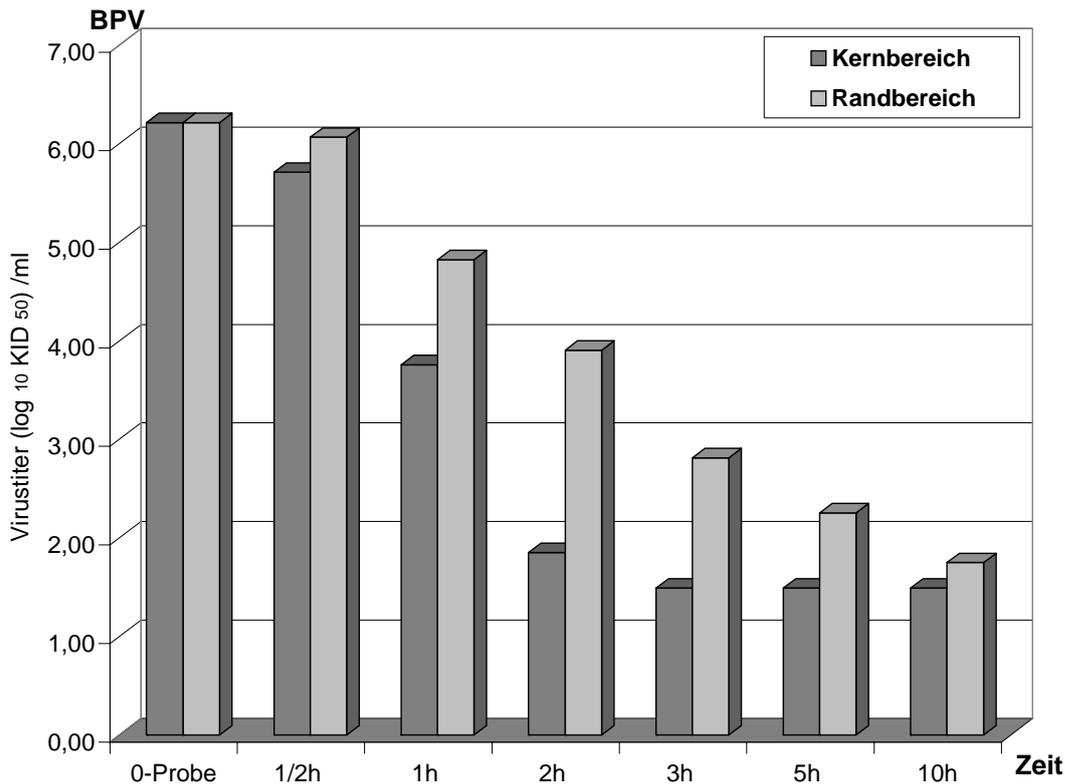


Abb. 11: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus, durch Darstellung des Restkeimgehaltes des Virus nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

4.2.1.3 Tenazitätsversuche mit dem Rinder Enterovirus (ECBO)

In Klärschlamm wurde mit dem Rinder Enterovirus Tenazitätsuntersuchungen mit einer Kalkzudosierung von 0,9kg /kg TS durchgeführt. Die verwendete Kalkmenge entspricht einem Mischungsverhältnis von 200g CaO pro kg Klärschlamm. Die Temperatur- und pH-Wert -Profile entsprechen den Tenazitätsversuchen mit Askarideneiern und sind in Abbildung 8a unter Punkt 4.2.1.1. dargestellt.

1) Versuche mit 0,9 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Nach 2½ Stunden stieg die Temperatur im Kernbereich auf über 50°C an, die maximal erreichte Temperatur betrug 57°C. Im Randbereich wurde eine maximale Temperatur von 45°C nach 4 Stunden erreicht (s. Abb. 8a).

In den drei durchgeführten Versuchen erfolgte innerhalb der ersten 30 Minuten im Kern- sowie im Randbereich der Mischung eine Reduzierung des ECBO-Virus um 5 Zehnerpotenzen. In den Versuchen I und II konnte eine Reduzierung bis zur Nachweisgrenze ($10^{1,75}$ KID₅₀/ml) nachgewiesen werden. Im dritten Versuch wurde durch Senkung der Nachweisgrenze nach einer halben Stunde ein Keimgehalt von $3,1 \times 10^1$ KID₅₀/ml festgestellt.

Tab. 15: Darstellung der Reduktion des ECBO-Virus, durch Darstellung de Restkeimgehaltes des Virus nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| VERSUCH I | | |
| Virusverd. 1:10 | 3,16E+07 | 3,16E+07 |
| 0-Probe | 3,16E+06 | 3,16E+06 |
| 30min. | n.n. | n.n. |
| 1h | n.n. | n.n. |
| 2h | n.n. | n.n. |
| VERSUCH II | | |
| Virusverd. 1:10 | 1,78E+07 | 1,78E+07 |
| 0-Probe | 6,16E+06 | 6,16E+06 |
| 30min. | n.n. | n.n. |
| 1h | n.n. | n.n. |
| 2h | n.n. | n.n. |
| VERSUCH III | | |
| Virusverd. 1:10 | 5,62E+07 | 5,62E+07 |
| 0-Probe | 6,16E+06 | 6,16E+06 |
| 30min. | 3,10E+01 | 3,10E+01 |
| 1h | 3,10E+01 | 3,10E+01 |
| 2h | 3,10E+01 | 3,10E+01 |

Legende:

n.n. : nicht nachweisbar bis 5,60E+01

KID₅₀ /ml : kulturinfektiöse Dosis 50%

4.2.1.4 Tenazitätsversuche mit Bakterien

Mit den Indikatorkeimen *Salmonella senftenberg*, Fäkalstreptokokken (*Enterococcus faecium*), E-coli und *Clostridium perfringens*-Sporen wurden im Substrat Klärschlamm mit drei unterschiedlichen Kalkmengen gearbeitet. In den ersten Versuchen wurden die aus den Vorversuchen ermittelten Kalkmengen von 0,9kg und 1,1kg CaO /kg TS verwendet. Zusätzlich dazu wurde je ein Versuch mit 0,2kg und 0,3kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz gearbeitet. Dieses Mischungsverhältnis entspricht 50g bzw. 75g Branntkalk auf ein Kilogramm Klärschlamm. Für die zusätzlichen Versuche wurde der Mischer 2 verwendet, für die anderen Versuche der Mischer 1. In allen Fällen konnte eine homogene Mischung erzielt werden.

1) Versuch mit 0,2kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Bei den Versuchen mit 0,2kg Kalk /kg TS erfolgte im Kernbereich des Substrates nach einer Stunde eine Temperaturerhöhung von 15°C auf 26°C. Im Randbereich wurde nach einer Stunde eine maximale Temperatur von 23°C gemessen. Der ermittelte pH-Wert lag während des Untersuchungszeitraumes (7 Tage) konstant bei 12,9 (Abb.12).

Im Kernbereich der Mischung erfolgte eine Reduzierung von E-coli nach fünf Stunden um fünf Zehnerpotenzen, im Randbereich waren diese Keime nach 10 Stunden nicht mehr nachweisbar (Nachweisgrenze $0,36 \times 10^1$ KBE /g). Eine

Reduzierung der Fäkalstreptokokken um fünf Zehnerpotenzen konnte nach 48 Stunden in der gesamten Mischung nachgewiesen werden.

Tab. 16: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Restkeimgehaltes der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Randbereich KBE /g | | | | Kernbereich KBE /g | | | |
|---------|--------------------|----------|-----------|-------------|--------------------|----------|-----------|-------------|
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 2,37E+06 | 3,95E+05 | 6,80E+06 | 9,20E+04 | 2,37E+06 | 3,95E+05 | 6,80E+06 | 9,20E+04 |
| 2h | 2,30E+02 | 2,30E+03 | 4,30E+04 | 2,30E+03 | 1,50E+02 | 2,30E+03 | 9,30E+04 | 9,20E+04 |
| 5h | 2,30E+02 | 2,30E+03 | 2,30E+03 | 2,30E+03 | 9,20E+00 | 9,30E+02 | 2,30E+03 | 9,20E+04 |
| 10h | n.n. | 9,30E+02 | 4,30E+02 | 2,30E+03 | n.n. | 4,30E+02 | 3,60E+02 | 1,50E+02 |
| 24h | n.n. | 2,30E+01 | neg. | 2,30E+03 | n.n. | 2,30E+01 | 9,20E+00 | 9,30E+02 |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | 9,30E+02 | n.n. | n.n. | neg. | 1,50E+02 |
| 7 Tage | n.n. | n.n. | neg. | qual.pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual.pos. |

Legende:

FKS: Fäkalstreptokokken

S.senft.: *Salmonella senftenberg*

Clost. perf. : Sporen von *Clostridium perfringens*

KBE/g : Koloniebildene Einheit /g

n.n.: Nicht (mehr) nachweisbar (Nachweisgrenze $0,36 \times 10^1$ KBE/g)

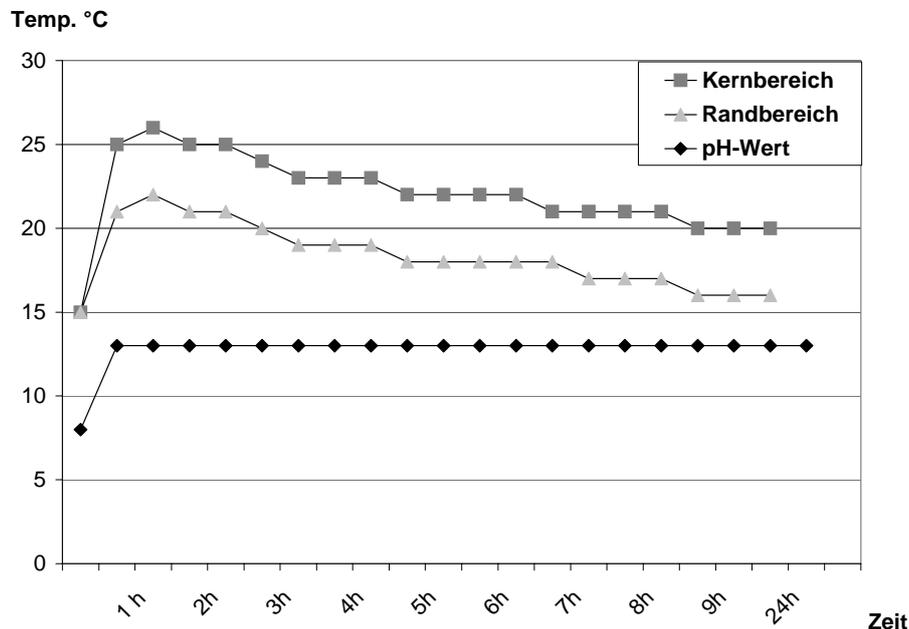


Abb.12: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 0,2 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.16)

S. senftenberg konnte im Randbereich der Mischung nach einer Lagerung von 24 Stunden nicht mehr nachgewiesen werden. Im Kernbereich erfolgt innerhalb von 24 Stunden eine Reduzierung um 5 Zehnerpotenzen. Nach 48 Stunden Lagerung des Kalk-Substrat-Gemisches war *S. senftenberg* nicht mehr nachweisbar.

Im beimpften Ausgangssubstrat (Nullprobe) wurde ein Keimgehalt an *Clostridium perfringens*-Sporen von 10⁴ KBE/g nachgewiesen, innerhalb von 48 Stunden wurden die Sporen auf 10² KBE/g reduziert. Nach einer Woche war *Clostridium perfringens* nur noch qualitativ nachweisbar, d.h. es erfolgte innerhalb von 7 Tagen eine Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen.

2) Versuch mit 0,3 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die Temperatur- und pH-Wert –Profile entsprechen dem Versuch mit 0,2kg CaO /kg TS und sind in Abbildung 12 dargestellt.

Beim Einsatz von 0,3kg CaO /kg TS erfolgte eine Reduzierung des Keimgehaltes an *S. senftenberg* und *E.coli* im Kernbereich der Mischung innerhalb von einer Stunde um 5 Zehnerpotenzen.

Fäkalstreptokokken wurden im Kernbereich der Mischung nach 5 Stunden und im Randbereich nach 24 Stunden um 5 Zehnerpotenzen reduziert.

Die Sporen von *Clostridium perfringens* konnten in diesem Versuch nur um 2 Zehnerpotenzen reduziert werden.

Tab. 17: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Restkeimgehaltes der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,3 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Randbereich KBE /g | | | | Kernbereich KBE /g | | | |
|---------|--------------------|----------|-----------|-------------|--------------------|----------|-----------|-------------|
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 2,37E+06 | 3,95E+06 | 6,80E+06 | 9,20E+04 | 2,37E+06 | 3,95E+06 | 6,80E+06 | 9,20E+04 |
| 30 min | 2,30E+03 | 2,30E+05 | 2,30E+05 | 2,30E+04 | 1,50E+02 | 2,30E+05 | 9,30E+02 | 9,20E+04 |
| 1h | 4,30E+02 | 9,30E+04 | 4,30E+04 | 2,30E+03 | 9,20E+01 | 9,30E+02 | 4,30E+01 | 9,20E+04 |
| 2h | 2,30E+02 | 9,30E+03 | 4,30E+03 | 2,30E+03 | 9,20E+00 | 4,30E+02 | 3,60E+01 | 1,50E+02 |
| 5h | 1,50E+01 | 2,30E+02 | 4,30E+02 | 2,30E+03 | n.n. | 2,30E+01 | 2,30E+01 | 9,30E+02 |
| 10h | n.n. | 1,50E+02 | 4,30E+02 | 2,30E+03 | n.n. | 2,30E+01 | 1,50E+00 | 1,50E+02 |
| 24 | n.n. | 2,30E+01 | neg. | 9,30E+02 | n.n. | 1,50E+00 | neg. | 1,50E+02 |

Legende: siehe Tabelle 16

3) Versuch mit 0,9 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 0,9kg CaO/ kg TS entspricht einem Mischungsverhältnis von 200g CaO auf einen kg Substrat. Die Temperatur- und pH-Wert- Profile entsprechen den Versuchen mit 0,9kg CaO /kg TS unter Punkt 4.2.1.1 (s. Abb. 8a).

Die drei durchgeführten Versuche sind in Tabelle 18 dargestellt. Die Mittelwerte der Untersuchungsergebnisse von Fäkalstreptokokken und *S. senftenberg* sowie *E.coli* und den Sporen von *Clostridium perfringens* sind in den Abbildungen 13-14 abgebildet.

Tab. 18: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,9 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Randbereich in KBE /g | | | | Kernbereich in KBE /g | | | |
|-------------|-----------------------|------------|------------------|--------------------|-----------------------|------------|------------------|--------------------|
| VERSUCH I | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 4,60E+06 | --- | 2,40E+07 | 2,30E+03 | 4,60E+06 | --- | 2,40E+07 | 2,40E+03 |
| 3h | n.n. | --- | neg. | 2,40E+02 | n.n. | --- | neg. | 2,40E+02 |
| 5h | n.n. | --- | neg. | 2,40E+02 | 1,50E+01 | --- | neg. | 2,30E+01 |
| 10h | n.n. | --- | neg. | 2,40E+02 | n.n. | --- | neg. | 3,60E+01 |
| 24h | n.n. | --- | neg. | 3,60E+00 | n.n. | --- | neg. | qual.pos. |
| 48h | n.n. | --- | neg. | neg. | n.n. | --- | neg. | qual.pos. |
| 1 Woche | n.n. | --- | neg. | neg. | n.n. | --- | neg. | neg. |
| VERSUCH II | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 4,60E+06 | 2,30E+06 | 9,30E+06 | 4,30E+04 | 4,60E+06 | 2,30E+06 | 9,30E+06 | 4,30E+04 |
| 1/2 h | n.n. | n.n. | 2,30E+01 | 4,30E+01 | n.n. | n.n. | 9,20E+00 | 9,20E+00 |
| 1h | n.n. | n.n. | neg. | 7,50E+01 | n.n. | n.n. | neg. | qual.pos. |
| 2h | n.n. | n.n. | neg. | 9,20E+00 | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 3h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 5h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 10h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 24h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 1 Woche | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 4 Wochen | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| VERSUCH III | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 2,30E+07 | 9,30E+06 | 2,30E+07 | 2,40E+05 | 2,30E+07 | 9,30E+06 | 2,30E+07 | 2,40E+05 |
| 1/2 h | n.n. | 2,30E+03 | 2,30E+03 | 2,30E+03 | n.n. | 9,30E+01 | 2,30E+01 | 9,30E+02 |
| 1h | n.n. | 1,50E+01 | 2,30E+01 | 2,30E+03 | n.n. | 2,30E+03 | 2,30E+01 | 9,30E+02 |
| 2h | n.n. | n.n. | qual. pos. | 9,30E+02 | n.n. | n.n. | neg. | 1,50E+02 |
| 5h | n.n. | n.n. | qual. pos. | 2,30E+03 | n.n. | n.n. | neg. | 9,20E+00 |
| 10h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | n.n. |
| 6 Wochen | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | n.n. |

Legende: siehe Tabelle 16

Bei einer Kalkzudosierung von 0,9kg Kalk /kg TS stieg die Temperatur nach 2½ Stunden im Kernbereich auf über 50°C an, die maximal erreichte Temperatur betrug 57°C. Im Randbereich wurde eine maximale Temperatur von 45°C nach 4 Stunden erreicht (Abb. 8a).

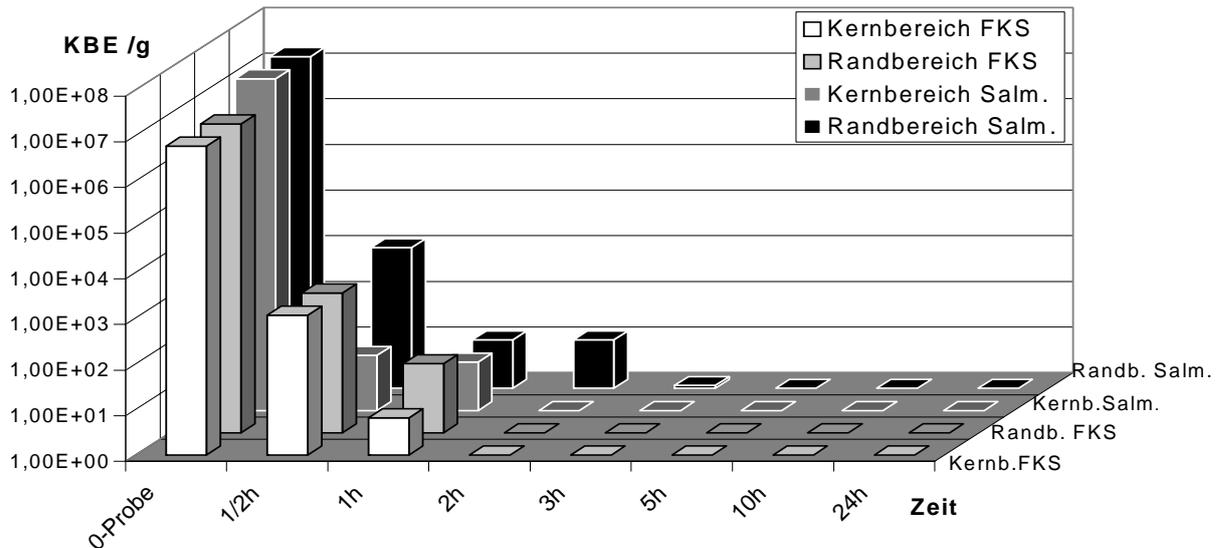


Abb.13: Darstellung der mittleren Reduktion von *S. senftenberg* und Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,9 kg CaO/kg TS) versetzten Klärschlamm

Innerhalb der ersten 30 Minuten erfolgte eine Reduzierung von *S. senftenberg* im Kernbereich der Mischung um 5 Zehnerpotenzen und im Randbereich um vier Zehnerpotenzen (Abb.13).

Fäkalstreptokokken wurden innerhalb einer Stunde um 5 Zehnerpotenzen reduziert, nach zwei Stunden konnten sie in der gesamten Mischung nicht mehr nachgewiesen werden.

Innerhalb der ersten halben Stunde erfolgte eine Reduzierung des Keimgehaltes von E-coli bis an die Nachweisgrenze von $0,36 \times 10^1$ KBE/g, das heißt es konnte eine Reduzierung um 6 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden (Abb.14).

Der Ausgangskeimgehalt von *Clostridium perfringens*-Sporen betrug $9,15 \times 10^4$ KBE/g, nach 5 Stunden Inkubation war im Kernbereich der Mischung eine Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen auf $0,83 \times 10^1$ KBE /g, erfolgt. Nach einer Woche konnte in diesem Bereich keine Keime mehr nachgewiesen werden.

Im Randbereich erfolgt eine Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen innerhalb von 24 Stunden. Nach 4 Wochen war noch ein Keimgehalt an *Clostridium perfringens* Sporen von $0,53 \times 10^1$ KBE/g nachzuweisen.

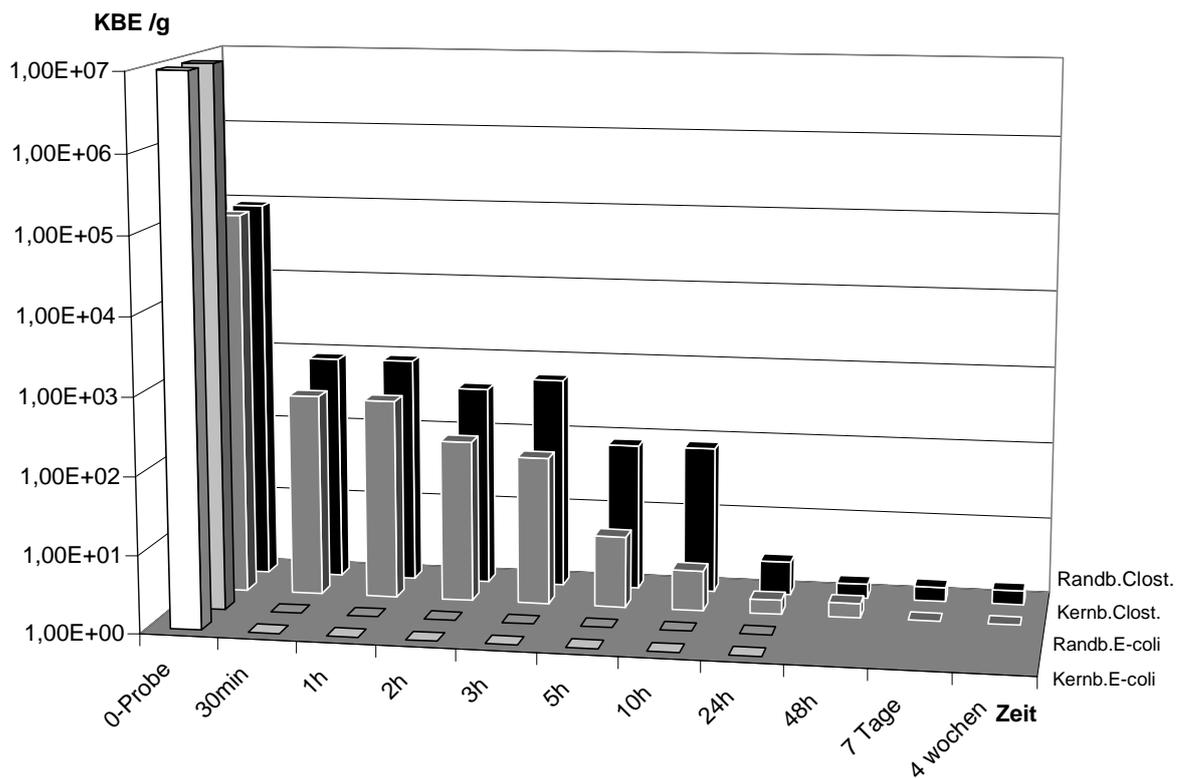


Abb.14: Darstellung der mittleren Reduktion von *E-coli* und *Clostridium perfringens* Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,9 kg CaO/kg TS) versetzten Klärschlamm

4) Versuch mit 1,1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 1,1kg CaO/kg TS entspricht einem Mischungsverhältnis von 250g Branntkalk auf ein kg Klärschlamm.

Die drei durchgeführten Versuche sind in Tabelle 19 dargestellt. Die erfolgten Keimzahlreduktionen sind für *S. senftenberg* und Fäkalstreptokokken in Abbildung 15 und für *E.coli* in Abbildung 16 zusammengefasst.

Die Temperatur- und pH-Wert- Profile entsprechen den bei den Tenazitätsversuchen mit Askarideneiern und sind in Abbildung 9a unter Pkt. 4.2.1.1 dargestellt.

Im Kernbereich der Mischung wurde über einen Zeitraum von 6 Stunden eine Temperatur über 50°C gemessen. Nach 2½ Stunden wurden der höchste Temperaturwert mit 71°C im Kernbereich und 58°C im Randbereich gemessen. Der pH-Wert lag bei 12,9 und blieb während des gesamten Untersuchungszeitraums konstant.

Tab. 19: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,1 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Randbereich in KBE /g | | | | Kernbereich in KBE /g | | | |
|-------------|-----------------------|------------|------------------|--------------------|-----------------------|------------|------------------|---------------------|
| VERSUCH I | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost. perf. |
| 0-Probe | 1,10E+07 | 1,10E+07 | 2,40E+07 | 4,60E+06 | 1,10E+07 | 1,10E+07 | 2,40E+07 | 4,60E+06 |
| 1/2 h | n.n. | n.n. | n.n. | --- | n.n. | n.n. | n.n. | --- |
| 1h | n.n. | n.n. | n.n. | 9,30E+03 | n.n. | n.n. | n.n. | --- |
| 2h | n.n. | n.n. | n.n. | --- | n.n. | n.n. | n.n. | --- |
| 3h | n.n. | n.n. | n.n. | 2,40E+02 | n.n. | n.n. | n.n. | 2,40E+02 |
| 24h | n.n. | n.n. | n.n. | 2,30E+01 | n.n. | n.n. | n.n. | neg. |
| 1 Woche | n.n. | n.n. | n.n. | 9,20E+00 | n.n. | n.n. | n.n. | neg. |
| 2 Wochen | n.n. | n.n. | n.n. | neg. | n.n. | n.n. | n.n. | neg. |
| VERSUCH II | | | | | | | | |
| | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 2,40E+07 | 2,40E+07 | 1,10E+07 | 1,10E+03 | 2,40E+07 | 2,40E+07 | 1,10E+07 | 1,10E+04 |
| 2h | n.n. | n.n. | 3,00E+00 | 2,90E+02 | n.n. | n.n. | 9,20E+01 | 2,30E+01 |
| 5h | n.n. | n.n. | neg | 4,30E+01 | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. |
| 10h | n.n. | n.n. | neg | 2,30E+01 | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. |
| 24h | n.n. | n.n. | neg | 9,20E+01 | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. |
| 1 Woche | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. |
| 2 Wochen | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. |
| 4 Wochen | n.n. | n.n. | neg | neg | n.n. | n.n. | neg | neg |
| VERSUCH III | | | | | | | | |
| | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 4,60E+06 | 2,30E+06 | 9,30E+06 | 4,30E+04 | 4,60E+06 | 2,30E+06 | 9,30E+06 | 4,30E+04 |
| 1/2 h | n.n. | 2,30E+03 | 2,30E+01 | 4,30E+01 | n.n. | 9,30E+01 | 9,20E+00 | 9,20E+00 |
| 1h | n.n. | 1,50E+01 | neg | 7,50E+01 | n.n. | 2,30E+03 | neg | qual. pos. |
| 2h | n.n. | n.n. | neg. | 9,20E+00 | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. |
| 5h | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg | neg. |
| 10h | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg | neg. |
| 24h | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg | neg |
| 48h | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg | neg |
| 7 Tage | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg | neg |
| 14 Tage | n.n. | n.n. | neg | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg | neg |
| 8 Wochen | n.n. | n.n. | neg | neg | n.n. | n.n. | neg | neg |

Legende: siehe Tabelle 16

Der Ausgangskeimgehalt an *S. senftenberg* und Fäkalstreptokokken (FKS) lag bei 10^7 KBE/g. Nach einer halben Stunde Inkubation im Substratgemisch war im Kernbereich eine Reduzierung beider Keime um 6 Zehnerpotenzen erfolgt. Im

Randbereich der Mischung erfolgte eine Reduzierung des Keimgehaltes an Fäkalstreptokokken erst nach einer Stunde um 6 Zehnerpotenzen (Abb.15).

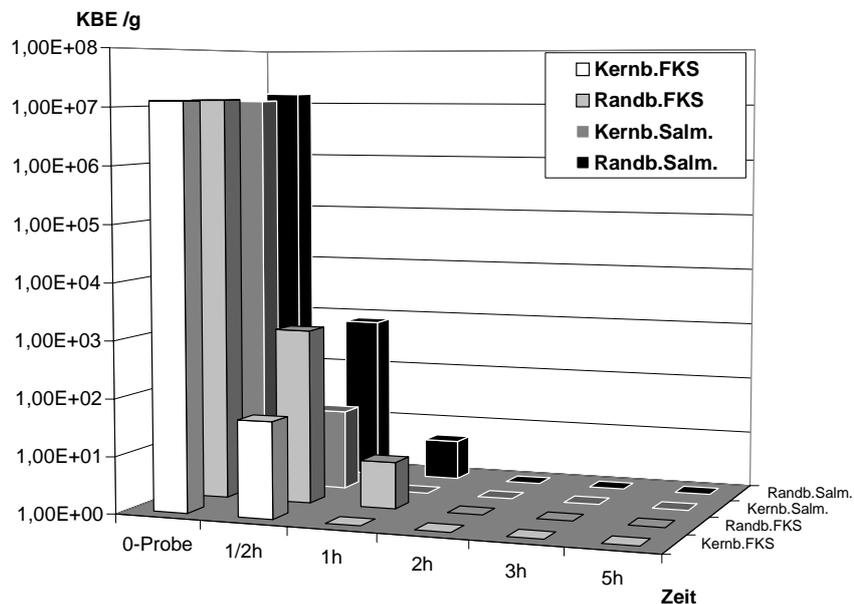


Abb.15: Darstellung der mittleren Reduktion von *S. senftenberg* und Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,1 kg CaO/kg TS) versetzten Klärschlamm

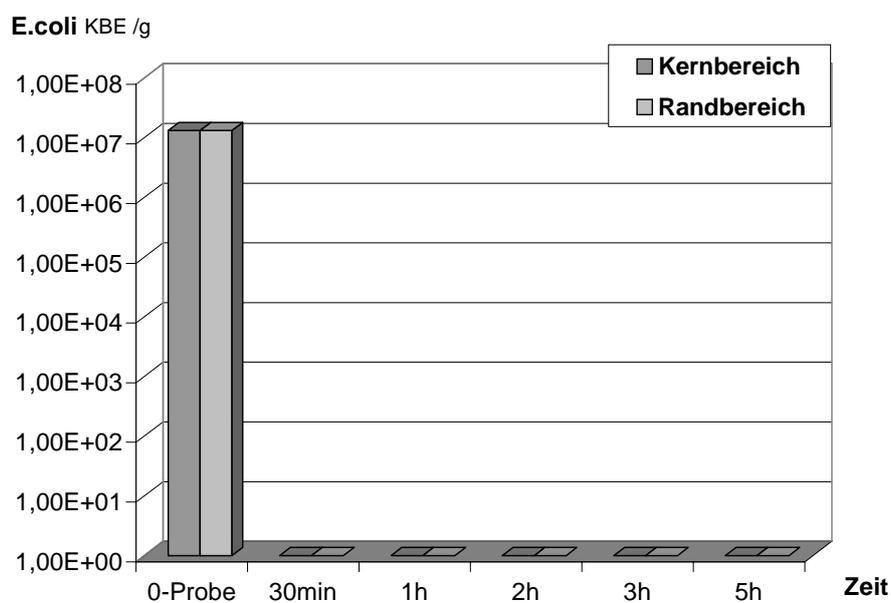


Abb. 16: Darstellung der Reduktion von *E. coli* durch Darstellung des Restkeimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,1kg CaO /kg TS) versetztem Klärschlamm

E-coli waren nach einer halben Stunde im Kalk-Substrat-Gemisch nicht mehr nachweisbar (Abb.16).

Die Ergebnisse der Tenazitätsversuche mit *Clostridium perfringens* sind nicht eindeutig. Sie streuen im Kernbereich bei einer Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen zwischen drei Stunden und einer Woche. Auch im Randbereich konnte ebenfalls eine Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen zwischen drei Stunden und zwei Wochen beobachtet werden.

4.2.2 Panseninhalt

4.2.2.1 Tenazitätsversuche mit Askarideneiern

Aufgrund der unterschiedlichen Chargen an Panseninhalt wurde Material mit 28% und 16% Trockensubstanzanteil eingesetzt. Für die Tenazitätsversuche mit Askarideneier wurden Kalkmengen von 0,7kg, 0,9kg, 1,25kg und 1,56kg CaO/kg Trockensubstanz eingesetzt. Dabei stellte sich heraus, dass eine vollständige homogene Vermischung von Panseninhalt und Kalk unter Verwendung des Mixers 1 nicht möglich war, da immer wieder inhomogene Zusammenballungen mit einem Durchmesser von ca. 5cm auftraten. Außerhalb dieser Zusammenballungen war die Mischung jedoch homogen und wurde für die Tenazitätsversuche verwendet.

Im Mischer 2 konnte unter Verwendung des integrierten Messerkopfes homogene Mischungen erzielt werden.

1) Versuch mit 0,7 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz:

Die verwendete Kalkmenge von 0,7kg CaO /kg TS entspricht, bei einem TS-Gehalt von 28%, 200g Kalk auf ein kg Panseninhalt.

In der Mischung stieg die Temperatur im Kernbereich nach 30 Minuten auf über 50°C an und verblieb über 4½ Stunden in diesem Temperaturbereich. Nach 1½ Stunden wurde eine maximale Temperatur von 64°C im Kernbereich gemessen. Im Randbereich dagegen wurde nach einer Stunde eine maximale Temperatur von 50°C ermittelt (Abb. 17).

Innerhalb von zwei Stunden konnte im Kernbereich eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier um 99,4% und im Randbereich um 95% erreicht werden. Nach 5 Stunden waren im Kernbereich der Mischung keine entwicklungsfähigen Askarideneier mehr nachzuweisen, im Randbereich nach 10 Stunden.

Tab. 20: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,7 kg/ CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (28% TS)

| Zeit | Randbereich in % | Kernbereich in % |
|-------------|-------------------------|-------------------------|
| 0 Probe | 82 | 82 |
| 2h | 4 | 0,5 |
| 5h | 2 | 0 |
| 10h | 0 | 0 |
| 24h | 0 | 0 |

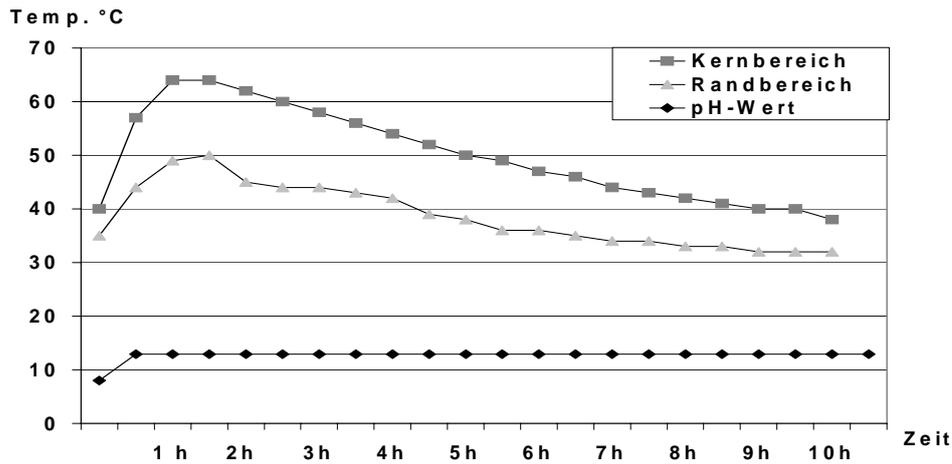


Abb.17: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,7 kg CaO /kg TS (zu Tab. 20)

2) Versuch mit 0,9 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkzudosierung entspricht einem Mischungsverhältnis von 250g Kalk auf ein kg Panseninhalt, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 28%.

Bei dem Einsatz von 0,9kg CaO/ kg TS stieg die Temperatur in der gesamten Mischung nach einer halben Stunde auf über 50°C an und verblieb über 5 Stunden in diesem Temperaturbereich. Nach einer Dreiviertelstunde wurde im Kernbereich eine maximale Temperatur von 74°C und im Randbereich von 66°C gemessen (Abb.18).

Tab. 21: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,9 kg CaO /kg TS) versetztem Panseninhalt (28% TS)

| Zeit | Randbereich in % | Kernbereich in % |
|---------|------------------|------------------|
| 0 Probe | 82 | 82 |
| 2h | 2 | 0 |
| 5h | 0 | 0 |
| 10h | 0 | 0 |
| 24h | 0 | 0 |

In der nach zwei Stunden entnommenen Probe konnten im Kernbereich keine entwicklungsfähigen Askarideneier mehr nachgewiesen werden. Im Randbereich waren zu diesem Zeitpunkt noch 2% lebende Eier auszählbar, dies entspricht einer Reduzierung um 97,5%. Nach 5 Stunden Inkubation konnten auch im Randbereich der Mischung keine entwicklungsfähigen Askarideneier mehr nachgewiesen werden.

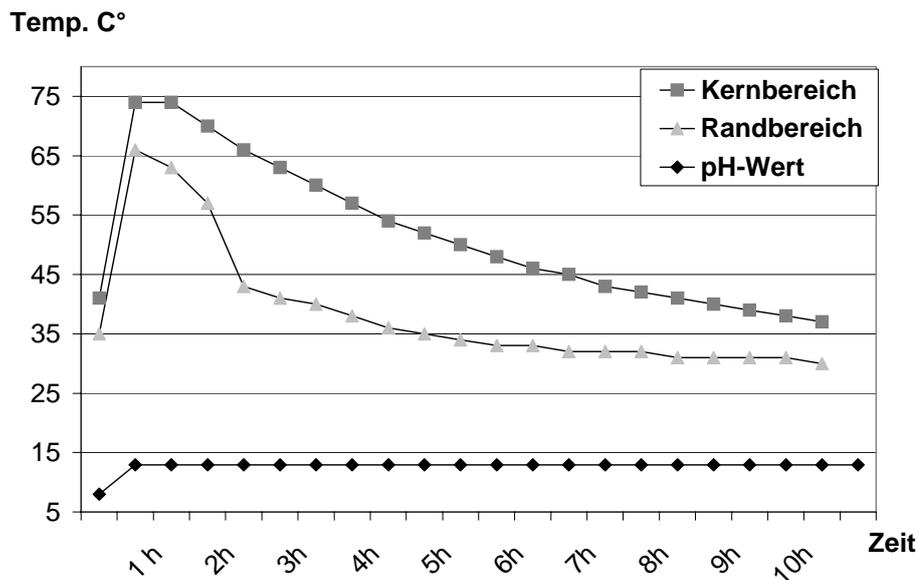


Abb. 18: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,9 kg CaO /kg Trockensubstanz (zu Tab. 21)

3) Versuch mit 1,25 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Bei der Verwendung einer Kalkmenge von 1,25kg CaO/kg TS wurde im Mischer 2 Panseninhalt mit einem TS-Gehalt von 16% eingesetzt. Die verwendete Kalkmenge entspricht einem Mischungsverhältnis von 200g Branntkalk auf ein kg Substrat. Die in Abbildung 19/19a dargestellten Ergebnisse sind Mittelwerte. Die Werte der Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt. Beim Versuch P_{VI} erfolgte eine Probenahme aus dem Substratgemisch bis zu 6 Wochen, diese Ergebnisse sind ergänzend in Tabelle 22 dargestellt.

Die maximal erreichte Temperatur im Kernbereich betrug nach 4 ½ Stunden 35 °C. Im Randbereich wurde nach 4 ½ Stunden eine maximale Temperatur von 27°C gemessen. Der pH-Wert des Gemisches betrug ab der ersten Messung, die eine halbe Stunde nach der Vermischung stattfand, pH 12,9 und blieb in einem Messzeitraum von 14 Tagen konstant (Abb.19a).

Im Kernbereich der Mischung erfolgte innerhalb von 24 Stunden eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier um 29% auf 52% lebende Spulwürmer. Im Randbereich konnte in einer Zeitspanne von 24 Stunden keine Schädigung der Askarideneier festgestellt werden (Abb.19).

Beim Versuch P_{VI} konnte nach drei Wochen im Kernbereich der Mischung eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier um 89,7% nachgewiesen werden. Nach einer Lagerung des Kalk-Substrat-Gemischs von vier Wochen waren gar keine entwicklungsfähigen Eier mehr nachweisbar. Im Randbereich erfolgte eine Reduzierung nach 6 Wochen Lagerung auf 29% (Tab.22).

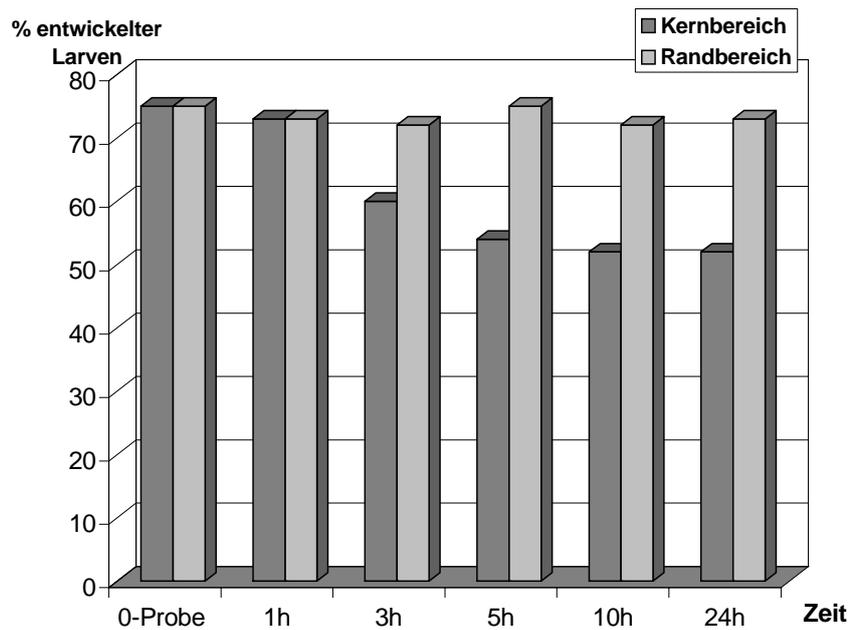


Abb. 19: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,25 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (16% TS)

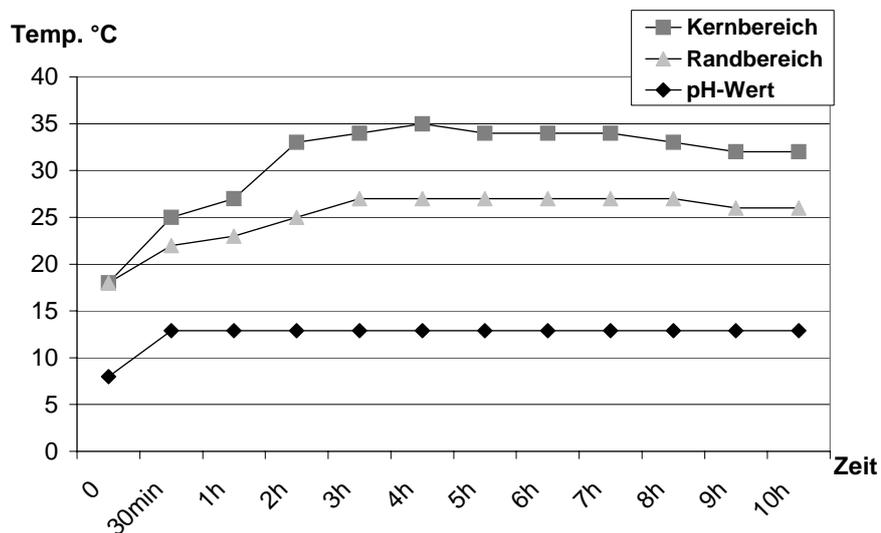


Abb. 19a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 1,25 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb. 19)

Tab.22: Versuch PIV :

Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,25 CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (16% TS)

| Zeit | Randbereich in % | Kernbereich in % |
|----------|------------------|------------------|
| 0 Probe | 76 | 76 |
| 3h | 76 | 76 |
| 10h | 76 | 76 |
| 24h | 76 | 74 |
| 48h | n.a. | 71 |
| 1 Woche | 39 | n.a. |
| 2 Wochen | 63 | 43 |
| 3 Wochen | n.a. | 1 |
| 4 Wochen | n.a. | 0 |
| 5 Wochen | 42 | 0 |
| 6 Wochen | 29 | 0 |

Legende: n.a.: nicht auswertbar

Durch die lange Lagerung der Keimträger waren viele Proben nicht mehr auswertbar.

4) Versuch mit 1,56 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 1,56kg CaO/kg TS entspricht, bei einem TS-Gehalt des Panseninhalts von 16%, 250g Branntkalk auf ein kg Substrat. Die Einmischung erfolgte im Mischer 2.

Die in Abbildung 20 /20a dargestellten Ergebnisse sind Mittelwerte. Die Werte der Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Wie aus Abbildung 20a ersichtlich, steigt die Temperatur im Kernbereich des Substrates nach vier Stunden auf über 50°C an und verbleibt 3½ Stunden in diesem Temperaturbereich. Nach fünf Stunden wurde im Kernbereich eine maximale Temperatur von 55°C und im Randbereich der Mischung nach vier Stunden eine maximale Temperatur von 40°C gemessen.

Die Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier konnte innerhalb von fünf Stunden im Kernbereich der Mischung um 98,7% gesenkt werden. Nach 10 Stunden konnte keine lebenden Spulwürmer mehr nachgewiesen werden. Im Randbereich erfolgt innerhalb von 24 Stunden eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier um 44,7% (Abb. 20).

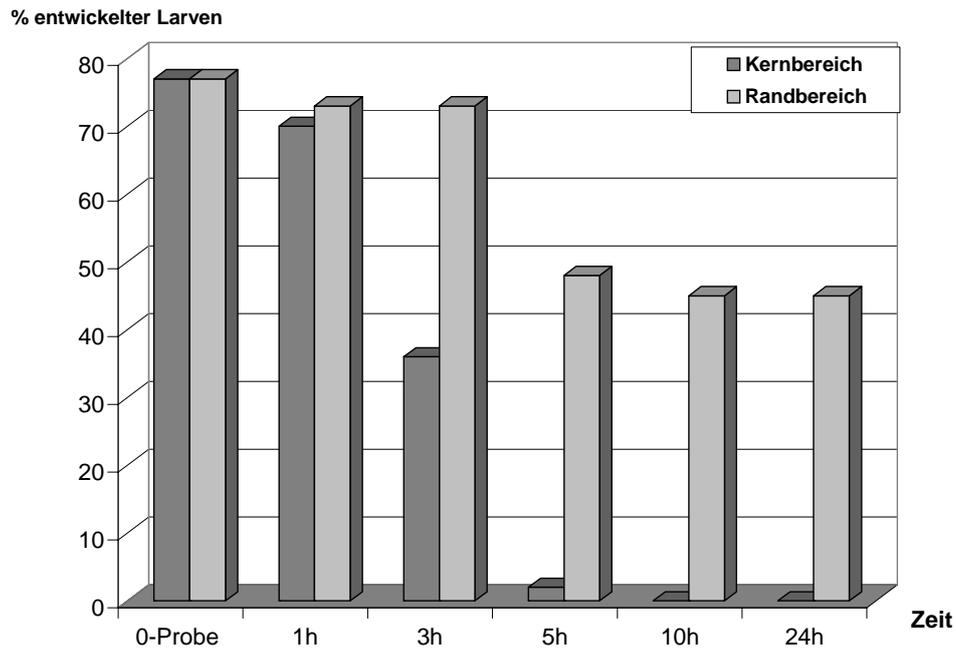


Abb. 20: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,56 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

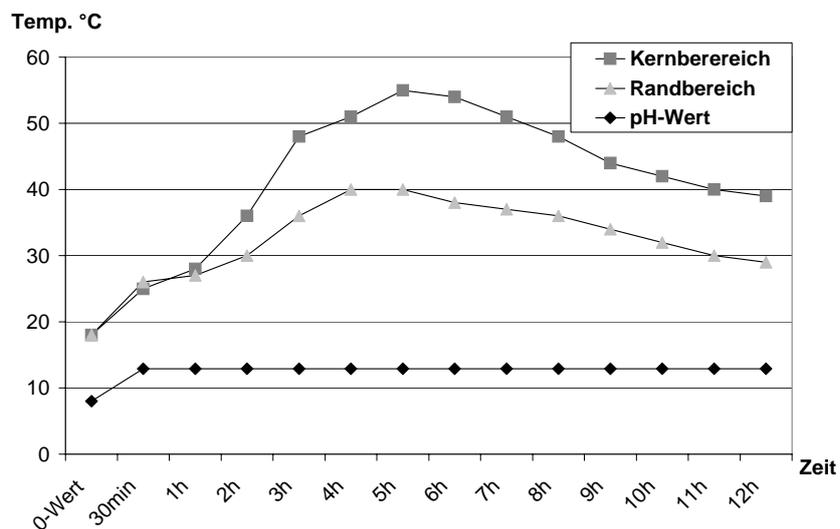


Abb. 20a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 1,56 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.20)

4.2.2.2 Tenazitätsversuche mit dem Bovinen Parvovirus (BPV)

Die Tenazitätsuntersuchungen mit dem Bovinen Parvovirus (BPV) wurden parallel zu den Untersuchungen mit Askarideneier durchgeführt. Die Temperatur- und pH-Wert Profile entsprechen den Abbildungen 17, 18, 19a und 20a unter Pkt. 4.2.2.1.

Aufgrund der unterschiedlichen Chargen an Panseninhalt wurde Material mit 28% und 16% Trockensubstanzanteil eingesetzt. Für die Tenazitätsversuche wurden Kalkmengen von 0,7kg, 0,9kg, 1,25kg und 1,56kg CaO /kg Trockensubstanz eingesetzt. Dabei stellte sich heraus, dass eine vollständige homogene Vermischung von Panseninhalt mit 28% TS und Kalk unter Verwendung des Mischers 1 nicht möglich war, da immer wieder inhomogene Zusammenballungen mit einem Durchmesser von ca. 5cm auftraten. Außerhalb dieser Zusammenballungen war die Mischung jedoch homogen und wurde für die Tenazitätsversuche verwendet.

Im Mischer 2 konnte unter Verwendung des integrierten Messerkopfes homogene Mischungen erzielt werden.

1) Versuch mit 0,7 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 0,7kg CaO /kg TS entspricht, bei einem TS-Gehalt von 28%, 200g Kalk auf ein kg Panseninhalt.

In der Mischung stieg die Temperatur im Kernbereich nach 30 Minuten auf über 50°C an und verblieb über 4½ Stunden in diesem Temperaturbereich. Nach 1½ Stunden wurde eine maximale Temperatur von 64°C im Kernbereich gemessen. Im Randbereich wurde dagegen nach einer Stunde eine maximale Temperatur von 50°C ermittelt (s. Abb. 17).

Bei diesem Versuch betrug der Ausgangskeimgehalt des Bovinen Parvovirus 10^5 KID₅₀ /ml (Tab. 23), nach 10 Stunden erfolgte im Randbereich der Mischung eine Reduzierung auf 10^3 KID₅₀ /ml. Im Kernbereich konnte innerhalb des Untersuchungszeitraums (10h) eine Reduzierung des Keimgehaltes um 3 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden.

Tab. 23: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus, durch Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,7 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (TS 28%)

| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Virus 1:10 | 1,78E+06 | 1,78E+06 |
| 0-Probe | 4,39E+05 | 4,39E+05 |
| 1/2h | 4,72E+05 | 2,98E+05 |
| 1h | 1,78E+04 | 2,56E+04 |
| 2h | 6,26E+04 | 3,16E+02 |
| 5h | 8,54E+03 | 2,65E+02 |
| 10h | 5,62E+03 | 2,65E+02 |

Legende:

n.n.: nicht (mehr) nachweisbar (<5,60E+01)

KID₅₀/ml: kulturinfektiöse Dosis 50%

2) Versuch mit 0,9 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkzudosierung entspricht einem Mischungsverhältnis von 250g Kalk auf ein kg Panseninhalt, bei einem TS-Gehalt des Substrates von 28%.

Bei dem Einsatz von 0,9kg CaO/ kg TS stieg die Temperatur in der gesamten Mischung nach einer halben Stunde auf über 50°C an und verblieb über 5 Stunden in diesem Temperaturbereich. Nach einer Dreiviertelstunde wurde im Kernbereich eine maximale Temperatur von 74°C und im Randbereich von 66°C gemessen (Abb.18).

Bei diesem Versuch erfolgte im Kernbereich der Mischung nach fünf Stunden eine Reduzierung von BPV um 5 Zehnerpotenzen bis zur Nachweisgrenze von $10^{1,75}$ KID₅₀/ml. Im Randbereich war nach 10 Stunden noch ein Keimgehalt von $1,35 \times 10^3$ KID₅₀/ml an Bovinem Parvoviren nachweisbar.

Tab. 24: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus, durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,9 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (TS 28%)

| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Virusverd. 1:10 | 1,78E+06 | 1,78E+06 |
| 0-Probe | 4,39E+05 | 4,39E+05 |
| 1/2h | 7,99E+04 | 2,40E+05 |
| 1h | 8,04E+04 | --- |
| 2h | 7,08E+03 | 1,24E+03 |
| 5h | 4,72E+03 | n.n. |
| 10h | 1,35E+03 | n.n. |

Legende: siehe Tab.23

3) Versuch mit 1,25 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Mit der Kalkmenge 1,25 kg CaO/ kg TS wurden drei Versuche durchgeführt. Aus den Ergebnissen wurde der Mittelwert ermittelt und in der Abbildungen 21 dargestellt. Die Werte der Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Der Trockensubstanzanteil des verwendeten Panseninhalts betrug 16%, demnach entspricht die verwendete Kalkmenge einem Mischungsverhältnis von 200g Branntkalk auf ein kg Substrat

Die maximal erreichte Temperatur im Kernbereich betrug nach 4½ Stunden 35°C. Im Randbereich wurde nach 4½ Stunden eine maximale Temperatur von 27°C gemessen. Der pH-Wert des Gemisches betrug ab der ersten Messung, die eine halbe Stunde nach der Vermischung stattfand, 12,9 und blieb in einem Messzeitraum von 14 Tagen konstant (s. Abb.19a unter Pkt. 4.2.2.1).

Im Kernbereich der Mischung erfolgte innerhalb von 24 Stunden eine Reduzierung des Bovinen Parvovirus um 3 Zehnerpotenzen. Im Randbereich wurde innerhalb der gleichen Zeitspanne nur eine Reduzierung um eine Zehnerpotenz festgestellt (Abb.21).

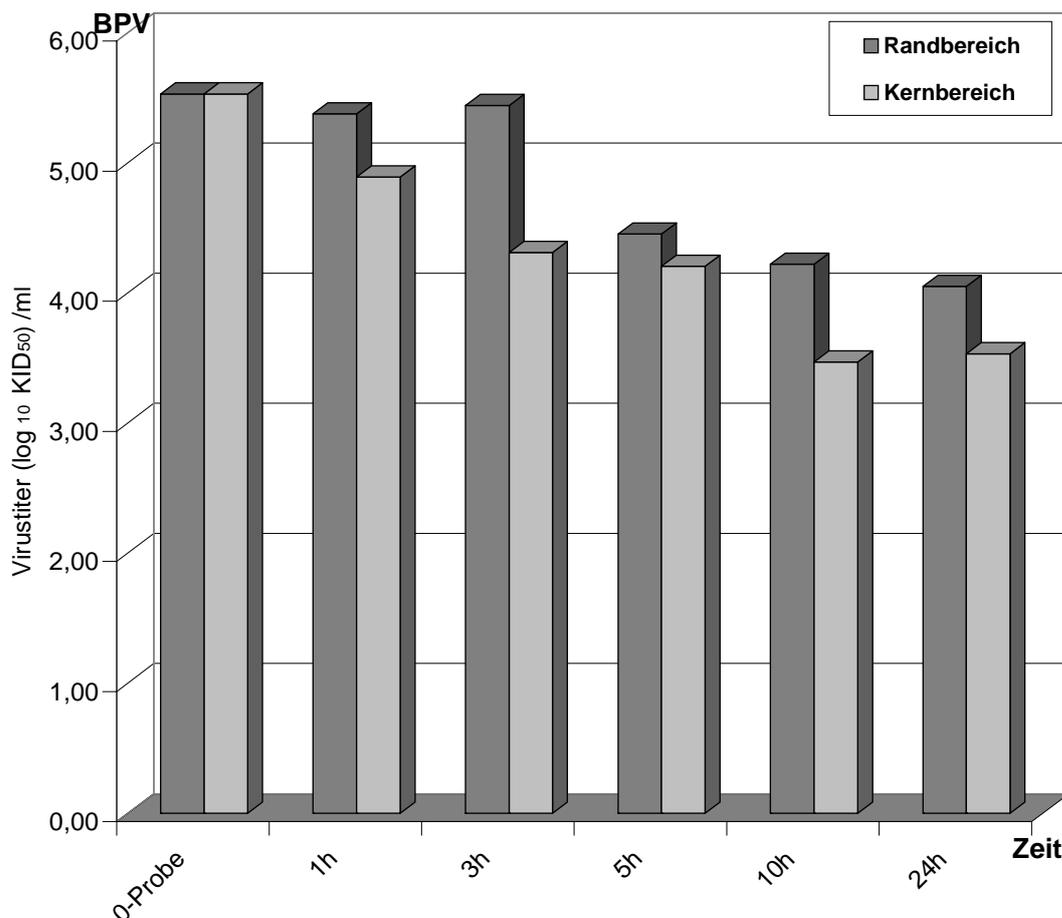


Abb.21: Darstellung der Reduzierung des Bovinem Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,25 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt.

4) Versuch mit 1,56kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Beim Einsatz von 1,56kg CaO/kg TS fand Panseninhalt mit einem TS-Gehalt von 16% Verwendung, demnach entspricht die verwendete Kalkmenge einem Mischungsverhältnis von 250g Branntkalk auf ein kg Substrat. Im Mischer 2 konnte dabei eine homogene Mischung erzielt werden

Die in Abbildung 22 dargestellten Ergebnisse sind Mittelwerte. Die Werte der Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Bei der Verwendung von 1,56kg CaO/kg TS stieg die Temperatur im Kernbereich der Mischung nach vier Stunden auf über 50°C an und verblieb 3½ Stunden in diesem Temperaturbereich. Nach fünf Stunden wurde im Kernbereich eine maximale Temperatur von 55°C und im Randbereich der Mischung nach vier Stunden eine maximale Temperatur von 40°C gemessen (s. Abb. 20a).

Nach 10 Stunden Inkubation der Keimträger konnte eine Reduzierung von BPV um 3 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden.

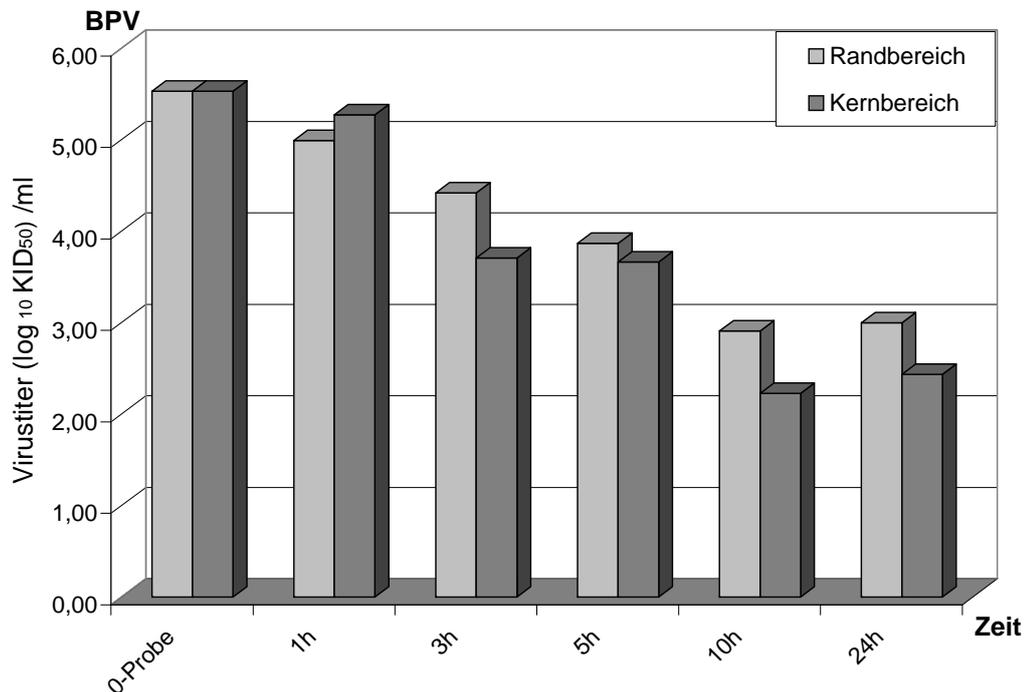


Abb.22: Darstellung der Reduzierung des Bovinem Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,56 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

4.2.2.3 Versuche mit dem Rinder Enterovirus (ECBO)

Der Trockensubstanzanteil des Panseninhaltes betrug in den vier durchgeführten Tenazitätsuntersuchungen 16%. Es wurden Mischungen mit 0,3kg, 0,6kg und 1,56 kg CaO /kg Trockensubstanz hergestellt. In allen Fällen konnte im Mischer 2 eine homogene Mischung erzielt werden.

1) Versuche mit 0,3 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Bei einer Kalkmenge von 0,3kg CaO /kg TS (50g CaO /kg Substrat) wurde im Kernbereich der Mischung eine Temperaturerhöhung um 6°C erzielt. Der in regelmäßigen Abständen ermittelte pH-Wert betrug nach einer halben Stunde 12,9 und veränderte sich über einen Messzeitraum von 14 Tagen nicht mehr (Abb.23).

Der Ausgangskeimgehalt an ECBO-Virus betrug 10^6 KID₅₀/ml. Im ersten Versuch lag der ermittelte Keimgehalt nach vier Stunden Inkubation der Keimträger im Kernbereich der Mischung bei 10^5 KID₅₀/ml. 20 Stunden später (24h Probe) konnte im Kern- und Randbereich eine Reduzierung des Keimgehaltes um 4 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden.

Beim zweiten Versuch erfolgte im Kernbereich eine Reduzierung des Keimgehaltes nach 10 Stunden um 5 Zehnerpotenzen. Im Randbereich konnte innerhalb von 24 Stunden eine Reduzierung um 5 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden. Die 10 Stunden Probe aus dem Randbereich der Mischung war nicht auswertbar.

Bei einem Vergleich der beiden Versuche kann man feststellen, dass eine ausreichende Reduzierung des Keimgehaltes an ECBO-Virus innerhalb von 10 bis 24 Stunden erfolgte.

Tab.25: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,3 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| VERSUCH I | | |
| Virusverd. 1:10 | 1,00E+07 | 1,00E+07 |
| 0-Probe | 1,00E+06 | 1,00E+06 |
| 30min. | 3,06E+06 | 2,27E+06 |
| 1h | --- | 1,78E+06 |
| 4h | 5,40E+05 | 3,16E+05 |
| 24h | 4,70E+01 | n.n. |
| VERSUCH II | | |
| Virusverd. 1:10 | 5,26E+07 | 5,26E+07 |
| 0-Probe | 5,62E+06 | 5,62E+06 |
| 1h | --- | 4,34E+06 |
| 2h | --- | 3,77E+06 |
| 4h | --- | 3,77E+04 |
| 10h | n.a. | 7,10E+01 |
| 24 h | 2,20E+01 | 1,20E+01 |
| 2 Tage | 1,70E+01 | 3,10E+01 |
| 7 Tage | 1,00E+01 | 3,10E+01 |

Legende:

n.n.: nicht (mehr) nachweisbar (<5,60E+01)

n.a.: nicht auswertbar

KID₅₀/ml: kulturinfektiöse Dosis 50%

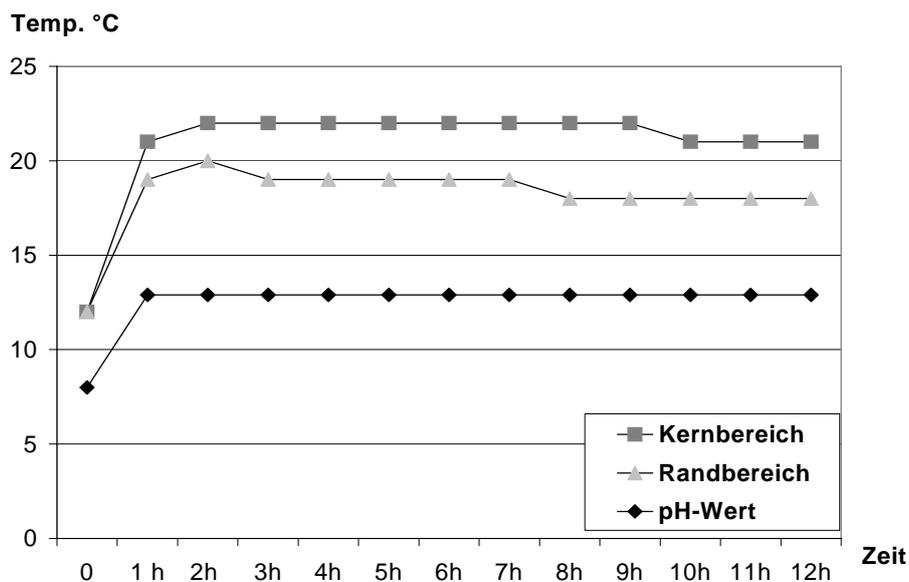


Abb. 23: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,3 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.25)

2) Versuch mit 0,6 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Bei einer Kalkzugabe von 0,6kg CaO/ kg TS (100g CaO /kg Substrat) konnte eine Reduzierung des Keimgehaltes von ECBO von 106 auf 103 KID50/ml innerhalb von 24 Stunden festgestellt werden. Während des gesamten Untersuchungszeitraumes konnte eine maximale Temperaturerhöhung von 3°C gemessen werden. Der in regelmäßigen Abständen ermittelte pH-Wert lag konstant bei 12,9 (Abb.24).

Tab. 26: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,6 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Virusverd. 1:10 | 1,00E+07 | 1,00E+07 |
| 0-Probe | 1,00E+06 | 1,00E+06 |
| 30min. | 3,31E+06 | 2,65E+06 |
| 1h | 3,31E+06 | 9,39E+05 |
| 3h | n.a. | 5,62E+05 |
| 24h | 3,16 E+03 | 4,08E+03 |

Legende: siehe Tabelle 25

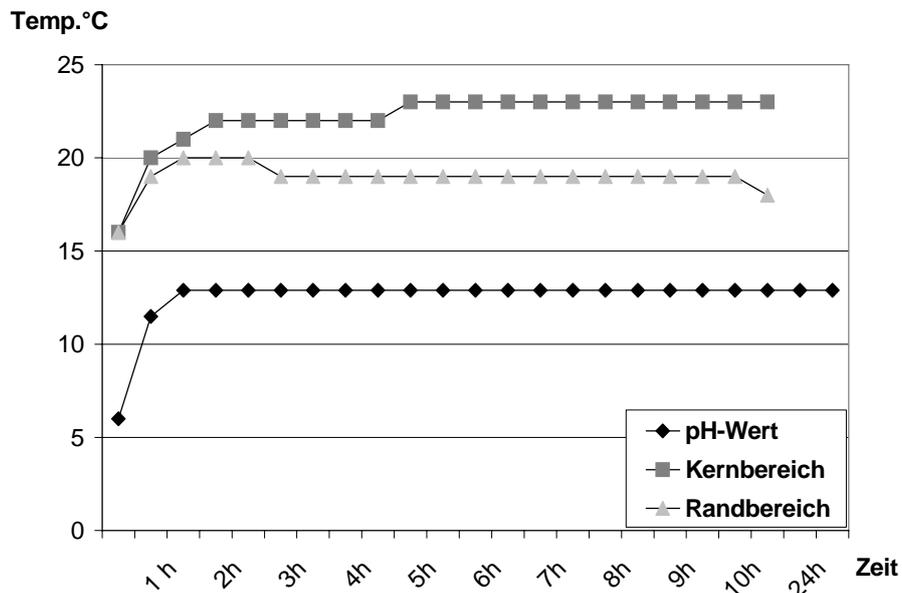


Abb. 24: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,6 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.26)

3) Versuch mit 1,56 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Mit einer Kalkmenge von 1,56kg CaO /kg TS wurde im Kernbereich der Mischung nach 5½ Stunden eine Temperatur von 50°C, nach 6½ h 60°C und nach 7½ h Stunde eine maximale Temperatur von 65°C gemessen. Im Randbereich wurde nach

8 Stunden eine maximale Temperatur von 55°C erreicht. Der ermittelte pH-Wert lag während des gesamten Untersuchungszeitraumes konstant bei 12,9 (Abb.23). Nach zwei Stunden erfolgte im Kernbereich der Mischung eine Reduzierung des Keimgehaltes bis auf die Nachweisgrenze von $10^{1,75}$ KID₅₀/ml. Im Randbereich war nach vier Stunden noch ein Keimgehalt von 10^4 KID₅₀/ml nachzuweisen. Innerhalb von 24 Stunden erfolgte in diesem Bereich eine Reduzierung bis zur Nachweisgrenze.

Tab. 27: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,56 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Virusverd. 1:10 | 5,62E+07 | 5,62E+07 |
| 0-Probe | 1,00E+06 | 1,00E+06 |
| 1h | 1,78E+06 | 3,26E+06 |
| 2h | n.a. | n.n. |
| 4h | 2,31E+04 | n.n. |
| 24h | n.n. | n.n. |

Legende: siehe Tabelle 25

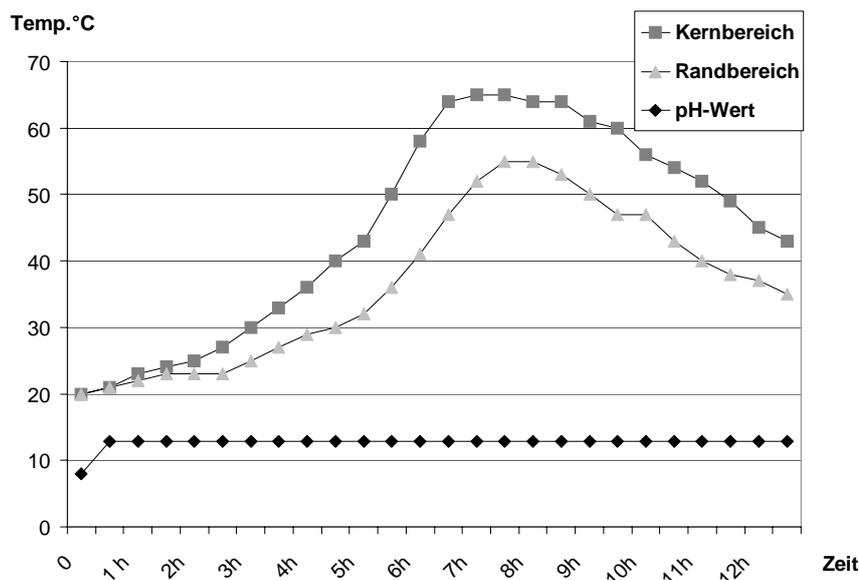


Abb.25: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 1,56 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.27)

4.2.2.4 Tenazitätsversuche mit Bakterien

Mit den Keimen *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken (*Enterococcus faecium*), *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen wurden Tenazitätsuntersuchungen mit Panseninhalt (16% TS) und Kalkzugaben von 0,2kg, 0,3kg, 0,6kg, und 1,25kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz durchgeführt. In allen Fällen wurde im Mischer 2 eine homogene Mischung erzielt. Zusätzlich wurden Versuche im Mischer 1 mit Panseninhalt mit einem TS-Gehalt von 28% und der Kalkmenge 0,9kg CaO /kg TS

durchgeführt, dabei stellte sich heraus das Panseninhalt im Mischer 1 nicht verarbeitet werden kann.

1) Versuch mit 0,2 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkzudosierung von 0,2kg CaO /kg TS entspricht einem Mischungsverhältnis von 25g Branntkalk auf ein kg Panseninhalt (TS 16%). Während des Untersuchungszeitraums von 24 Stunden wurden eine maximale Temperaturerhöhung von 6°C und ein konstanter pH-Wert von 12,9 gemessen. Nach 7 Tagen lag der ermittelte pH-Wert bei 12,6.

Tab. 28: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Keimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Randbereich KBE /g | | | | Kernbereich KBE /g | | | |
|----------|--------------------|----------|------------|-------------|--------------------|----------|------------|-------------|
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 2,30E+06 | 2,30E+06 | 4,30E+06 | 4,30E+03 | 2,30E+06 | 2,30E+06 | 4,30E+06 | 4,30E+03 |
| 1h | 9,20E+04 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+03 | 1,50E+05 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 4,30E+03 |
| 3h | 2,30E+05 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+03 | 4,30E+05 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+03 |
| 5h | 2,30E+05 | 2,30E+06 | 2,30E+06 | 2,30E+03 | 9,30E+04 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+03 |
| 10h | 2,30E+05 | 4,30E+06 | 2,30E+06 | 9,30E+02 | 9,30E+04 | 9,30E+05 | 2,30E+07 | 1,00E+03 |
| 24h | n.n. | 4,30E+02 | 1,00E+01 | qual. pos. | n.n. | 4,30E+02 | qual. pos. | qual. pos. |
| 48h | n.n. | 2,30E+02 | qual. pos. | 4,30E+01 | n.n. | 2,30E+02 | qual. pos. | 2,30E+02 |
| 4 Wochen | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |

Legende:

FKS: Fäkalstreptokokken

S. senft.: *Salmonella senftenberg*

Clost. perf.: Sporen von *Clostridium perfringens*

KBE/g : Koloniebildene Einheit pro g

n.n.: nicht (mehr) nachweisbar (Nachweisgrenze $0,36 \times 10^1$ KBE/g)

n.a.: nicht auswertbar

Der Gehalt an E-coli reduzierte sich innerhalb von 24h Stunden bis unter die Nachweisgrenze ($0,36 \times 10^1$ KBE/g).

Fäkalstreptokokken (FKS) waren nach 24h Inkubation im Kalksubstratgemisch noch mit einem Keimgehalt von 10^2 KBE/g nachzuweisen. In der vier Wochen Probe waren FKS nicht mehr festzustellen.

Innerhalb von 24 Stunden erfolgte eine Reduzierung des Gehaltes an *S. senftenberg* um 5 Zehnerpotenzen.

Der Ausgangsgehalt von *Clostridium perfringens*-Sporen betrug nur 10^3 KBE/g, nach 2 Tagen waren im Kernbereich des Substrates noch ein Keimgehalt von 10^1 KBE/g und im Randbereich von 10^2 KBE/g nachzuweisen. Nach vier Wochen konnte die Sporen nur noch qualitativ nachgewiesen werden.

Bei einem Zusatz von 0,2kg CaO kg TS und einem gebildeten pH-Wert von 12,9 konnte damit ohne Temperaturerhöhung *S. senftenberg* und *E.coli* innerhalb von 24 Stunden um 5 Zehnerpotenzen reduziert werden. Eine Reduzierung von Fäkalstreptokokken erfolgte in diesen Zeitraum nur um 4 Zehnerpotenzen. Sporen von *Clostridium perfringens* konnte mit dieser Kalkmenge nicht ausreichend geschädigt werden.

2) Versuch mit 0,3 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 0,3kg CaO/ kg TS entspricht, bei einem TS-Gehalt des Panseninhalts von 16%, 50g Kalk pro kg Substrat.

Die drei durchgeführten Versuche sind in Tabelle 29 dargestellt. Die Mittelwerte der jeweiligen Bakterienarten sind je zu zwei in einer Abbildung zusammengefasst.

Im ersten Versuch konnte kein Restkeimgehalt von *Clostridium perfringens* bestimmt werden.

Während des Untersuchungszeitraums von 24 Stunden wurde eine maximale Temperaturerhöhung von 6°C gemessen. Der in regelmäßigen Abständen ermittelte pH-Wert lag drei Wochen konstant bei 12,9 (Abb. 26).

Tab. 29: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,3kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Randbereich KBE/g | | | | Kernbereich KBE/g | | | |
|-------------|-------------------|------------|------------------|--------------------|-------------------|------------|------------------|--------------------|
| VERSUCH I | | | | | | | | |
| | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 9,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | --- | 9,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | --- |
| 30min | --- | --- | --- | --- | 4,30E+02 | 3,60E+03 | 7,40E+02 | --- |
| 1h | n.a. | n.a. | n.a. | --- | n.a. | n.a. | n.a. | --- |
| 3h | 3,60E+00 | 2,30E+01 | qual. pos. | --- | 3,60E+00 | 2,30E+01 | qual. pos. | --- |
| 5h | n.n. | 3,60E+00 | qual. pos. | --- | n.n. | 2,30E+01 | qual. pos. | --- |
| 10h | n.n. | n.n. | neg. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |
| 24h | n.n. | n.n. | neg. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |
| VERSUCH II | | | | | | | | |
| | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 9,30E+06 | 9,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+03 | 9,30E+06 | 9,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+03 |
| 30min. | --- | --- | --- | --- | 9,30E+02 | 7,40E+04 | 4,30E+02 | --- |
| 1h | 3,60E+00 | 7,40E+02 | qual. pos. | 7,40E+02 | n.n. | 9,30E+03 | 9,20E+01 | 3,60E+01 |
| 3h | n.n. | 4,30E+03 | 2,30E+01 | 7,40E+02 | n.n. | 2,10E+02 | 3,60E+00 | 3,60E+01 |
| 5h | n.n. | 9,30E+01 | 3,60E+00 | 3,60E+00 | n.n. | 9,30E+02 | 3,60E+00 | 3,60E+00 |
| 10h | n.n. | 4,30E+01 | 3,60E+00 | qual. pos. | n.n. | 2,30E+04 | qual. pos. | qual. pos. |
| 24h | n.n. | 4,30E+01 | qual. pos. | qual. pos. | n.n. | n.n. | qual. pos. | qual. pos. |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 3 Wochen | n.n. | n.n. | neg. | neg. | n.n. | n.n. | neg. | neg. |
| VERSUCH III | | | | | | | | |
| | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E-coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 1,50E+03 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 1,50E+03 |
| 30min. | --- | --- | --- | --- | 2,30E+01 | 3,60E+06 | 2,30E+03 | --- |
| 1h | n.n. | 9,30E+04 | 9,20E+00 | 7,40E+00 | 3,60E+00 | 9,30E+02 | 3,60E+00 | qual. pos. |
| 3h | n.n. | 2,30E+04 | 9,20E+00 | 3,60E+00 | n.n. | 9,30E+01 | qual. pos. | qual. pos. |
| 5h | n.n. | 2,30E+04 | qual. pos. | 3,60E+00 | n.n. | 4,30E+01 | qual. pos. | qual. pos. |
| 10h | n.n. | 9,30E+01 | neg. | qual. pos. | n.n. | 1,50E+01 | neg. | qual. pos. |
| 24h | n.n. | 3,60E+00 | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | neg. |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | neg. |
| 2 Wochen | n.n. | n.n. | neg. | neg. | n.n. | n.n. | neg. | neg. |

Legende: siehe Tabelle 28

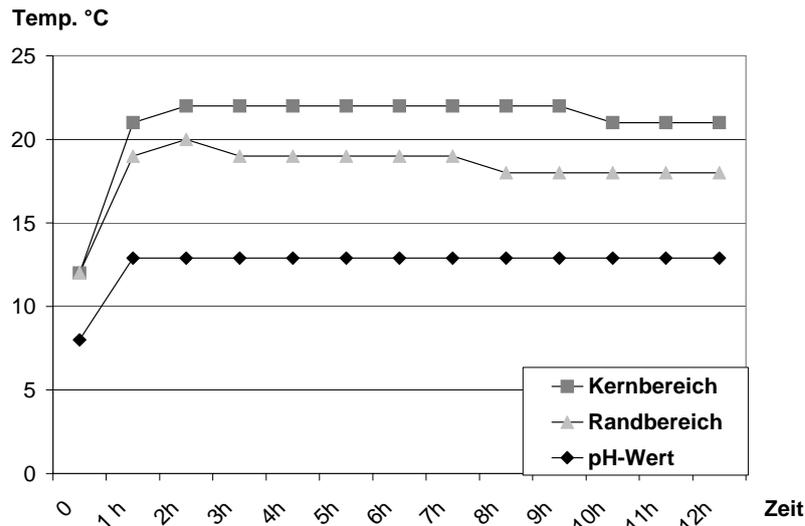


Abb. 26: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes während der Versuche mit 0,3kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.29)

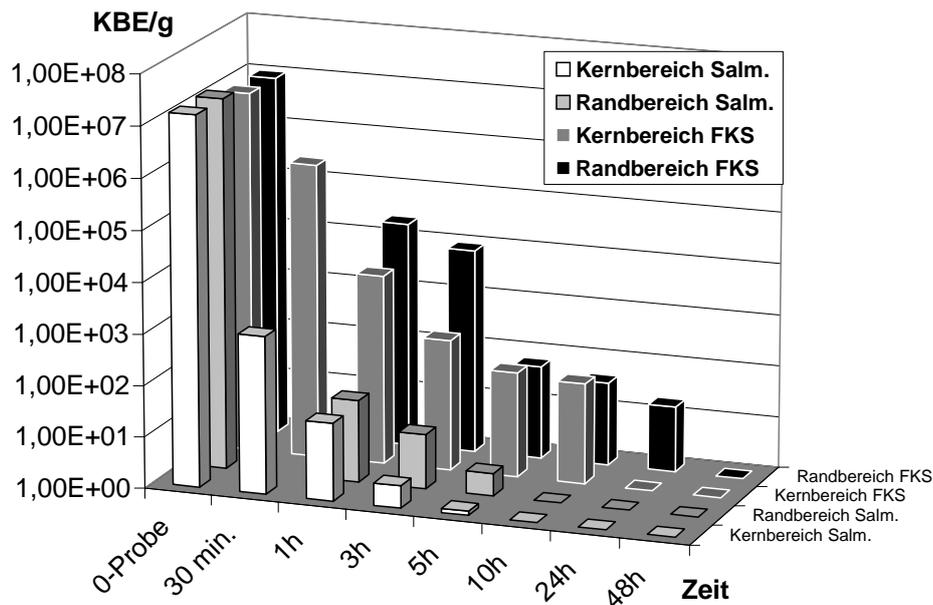


Abb. 27: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg* und Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,3kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

Bei dem Einsatz von 0,3kg Kalk /kg TS erfolgte in den ersten 30 Minuten eine Reduzierung des Gehaltes an *S. senftenberg* um 4 Zehnerpotenzen, innerhalb einer Stunde wurde eine Reduzierung um 5 Zehnerpotenzen erreicht. Der Gehalt von Fäkalstreptokokken konnte nach einer Stunde um 4 Zehnerpotenzen reduziert werden. Nach drei Stunden wurde im Kernbereich der Mischung und nach

5 Stunden auch im Randbereich eine Reduzierung der FKS um 5 Zehnerpotenzen nachgewiesen (Abb.27)

Innerhalb der ersten 30 Minuten reduzierte sich der Gehalt von E-coli um vier Zehnerpotenzen, nach einer Stunde war eine Reduzierung um 5 Zehnerpotenzen nachzuweisen.

Der Ausgangsgehalt von *Clostridium perfringens*-Sporen betrug nur 10^3 KBE/g, innerhalb von 48 Stunden erfolgte eine Reduzierung um 2 Zehnerpotenzen. In der drei Wochen Probe waren keine Sporen von *Clostridium perfringens* mehr nachweisbar (Abb. 28).

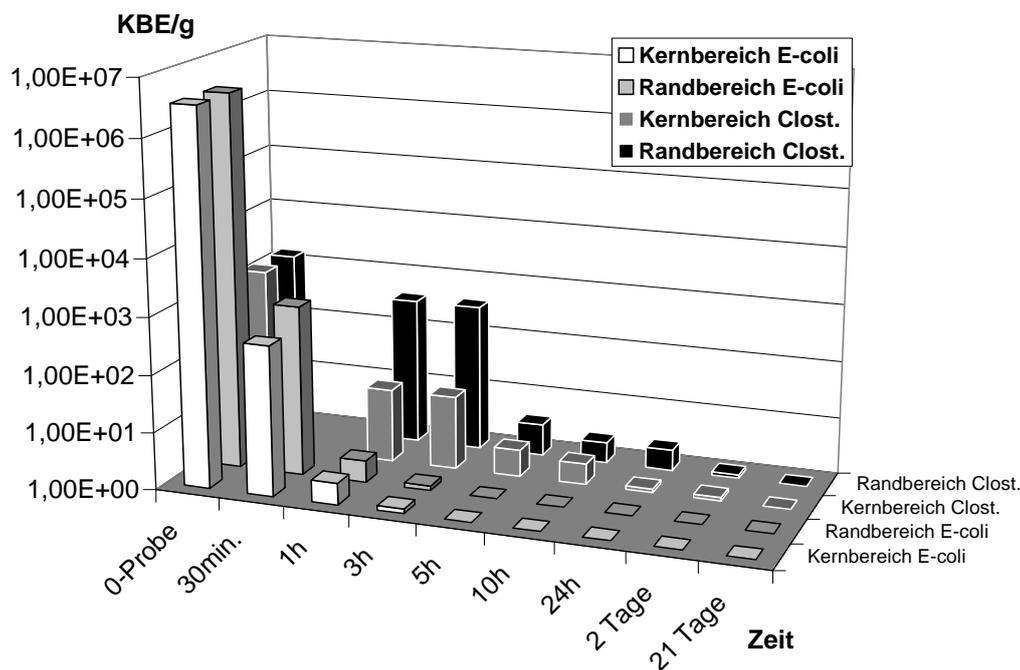


Abb. 28: Darstellung der mittleren Reduktion von *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen mit Branntkalk (0,3 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

Eine Reduzierung um die geforderten 5 Zehnerpotenzen konnte beim Einsatz von 0,3kg Kalk /kg TS innerhalb von einer Stunde für die Keime *S. senftenberg* und *E.coli* erreicht werden. Der Keimgehalt von Fäkalstreptokokken konnte in diesen Zeitraum nur um eine Zehnerpotenz reduziert werden. Für die Sporen von *Clostridium perfringens* konnte in unseren Untersuchungszeitraum keine aussagekräftige Aussage gemacht werden.

4) Versuch mit 0,6 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 0,6kg CaO/ kg TS entspricht 100 g Branntkalk auf ein kg Panseninhalt, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 16%. Innerhalb des Untersuchungszeitraums wurde eine maximale Temperaturerhöhung von 4°C gemessen. 30 Minuten nach der Vermischung lag der pH-Wert bei 11,5,

innerhalb von weiteren 30 Minuten stieg er bis auf 12,9 und blieb über 24 Stunden konstant (Abb.29).

Bei diesem Versuch wurde im Kernbereich der Mischung *E.coli* innerhalb einer Stunde bis auf die Nachweisgrenze reduziert. Im Randbereich erfolgte eine Reduzierung um fünf Zehnerpotenzen nach drei Stunden.

Der Gehalt an Fäkalstreptokokken (FKS) wurde im Kernbereich innerhalb einer Stunde um 4 Zehnerpotenzen reduziert, nach 5 Stunden war eine Reduzierung um 5 Zehnerpotenzen festzustellen. Im Randbereich der Mischung war nach 10 Stunden noch ein Keimgehalt von 10^4 KBE/g an FKS nachweisbar.

Im Kernbereich der Mischung wurden *S. senftenberg* innerhalb einer Stunde um 6 Zehnerpotenzen reduziert. Nach 10 Stunden war im Randbereich noch ein Keimgehalt von 10^3 KBE/g und nach 24 Stunden nur noch ein qualitativer Nachweis von *S. senftenberg* nachweisbar.

Die Versuche mit *Clostridium perfringens* konnten nicht ausgewertet werden, da die Proben mit Bazillen-Stämmen überwuchert waren.

Tab.30: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken und *E.coli* durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,6 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Randbereich KBE/g | | | | Kernbereich KBE/g | | | |
|---------|-------------------|----------|------------------|--------------------|-------------------|----------|------------------|--------------------|
| | <i>E.coli</i> | FKS | <i>S. senft.</i> | <i>Clost.perf.</i> | <i>E.coli</i> | FKS | <i>S. senft.</i> | <i>Clost.perf.</i> |
| 0-Probe | 2,30E+07 | 9,30E+06 | 2,30E+07 | --- | 2,30E+07 | 9,30E+06 | 2,30E+07 | --- |
| 1h | 4,30E+03 | 2,30E+05 | 4,30E+06 | --- | n.n. | 9,30E+02 | 7,40E+00 | --- |
| 3h | 1,50E+02 | 2,3E+05 | 2,30E+05 | --- | n.n. | 2,3E+02 | 9,20E+00 | --- |
| 5h | 7,50E+01 | 4,30E+04 | 2,30E+03 | --- | n.n. | 9,30E+01 | 3,60E+00 | --- |
| 10h | 2,30E+01 | 2,30E+04 | 2,30E+03 | --- | n.n. | 9,20E+00 | 3,60E+00 | --- |
| 24h | n.n. | n.n. | qual. pos. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |

Legende: siehe Tabelle 28

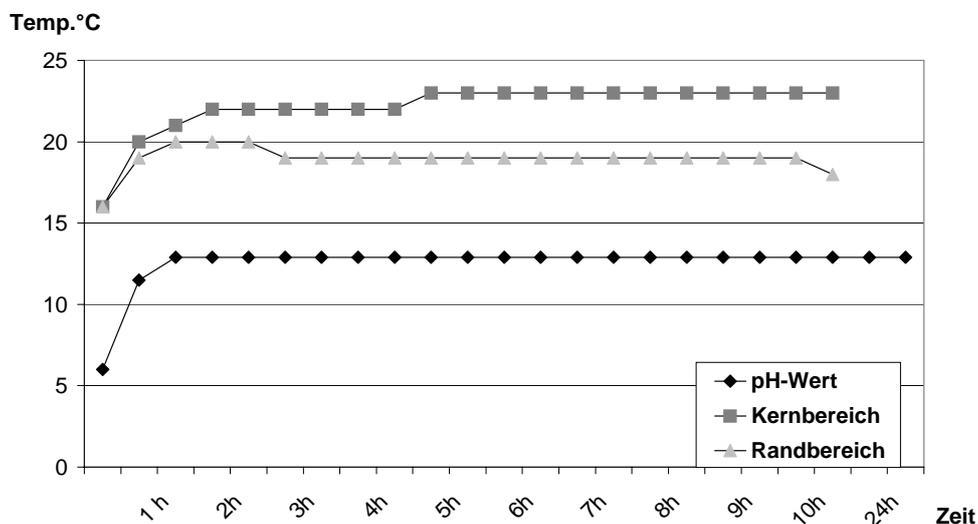


Abb.29: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,6 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.30)

4) Versuch mit 0,9 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Der Trockensubstanzanteil des Panseninhaltes lag bei diesen Versuchen bei 28%, demnach entspricht die verwendete Kalkmenge von 0,9kg CaO /kg TS einem Mischungsverhältnis von 250g CaO /kg Substrat.

In diesem Versuch stellte sich heraus, dass eine vollständige homogene Vermischung von Panseninhalt mit 28% TS und Kalk unter Verwendung des Mixers 1 nicht möglich war, da immer wieder inhomogene Zusammenballungen mit einem Durchmesser von ca. 10cm auftraten. Sie bestanden in ihrer äußersten Schicht aus mit Kalk vermengtem Panseninhalt und im Kern aus unvermischem Substrat. Zusätzlich zu den normalen Messungen wurden deshalb die Temperatur und der Keimgehalt der Bakterien in den gebildeten Ballen ermittelt.

Im Kernbereich der Mischung wurde 30 Minuten nach der Vermischung eine Temperatur von 50°C und nach einer Stunde eine maximale Temperatur von 78°C gemessen. Im Randbereich wurde nach einer Stunde eine maximale Temperatur von 50°C und in den Substratzusammenballungen ein maximaler Wert von 44°C nachgewiesen. Der in regelmäßigen Abständen ermittelte pH-Wert lag konstant bei 12,9 (Abb.30).

Beim Einsatz von 0,9kg CaO/kg TS konnte im ersten Versuch innerhalb der ersten 30 Minuten eine Reduzierung von *E.coli* um 5 Zehnerpotenzen erreicht werden. Im zweiten Versuch wurde der Gehalt von *E.coli* in den ersten 30 Minuten im Kernbereich bis auf 10^2 KBE/g gesenkt, in weiteren 30 Minuten erfolgte eine Reduzierung bis unter die Nachweisgrenze ($0,36 \times 10^1$ KBE/g).

Der Gehalt an Fäkalstreptokokken konnte in der homogenen Vermischung innerhalb von 5 Stunden um 5 Zehnerpotenzen reduziert werden, in einem der gebildeten Ballen war nach 10 Stunden noch ein Keimgehalt von 10^3 KBE/g nachzuweisen.

Eine Reduzierung um 5 Zehnerpotenzen konnte beim Keimgehalt von *S. senftenberg* im Kernbereich der Mischung innerhalb der ersten 30 Minuten und im Randbereich nach zwei Stunden erreicht werden.

Der Ausgangsgehalt von *Clostridium perfringens*-Sporen betrug 10^4 KBE/g. Im Kernbereich der Mischung erfolgte innerhalb einer halben Stunde eine Reduzierung auf 10^2 KBE/g. Nach 24 Stunden waren Sporen von *Clostridium perfringens* im gesamten Substrat nur noch qualitativ nachweisbar.

Durch die inhomogene Einmischung, die Ballenbildung und die dadurch gebildeten Keimreservate konnte eine vollständige Reduktion der Bakterien nicht nachgewiesen werden (Tab. 31).

Tab. 31: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Randbereich (Substratballen) KBE/g | | | | Kernbereich KBE/g | | | |
|------------|------------------------------------|------------|-----------------|--------------------|-------------------|------------|-----------------|--------------------|
| VERSUCH I | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S.senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S.senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 9,30E+03 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 9,30E+03 |
| 1/2h | 9,30E+01 | 4,30E+05 | 2,30E+03 | 4,30E+01 | 3,60E+00 | 4,30E+05 | 2,30E+01 | 9,20E+00 |
| 1h | n.n. | 4,30E+05 | 4,30E+03 | 2,10E+02 | n.n. | 4,30E+05 | 4,30E+03 | 2,30E+02 |
| 2h | n.n. | 2,30E+02 | 4,30E+02 | 4,30E+02 | n.n. | 7,40E+00 | 2,30E+01 | 9,30E+01 |
| 5h | n.n. | 9,20E+01 | 7,20E+00 | 2,30E+02 | n.n. | 9,30E+02 | 2,30E+01 | 9,30E+01 |
| 10h | n.n. | 4,30E+03 | qual. pos. | 2,30E+02 | n.n. | 9,20E+01 | qual. pos. | 9,20E+00 |
| 24h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | qual. pos. | qual. pos. |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 1 Woche | n.n. | 2,30E+02 | qual. pos. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 2 Wochen | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 3 Wochen | n.n. | n.n. | neg. | neg. | n.n. | n.n. | neg. | neg. |
| VERSUCH II | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S.senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S.senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 9,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 7,50E+04 | 9,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 7,50E+04 |
| 1/2 h | 4,30E+04 | 4,30E+05 | 4,30E+05 | 9,30E+01 | 2,30E+02 | 9,30E+04 | 2,30E+02 | 1,50E+02 |
| 1h | 2,30E+02 | 4,30E+05 | 4,30E+04 | 1,50E+01 | n.n. | 4,30E+03 | 2,30E+02 | 4,30E+01 |
| 2h | 2,30E+01 | 4,30E+05 | 4,30E+02 | 4,30E+02 | n.n. | 1,50E+03 | 4,30E+02 | 4,30E+01 |
| 5h | n.n. | 4,30E+02 | qual. pos. | 4,30E+01 | n.n. | 4,30E+02 | neg. | 3,60E+00 |
| 10h | n.n. | 4,30E+01 | qual. pos. | 9,30E+00 | n.n. | 4,30E+01 | neg. | qual. pos. |
| 24h | n.n. | n.n. | qual. pos. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 1 Woche | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |
| 2 Wochen | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | neg. |

Legende: siehe Tabelle 28

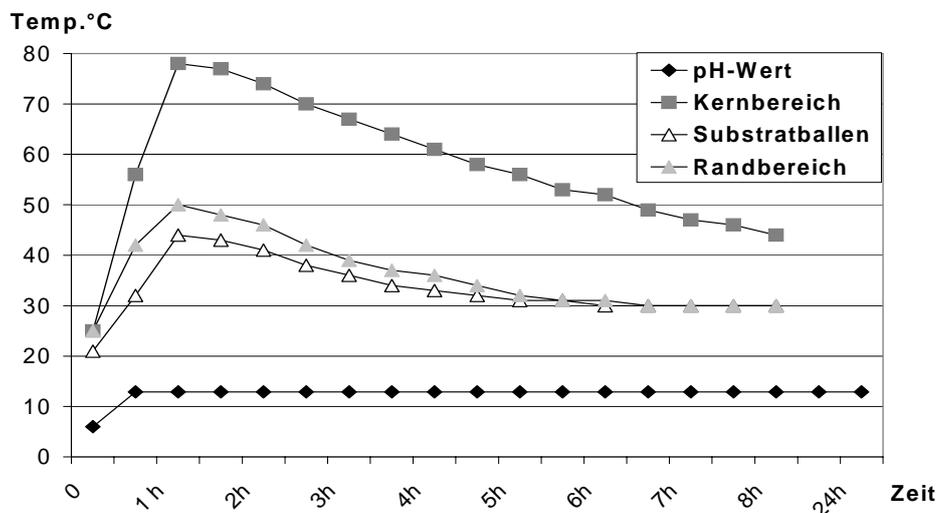


Abb.30: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,9 kg CaO/kg Trockensubstanz (28% TS)

5) Versuch mit 1,25 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge entspricht, bei einem TS-Gehalt des Panseninhalts von 16%, 200g Branntkalk auf ein kg Panseninhalt.

Die maximal erreichte Temperatur im Kernbereich der Mischung betrug 35°C, im Randbereich wurden 27°C gemessen. Der in regelmäßigen Abständen ermittelte pH-Wert lag über einem Untersuchungszeitraum von zwei Wochen konstant bei 12,9.

Beim Einsatz von 1,25kg Kalk /kg TS konnte der Gehalt an E-coli und *Salmonella senftenberg* innerhalb der ersten 30 Minuten um 7 Zehnerpotenzen reduziert werden. Fäkalstreptokokken (FKS) wurden im Kernbereich der Mischung innerhalb einer Stunde um 6 Zehnerpotenzen reduziert. Im Randbereich waren FKS nach 5 Stunden nicht mehr nachweisbar.

Die Proben von *Clostridium perfringens* konnten nicht ausgewertet werden, da sie mit Bacillen-Stämmen überwuchert waren.

Tab. 32: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken und *E-coli* durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,25kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Randbereich KBE/g | | | | Kernbereich KBE/g | | | |
|---------|-------------------|----------|------------|------------|-------------------|----------|------------|------------|
| | E.coli | FKS | S.senft. | Clost.perf | E.coli | FKS | S.senft. | Clost.perf |
| 0-Probe | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | --- | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | --- |
| 1h | n.n. | 2,20E+04 | qual. pos. | --- | n.n. | 2,10E+01 | qual. pos. | --- |
| 3h | n.n. | 4,30E+03 | qual. pos. | --- | n.n. | n.n. | neg | --- |
| 6h | n.n. | n.n. | qual. pos. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |
| 10h | n.n. | n.n. | qual. pos. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |
| 24h | n.n. | n.n. | qual. pos. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |
| 7 Tage | n.n. | n.n. | n.n. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |

Legende: siehe Tabelle 28

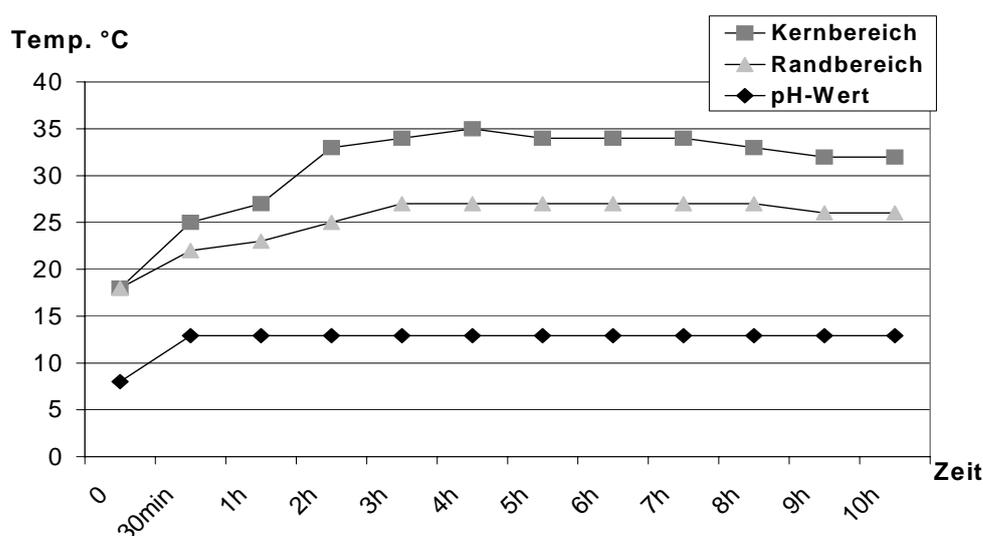


Abb.31: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 1,25 kg CaO/kg Trockensubstanz

4.2.3 Gärrückstand

Der verwendete Gärrückstand hatte einen Trockensubstanzgehalt von 25 und 30%. Die homogene Einmischung des Branntkalkes wurde im Mischer 2 vorgenommen.

4.2.3.1 Tenazitätsversuche mit Askarideneiern

Für die Tenazitätsuntersuchungen mit Askarideneier wurden Kalkmengen von 0,7kg, 0,8kg, 1kg und 1,1kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz eingesetzt.

1) Versuch mit 0,7 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Der Einsatz von 0,7kg CaO /kg TS entspricht, bei einem TS-Gehalt von 30%, einem Mischungsverhältnis von 100g Kalk auf ein kg Gärrückstand.

Im Kernbereich des Substrates wurde bei der Verwendung von 0,7kg CaO/ kg TS eine maximale Temperatur von 50°C nach 5 Stunden gemessen, im Randbereich wurden maximal 38°C ermittelt. Während des gesamten Untersuchungszeitraums lag der pH-Wert konstant bei 12,9 (Abb. 32).

Im Kernbereich der Mischung konnte innerhalb von fünf Stunden eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern um 100% erreicht werden. Im Randbereich waren nach 24 Stunden noch 40% entwicklungsfähige Askarideneier nachzuweisen, d.h. es erfolgte nur eine Reduzierung um 12%.

Tab. 33: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,7 kg CaO /kg TS) versetztem Gärrückstand (30% TS)

| Zeit | Randbereich in % | Kernbereich in % |
|---------|------------------|------------------|
| 0-Probe | 45 | 45 |
| 1h | 40 | 40 |
| 5h | 40 | 0 |
| 10h | 40 | 0 |
| 24h | 40 | 0 |
| 7 Tage | n.a. | 0 |

Legende: n.a.: nicht auswertbar

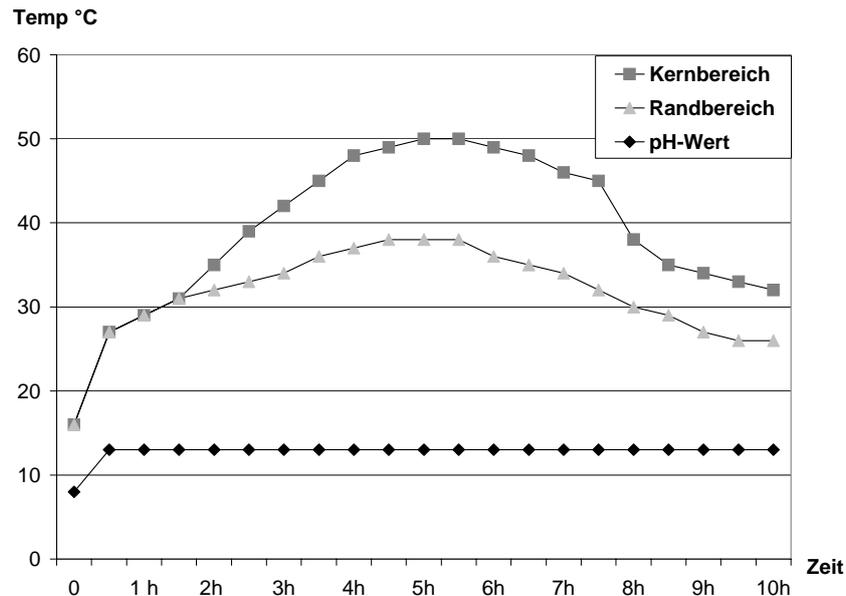


Abb. 32: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,7kg CaO /kg Trockensubstanz (zu Tab.33)

2) Versuche mit 0,8 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Drei Versuche wurden mit der Kalkmenge 0,8kg CaO/kg TS durchgeführt. Beim ersten Versuch lag die Trockensubstanz des Substrates bei 30%, dies entspricht einem Mischungsverhältnis von 250g Branntkalk pro kg Gärrückstand. Die Versuche II und III liefen mit 200g CaO pro kg Substrat, da der Gärrückstand einen Trockensubstanzanteil von 25% aufwies.

Die Ergebnisse sind als Mittelwert in Abbildung 33/33a dargestellt. Die Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Eine Temperatur von über 50°C wurde im Kernbereich der Mischung nach zwei Stunden erreicht. Dieser Temperaturbereich konnte im Kernbereich über vier Stunden gehalten werden. Im Randbereich der Mischung wurde nach drei Stunden eine maximale Temperatur von 48°C gemessen (Abb.33a).

Nach 5 Stunden Inkubation der Keimträger im Kernbereich der Mischung waren in der entnommenen Probe keine lebenden Spulwurmeier mehr vorzufinden.

Im Randbereich des Substratgemisches erfolgte eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier von 55% auf 1% innerhalb von 24 Stunden (Abb. 33).

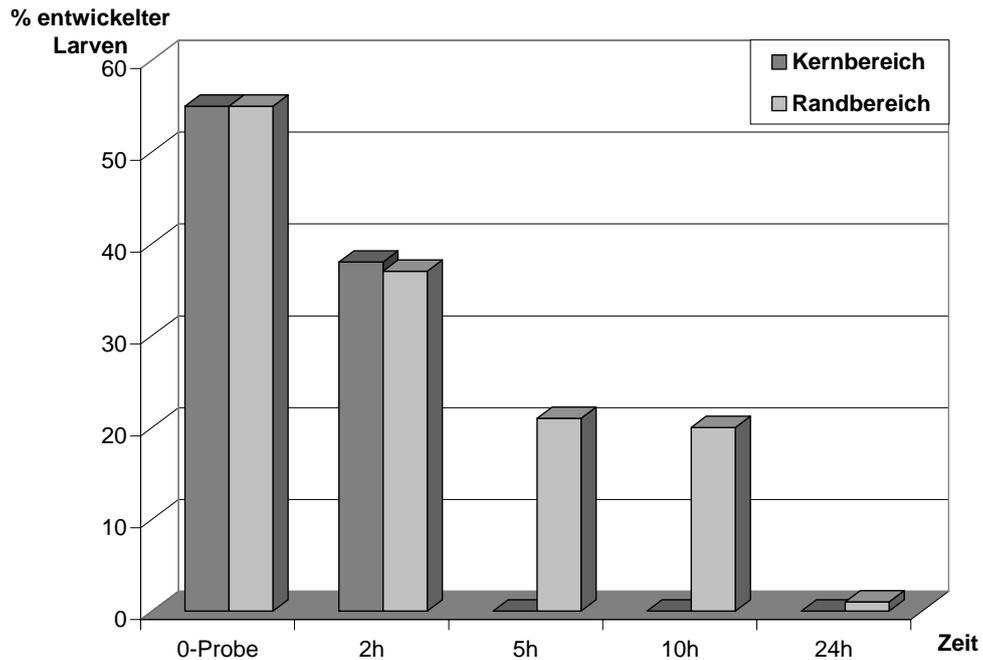


Abb. 33: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,8 kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

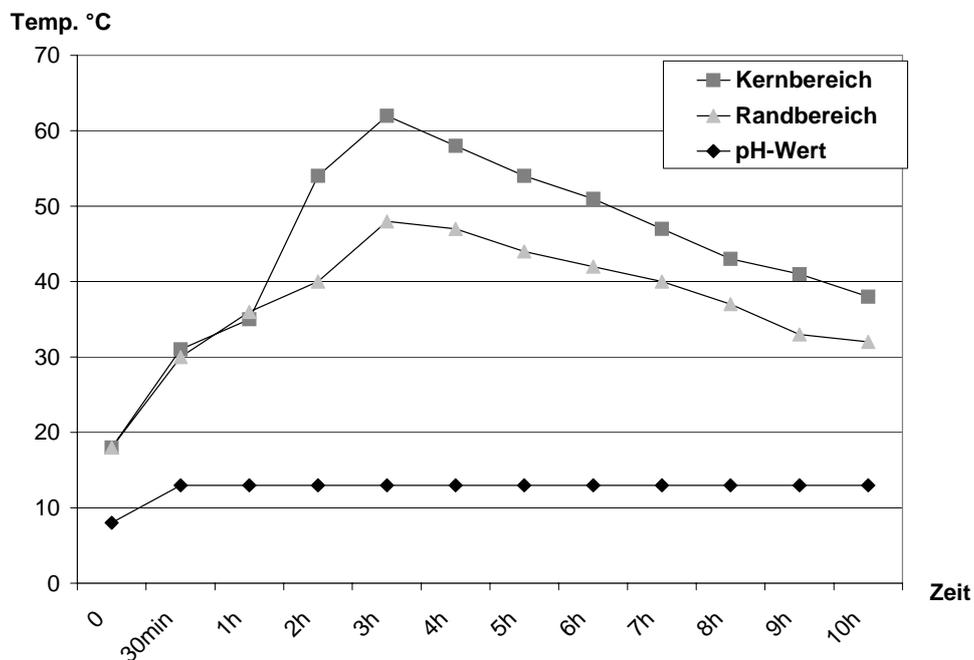


Abb. 33a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,8 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.33)

3) Versuche mit 1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge entspricht 250g Branntkalk auf einem kg Substrat, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 25%.

In den Abbildungen 34/34a sind die Ergebnisse als Mittelwerte dargestellt. Die Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Nach 4 Stunden wurde im Kernbereich der Mischung eine maximale Temperatur von 69°C gemessen. Der Temperaturbereich >50°C bestand im Kernbereich insgesamt über sieben Stunden. Im Randbereich wurde nach 4½ Stunden eine Temperatur von 50°C und nach 5½ Stunde eine maximale Temperatur von 55°C gemessen. Der pH-Wert des Gemisches betrug ab der ersten Messung, die eine halbe Stunde nach Einmischung stattfand, pH 12,9 und blieb in einem Messzeitraum von 14 Tagen konstant.

Beim Einsatz von 1kg CaO /kg TS waren im Kernbereich der Mischung nach fünf Stunden keine entwicklungsfähigen Askarideneier mehr nachzuweisen. Im Randbereich erfolgte nach fünf Stunden Inkubation eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit um 86%, nach 10 Stunden waren auch im Randbereich keine lebenden Spulwurmeier mehr vorzufinden.

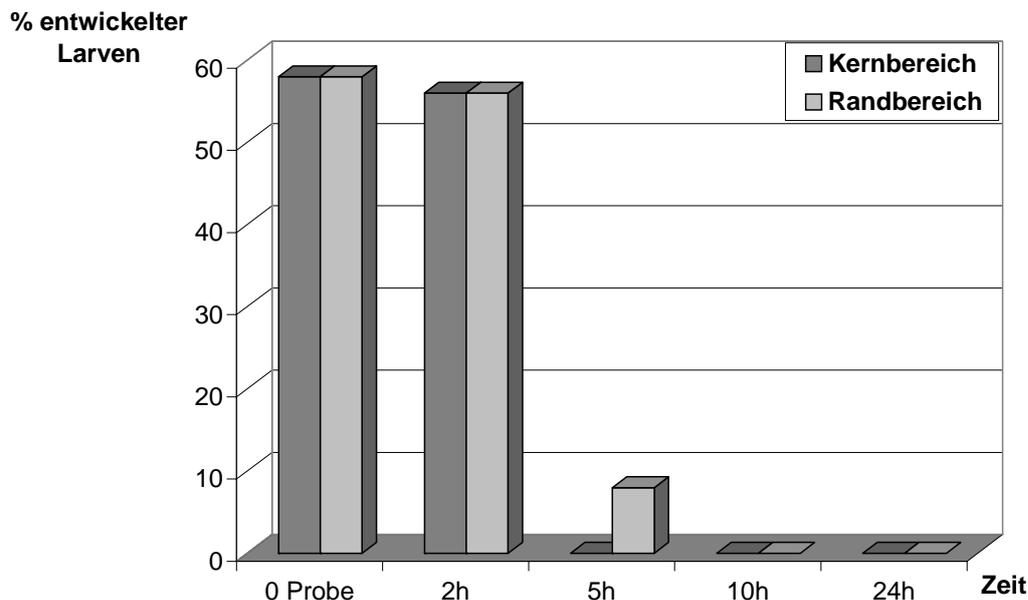


Abb. 34: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1kg CaO /kg TS) versetztem Gärrückstand (25% TS)

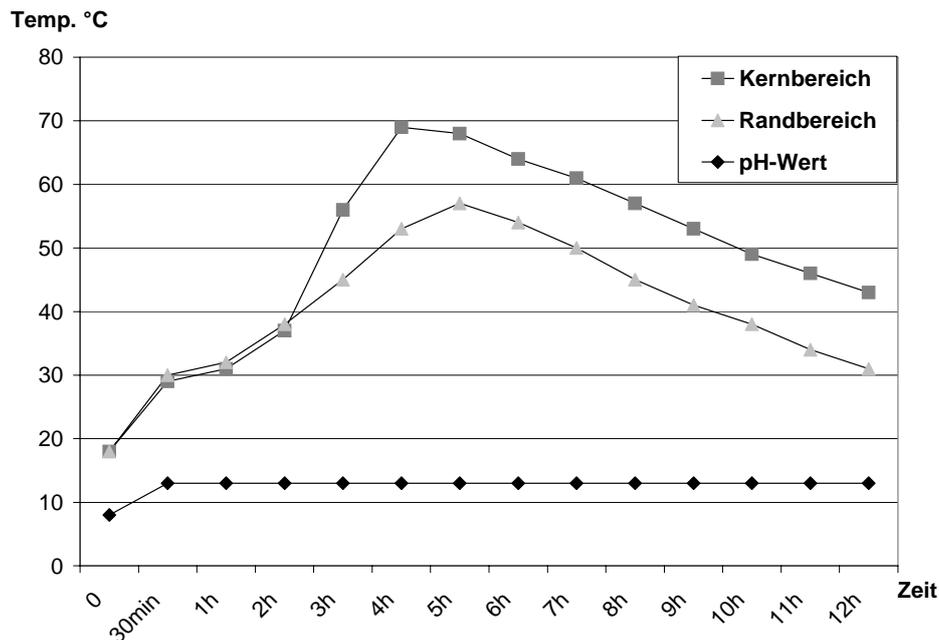


Abb. 34a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 1 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.34)

4) Versuche mit 1,1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 1,1kg CaO /kg TS entspricht 330g Kalk auf ein kg Gärrückstand, bei einem TS-Gehalt des Substrates von 30%.

Sowohl im Kernbereich wie auch im Randbereich des Substrates wurde nach den ersten 30 Minuten eine Temperatur von 50°C und nach einer Stunde eine maximale Temperatur von 84°C gemessen. Der pH-Wert des Gemisches betrug ab der ersten Messung, die eine halbe Stunde nach Einmischung stattfand, pH 12,9 und blieb in einem Messzeitraum von 14 Tagen konstant (Abb.35).

Innerhalb der ersten Stunde erfolgte im gesamten Substrat eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier um 100%.

Tab. 34: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand (30% TS)

| Zeit | Randbereich in % | Kernbereich in % |
|---------|------------------|------------------|
| 0-Probe | 55 | 55 |
| 1h | 0 | 0 |
| 4h | 0 | 0 |
| 10h | 0 | 0 |
| 24h | 0 | 0 |

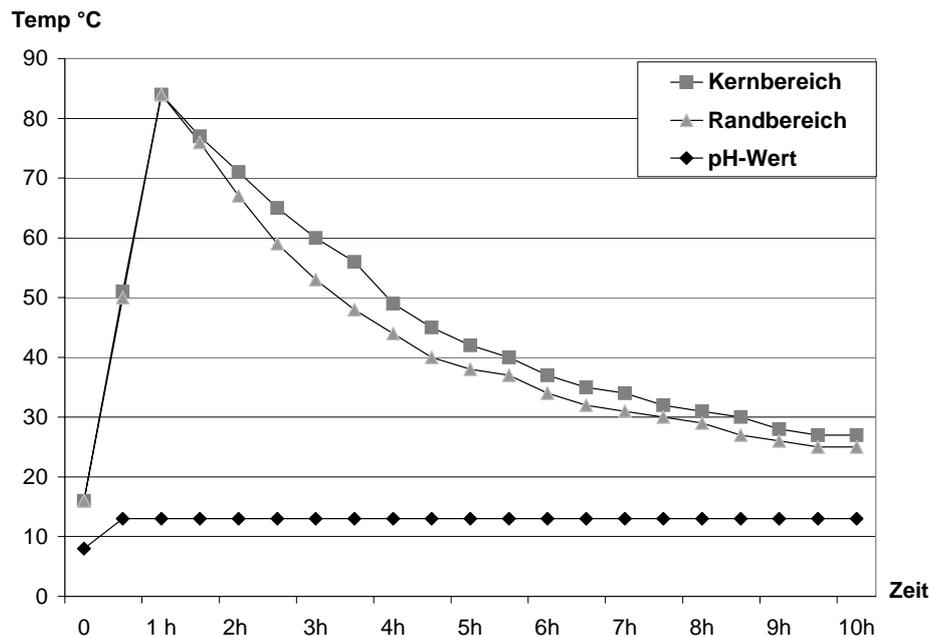


Abb. 35: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 1,1 kg CaO /kg Trockensubstanz (zu Tab.34)

4.2.3.2 Tenazitätsversuche mit dem Bovinen Parvovirus (BPV)

Die Tenazitätsuntersuchungen von BPV wurden parallel zu den Untersuchungen mit Askarideneiern durchgeführt. Die Temperatur- und pH-Wert -Profile entsprechen den Abbildungen 33a, 34a und 35 unter Pkt. 4.2.3.1.

Im Substrat Gärrückstand wurde mit den Kalkmengen 0,8kg, 1kg und 1,1 kg Kalk pro kg TS-Gehalt gearbeitet. In allen Fällen konnte im Mischer 2 eine homogene Mischung erzielt werden.

1) Versuch mit 0,8 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 0,8kg CaO /kg TS entspricht einem Mischungsverhältnis von 200g Kalk auf ein kg Gärrückstand, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 25%. In einem zusätzlichen Versuch betrug der Trockensubstanzanteil der Gärrückstände 30%, dies entspricht 250g Branntkalk pro kg Substrat. Aus den Ergebnissen wurde der Mittelwert ermittelt und in der Abbildung 36 dargestellt. Die Werte der Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Beim Einsatz von 0,8kg CaO /kg TS wurde nach 3½ Stunden im Kernbereich der Mischung eine maximale Temperatur von 62°C und im Randbereich von 48°C gemessen (s. Abb.33a).

Im Kernbereich der Mischung erfolgte innerhalb von 5 Stunden eine Reduzierung des Bovinen Parvovirus um 4 Zehnerpotenzen. Im Randbereich konnte eine Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen nach 24 Stunden nachgewiesen werden.

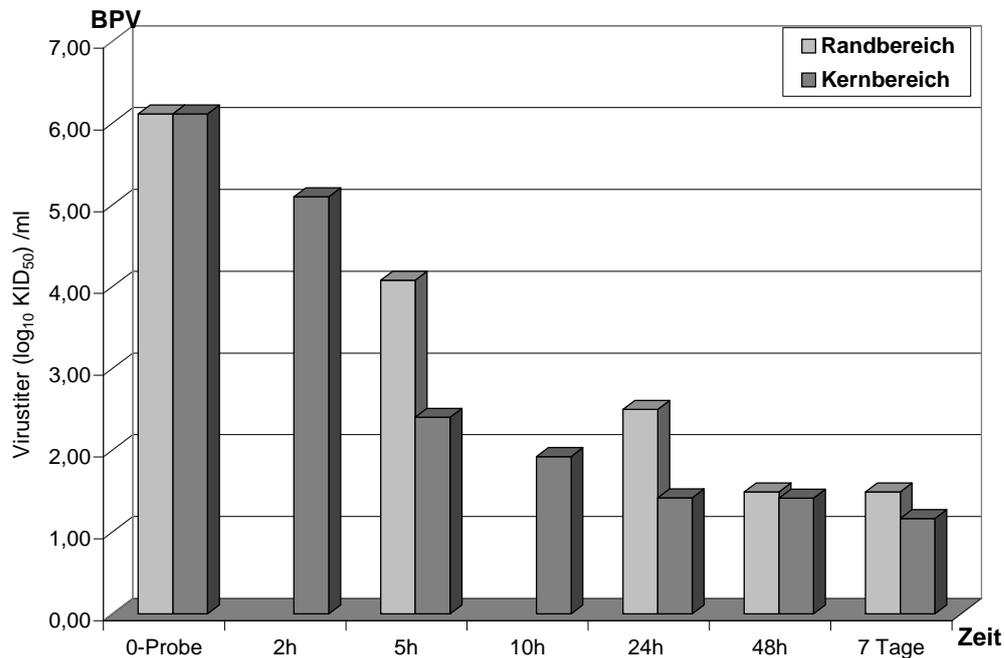


Abb. 36: Darstellung der Reduktion des Bovinem Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,8 kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

2) Versuch mit 1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 1kg CaO /kg TS entspricht 250g Kalk pro kg Gärrückstand, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 25% Substrat.

Bei dem Einsatz von 1kg CaO /kg TS-Gehalt wurde nach 4 Stunden im Kernbereich der Mischung eine maximal Temperatur von 69°C gemessen. Im Randbereich wurde nach 4½ Stunden eine Temperatur von 50°C und nach 5½ Stunde eine maximale Temperatur von 55°C, gemessen. Der pH-Wert des Gemisches betrug ab der ersten Messung, die eine halbe Stunde nach Einmischung stattfand, pH 12,9 und blieb in einem Messzeitraum von 14 Tagen konstant (siehe Abb. 34a).

Im ersten Versuch lag die Nachweisgrenze für das Bovine Parvovirus bei $10^{1,75}$ KID₅₀ /ml (5,60E+01), im zweiten Versuch konnte die Nachweisgrenze auf $10^{0,75}$ KID₅₀ /ml (5,00E+00) gesenkt werden.

Im Kernbereich der Mischung erfolgte in beiden Versuchen innerhalb von 5 Stunden eine Reduzierung des Bovinen Parvovirus um 4 Zehnerpotenzen. Nach 5 Stunden wurde im Randbereich des ersten Versuchs noch 10^3 KID₅₀ /ml an BPV und im zweiten Versuch von 10^2 KID₅₀ /ml nachgewiesen. Nach 24 Stunden erfolgte auch im Randbereich eine Reduzierung der Viren um 4 Zehnerpotenzen (Tab. 35).

Tab.35: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| VERSUCH I | | |
| Virusverd. 1:10 | 5,62E+06 | 5,62E+06 |
| 0-Probe | 4,94E+05 | 4,94E+05 |
| 2h | --- | 2,44E+04 |
| 5h | 1,26E+03 | n.n. |
| 10h | 1,26E+03 | n.n. |
| 24h | n.n. | n.n. |
| 2 Tage | n.n. | n.n. |
| 7 Tage | n.n. | n.n. |
| VERSUCH II | | |
| Virusverd. 1:10 | 1,78E+06 | 1,78E+06 |
| 0-Probe | 2,47E+05 | 2,47E+05 |
| 2h | --- | 1,11E+04 |
| 5h | 2,96E+02 | 3,10E+01 |
| 10h | 2,16E+02 | 3,10E+01 |
| 24h | 7,80E+01 | 3,10E+01 |
| 2 Tage | 3,10E+01 | 3,10E+01 |
| 7 Tage | 3,10E+01 | 3,10E+01 |

Legende:

KID₅₀ /ml : Kulturinfektiöse Dosis 50%

n.n.: nicht (mehr) nachweisbar (Nachweisgrenze: 5,60E+01)

n.a. : nicht auswertbar

3) Versuch mit 1,1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die Kalkmenge 1,1kg CaO /kg TS entspricht, bei einem verwendeten Trockensubstanzanteil von 30 %, 330g Kalk auf ein kg Gärrückstand.

Sowohl im Kernbereich wie auch im Randbereich des Substrates wurde nach den ersten 30 Minuten eine Temperatur von 50°C und nach einer Stunde eine maximale Temperatur von 84°C gemessen. Der pH-Wert des Gemisches betrug ab der ersten Messung, die eine halbe Stunde nach Einmischung stattfand, pH 12,9 und blieb in einem Messzeitraum von 10 Tagen konstant (s. Abb. 35).

Im Kernbereich der Mischung erfolgte innerhalb von zwei Stunden eine Reduzierung des Bovinen Parvovirus um fünf Zehnerpotenzen, im Randbereich um 4 Zehnerpotenzen (Tab. 36).

Tab.36: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Virusverd. 1:10 | 5,62E+07 | 5,62E+07 |
| 0-Probe | 3,16E+06 | 3,16E+06 |
| 2h | 1,26E+02 | 5,60E+01 |
| 4h | n.a. | 3,10E+01 |
| 10h | 3,10E+01 | 3,10E+01 |
| 24h | 3,10E+01 | 1,80E+01 |

Legende: siehe Tabelle 35

4.2.3.3 Tenazitätsversuche mit dem Rinder Enterovirus (ECBO)

Die Tenazitätsuntersuchungen mit dem Rinder Enterovirus wurden mit den Kalkmengen 0,2kg und 0,4kg CaO /kg TS durchgeführt. In Mischer 2 konnte in allen Versuchen eine homogene Vermischung erzielt werden.

1) Versuche mit 0,2 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge entspricht 50g Kalk pro kg Gärrückstand, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 25%.

In Abbildung 37/37a sind die Mittelwerte der Ergebnisse dargestellt. Die Einzelversuche sind im Anhang aufgeführt.

Beim Einsatz von 0,2 kg CaO /kg TS wurde im Kernbereich nach zwei Stunden eine maximale Temperatur von 32°C und im Randbereich nach einer Stunde ein maximaler Wert von 28°C gemessen. Der in regelmäßigen Abständen ermittelte pH-Wert betrug nach 30 Minuten 12,8 und veränderte sich innerhalb des Untersuchungszeitraums von 7 Tagen nicht mehr.

Eine Reduzierung des ECBO- Virus um 5 Zehnerpotenzen konnte im Kernbereich der Mischung innerhalb von drei Stunden und im Randbereich innerhalb von fünf Stunden erreicht werden.

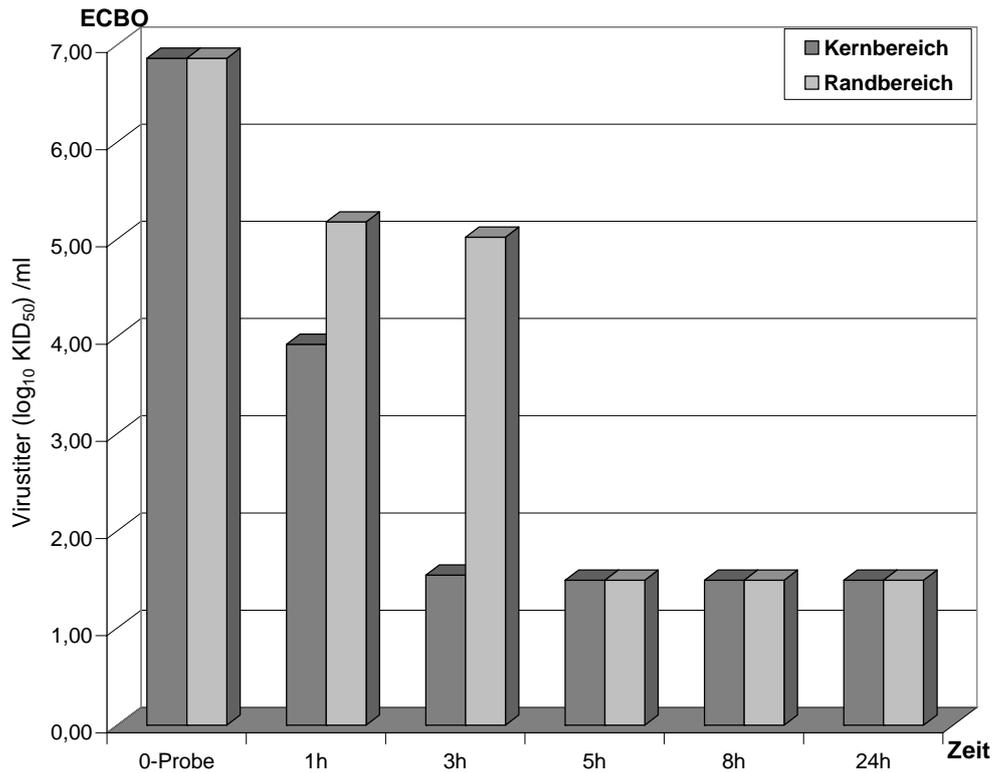


Abb.37: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

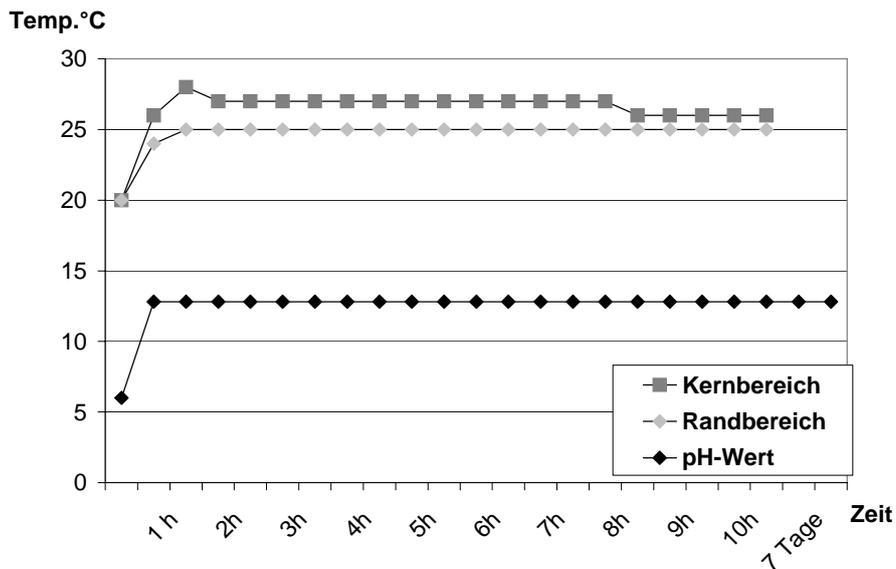


Abb. 37a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,2kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.37)

2) Versuche mit 0,4 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 0,4kg CaO /kg TS entspricht, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 25%, 100g Kalk pro kg Gärrückstand.

Tab.37: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,4kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KID50/ml | Kernbereich KID50/ml |
|-----------------|----------------------|----------------------|
| VERSUCH I | | |
| Virusverd. 1:10 | 3,16E+07 | 3,16E+07 |
| 0-Probe | 1,87E+07 | 1,87E+07 |
| 30min. | --- | 3,93E+04 |
| 1h | 3,10E+01 | 4,70E+01 |
| 3h | 3,10E+01 | 2,40E+01 |
| 10h | 3,10E+01 | 2,40E+01 |
| 24h | 3,10E+01 | 2,40E+01 |
| VERSUCH II | | |
| Virusverd. 1:10 | 1,78E+07 | 1,78E+07 |
| 0-Probe | 3,16E+06 | 3,16E+06 |
| 30min. | --- | 9,39E+05 |
| 2h | 5,40E+01 | 5,40E+01 |
| 5h | --- | 3,10E+01 |
| 8h | 3,10E+01 | 3,10E+01 |
| 24h | 3,10E+01 | 2,40E+01 |

Legende: siehe Tabelle 35

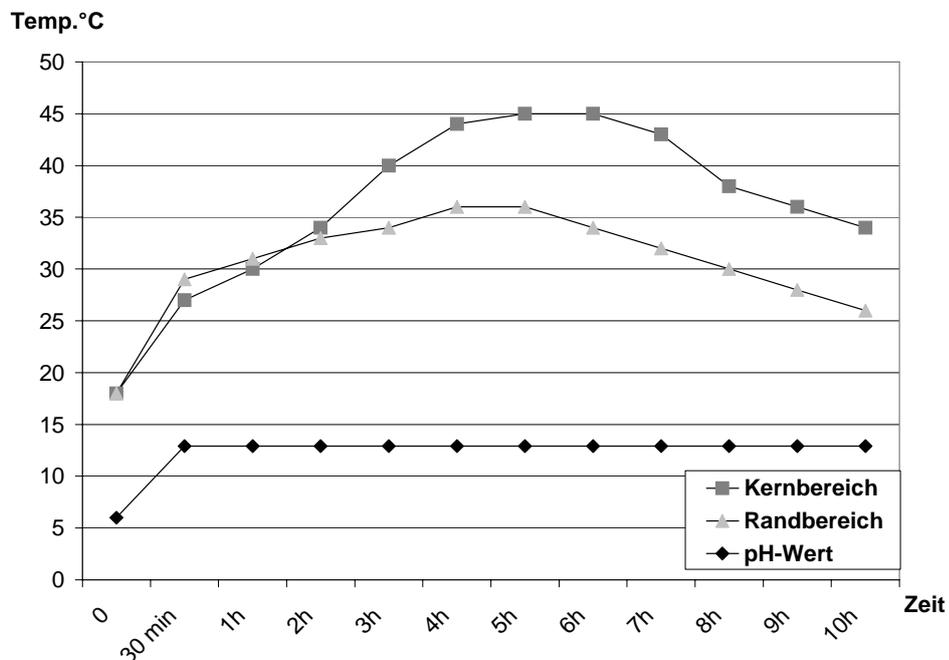


Abb. 38: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,4kg CaO /kg Trockensubstanz (Tab.37)

Mit einer Kalkmenge von 0,4kg /kg TS wurde im Randbereich der Mischung nach vier Stunden eine maximale Temperatur von 36°C erreicht. Nach fünf Stunden wurde im Kernbereich eine maximale Temperatur von 45°C ermittelt.

Nach 30 Minuten wurde im Kernbereich der Mischung noch Keimgehalte von 10^4 - 10^5 KID₅₀/ml nachgewiesen. 30 Minuten später (1h Probe) wurde eine Reduzierung der Viren um 5 Zehnerpotenzen sowohl im Kern- wie auch im Randbereich der Mischung festgestellt.

4.2.3.4 Tenazitätsversuche mit Bakterien

Mit den Keimen *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken (*Enterococcus faecium*), *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen wurden Tenazitätsuntersuchungen in Gärrückstand mit den Kalkmengen 0,06kg, 0,08kg, 0,1kg, 0,2kg, 0,3kg und 0,7kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz durchgeführt. In allen Fällen wurde im Mischer 2 eine homogene Mischung erzielt.

1) Versuch mit 0,06 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Der Gärrückstand hatte einen TS-Gehalt von 25% und einen pH-Wert von 8. Die verwendete Kalkmenge von 0,06kg CaO /kg TS entspricht damit 15g Kalk auf ein kg Gärrückstand.

Im Untersuchungszeitraum wurden eine maximale Temperaturerhöhung von 6°C und ein maximaler pH-Wert von 11,5 gemessen. Der pH-Wert sank innerhalb von 24 Stunden auf 10,7, nach einem Untersuchungszeitraum von einer Woche war der Ausgangs-pH-Wert von 8 wieder erreicht (Abb. 39).

Der Gehalt von E-coli wurde im zweiten Versuch im Kernbereich des Substrates innerhalb von zwei Stunden um vier Zehnerpotenzen reduziert, eine Reduzierung um 5 Zehnerpotenzen erfolgte nach fünf Stunden.

Im gesamten Substrat des ersten Versuches und im Randbereich des zweiten Versuches wurde der Gehalt an E-coli innerhalb von 10 Stunden um 5 Zehnerpotenzen reduziert.

Der Ausgangsgehalt an Fäkalstreptokokken (FKS) betrug in diesen Versuchen 10^6 KBE/g, innerhalb von fünf Tage wurde der Keimgehalt im ersten Versuch auf 10^3 KBE/g reduziert. Im zweiten Versuch erfolgte nach zwei Tagen eine Reduzierung auf $2,3 \times 10^2$ KBE/g.

In beiden durchgeführten Versuchen wurde der Gehalt an *Salmonella senftenberg* im Kernbereich der Mischung innerhalb von 10 Stunden um 6 Zehnerpotenzen reduziert. Im zweiten Versuch erfolgte nach fünf Versuchsstunden eine Reduzierung um vier Zehnerpotenzen. Im Randbereich der Versuche I und II wurden nach 10 Stunden eine Reduzierung um drei Zehnerpotenzen nachgewiesen. In einer nach zwei Tagen entnommenen Probe waren Salmonellen noch mit einem Keimgehalt von $0,36 \times 10^1$ KBE/g nachzuweisen.

Zwei Tage nach der Kalkzudosierung konnte in der Mischung ein Gehalt an *Clostridium perfringens* Sporen von 10^1 KBE/g nachgewiesen werden. Der Ausgangsgehalt an *Clostridium perfringens* Sporen betrug dabei $9,2 \times 10^3$ KBE/g.

Tab.38: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch die Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,06kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KBE/g | | | | Kernbereich KBE/g | | | |
|------------|-------------------|------------|------------------|--------------------|-------------------|------------|------------------|--------------------|
| VERSUCH I | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 1,50E+06 | 1,50E+06 | 2,30E+07 | 9,20E+03 | 1,50E+06 | 1,50E+06 | 2,30E+07 | 9,20E+03 |
| 2h | 4,30E+04 | 7,50E+04 | 9,30E+05 | 4,30E+02 | 2,30E+05 | 9,30E+05 | 1,50E+06 | 2,30E+02 |
| 5h | 9,30E+03 | 9,30E+04 | 4,30E+05 | 4,30E+02 | 4,30E+04 | 1,50E+05 | 2,30E+06 | 7,50E+02 |
| 10h | 3,60E+00 | 1,50E+04 | 2,30E+03 | 2,30E+02 | 3,60E+00 | 1,50E+04 | qual. pos. | 9,30E+01 |
| 24h | 3,60E+00 | 2,30E+05 | 4,30E+03 | 4,30E+01 | 3,60E+00 | 1,50E+04 | qual. pos. | 4,30E+02 |
| 48h | 3,60E+00 | 1,50E+03 | 3,60E+00 | 4,30E+01 | 3,60E+00 | 4,30E+03 | neg. | 4,30E+01 |
| 5 Tage | n.n. | 2,30E+03 | neg. | qual.pos. | n.n. | 2,30E+03 | neg. | qual.pos. |
| VERSUCH II | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 4,30E+06 | 2,10E+06 | 2,30E+07 | 9,20E+03 | 9,30E+06 | 2,10E+06 | 2,30E+07 | 9,20E+03 |
| 2h | 3,60E+02 | 9,30E+05 | 4,30E+04 | 4,30E+02 | 9,30E+02 | 2,30E+04 | 2,30E+03 | 9,30E+01 |
| 5h | 3,60E+01 | 2,10E+04 | 4,30E+03 | 4,30E+02 | 3,60E+01 | 1,50E+04 | 9,30E+02 | 9,30E+01 |
| 10h | 2,30E+02 | 9,30E+03 | 2,30E+03 | 2,30E+02 | 3,60E+00 | 2,30E+04 | 3,60E+00 | 9,30E+01 |
| 24h | n.n. | 2,30E+03 | --- | 4,30E+01 | n.n. | 2,30E+02 | neg. | 9,30E+01 |
| 48h | n.n. | 2,30E+02 | 3,60E+00 | 4,30E+01 | n.n. | 2,30E+02 | neg. | 9,30E+01 |

Legende:

FKS: Fäkalstreptokokken

S. senft.: *Salmonella senftenberg*

Clost. perf.: Sporen von *Clostridium perfringens*

KBE/g : Koloniebildene Einheit pro g

n.n.: nicht (mehr) nachweisbar (Nachweisgrenze $0,36 \times 10^1$ KBE/g)

n.a.: nicht auswertbar

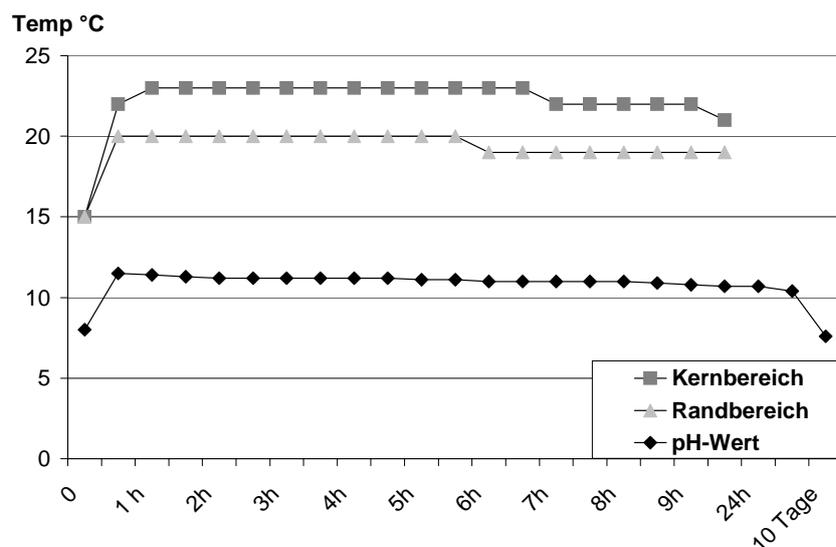


Abb. 39: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes im Gärrückstand mit 0,06kg CaO /kg Trockensubstanz

Bei dem Einsatz von 0,06kg CaO /kg TS konnte der pH-Wert nicht über 12 eingestellt werden, so dass der Keimgehalt an *E.coli* nach 5 Stunden und der Keimgehalt an *S. senftenberg* erst nach 10 bis 24 Stunden ausreichend reduziert werden konnte. Im Untersuchungszeitraum konnte keine signifikante Reduzierung der Keime *Enterococcus faecium* und *Clostridium perfringens* erreicht werden

2) Versuch mit 0,08 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Beim Einsatz von 0,08kg CaO /kg TS lag der TS-Gehalt des Substrats bei 30%, so dass mit 25g Kalk auf ein kg Gärrückstand gearbeitet wurde.

Im Kernbereich der Mischung wurde eine maximale Temperatur von 24°C und im Randbereich von 22°C gemessen. Der in regelmäßigen Abständen ermittelte pH-Wert lag konstant über einem Untersuchungszeitraum von einer Woche bei 12,4.

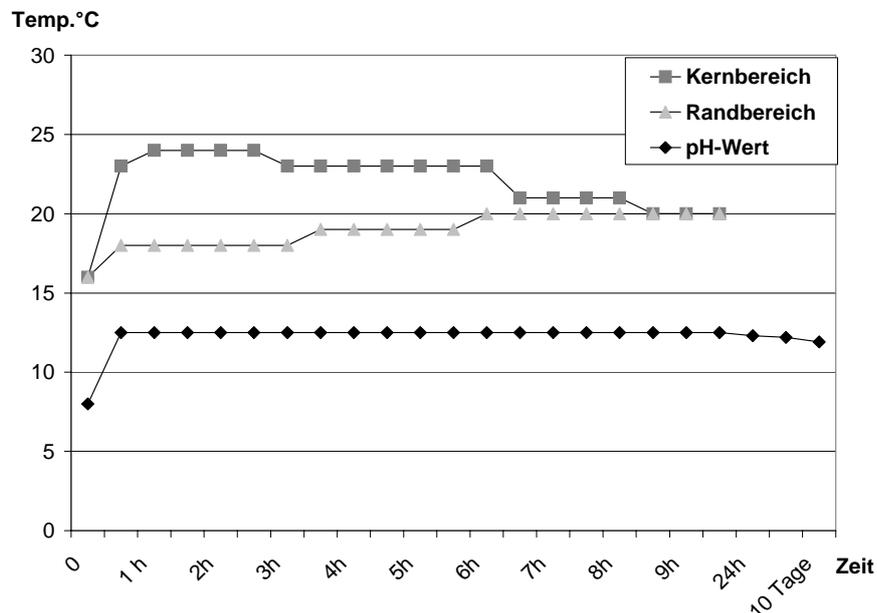


Abb. 40: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,08kg CaO /kg Trockensubstanz

Tab.39: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens* Sporen durch die Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,08kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KBE/g | | | | Kernbereich KBE/g | | | |
|---------|-------------------|----------|------------------|--------------------|-------------------|----------|------------------|--------------------|
| | <i>E.coli</i> | FKS | <i>S. senft.</i> | <i>Clost.perf.</i> | <i>E.coli</i> | FKS | <i>S. senft.</i> | <i>Clost.perf.</i> |
| 0-Probe | 9,30E+06 | 2,10E+06 | 2,30E+07 | 4,30E+03 | 9,30E+06 | 2,10E+06 | 2,30E+07 | 4,30E+03 |
| 1h | 7,50E+02 | 2,30E+05 | 3,60E+03 | 2,30E+02 | 4,30E+02 | 2,30E+05 | 9,30E+04 | 4,30E+02 |
| 3h | 2,30E+02 | 2,30E+03 | 4,30E+04 | 2,30E+02 | 2,30E+02 | 2,30E+05 | 3,60E+03 | 4,30E+02 |
| 5h | n.n. | 9,30E+01 | 3,60E+00 | 9,30E+01 | n.n. | 0,36E+01 | neg. | 2,30E+02 |
| 10h | n.n. | 4,30E+01 | qual. pos. | 9,30E+02 | n.n. | 9,20E+00 | neg. | 4,30E+01 |
| 24h | n.n. | 1,50E+01 | neg. | 3,60E+00 | n.n. | n.n. | neg. | 3,60E+00 |
| 48h | n.n. | 3,60E+00 | neg. | qual. pos. | n.n. | n.n. | neg. | qual. pos. |

Legende: siehe Tabelle 38

In diesem Versuch erfolgte innerhalb einer Stunde eine Reduzierung von *E.coli* um vier Zehnerpotenzen, nach 5 Stunden konnte dieser Keim nicht mehr nachgewiesen werden. Der Gehalt an Fäkalstreptokokken wurde innerhalb von fünf Stunden um 5 Zehnerpotenzen reduziert. Sowohl im Kern- wie auch im Randbereich der Mischung erfolgte eine Reduzierung des Gehaltes von *Salmonella senftenberg* innerhalb von drei Stunden um vier Zehnerpotenzen. Nach fünf Stunden war eine Reduzierung um 7 Zehnerpotenzen erfolgt. Der Ausgangsgehalt an *Clostridium perfringens*- Sporen betrug 10^3 KBE/g, nach 24 Stunden war noch ein Keimgehalt von 10^1 KBE/g nachweisbar (Tab.39).

3) Versuche mit 0,1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 0,1kg CaO/kg TS entspricht 25g Kalk auf ein kg Gärrückstand, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 25%. Die Temperatur- und pH-Wert -Profile entsprechen den Versuchen mit 0,08kg CaO /kg TS.

Im Kernbereich der Mischung wurde eine maximale Temperatur von 24°C und im Randbereich von 22°C gemessen. Der in regelmäßigen Abständen ermittelte pH-Wert lag über einem Untersuchungszeitraum von einer Woche konstant bei 12,4 (Abb.40).

Tab.40: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch die Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,1kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KBE/g | | | | Kernbereich KBE/g | | | |
|------------|-------------------|------------|------------------|--------------------|-------------------|------------|------------------|--------------------|
| VERSUCH I | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 9,30E+06 | 1,50E+06 | 2,30E+07 | 1,50E+03 | 9,30E+06 | 1,50E+06 | 2,30E+07 | 1,50E+03 |
| 2h | 2,30E+04 | 2,30E+04 | 9,30E+04 | --- | 1,50E+02 | 9,30E+03 | 2,30E+04 | 9,30E+02 |
| 5h | 4,30E+01 | 1,50E+04 | 9,30E+01 | --- | 9,30E+02 | 9,30E+03 | 2,30E+03 | 3,60E+01 |
| 10h | n.n | 4,30E+02 | qual.pos. | 3,60E+00 | n.n | 2,30E+02 | qual.pos. | 9,20E+00 |
| 24h | n.n | 3,60E+00 | neg. | 9,20E+00 | n.n | 3,60E+00 | neg. | 9,20E+00 |
| 48h | n.n. | n.n | neg. | 9,20E+00 | n.n. | n.n | neg. | neg. |
| VERSUCH II | | | | | | | | |
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 4,30E+06 | 3,60E+05 | 2,30E+07 | 3,60E+03 | 4,30E+06 | 3,60E+05 | 2,30E+07 | 3,60E+03 |
| 2h | 9,30E+03 | 2,30E+04 | 4,30E+03 | --- | 9,30E+02 | 9,30E+03 | 2,30E+05 | --- |
| 5h | 1,50E+03 | 4,30E+04 | 2,30E+03 | 9,20E+01 | 9,30E+01 | 2,30E+03 | 2,30E+03 | 9,20E+01 |
| 10h | n.n | 2,30E+02 | 3,60E+00 | 9,20E+01 | n.n | 9,30E+02 | qual.pos. | 9,20E+00 |
| 24h | n.n | 3,60E+00 | neg. | 9,20E+00 | n.n | 9,20E+00 | neg. | 9,20E+00 |
| 48h | n.n. | n.n | neg. | 9,20E+00 | n.n. | n.n | neg. | neg. |

Legende: siehe Tabelle 38

Der Gehalt von *E.coli* wurde im Kernbereich der Mischung innerhalb von zwei Stunden um vier Zehnerpotenzen und innerhalb von fünf Stunden um 5 Zehnerpotenzen reduziert. Im Randbereich konnte innerhalb von 5-10 Stunden eine Reduzierung um 5 Zehnerpotenzen erreicht werden.

Eine Reduzierung von Fäkalstreptokokken um 5 Zehnerpotenzen erfolgte im ersten Versuch nach fünf und im zweiten Versuch nach 24 Stunden.

Um 4 Zehnerpotenzen wurde der Gehalt an *Salmonella senftenberg* innerhalb von 5 Stunden im gesamten Substrat gesenkt.

Der Ausgangsgehalt an *Clostridium perfringens*-Sporen betrug 10^3 KBE/g, nach 48 Stunden wurde im Randbereich des Substrates ein Keimgehalt von 10^1 KBE/g festgestellt. Im Kernbereich des Substrates waren zu diesem Zeitpunkt keine Keime mehr nachweisbar.

4) Versuche mit 0,2 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 0,2kg CaO /kg TS entspricht 50g Kalk pro kg Gärrückstand, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 25%.

Von den Ergebnissen wurde der Mittelwert gebildet und in Abbildung 42 und 43 dargestellt. Die Einzelversuche sind in Tabelle 41 abgebildet.

Tab.41: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch die Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KBE/g | | | | Kernbereich KBE/g | | | |
|-------------|-------------------|----------|-----------|-------------|-------------------|----------|------------|-------------|
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| VERSUCH I | | | | | | | | |
| 0-Probe | 4,30E+06 | 2,30E+06 | 2,30E+07 | --- | 4,30E+06 | 2,30E+06 | 2,30E+07 | --- |
| 1h | 9,30E+02 | 2,30E+04 | 9,30E+02 | --- | 9,30E+03 | 2,30E+03 | 9,30E+02 | --- |
| 2h | n.n. | 2,30E+03 | 9,20E+00 | --- | n.n. | 9,30E+03 | qual. pos. | --- |
| 5h | n.n. | 2,30E+02 | 9,20E+00 | --- | n.n. | 9,30E+02 | neg. | --- |
| 10h | n.n. | 2,30E+02 | neg. | --- | n.n. | 9,30E+01 | neg. | --- |
| 24h | n.n. | 2,30E+02 | neg. | --- | n.n. | 3,60E+00 | neg. | --- |
| 48h | n.n. | 2,30E+01 | neg. | --- | n.n. | 3,60E+00 | neg. | --- |
| 14 Tage | n.n. | n.n | neg. | --- | n.n. | n.n | neg. | --- |
| VERSUCH II | | | | | | | | |
| 0-Probe | 2,30E+07 | 2,30E+06 | 2,30E+07 | 4,30E+03 | 2,30E+07 | 2,30E+06 | 2,30E+07 | 4,30E+03 |
| 1h | 9,30E+04 | 2,30E+04 | 9,30E+04 | 4,30E+02 | 4,30E+03 | 9,30E+04 | 2,30E+02 | 4,30E+03 |
| 2h | 3,60E+00 | 2,30E+04 | 2,30E+02 | 4,30E+02 | 4,30E+01 | 9,30E+03 | 3,60E+00 | 9,30E+02 |
| 5h | n.n. | 9,30E+03 | 3,60E+00 | 9,30E+01 | n.n. | 9,30E+02 | qual.pos. | 2,30E+01 |
| 10h | n.n. | 9,30E+03 | neg. | 4,30E+02 | n.n. | 2,30E+02 | neg. | 2,30E+01 |
| 24h | n.n. | 4,30E+02 | neg. | qual.pos. | n.n. | 9,20E+00 | neg. | qual.pos. |
| 48h | n.n. | 2,30E+01 | neg. | qual.pos. | n.n. | 3,60E+00 | neg. | qual.pos. |
| 72h | n.n. | --- | neg. | qual.pos. | n.n. | --- | neg. | qual.pos. |
| VERSUCH III | | | | | | | | |
| 0-Probe | 4,30E+06 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 3,60E+04 | 4,30E+06 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 3,60E+04 |
| 2h | 4,30E+01 | 9,30E+02 | qual.pos. | --- | n.n. | 9,30E+02 | 9,20E+00 | 4,30E+03 |
| 5h | 3,60E+00 | 4,30E+02 | qual.pos. | 9,20E+01 | n.n. | 2,30E+02 | qual.pos. | 9,30E+02 |
| 10h | n.n. | 3,60E+02 | qual.pos. | 1,50E+01 | n.n. | 2,30E+02 | qual.pos. | 9,20E+01 |
| 24h | n.n. | 2,30E+01 | neg. | qual.pos. | n.n. | 4,30E+01 | neg. | qual.pos. |
| 48h | n.n. | 2,30E+01 | neg. | qual.pos. | n.n. | 1,50E+01 | neg. | qual.pos. |

Legende: siehe Tabelle 38

Beim Einsatz von 0,2kg CaO /kg TS wurde im Kernbereich der Mischung nach zwei Stunden eine maximale Temperatur von 32°C und im Randbereich nach einer Stunde ein Wert von 25°C gemessen. Der pH-Wert lag während des Untersuchungszeitraums von 7 Tagen konstant bei 12,8 (Abb.41).

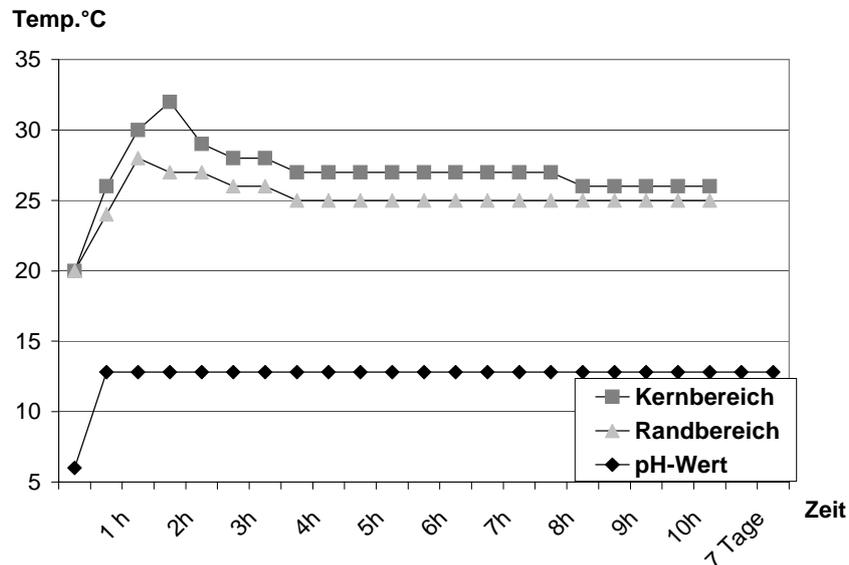


Abb. 41: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,2kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

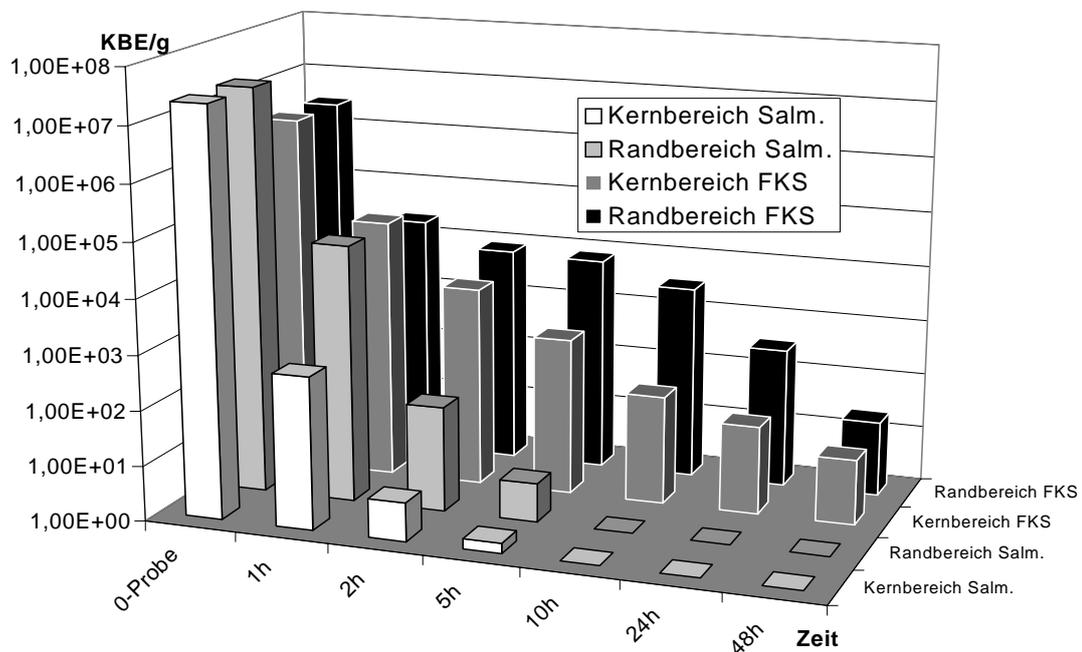


Abb. 42: Darstellung der mittleren Reduktion von *S. senftenberg* und Fäkal - streptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

Im Kernbereich der Mischung erfolgte eine Reduzierung des Gehaltes an Fäkalstreptokokken innerhalb von 5 Stunden um 4 Zehnerpotenzen. Im Randbereich wurde diese Reduzierungsrate nach 24 Stunden erreicht.

Der Gehalt an *Salmonella senftenberg* wurde innerhalb von einer Stunde im Kernbereich der Mischung um 5 Zehnerpotenzen reduziert. Im Randbereich erfolgt eine Reduzierung um 6 Zehnerpotenzen nach zwei Stunden (Abb.42).

Innerhalb von zwei Stunden wurde der Keimgehalt von E-coli im gesamten Substrat um 5 Zehnerpotenzen reduziert (Abb.43).

Im Kernbereich der Mischung wurde eine Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen innerhalb von 24 Stunden von *Clostridium perfringens*- Sporen nachgewiesen. Im Randbereich wurde diese Reduzierungsrate nach 2 Tagen erreicht.

Im ersten Versuch konnten keine *Clostridium perfringens*-Sporen ausgewertet werden, da die Proben mit Bacillen-Stämmen überwuchert waren.

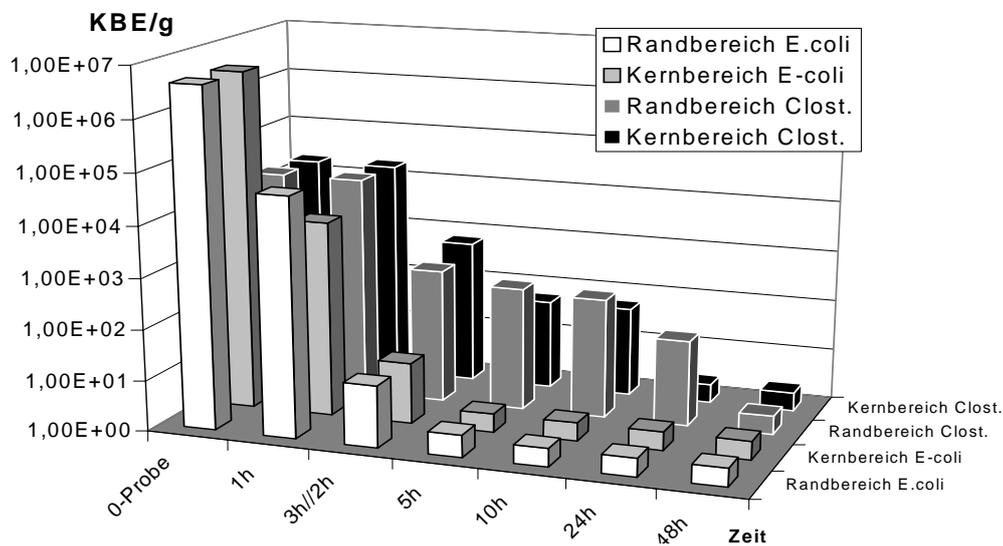


Abb.43: Darstellung der mittleren Reduktion von *E.coli* und *Clostridium perfringens* Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

5) Versuch mit 0,3 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Bei diesem Versuch wurde mit Gärrückstand mit einem TS-Gehalt von 30% gearbeitet, so dass die verwendete Kalkmenge 100g Kalk auf ein kg Substrat entspricht. Die Temperatur- und pH-Wert -Profile entsprechen den Versuchen mit 0,2kg CaO /kg TS und sind in Abbildung 41 dargestellt.

Im Kernbereich der Mischung wurde nach zwei Stunden eine maximale Temperatur von 32°C und im Randbereich nach einer Stunde ein Wert von 25°C gemessen. Der pH-Wert lag während des Untersuchungszeitraums von 7 Tagen konstant bei 12,8.

Bei Verwendung einer Kalkmenge von 0,3kg CaO /kg TS erfolgte innerhalb der ersten 30 Minuten eine Reduzierung des Gehaltes an *E-coli* und *Salmonella senftenberg* um 4 Zehnerpotenzen. Nach einer Stunde wurde eine Reduzierung um 5 Zehnerpotenzen ermittelt.

Der Gehalt an Fäkalstreptokokken wurde innerhalb einer Stunde um vier Zehnerpotenzen reduziert.

Sporen von *Clostridium perfringens* konnten nicht ausgewertet werden, da die Proben mit Bacillen-Stämmen überwuchert waren.

Tab.42: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken und *E-coli* durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,3kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KBE/g | | | | Kernbereich KBE/g | | | |
|---------|-------------------|----------|------------|-------------|-------------------|----------|------------|-------------|
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 4,30E+06 | 2,30E+06 | 2,30E+07 | --- | 4,30E+06 | 2,30E+06 | 2,30E+07 | --- |
| 30 min. | --- | --- | --- | --- | 1,50E+02 | 9,20E+04 | 4,30E+03 | --- |
| 1h | 4,30E+02 | 1,50E+04 | 4,30E+01 | --- | 2,10E+01 | 2,10E+02 | 4,20E+02 | --- |
| 3h | n.n. | 4,30E+03 | qual. pos. | --- | n.n. | 2,30E+02 | qual. pos. | --- |
| 5h | n.n. | 9,20E+00 | qual. pos. | --- | n.n. | 9,20E+00 | neg. | --- |
| 10h | n.n. | 9,20E+00 | neg. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |
| 24h | n.n. | n.n. | neg. | --- | n.n. | n.n. | neg. | --- |

Legende: siehe Tabelle 38

6) Versuche mit 0,7 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Die verwendete Kalkmenge von 0,6kg CaO/ kg TS entspricht 200g Kalk pro kg Gärrückstand, bei einem TS-Gehalt des Substrats von 30%.

In einem zusätzlichen Versuch wurde nur mit den Sporen von *Clostridium perfringens* gearbeitet (Tab. 44).

Im Kernbereich der Mischung wurde nach 5 Stunden eine maximale Temperatur von 50°C und im Randbereich ein maximaler Wert von 38°C gemessen. Der pH-Wert lag während des Untersuchungszeitraums konstant bei pH 12,9 (Abb. 44).

Der Gehalt von E-coli wurde im gesamten Substrat innerhalb einer Stunde um 5 Zehnerpotenzen reduziert.

Eine Reduzierung von Fäkalstreptokokken um 5 Zehnerpotenzen konnten im Kernbereich der Mischung nach drei Stunden und im Randbereich innerhalb von 5 Stunden nachgewiesen werden.

Der Keimgehalt von *Salmonella senftenberg* wurde innerhalb von drei Stunden im Kernbereich um 6 und im Randbereich um 5 Zehnerpotenzen reduziert.

Der Ausgangsgehalt von *Clostridium perfringens*-Sporen betrug in beiden Versuchen 10^3 KBE/g. Im ersten Versuch waren diese Keime nach 5 Stunden, auch nach quantitativer Untersuchungsmethode, nicht mehr nachweisbar. Im zweiten Versuch erfolgte eine Reduzierung um 3 Zehnerpotenzen erst innerhalb von 24 Stunden (Tab.43).

Tab.43: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg*, Fäkalstreptokokken, *E.coli* und *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,7kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KBE/g | | | | Kernbereich KBE /g | | | |
|---------|-------------------|----------|------------|-------------|--------------------|----------|------------|-------------|
| | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. | E.coli | FKS | S. senft. | Clost.perf. |
| 0-Probe | 2,30E+06 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+03 | 2,30E+06 | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 2,30E+03 |
| 30 min | 7,50E+01 | --- | 4,30E+03 | --- | 2,30E+01 | --- | 9,30E+03 | --- |
| 1h | 2,30E+01 | 1,50E+03 | 4,30E+03 | 3,60E+00 | n.n. | 3,20E+03 | 9,30E+03 | 7,40E+00 |
| 3h | n.n. | 1,50E+03 | 4,30E+02 | 3,60E+00 | n.n. | 4,30E+02 | 4,30E+01 | 9,20E+00 |
| 5h | n.n. | 9,20E+00 | 3,20E+01 | neg. | n.n. | 2,30E+01 | qual. pos. | neg. |
| 10h | n.n. | 9,20E+00 | qual. pos. | neg. | n.n. | 2,30E+02 | qual. pos. | neg. |
| 24h | n.n. | n.n. | qual. pos. | neg. | n.n. | n.n. | neg. | neg. |
| 48h | n.n. | n.n. | neg. | neg. | n.n. | n.n. | neg. | neg. |

Legende: siehe Tabelle 38

Tab.44: Darstellung der Reduktion von *Clostridium perfringens*-Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,7kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Randbereich KBE/g | Kernbereich KBE/g |
|---------|-------------------|-------------------|
| 0-Probe | 9,30E+03 | 4,30E+03 |
| 1h | 2,30E+02 | 2,30E+02 |
| 4h | 1,50E+02 | 1,50E+02 |
| 8h | 0.39E+01 | 0.39E+01 |
| 24h | qual. pos. | neg. |
| 48h | qual. pos. | neg. |
| 7 Tage | neg. | neg. |

Legende: siehe Tabelle 38

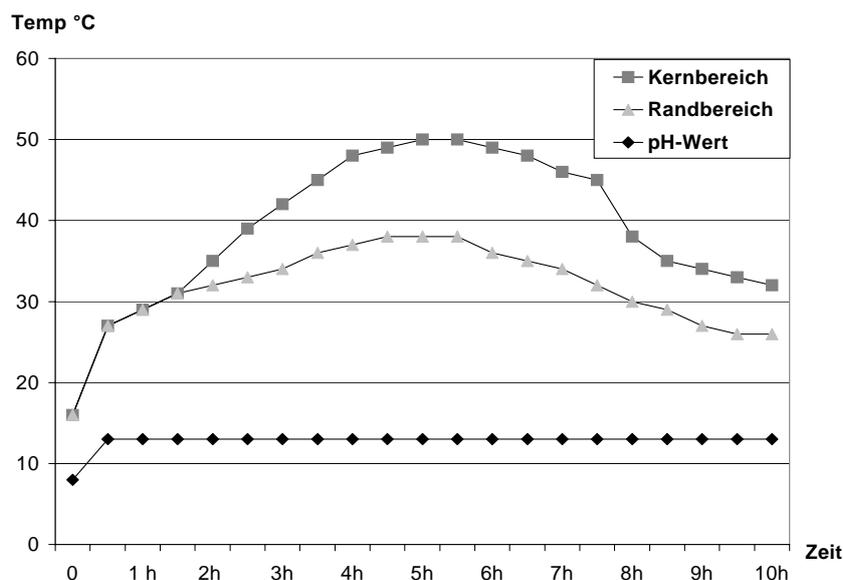


Abb. 44: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,7kg CaO /kg Trockensubstanz

4.2.4 Vergleichende Ergebnisdarstellung

4.2.4.1 Tenazitätsuntersuchungen mit Askarideneier

In Tabelle 45 sind die Ergebnisse der halbtechnischen Versuche zur Inaktivierung von Askarideneiern zusammenfassend dargestellt.

In den Tenazitätsuntersuchungen mit Spulwurmeiern wurden Kalkmenge zwischen 0,7 und 1,1kg CaO /kg TS bei Trockensubstanzgehalten der Substrate zwischen 16-30% eingesetzt. Dabei stellte sich heraus, dass, unabhängig vom eingesetzten Substrat, bei Temperaturen zwischen 50-60°C die Inaktivierungszeit 5-10 Stunden und bei Temperaturen zwischen 60 -70°C 2-5 Stunden beträgt. Beim Erreichen von Temperaturen oberhalb von 80°C konnte die Zeit auf <1 Stunde verkürzt werden. Die maximal erreichte Temperatur in den Versuchen und die Zeit in der diese Werte erreicht wurden sind nicht nur von den zugesetzten Kalkmengen sondern auch von der Trockensubstanz der Substrate abhängig. Dies ist besonders deutlich bei Zusatz von 0,9kg CaO /kg TS zu erkennen, beim Einsatz von Klärschlamm mit 22% wurde eine maximale Temperatur von 57°C erreicht, dagegen konnte beim der Verwendung von Panseninhalt mit einem TS-Gehalt von 28% Temperaturen über 70°C erreicht werden.

Tab. 45: Darstellung der Inaktivierungszeit der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen

| Substrat | TS (%) | Kalk (Kg CaO /kg TS) | Tmax (°C) | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 99,9% |
|--------------|--------|-------------------------|-----------|--|
| Klärschlamm | 22 | 0,45 | 17 | 8 Wochen |
| | 22 | 0,9 | 57 | 5-10h |
| | 22 | 1,1 | 71 | 2-5h |
| Panseninhalt | 28 | 0,7 | 64 | 2h |
| | 28 | 0,9 | 74 | 0,5-2h |
| | 16 | 1,25 | 35 | 3-4 Wochen |
| | 16 | 1,56 | 55 | 5-10h |
| Gärrückstand | 30 | 0,7 | 50 | 3-5h |
| | 25 | 0,8 | 62 | 3-5h |
| | 25 | 1 | 69 | 3-5h |
| | 25 | 1,1 | 84 | <1 |

4.2.4.2 Tenazitätsuntersuchungen mit dem Bovinen Parvovirus

In Tabelle 46 ist die Reduktion des Bovinen Parvovirus in den Tenazitätsuntersuchungen des halbtechnischen Maßstabs zusammenfassend dargestellt. Für die Untersuchungen wurden Kalkmengen zwischen 0,8 und 1,1kg CaO /kg TS eingesetzt, bei einem Trockensubstanzgehalt der verwendeten Substrate von 16-28%.

Eine Reduzierung des Bovinen Parvovirus um die erforderlichen 4 Zehnerpotenzen konnte bei Temperaturen bis 65°C innerhalb der jeweiligen Untersuchungszeiträume von 10-24 Stunden nicht nachgewiesen werden.

Bei Temperaturen von über 65°C lag die Inaktivierungszeit bei 2-5 Stunden, beim Erreichen von Temperaturen oberhalb von 80°C konnte diese Zeit auf <2 Stunde verkürzt werden.

Im Gegensatz zu den anderen Substraten konnte das Bovine Parvovirus in Gärrückständen schon beim Erreichen einer Temperatur von 62°C beim Einsatz von 0,8kg CaO pro kg TS innerhalb von 5 Stunden um 4 Zehnerpotenzen reduziert werden.

Tab. 46: Darstellung der Inaktivierungszeit des Bovinen Parvovirus in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen

| Substrat | TS (%) | Kalk (kg CaO /kg TS) | Tmax (°C) | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ⁴ |
|--------------|--------|-------------------------|-----------|--|
| Klärschlamm | 22 | 0,9 | 57 | >10 h |
| | 22 | 1,1 | 71 | 2 h |
| Panseninhalt | 28 | 0,7 | 64 | >10 h |
| | 28 | 0,9 | 74 | 5 h |
| | 16 | 1,25 | 35 | > 24 h |
| | 16 | 1,56 | 55 | > 24 h |
| Gärrückstand | 25 | 0,8 | 62 | 5 h |
| | 25 | 1 | 69 | 4-5 h |
| | 25 | 1,1 | 84 | 0,5 -2 |

4.2.4.3 Tenazitätsuntersuchungen mit dem Rinder Enterovirus

In den Tenazitätsuntersuchungen mit dem Rinder Enterovirus stellte sich heraus, dass eine Reduzierung um 4 Zehnerpotenzen beim Einsatz aller drei Substrate mit einer geringen Temperaturerhöhung von über 25°C und einem pH-Wert von >12,5 innerhalb von zwei Stunden erreicht werden kann. Beim Erreichen von Temperaturen oberhalb 30°C erfolgte eine Reduzierung innerhalb von 1-2 Stunden. In Klärschlamm wurde mit einer Kalkmenge von 0,9kg CaO /kg TS gearbeitet und in der ersten halben Stunde eine Temperatur von 38°C gemessen. Damit konnte das ECBO- Virus um 4 Zehnerpotenzen reduziert werden.

Tab. 47: Darstellung der Inaktivierungszeit des ECBO-Virus in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen

| Substrat | TS (%) | Kalk (kg CaO /kg TS) | Tmax in der Inaktivierungszeit | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ⁴ |
|--------------|--------|-------------------------|-----------------------------------|--|
| Panseninhalt | 16 | 0,3 | 22°C | 10-24 h |
| | 16 | 0,6 | 22°C | >24 h |
| | 16 | 1,56 | 26 °C | 2 h |
| Klärschlamm | 22 | 0,9 | 38°C | 0,5 h |
| Gärrückstand | 25 | 0,2 | 27°C | 2-3 h |
| | 25 | 0,4 | 32°C | 1-2 h |

Die Temperaturentwicklung in den Kalk-Substrat-Mischungen ist dabei hauptsächlich abhängig von der Trockensubstanz des eingesetzten Substrats. In Gärrückstand, mit einem TS-Gehalt von 25%, konnte beim Einsatz von 0,2kg CaO /kg TS Temperaturen von 27°C erreicht werden, um diesen Temperaturbereich zu erreichen wurde bei Panseninhalt (TS-Gehalt 16%) eine Kalkmenge von 1,56kg /kg TS benötigt.

4.2.4.4 Tenazitätsuntersuchungen mit Bakterien

In diesen Versuchen wurden mit unterschiedlichen Kalkmengen von 0,08kg bis 0,9kg CaO /kg TS und einer Trockensubstanz der eingesetzten Substrate von 16-25% gearbeitet.

Salmonella senftenberg und *E.coli* konnten in den Tenazitätsuntersuchungen unabhängig des verwendeten Substrates beim Einsatz von 0,3kg CaO /kg TS in den ersten 30 Minuten um 4 Zehnerpotenzen und innerhalb einer Stunde um 5 Zehnerpotenzen reduziert werden (Tab. 48 und 49).

Tab.48: Darstellung der Inaktivierungszeit von *Salmonella senftenberg* in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen

| Substrat | Kalk (Kg CaO/kg TS) | Tmax | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ⁴ | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ⁵ |
|------------------------|---------------------|------|---|---|
| Panseninhalt 16% TS | 0,2 | 22°C | 24h | 24h |
| | 0,3 | 22°C | 0,5 h | 1h |
| Klärschlamm 22% TS | 0,2 | 26°C | 10 h | 24 h |
| | 0,3 | 26°C | 0,5 h | 1 h |
| | 0,9 | 57°C | 0,5 h | 0,5 h |
| Gärrückstand 25% TS | 0,08-1 | 22°C | 5h | 5-10 h |
| | 0,2 | 25°C | 1h | 1h |
| | 0,3 | 32°C | 0,5 h | 1h |

Tab.49: Darstellung der Inaktivierungszeit von *E.coli* in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen

| Substrat | Kalk (Kg CaO/kg TS) | Tmax | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ⁴ | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ⁵ |
|------------------------|---------------------|------|---|---|
| Panseninhalt 16% TS | 0,2 | 22°C | 24h | 24h |
| | 0,3 | 22°C | 0,5 h | 1h |
| Klärschlamm 22% TS | 0,2 | 26°C | 2 h | 5 h |
| | 0,3 | 26°C | 0,5 h | 1 h |
| | 0,9 | 57°C | 0,5 h | 0,5 h |
| Gärrückstand 25% TS | 0,08-1 | 22°C | 1-2h | 5 h |
| | 0,2 | 25°C | 1h | 2 h |
| | 0,3 | 32°C | 0,5 h | 1h |

Fäkalstreptokokken konnten in den Tenazitätsuntersuchungen im halbtechnischen Maßstab unabhängig von den einzelnen Substraten in einer Stunde um 4 Zehnerpotenzen reduziert werden. Eine Reduktion um 5 Zehnerpotenzen erfolgte in

einem Zeitraum von 3 - 5 Stunden. Diese Ergebnisse wurden beim Einsatz von 0,3 kg CaO /kg TS erzielt.

Tab.50: Darstellung der Inaktivierungszeit von Fäkalstreptokokken in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen

| Substrat | Kalk (Kg CaO/kg TS) | T _{max} | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ⁴ | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ⁵ |
|------------------------|---------------------|------------------|---|---|
| Panseninhalt 16% TS | 0,2 | 22°C | 24h | 24h |
| | 0,3 | 22°C | 1 h | 3 h |
| Klärschlamm 22% TS | 0,2 | 26°C | 24 h | 48 h |
| | 0,3 | 26°C | 1 h | 5 h |
| | 0,9 | 57°C | 0,5 h | 1 h |
| Gärrückstand 25% TS | 0,08-1 | 22°C | 5-10h | 24 h |
| | 0,2 | 25°C | 5h | 24 h |
| | 0,3 | 32°C | 1 h | 5 h |

Die Ergebnisse der Tenazitätsuntersuchungen mit den Sporen von *Clostridium perfringens* sind nicht eindeutig auszuwerten. Die Inaktivierungszeiten streuen bei Einsatz von Panseninhalt mit 0,2-0,3kg CaO /kg TS zwischen 3-4 Wochen. In Klärschlamm konnte sowohl mit einer Kalkmenge von 0,2kg /kg TS wie auch mit 0,9kg Kalk /kg TS eine Reduzierung der Sporen um vier Zehnerpotenzen nachgewiesen werden. In Gärrückstand erfolgte eine Reduzierung der Sporen um drei Zehnerpotenzen innerhalb von 1 - 24 Stunden.

Tab.51: Darstellung der Inaktivierungszeit von *Clostridium perfringens* Sporen in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen

| Substrat | Kalk (Kg CaO/kg TS) | T _{max} | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ³ | Inaktivierungszeit Reduktionsfaktor 10 ⁴ |
|------------------------|---------------------|------------------|---|---|
| Panseninhalt 16% TS | 0,2 | 22°C | 4 Wochen | --- |
| | 0,3 | 22°C | 24h - 3Wochen | --- |
| Klärschlamm 22% TS | 0,2 | 26°C | 1 Woche | 1 Woche |
| | 0,9 | 26°C | 5 h | 3h – 1 Woche |
| | 1,1 | 57°C | 3h – 1 Woche | 3h – 1 Woche |
| Gärrückstand 25% TS | 0,08-1 | 22°C | 10-24h | --- |
| | 0,2 | 25°C | 24 h | --- |
| | 0,7 | 32°C | 1-24 h | --- |

4.3 Ergebnisse der Praxisversuche

Bei der Durchführung der Praxisversuche im kontinuierlichen Betrieb wurde die Durchsatzmenge an Substraten so ausgewählt, dass sie der maximal lieferbaren Menge der vorgeschalteten Anlage (Mischer 3) entsprach. Die Dosiermenge an Kalk wurde entsprechend der gewünschten Temperatur eingestellt. Es stellte sich heraus, dass die vorgesehene Kalkzugabestelle im geschlossenen Raum oberhalb des Eintritts in die Excenterpumpe aufgrund der Wasserdampfbildung bei höheren Temperaturen zu Verstopfungen führte, so dass die Kalkzugabe an die gleichen Stelle wie die Substratzugabe verlegt wurde. Diese Stelle gewährleistete einen konstanten Kalkfluss und führte nicht zu Verstopfungen.

Sowohl die Kalkmenge (Abb. 45) als auch die Gesamtdurchsatzmenge an Mischgut zeigt einen linearen Zusammenhang mit der entsprechenden Stellgröße (z.B. Pumpendrehzahl, Abb.46), so dass eine komplizierte Regelstrecke nicht benötigt wurde.

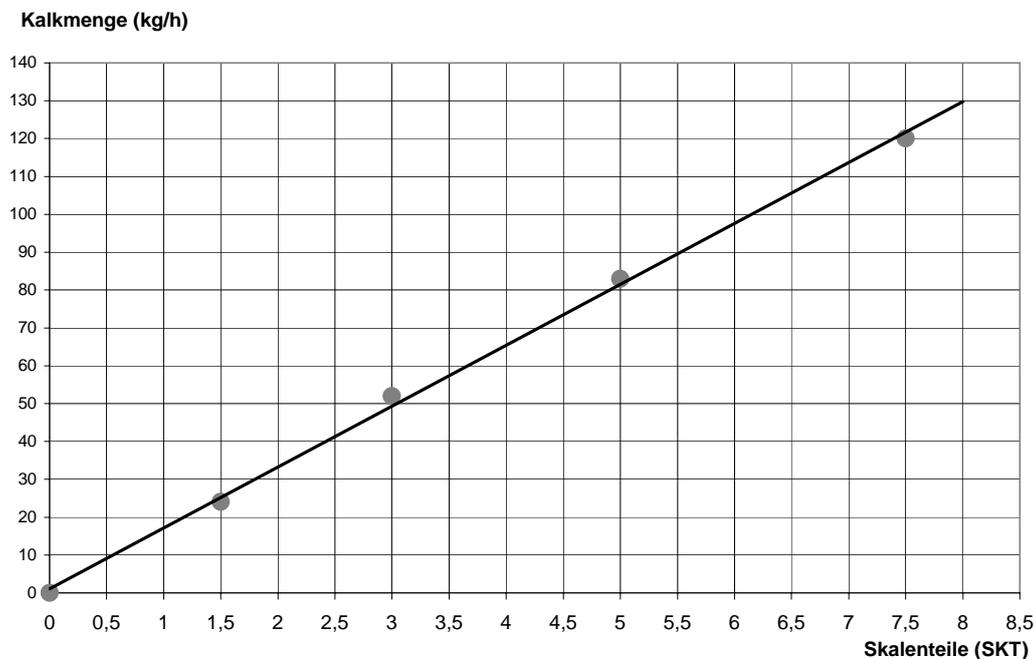


Abb.45: Darstellung der Kalkmenge in Abhängigkeit der Einstellung an der Pumpendrehzahl

Die gewünschte Temperatur im Mischer wurde durch Erhöhung oder Erniedrigung der Kalkmenge bei konstanter Zufuhr des entsprechenden Bioabfalls eingestellt und konstant gehalten. Die Durchsatzmenge wurde niveaugesteuert angepasst.

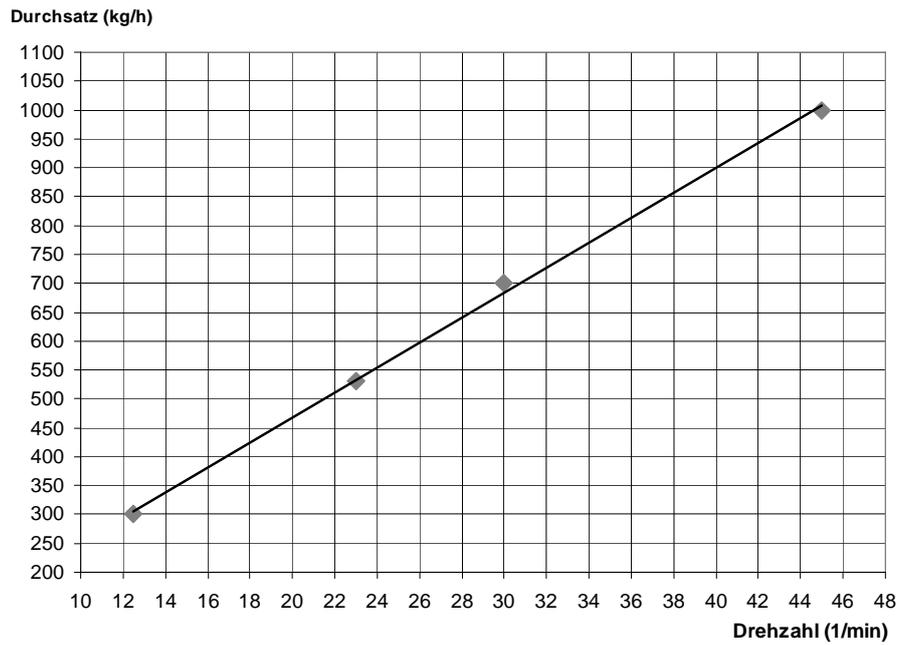


Abb. 46: Darstellung der Durchsatzmenge in Abhängigkeit von der Pumpendrehzahl

Bei einem Gesamtdurchsatz von 450 - 550 kg/h beträgt die Aufenthaltszeit des Mischgutes im Mischer zwischen 5 und 7 Minuten.

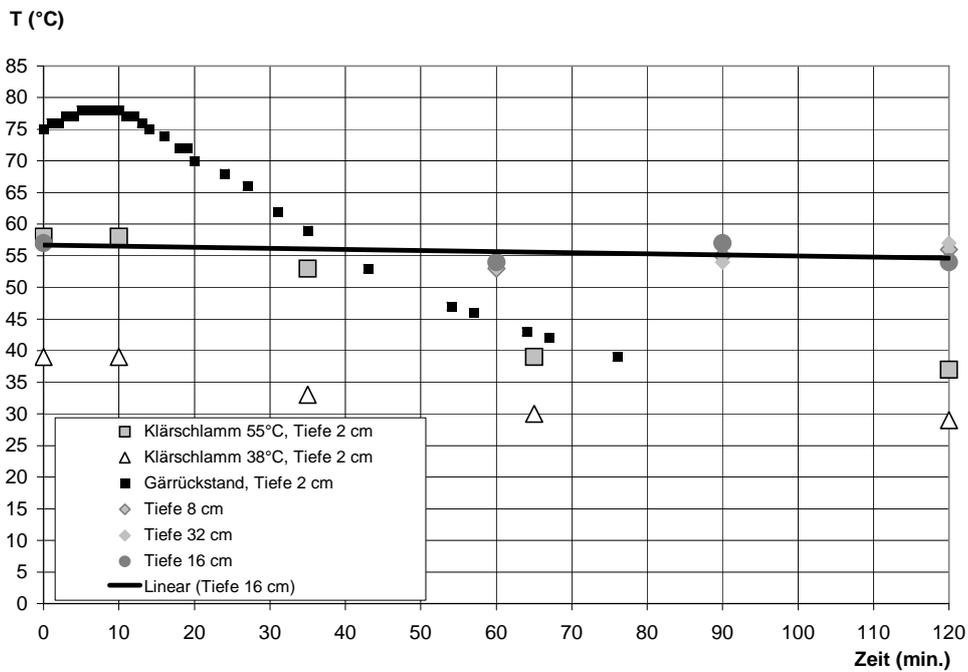


Abb. 47: Darstellung der Abkühlung des Mischgutes in unterschiedlichen Schichttiefen

In Abbildung 45 ist der Temperaturverlauf in den Mischungen eines Haufwerks in Abhängigkeit von der Zeit in unterschiedlichen Schichttiefen und bei verschiedenen Austragstemperaturen dargestellt. Es lässt sich erkennen, dass eine schnelle Abkühlung nur in den ersten Zentimetern stattfindet, während in den tieferen Schichten die Temperatur über einen Zeitraum von zwei Stunden nahezu konstant gehalten werden konnte.

4.3.1 Klärschlamm

An der Praxisanlage wurden fünf Tenazitätsversuche mit dem Substrat Klärschlamm durchgeführt (KS I – V). Der aerob stabilisierte Klärschlamm hatte einen Trockensubstanzgehalt von 18-22% TS und einen Ammoniumgehalt von 0,6 bis 0,8% bezogen auf den Trockensubstanzgehalt.

Während der kontinuierlichen Versuche wurde festgestellt, dass bei der Behandlung des Klärschlammes mit Kalk bei allen Versuchen keine Ammoniakentwicklung festgestellt werden konnte, bei der der Ammoniakgehalt in der Abluft des Mischaggregates oberhalb des MAK-Wertes von 35 mg /m³ lag.

In der Abbildung 48 ist beispielhaft für alle durchgeführten Versuche das Temperaturverhalten des Mischgutes am Austrag des Mixers dargestellt. Man kann deutlich erkennen, dass die Temperatur des Mischgutes sehr gut über die Kalkzugabemenge eingestellt und gesteuert werden kann.

Dabei sind die Schwankungen im Bereich stationärer Zustände bei höherer Temperatur (ca. 5°C) größer als bei geringerer Temperatur (ca. 2°C). Es lässt sich außerdem erkennen, dass bis zur Erreichung von stationären Zuständen ca. 20 – 30 Minuten Einstellzeit benötigt wird. Danach wird ein sicherer und stabiler Zustand erreicht.

Bei der Reaktion von Branntkalk mit den Substraten wirken puffernde Substanzen reaktionsverzögernd. Dies hat zur Folge, dass die Endtemperatur im Mischer selbst, je nach Aufenthaltszeit, nicht erreicht wird. Mit einem Ammoniumgehalt von 0,5 bis 0,7% bezogen auf die Trockensubstanz ergab sich eine Endtemperatur des Mischgutes innerhalb von 5 Minuten nach dem Austrag, die um ca. 2 – 5°C höher lag als die Austrittstemperatur am Mischer.

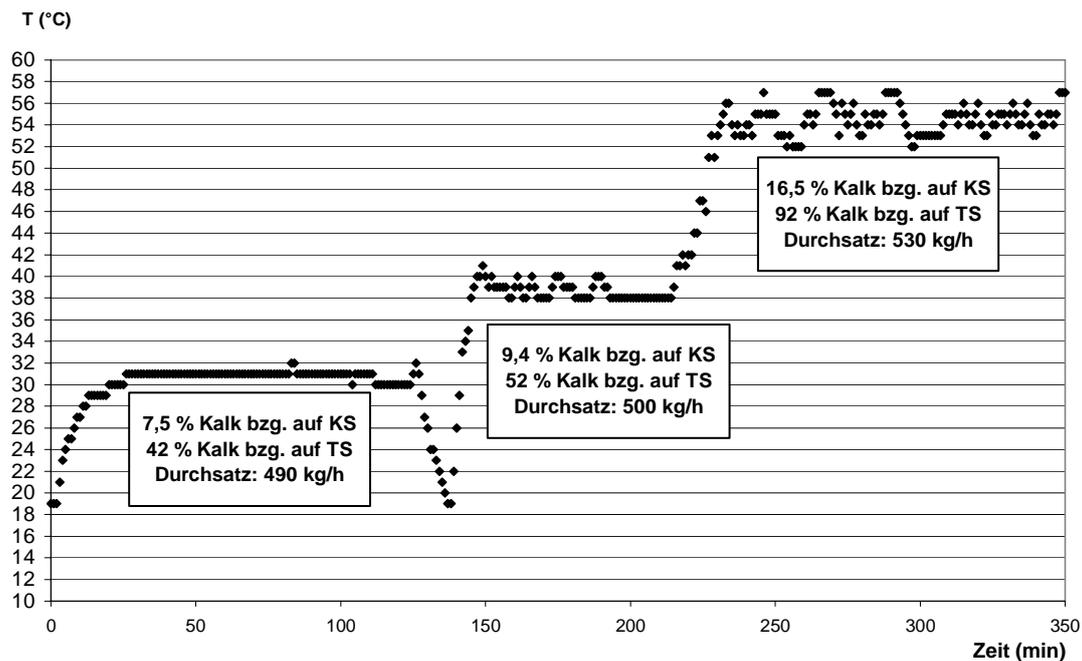


Abb. 48: Darstellung der unterschiedliche Kalkzugabemengen bei konstantem Klärschlammzufluss (KS)

4.3.1.1 Versuche KS I-III

In den Versuchen KS I-III wurden die Keimträger in einem, nach dem Austrag des Mischgutes, künstlich angelegten Haufwerk eingebracht, so dass sie mit dem Mischgut erst ca. 30 Minuten nach dem Austrag aus dem Mischer 3 in Kontakt gekommen sind und das Material aufgrund einer großen Oberfläche bereits teilweise abgekühlt war. Die Probenahme erfolgte aus dem Kernbereich des Haufwerks, einzelne Proben wurden auch aus dem Randbereich (ca. 5 cm Tiefe) entnommen. Die Außentemperatur betrug auf der Anlage während der Versuchsdurchführung -2 bis $+2^{\circ}\text{C}$.

1) Versuch mit 0,8 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Im **Versuch I** wurde mit einer Kalkmenge von $0,8\text{ kg CaO/kg TS}$ gearbeitet. Die Probenahme erfolgte aus technischen Gründen nur nach einer und 24 Stunden.

Bei einer Zugabemenge von $0,8\text{ kg Kalk /kg TS}$ wurde eine Austragstemperatur des Kalk-Substrat-Gemisches von 50°C gemessen. Im gebildeten Substrathaufen konnte im Kernbereich eine maximale Temperatur von 45°C und im Randbereich von 37°C nachgewiesen werden (Tab. 52).

Tab.52: Darstellung des Temperaturverlaufes in Klärschlamm mit 0,8kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

| VERSUCH KS I : Austragstemperatur 50°C | | |
|--|-------------|-------------|
| Zeit | Randbereich | Kernbereich |
| 0 Minuten | 37°C | 45°C |
| 30 Minuten | 30°C | 43°C |
| 60 Minuten | 26°C | 43°C |
| 90 Minuten | 22°C | 41°C |
| 120 Minuten | 21°C | 34°C |

In den Keimträgern mit Askarideneiern wurde ein Ausgangskeimgehalt von 73% entwicklungsfähiger Spulwurmeier ausgezählt. Im Versuch KS I wurden nach 24 Stunden im Kernbereich des Substrates noch 61% und im Randbereich 73% entwicklungsfähige Askarideneier nachgewiesen.

Tab. 53: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,8kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Randbereich in % | Kernbereich in % |
|-----------|------------------|------------------|
| 0 Probe | 73 | 73 |
| 1 Stunde | 73 | 73 |
| 24 Stunde | 73 | 61 |

In den Tenazitätsversuchen mit dem Bovinen Parvovirus wurde nach 24-stündiger Inkubation der Keimträger im Kernbereich des Substrathaufens noch 10^3 KID₅₀/ml und im Randbereich 10^4 KID₅₀/ml an Bovinen Parvovirus nachgewiesen.

Tab.54: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,8 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm.

| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Virusverd. 1:10 | 3,16E+05 | 3,16E+05 |
| 0-Probe | 1,00E+05 | 1,00E+05 |
| 1h | 1,63E+05 | 4,08E+04 |
| 24h | 3,52E+04 | 2,31E+03 |

Legende: KID₅₀/ml : Kulturinfektiöse Dosis 50%

Die in den Versuch KS I eingebrachten Keimträger mit Bakterien könnten aufgrund fehlender Neutralisation der entnommenen Proben nicht ausgewertet werden.

2) Versuche mit 1,1kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

In den **Versuchen KS II** und **III** wurde mit einer Kalkmenge von 1,1kg CaO /kg TS gearbeitet. Die Austragstemperatur des Mischgutes lag bei 68°C. Im Versuch KS II wurde nach dem Einbringen der Keimträger (0-Minuten) noch eine Temperatur von 58°C und nach 60 Minuten 53°C gemessen. Im dritten Versuch betrug die Temperatur beim Einbringen der Keimträger 50°C und nach einer Stunde 44°C. In den Randbereichen des Gemisches konnte im zweiten Versuch eine maximale Temperatur von 39°C und im Versuch KS III ein maximaler Wert von 46°C gemessen werden (Tab. 55).

Tab.55: Darstellung des Temperaturverlaufes in Klärschlamm mit 1,1kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

| Zeit | Versuch II | | Versuch III | |
|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Randbereich | Kernbereich | Randbereich | Kernbereich |
| Austragstemperatur | 68°C | 68°C | 68°C | 68°C |
| 0 Minuten | 39°C | 58°C | 46°C | 50°C |
| 30 Minuten | 39°C | 54°C | 42°C | 48°C |
| 60 Minuten | 33°C | 53°C | 40°C | 44°C |
| 90 Minuten | 30°C | 39°C | 39°C | 41°C |
| 120 Minuten | 29°C | 37°C | 39°C | 41°C |

Im Versuch KS II wurde im Kernbereich der Mischung nach einer halben Stunde noch ein Prozent entwicklungsfähiger Eier nachgewiesen, nach einer Stunde waren keine entwicklungsfähigen Spulwurmeier mehr vorzufinden. Im Randbereich erfolgte innerhalb von 24 Stunden eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier auf 60%. Im Versuch KS III wurden nach 24 Stunden im Kernbereich der Mischung noch 68% und im Randbereich 70% entwicklungsfähige Askarideneier ausgezählt (Tab. 56).

Tab. 56: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Versuch II | | Versuch III | |
|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Randbereich | Kernbereich | Randbereich | Kernbereich |
| 0-Probe | 73 % | 73 % | 73 % | 73 % |
| 1h | 70 % | 1 % | 71 % | 71 % |
| 2h | 69 % | 0 % | --- | --- |
| 3h | --- | 0 % | --- | --- |
| 5h | --- | 0 % | --- | --- |
| 24h | 60 % | 0 % | 70 % | 68 % |

In den Tenazitätsversuchen mit dem Bovinen Parvovirus konnte im Versuch KS II innerhalb von 24 Stunden der Gehalt bis auf die Nachweisgrenze ($> 5,60E+01$ KID₅₀/ml) reduziert werden. Im dritten Versuch erfolgte im Kernbereich der Mischung

eine Reduzierung um 3 Zehnerpotenzen. Im Randbereich wurde nach 24 Stunden noch ein Gehalt von 10^3 KID₅₀/ml an Bovinen Parvovirus nachgewiesen (Tab. 57).

Tab. 57: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,1 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| | Versuch II | | Versuch III | |
|---------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Zeit | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml | Randbereich KID ₅₀ /ml | Kernbereich KID ₅₀ /ml |
| 0-Probe | 1,00E+05 | 1,00E+05 | 1,00E+05 | 1,00E+05 |
| 1h | 1,37E+04 | 1,98E+04 | 4,08E+04 | 3,16E+05 |
| 3h | 4,52E+04 | 3,52E+03 | --- | --- |
| 5h | 3,98E+04 | 1,43E+03 | --- | --- |
| 24h | n.n. | n.n. | 3,77E+03 | 4,56E+02 |

Legende:

KID₅₀/ml : Kulturinfektiöse Dosis 50%

n.n. : nicht (mehr) nachweisbar (Nachweisgrenze 5,60E+01)

4.3.1.2 Versuche KS IV und V

In den Versuchen KS IV-V wurden der Austrag in einem 5-seitigen umschlossenen Behälter (Schaufel eines Radladers) gesammelt und verblieb dort bis zum Ende der Probeentnahme. Die Keimträger wurden in den Behälter eingebracht, so dass sie direkt mit dem frisch ausgetragenen Mischgut in Kontakt kamen. Die Proben wurden aus dem Kernbereich der Mischung entnommen. Der Temperaturverlauf wurde an drei unterschiedlichen Stellen ermittelt.

Die Außentemperatur betrug auf der Anlage während der Versuchsdurchführung 14°C. Die Ergebnisse der Tenazitätsuntersuchungen sind jeweils für beide Kalkmengen in einer Tabelle zusammengefasst.

1) Versuch mit 0,9 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Im **Versuch KS IV** lag die Austragstemperatur des Mischgutes bei 54°C. Der Temperaturbereich über 50°C konnte über fünf Stunden gehalten werden, dabei wurde eine maximale Temperatur von 57°C gemessen (Tab. 58).

Innerhalb von 15 Minuten erfolgte eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier um 97,3%. Nach einer halben Stunde waren keine entwicklungsfähigen Spulwurmeier mehr nachweisbar (Tab. 59).

Bei den Tenazitätsversuchen mit dem Bovinen Parvovirus konnte ein Ausgangswert von 10^5 KID₅₀/ml in den Viruskeimträgern nachgewiesen werden. Im Versuch IV wurde nach zwei Stunden noch ein Gehalt von 10^4 KID₅₀/ml festgestellt. Nach 24h konnte eine Reduzierung des Bovinen Parvovirus um 4 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden (Tab. 60).

Tab. 58: Darstellung des Temperaturverlaufes in Klärschlamm mit 0,9kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz.

| Zeit | Temperatur 1 | Temperatur 2 | Temperatur 3 |
|-------------------|--------------|--------------|--------------|
| Austragtemperatur | 57°C | 57°C | 57°C |
| 15 Minuten | 53°C | 53°C | 51°C |
| 30 Minuten | 53°C | 54°C | 51°C |
| 60 Minuten | 55°C | 54°C | 54°C |
| 90 Minuten | 56°C | 57°C | 57°C |
| 120 Minuten | 55°C | 56°C | 54°C |
| 240 Minuten | 55°C | 55°C | 54°C |

Tab. 59: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit unterschiedlichen Mengen Branntkalk versetztem Klärschlamm

| Zeit | VERSUCH IV 0,9kg CaO/ kg TS | VERSUCH V 1,1kg CaO/kg TS |
|---------|--------------------------------|------------------------------|
| 0 Probe | 75 % | 75 % |
| 15 min. | 2 % | 0 % |
| 30 min. | 0 % | 0 % |
| 60 min. | 0 % | 0 % |

Tab. 60: Darstellung der Reduktion des Bovinem Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk / kg TS versetztem Klärschlamm

| Zeit | VERSUCH IV 0,9kg CaO/ kg TS | VERSUCH V 1,1kg CaO/kg TS |
|----------------|--------------------------------|------------------------------|
| Virusverd.1:10 | 1,78E+07 KID50/ml | 1,78E+07 KID50/ml |
| 0 Probe | 7,32E+05 KID50/ml | 7,32E+05 KID50/ml |
| 15 min. | 1,52E+05 KID50/ml | 9,86E+04 KID50/ml |
| 30 min. | 1,83E+05 KID50/ml | 2,30E+04 KID50/ml |
| 60min | 1,83E+05 KID50/ml | 2,30E+04 KID50/ml |
| 120min | 1,26E+04 KID50/ml | 1,05E+02 KID50/ml |
| 24h | 5,60E+01 KID50/ml | 5,60E+01 KID50/ml |

Legende: KID₅₀/ml : Kulturinfektiöse Dosis 50%

Bei den Tenazitätsuntersuchungen mit *Salmonella senftenberg* erfolgte im Versuch KS IV auf Holzkeimträger innerhalb von 15 Minuten eine Reduzierung bis zur Nachweisgrenze. Auf einem Stahlkeimträger konnte nach 15 Minuten noch ein Keimgehalt von $9,3 \times 10^3$ KBE/g nachgewiesen werden, die Parallelprobe zu diesem Keimträger war nicht auswertbar. Nach 30 Minuten konnte auf keinem der eingebrachten Keimträger noch Salmonellen nachgewiesen werden (Tab. 61). Der Gehalt an Fäkalstreptokokken konnte innerhalb der ersten 30 Minuten um 5 Zehnerpotenzen reduziert werden (Tab. 62).

Tab. 61: Darstellung der Reduktion von *S. senftenberg* durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Klärschlamm

| Zeit | VERSUCH IV 0,9kg CaO/ kg TS | | VERSUCH V 1,1kg CaO/kg TS | |
|---------|--------------------------------|-------------------------|------------------------------|-------------------------|
| | Stahlkeimträger KBE/g | Holzkeimträger KBE/g | Stahlkeimträger KBE/g | Holzkeimträger KBE/g |
| 0 Probe | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 2,30E+07 | 2,30E+07 |
| 15 min. | 9,30E+03 | n.n. | n.n. | n.n. |
| 30 min. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. |
| 60 min. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. |

Legende:

KBE/g : Koloniebildene Einheit /g

n.n.: nicht (mehr) nachweisbar (Nachweisgrenze $0,36 \times 10^1$ KBE/g)

Tab. 62: Darstellung der Reduktion von Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Klärschlamm

| Zeit | VERSUCH IV 0,9kg CaO/ kg TS | | VERSUCH V 1,1kg CaO/kg TS | |
|---------|--------------------------------|-------------------------|------------------------------|-------------------------|
| | Stahlkeimträger KBE/g | Holzkeimträger KBE/g | Stahlkeimträger KBE/g | Holzkeimträger KBE/g |
| 0 Probe | 4,30E+06 | 2,30E+07 | 4,30E+06 | 2,30E+07 |
| 15 min. | --- | 2,30E+04 | n.n. | 4,30E+01 |
| 30 min. | 2,10E+01 | 2,30E+02 | n.n. | n.n. |
| 60 min. | n.n. | 2,30E+01 | n.n. | n.n. |

Legende: siehe Tabelle 61

1) Versuch mit 1,1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Im **Versuch KS V** lag die Austragstemperatur des Mischgutes bei 77°C. Im Substrathaufen wurde nach 30 Minuten eine maximale Temperatur von 75°C gemessen. Der Temperaturbereich über 60°C konnte dabei in allen Bereichen der Mischung über zwei Stunden gehalten werden (Tab. 63).

Nach 15 Minuten konnte beim Einsatz von 1,1kg CaO /kg TS keine entwicklungsfähigen Askarideneier mehr nachgewiesen werden (s. Tab.59).

Bei den Tenazitätsversuchen mit dem Bovinen Parvovirus (BPV) konnte ein Ausgangswert von 10^5 KID₅₀/ml in den Viruskeimträgern nachgewiesen werden. Nach einer Stunde war in den Keimträgern noch 10^4 KID₅₀/ml an BPV festzustellen. Eine Reduzierung des Gehaltes an Bovinen Parvovirus um 4 Zehnerpotenzen erfolgte innerhalb von 24 Stunden (s. Tab. 60).

Bei den Tenazitätsuntersuchungen mit *Salmonella senftenberg* konnte innerhalb von 15 Minuten eine Reduzierung bis auf die Nachweisgrenze verzeichnet werden (s. Tab. 61).

Der Gehalt von Fäkalstreptokokken konnte im Versuch KS V innerhalb von 15 Minuten um 6 Zehnerpotenzen reduziert werden (s. Tab. 62).

Tab. 63: Darstellung des Temperaturverlaufes in Klärschlamm mit 1,1kg CaO/ kg Trockensubstanz.

| Zeit | Temperatur 1 | Temperatur 2 | Temperatur 3 |
|--------------------|--------------|--------------|--------------|
| Austragstemperatur | 77°C | 77°C | 77°C |
| 15 Minuten | 72°C | 60°C | 73°C |
| 30 Minuten | 69°C | 67°C | 75°C |
| 60 Minuten | 67°C | 63°C | 74°C |
| 90 Minuten | 65°C | 60°C | 72°C |
| 120 Minuten | 63°C | 60°C | 70°C |

4.3.2 Gärrückstand

Der anaerob mesophil stabilisierte Gärrückstand hatte einen Trockensubstanzanteil von 18 – 20% TS und einen Ammoniumgehalt von 1,8 bis 2,2% bezogen auf den Trockensubstanzgehalt. Bei der Behandlung von Gärrückstand mit Branntkalk wurde in der Abluft des Mischaggregates ein Ammoniakgehalt oberhalb des MAK-Wertes von 35 mg/m³ (Geruchsschwelle 3,5 mg/m³) festgestellt.

Das Mischverhalten des Mischgutes am Austrag des Mixers ist in Abbildung 49 dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Temperatur des Mischgutes, ebenso wie bei Klärschlamm als Substrat, sehr gut über die Kalkzugabemenge gesteuert werden kann.

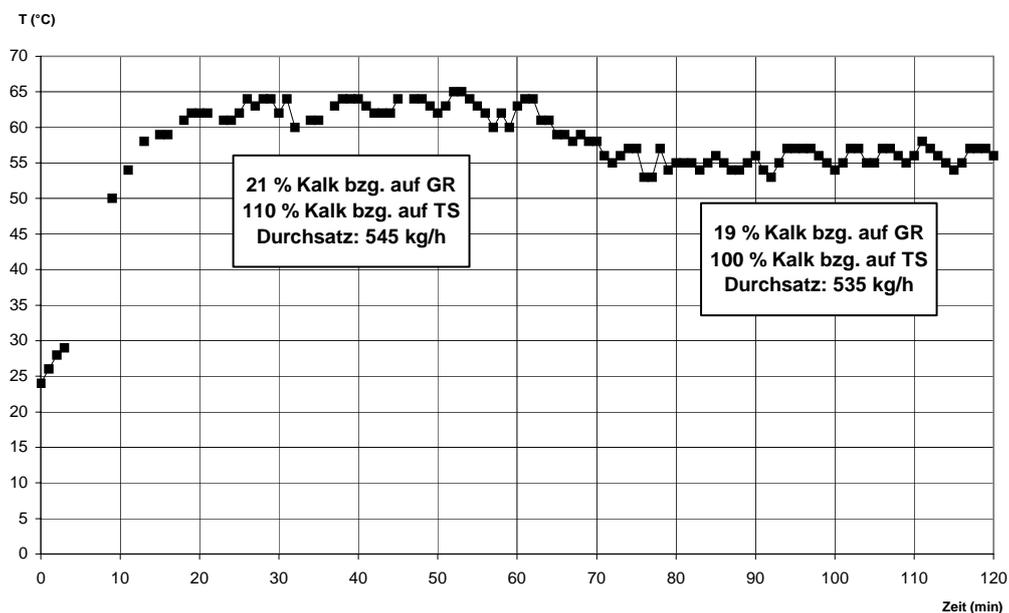


Abb.49: Darstellung der unterschiedliche Kalkzugabemengen bei konstanter Zugabe von Gärrückstand (GR)

Allerdings ergibt sich gegenüber dem Klärschlamm der Nachteil, dass eine wesentlich größere Löschverzögerung auftritt, so dass in einer Nachreaktionsphase die Temperaturen noch um ca. 10 – 15°C steigen. Dieser Effekt ist in Abb. 50

dargestellt. Dabei zeigt sich, dass dieser Temperaturanstieg innerhalb eines Zeitraumes von ca. 15 min. nach dem Austrag aus dem Mischaggregat stattfindet.

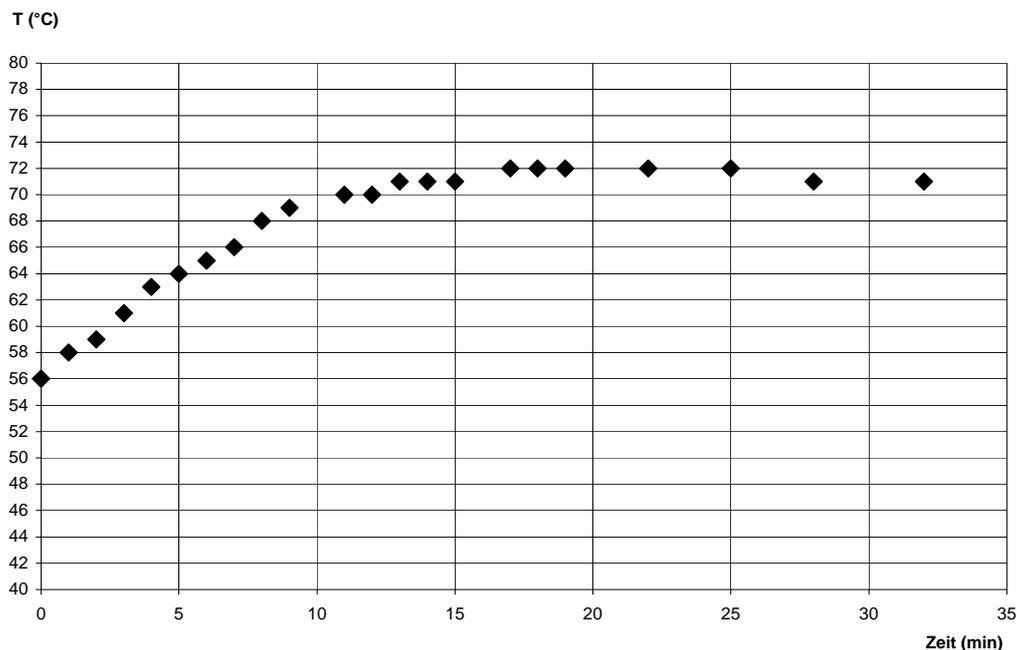


Abb. 50: Darstellung der Temperaturentwicklung von gekalkten Gärrückständen nach Austrag aus dem Mischaggregat

1) Versuch mit 0,9 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Im ersten Praxisversuch mit Gärrückstand wurde mit einer Kalkmenge von 0,9kg CaO /kg TS gearbeitet. Die Austragstemperatur des Mischgutes lag bei 60 - 65°C. Durch die Nachreaktion wurde ein Temperaturbereich zwischen 72 und 75°C erreicht. Dieser Temperaturbereich blieb über den Zeitraum von 1½ Stunden erhalten (Tab. 64).

Innerhalb von 15 Minuten erfolgte eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Ascarideneier um 97,5%. Nach 30 Minuten waren in der Mischung keine entwicklungsfähigen Spulwurmeier mehr nachweisbar (Tab. 65).

Das Bovine Parvovirus konnte innerhalb von einer Stunde um 5 Zehnerpotenzen reduziert werden (Tab. 66).

Salmonella senftenberg wurde nur auf Holzkeimträgern in die Versuche eingebracht und konnte nach 15-minütiger Inkubation der Keimträger nicht mehr nachgewiesen werden (Tab. 67).

Der Gehalt an Fäkalstreptokokken konnte im Versuch I auf Holzkeimträgern innerhalb von 15 Minuten um 6 Zehnerpotenzen reduziert werden, auf Stahlkeimträgern erfolgte eine Reduzierung des Keimgehaltes nach 30 Minuten um 4 Zehnerpotenzen (Tab. 68).

Tab.64: Darstellung des Temperaturverlaufes in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz versetztem Gärrückstand

| Zeit | VERSUCH I 0,9kg CaO /kg TS | | VERSUCH II 1,1kg CaO /kg TS | |
|-------------------|-------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|
| | Temperatur 1 | Temperatur 2 | Temperatur 1 | Temperatur 2 |
| Austragtemperatur | 60°C | 65°C | 75°C | 70°C |
| 0 Minuten | 67°C | 63°C | 78°C | 75°C |
| 30 Minuten | 71°C | 71°C | 78°C | 76°C |
| 60 Minuten | 75°C | 72°C | 76°C | 76°C |
| 90 Minuten | 73°C | 71°C | 78°C | 75°C |
| 120 Minuten | 66°C | 73°C | 70°C | 71°C |
| 240 Minuten | 67°C | 62°C | --- | --- |

Tab. 65: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Gärrückstand

| Zeit | VERSUCH I 0,9kg CaO/ kg TS | VERSUCH II 1,1kg CaO/kg TS |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|
| 0 Probe | 80 % | 80 % |
| 15 min. | 2 % | 1 % |
| 30 min. | 0 % | 0 % |
| 60 min. | 0 % | 0 % |

Tab. 66: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Gärrückstand

| Zeit | VERSUCH I 0,9kg CaO/ kg TS | VERSUCH II 1,1kg CaO/kg TS |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|
| 0 Probe | 1,93E+06 KID50/ml | 1,93E+06 KID50/ml |
| 15 min. | 1,75E+03 KID50/ml | 1,30E+05 KID50/ml |
| 30 min. | 2,30E+00 KID50/ml | 2,13E+03 KID50/ml |
| 60min | 2,30E+00 KID50/ml | 7,84E+01 KID50/ml |
| 120min | 2,30E+00 KID50/ml | 2,30E+00 KID50/ml |

Legende: KID₅₀/ml : Kulturinfektiöse Dosis 50%

2) Versuch mit 1,1 kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz

Bei dem Einsatz von 1,1kg CaO /kg TS lag die Austragtemperatur des Mischgutes bei 70-75°C. Nach 15 Minuten wurde eine maximale Temperatur von 78°C gemessen, dabei konnte der Temperaturbereich von über 70°C über zwei Stunden gehalten werden (s. Tab. 64).

Innerhalb von 15 Minuten konnte die Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier um 98,8% reduziert werden. Nach einer halben Stunde waren keine entwicklungsfähigen Spulwurmeier mehr nachweisbar (s. Tab.65)

Das Bovine Parvovirus konnte innerhalb einer Stunde um 5 Zehnerpotenzen reduziert werden (s. Tab.66).

Beim Einsatz von 1,1kg CaO /kg TS konnte nach 15 Minuten keine Salmonellen mehr nachgewiesen werden (Tab. 67).

Im Versuch II erfolgte eine Reduzierung der Fäkalstreptokokken um 4 Zehnerpotenzen nach 15 Minuten. Nach 30 Minuten wurde auf einem Holzkeimträger ein Gehalt an Fäkalstreptokokken von $2,4 \times 10^4$ KBE/g festgestellt (Tab. 68).

Tab. 67: Darstellung der Reduktion von *Salmonella senftenberg* durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Gärrückstand

| Zeit | VERSUCH I 0,9kg CaO/ kg TS | VERSUCH II 1,1kg CaO/kg TS |
|---------|-------------------------------|-------------------------------|
| 0 Probe | 2,30E+05 KBE/g | 2,30E+05 KBE/g |
| 15 min. | n.n. | n.n. |
| 30 min. | n.n. | n.n. |
| 60 min. | n.n. | n.n. |

Legende: siehe Tabelle 61

Tab. 68: Darstellung der Reduktion von Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Gärrückstand

| Zeit | VERSUCH I 0,9kg CaO/ kg TS | | VERSUCH II 1,1kg CaO/kg TS | |
|---------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| | Stahlkeimträger KBE/g | Holzkeimträger KBE/g | Stahlkeimträger KBE/g | Holzkeimträger KBE/g |
| 0 Probe | 2,33E+05 | 2,30E+06 | 2,33E+05 | 2,30E+06 |
| 15 min. | 2,52E+01 | n.n. | 1,15E+01 | n.n. |
| 30 min. | 7,40E+00 | 2,40E+04 | 9,30E+00 | n.n. |
| 60 min. | n.n. | n.n. | n.n. | n.n. |

Legende: siehe Tabelle 61

4.3.3 Homogenität

Die Homogenität einer Feststoffmischung hängt vom Grad der Durchmischung (Mischungsgrad) ab. So treten z.B. bei der diskontinuierlichen Herstellung von Feststoffmischungen zu Beginn des Mischvorganges an unterschiedlichen Stellen der Mischung große Unterschiede auf, während das Produkt einer kontinuierlichen Mischung bei konstanten Parametern den gleichen Mischungsgrad aufweist. Der Mischungsgrad wurde über die Bestimmung der Standardabweichung (Mischgüte) eines mischbezogenen Analyseparameters, der Trockensubstanz, bestimmt.

Anhand der Tabellen 69 und 70 ist zu erkennen, dass im kontinuierlichen Betrieb Mischungsgrade zwischen 94% und 96%, bei maximalen Differenzen in den Trockensubstanz-Gehalten zwischen 2% und 1,5%, erreicht werden können.

Tab. 69: Darstellung der Berechnung des Mischungsgrades bei einem Mischbetrieb von 450 kg Klärschlamm /h und 36kg CaO/h bei 31°C

| Zeit (min.) | TS (%) |
|---|--------|
| 0 | 18,0 |
| 30 | 28,9 |
| 45 | 28,1 |
| 60 | 28,3 |
| 75 | 28,0 |
| 90 | 28,5 |
| 100 | 27,4 |
| 110 | 27,6 |
| $x_0 = 18,0; x_m = 28,1$ $s = 0,60; s_R = 0,021; s_{max} = 0,48$ $M = 0,96$ | |

Tab. 70: Darstellung der Berechnung des Mischungsgrades bei einem Mischbetrieb von 450 kg Klärschlamm /h und 79kg CaO/h bei 55°C

| Zeit (min.) | TS (%) |
|---|--------|
| 0 | 18,0 |
| 245 | 37,9 |
| 265 | 39,8 |
| 275 | 38,7 |
| 285 | 38,0 |
| 300 | 37,8 |
| 320 | 38,5 |
| 345 | 38,1 |
| $x_0 = 18,0; x_m = 38,4$ $s = 1,10; s_R = 0,029; s_{max} = 0,48$ $M = 0,94$ | |

5. Diskussion

Vorbemerkung

Ziel der vorliegenden Untersuchungen war es, ein Verfahren für die Hygienisierung verschiedener „Bioabfälle“ mit Branntkalk zu testen. Es sollten die Möglichkeiten der großtechnischen Verfahrensweise, der homogenen Einmischung, sowie die benötigte Kalkmenge, ermittelt werden. Weiter sollte überprüft werden, inwieweit die Kalkbehandlung zu einer Inaktivierung verschiedener seuchenhygienisch relevanter Bakterien, Viren und parasitärer Dauerstadien führt. Besonderes Augenmerk sollte dabei auf die Inaktivierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier gelegt werden.

Zur Bearbeitung der Fragen wurden zunächst grundlegende Sachverhalte in Laborversuchen überprüft. Die Tenazitätsversuche wurden dann mit ausgewählten Indikatorkeimen im halbtechnischen Maßstab durchgeführt. Die Ergebnisse der halbtechnischen Versuche wurden an einer Praxisanlage großtechnisch verifiziert.

5.1 Ergebnisse der Vorversuche

Die durchgeführten Vorversuche sollten einen Aufschluss über die Möglichkeit der homogenen Einmischung von Branntkalk in die verschiedenen Substrate und über die voraussichtliche Kalkbedarfsmenge für die Hauptversuche geben. Dazu wurden zunächst verschiedene Substrate mit unterschiedlichen Kalkmengen vermischt und Temperatur- und pH-Wert Profile erstellt. Als Maßstab für die Festlegung der Kalkmengen für die Hauptversuche wurde das deutliche Überschreiten der 50°C-Marke bestimmt, da bei dieser Temperatur mit einer Reduktion (fast) aller ausgewählten Indikatororganismen, insbesondere von Askarideneiern, gerechnet werden konnte.

Entwässerter Klärschlamm wurde aufgrund der Vielzahl der vorliegenden Erfahrungen als erstes in den unterschiedlichen Mischeraggregaten eingesetzt. Die verwendeten Klärschlämme wiesen dabei TS-Gehalte zwischen 18 - 22% auf, wobei sich der eingesetzte Klärschlamm mit einem TS-Gehalt von 18% teilweise als zu tyxothrop herausstellte um in den Mischern verarbeitet werden zu können (s. Kap. 4.1.2.2).

Die festgestellte unproblematische homogene Einmischung von Branntkalk in Klärschlamm wurde aufgrund von Praxiserfahrungen und Literaturberichten erwartet. Allerdings zeigte sich, dass durch den höheren Mischungsgrad im halbtechnischen Maßstab (Tab. 69) die Temperatur einen um ca. 10°C höheren Verlauf aufwies als in den Laborversuchen (Abb. 3). Bei der Verwendung des Substrats Gärrückstand konnten sogar Temperaturverläufe von 16°C bis 20°C über den Laborversuchen festgestellt werden (Abb.4.) Diese Ergebnisse zeigen, dass es unbedingt erforderlich ist, die aus Laborversuchen gewonnenen Erkenntnisse in einer halb- oder großtechnischen Anlage zu überprüfen, bevor Empfehlungen für den Praxisbetrieb gegeben werden können.

In dieser Arbeit wurde nun zum ersten Mal versucht, die Erkenntnisse die zur Hygienisierung von Klärschlamm mit Kalk vorlagen, auf andere anfallende Biologische Abfälle zu übertragen. Dabei stellte sich heraus, dass sich nur

Gärrückstände (25-30% TS-Gehalt) verfahrenstechnisch genauso unproblematisch verarbeiten ließen wie Klärschlamm.

Die Substrate Panseninhalt und Rindermist konnten aufgrund ihrer faserigen Konsistenz nur im Mischer 2 (Chargenmischer) mit Hilfe des integrierten Zerkleinerungsaggregates verarbeitet werden. Bei Panseninhalt (16-28% TS-Gehalt) konnte die Zerkleinerung der faserigen Strukturen in den eigentlichen Mischvorgang integriert werden, so dass homogene Mischungen mit Kalk erzielt werden konnten. Der strohige Anteil des Rindermistes (32% TS) stellte sich als Problem dar und konnte vom Schneidmesser des Mixers nur ausreichend zerkleinert werden, wenn das Material sich schon im Zustand der Rotte befand (siehe Kap. 4.1.2.5).

In den Einmischversuchen mit unbehandeltem und zerkleinertem Bioabfall (grüne Tonne) zeigte sich, dass das Material zu heterogen ist um eine homogene Einmischung des Branntkalkes zu gewährleisten. Bei unterschiedlichen Versuchsansätzen konnte zwar ein pH-Wert von >12 über 24 Stunden und eine Temperatur von 30°C erreicht werden, insgesamt war aber die Temperatur und pH-Wert-Entwicklung aufgrund der inhomogenen Vermischung zu unregelmäßig (Tab. 8 und 9).

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse der Vorversuche wurde in dieser Arbeit auf den weiteren Einsatz von Bioabfall aus Haushalten und Rindermist verzichtet. In Zusammenarbeit mit einem Verfahrenstechniker sollte nun in weiteren Arbeiten überprüft werden, ob eine homogene und betriebsichere Vermischung von den von uns nicht zu verarbeiteten biologischen Abfällen mit Branntkalk überhaupt technisch möglich ist. Dies könnte zum Beispiel durch den Einsatz von weiteren Mischaggregaten oder einer aufwendigeren Vorbehandlung der Substrate erfolgen.

Die Einmischversuche haben gezeigt, dass sich nicht alle anfallende Bioabfälle zur Hygienisierung mit Branntkalk eignen, da nur durch eine homogene Vermischung gewährleistet wird, dass die Ablöschreaktion des Kalks optimal zur Desinfektion eingesetzt werden kann. JEMINEZ et al. (2001) konnten zum Beispiel bei einer manuellen Vermischung von Klärschlamm (15% TS) mit 2,64kg Branntkalk /kg TS nur eine maximale Temperatur von 37°C erreichen. In den vorliegenden Versuchen wurde dagegen mit einem Drittel der Kalkmenge (0,8-0,9kg CaO /kg TS) die gewünschte Temperaturmarke von > 50°C und ein pH-Wert von >12 erreicht (Abb.5; Tab. 10).

5.2 Ergebnisse der Hauptversuche (halbtechnischer Maßstab)

Anmerkung zu den Hauptversuchen

Die Substrate Klärschlamm und Gärrückstand wurden in den Hauptversuchen sowohl in halbtechnischen Maßstab im Chargenmischer (Mischer 2) sowie auch im kontinuierlichen Mischaggregat (Mischer 3) in den Praxisversuchen eingesetzt. Panseninhalt konnte nur im halbtechnischen Maßstab eingesetzt werden, da man aufgrund der Ergebnisse der Vorversuche davon ausgehen konnte, dass die faserige Konsistenz des Substrates ohne vorangegangene Zerkleinerung die Exzentrerschneckenpumpe des Mischaggregates 3 verstopfen würde.

Der Schwerpunkt der Analyse wurde auf die Proben aus dem Kernbereich des Kalk-Substrat-Gemisches gelegt, da der Randbereich im großtechnischen Betriebsablauf nur eine geringe Bedeutung hat. So ist der Randbereich im großtechnischen

Maßstab, je nach Volumen und Geometrie der Mischgutlagerung, nur bei ca. 1 - 5% des Gesamtvolumens anzusetzen.

Die Inaktivierungszeiten der Indikatorkeime sind in den verschiedenen Versuchsansätzen teilweise nur in Zeitspannen angegeben, da bei einigen Versuchen aus technischen Gründen keine kürzeren Zeitintervalle zur Probeentnahme gewählt werden konnten. Dennoch konnten zufrieden stellende Erkenntnisse über die Inaktivierungszeiten der Indikatororganismen gewonnen werden.

Um eine Vereinheitlichung der Ergebnisse herzustellen, wurden die Mengenangaben in verwendete Menge Branntkalk pro kg Trockensubstanz angegeben. Wo notwendig, etwa um einen Vergleich mit Literaturangaben zu ermöglichen, wurden zusätzlich die absoluten Kalkmengen pro kg Substrat aufgeführt.

Zur Beurteilung der Ergebnisse war es notwendig, einen Maßstab für den Hygienisierungserfolg festzulegen; deshalb wurde die Reduzierung der verschiedenen Indikatororganismen als Maßstab für die Entseuchung der Substrate bestimmt. Die Anforderungen zur Hygienisierung sind dabei dem Begriff der Desinfektion aus unterschiedlichen internationalen Rechtsvorgaben entnommen (vgl. Pkt. 2.7.1).

Tab. 71: Darstellung der rechtlichen Vorgaben zur Desinfektion in Reduktionsfaktoren für Bakterien, Viren und parasitären und bakteriologische Dauerstadien

| Indikatororganismen | Reduktionsfaktoren | |
|---|-------------------------------|-----------------------------|
| | CEN-Arbeitspapier | derzeitige CEN-Norm |
| Viren | 4 log ₁₀ -Stufen | --- |
| Bakterien | 4 log ₁₀ -Stufen | 5 log ₁₀ -Stufen |
| bakterielle Sporen | 3-4 log ₁₀ -Stufen | --- |
| Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier | um 99,9% | --- |

Legende: CEN: Europäisches Komitee für Normung

5.2.1 Beurteilung der Temperatur und pH-Wert-Profile

Unabhängig von den verwendeten Versuchssubstraten konnte im halbtechnischen Maßstab schon beim Einmischen von 0,2kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz ein pH-Wert von >12,5 über einen Untersuchungszeitraum von 7 Tagen gemessen werden, bzw. bei einer Kalkmenge von 0,3kg /kg TS in Panseninhalt über 3 Wochen (Abb.26).

Die verwendeten Kalkmengen 0,2-0,3kg /kg TS entsprechen je nach Trockensubstanz der jeweiligen Substrate einem Mischungsverhältnis von 25-50g Branntkalk /kg Substrat und damit der von ANDREAKIS (2000) empfohlenen Kalkmenge, um in Klärschlamm einen pH-Wert von > 12.5 zu erreichen.

BUJOCZEK et al. (2001) konnten die benötigte Kalkmenge auf 0,12kg CaO /kg TS reduzieren, indem sie den pH-Grenzwert auf >12 herabsetzten. Der erreichte pH-Wert von >12 wurde von ihnen sogar über einen Untersuchungszeitraum von 6 Monaten nachgewiesen. Die vorliegende Ergebnisse und die Erkenntnisse andere Autoren (OSTERTAG, 1987; BUJOCZEK et al. 2001) lassen damit den Schluss zu, dass bei einer Hygienisierung mit Kalk die Substrate durch den lang anhaltenden

alkalischen pH-Wert auch bei langer Lagerung im Freien gegen Rekontamination von außen geschützt sind.

Eine Temperaturerhöhung auf über 50°C wurde im Substrat Klärschlamm mit einer Kalkmenge von 0,9kg /kg TS nach 2½ Stunden erreicht (Abb. 8a). Eine Erhöhung der Kalkzudosierung auf 1,1kg CaO /kg TS verringerte die Zeitspanne bis zum Überschreiten der 50°C Marke auf 45 Minuten (Abb. 9a).

BANAS et al. (2002) und die Firma LHOIST (2002) kamen in Laborversuchen bei gleichem Trockensubstanzgehalt des Klärschlammes ebenfalls zu dem Erkenntnis, dass zum Erreichen von 50°C im Substratgemisch eine Kalkmenge von 0,2kg Kalk pro kg Klärschlamm (0,9kg CaO/kg TS) benötigt wird.

Im Substrat Panseninhalt (28% TS) wurde durch den Zusatz von 0,7kg CaO /kg TS eine Temperaturerhöhung auf >50°C innerhalb von 30 Minuten erreicht (Abb. 17). Beim Einsatz von Panseninhalt mit einem TS-Gehalt von nur 16% konnte erst nach vier Stunden mit einer Kalkmenge von 1,56kg /kg TS eine Temperatur von 50°C nachgewiesen werden (Abb. 20a). Es wurden also beim Einsatz desselben Substrats verschiedene Kalkmengen benötigt um das gleiche Ziel, eine Temperatur von über 50°C, zu erreichen. Diese Werte machen deutlich, dass die maximal erreichte Temperatur in den Versuchen und die Zeit, in der diese Werte erreicht wurden, nicht nur von den zugesetzten Kalkmengen sondern auch von der Trockensubstanz der Substrate abhängt. JEMENEZ et al. (2000) bestätigen diese Aussage: Sie schreiben, dass bei niedrigen TS-Gehalt die Kalkdosis erhöht werden muss um denselben Effekt zu erreichen.

Die unterschiedliche Zusammensetzung der Substrate kann ebenfalls einen Einfluss auf die Temperaturentwicklung im Kalksubstratgemisch haben. Bei der Reaktion des Branntkalks mit den Substraten wirken puffernde Substanzen reaktionsverzögernd: Je nach Vorbehandlung des anfallenden Bioabfalls fallen unterschiedliche Mengen an Puffersubstanzen an, die bei mäßig entwässerten Bioabfällen (18-40% TS) zu einer deutlichen Reaktionsverzögerung mit Branntkalk führen. Folgende Puffersubstanzen können dabei eine Rolle spielen: CO₂, HCO₃⁻, NH₄⁺, HPO₄²⁻ (SCHIRM et al., 2003).

Diese Reaktionsverzögerung wurde besonders beim Einsatz von Gärrückständen, beobachtet. Temperaturen über 50°C wurden in diesem Substrat (0,7kg CaO/kg TS), im Gegensatz zum Panseninhalt und Klärschlamm, erst nach einer Reaktionszeit von 3 bis 5 Stunden erreicht (Abb. 56).

5.2.2 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit Askarideneiern

In dem Arbeitsentwurf zur neuen Klärschlammrichtlinie der europäischen Kommission und in Gesetzen einiger europäischer Staaten (Österreich, Schweiz, Luxemburg) (CHABRIER, 2000) wird ein Ascaris suum-freier Klärschlamm gefordert. Zur Überprüfung der Hygienisierungsverfahren und der entstandenen Endprodukte ist eine nötige Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier um 99,9% angedacht (BÖHM, 2002). Ein anerkanntes Verfahren um die Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier innerhalb kurzer Zeit um diesen Prozentsatz zu inaktivieren besteht aus einer Temperaturerhöhung auf >50°C.

In der Literatur ist jedoch auch beschrieben, dass bei Erreichen von pH-Werten von >12,5 und einer Lagerung des Klärschlammes von mindestens 2-3 Monaten das seuchenhygienische Risiko auch ohne Temperaturerhöhung drastisch reduziert werden kann (PHILIPP & OSTERTAG, 1986; SCHUH et al., 1985; ERIKSEN et al.,

1995). Diese Aussage konnte in dieser Arbeit bestätigt werden, da bei einer Kalkdosierung von 0,45 kg CaO/ kg TS ohne Temperaturerhöhung eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern um 99,9% innerhalb von zwei Monaten in Klärschlamm erreicht werden konnte (Abb. 7).

Bei einer Verdopplung der Kalkzudosierung (0,7-0,9kg CaO/kg TS) konnte die Inaktivierungszeit der Askarideneier durch eine Temperatursteigerung im Kalksubstratgemisch auf über 50°C von zwei Monate auf bis zu 30 Minuten im Praxisbetrieb verkürzt werden.

LANG (1987) empfiehlt, aufgrund seiner Untersuchungsergebnisse zur Inaktivierung von Spulwurmeiern in Klärschlamm bei 50°C eine Stunde, bei 55°C 20 Minuten und bei 60°C 15 Minuten Inkubierung. BANAS et al. (2002) stellten in ihren Laborversuchen Inaktivierungszeiten von zwei Stunden bei 50°C, 10-75 Minuten bei 55 °C und 5 Minuten bei 60°C fest. In den vorliegenden Untersuchungen betrug die Inaktivierungszeit der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern unabhängig vom eingesetzten Substrat bei Temperaturen zwischen 50-60°C 5 bis 10 Stunden und bei Temperaturen zwischen 60-70°C 2 bis 5 Stunden. Bei Temperaturen oberhalb von 80°C konnte die Zeit auf unter einer Stunde verkürzt werden (s. Pkt. 4.2.4, Tab. 45).

Diese scheinbare Diskrepanz der Literaturangaben mit den Ergebnissen zur Inaktivierung von Spulwurmeier liegt an den unterschiedlichen Versuchansätzen: In den vorliegenden Untersuchungen wurde, um praxisnahe Ergebnisse zu erreichen, die Temperatursteigerung im Substratgemisch durch die Reaktion des Branntkalks mit dem Substrat bewirkt. Die ermittelten Inaktivierungszeiten beinhalten somit auch die Zeit in der die gewünschte Temperatur noch nicht erreicht wurde. BANAS et al., 2002 und LANG, 1987 haben ihre Ergebnisse in Laborversuchen nachgewiesen, indem die Temperatur von außen (z.B. im Wasserbad) kontrolliert wurde und somit die Eier von *Ascaris suum* von Beginn an nur der gewünschten Temperatur ausgesetzt werden konnte.

Ein Vergleich der großtechnischen Versuche, in denen die gewünschten Temperaturen direkt (2 min) nach der Vermischung erreicht wurden (s. Pkt. 5.2.9.) mit früheren Untersuchungen (LANG, 1987; BANAS et al., 2002) zeigt dagegen weitgehende Übereinstimmungen.

Die dargestellten Ergebnisse konnten mit unterschiedlichen Mischungsverhältnissen erreicht werden. In Klärschlamm wurde mit einer Kalkmenge von 0,9kg /kg TS die Entwicklungsfähigkeit der Askarideneiern innerhalb von 5-10 Stunden um 99,9% reduziert. Beim Einsatz von Panseninhalt (TS-Gehalt 28%) konnte diese Inaktivierungszeit, aufgrund der stärkeren chemischen Reaktion des Kalk mit dem Substrat und damit einer schnelleren Temperaturentwicklung, auf 0,5-2 Stunden verkürzt werden. In Panseninhalt mit einem Trockensubstanzanteil von 28% reichte auch schon eine Kalkzudosierung von 0,7kg CaO /kg TS aus, um eine ausreichende Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern erreichen zu können. Bei einem TS-Gehalt des Panseninhalts von 16% mussten dagegen 1,56kg Kalk pro kg TS-Gehalt eingesetzt werden, um eine Inaktivierungszeit von 5-10 Stunden zu erhalten. In Gärrückstand wurde sowohl mit einem TS-Gehalt des Substrat von 30% und dem Zusatz von 0,7kg Kalk /kg TS als auch mit einer Kalkmenge von 0,8kg CaO /kg TS bei einem TS-Gehalt der Gärrückstände von 25% eine ausreichende Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier innerhalb von 3-5 Stunden nachgewiesen (s. Pkt. 4.2.4, Tab. 45).

5.2.3 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit BPV

In der Literatur wird das Bovine Parvovirus (BPV) als einer der widerstandsfähigsten Indikatorkeime für den Einsatz in thermophile Prozesse angesehen. SAIER (1987) und SPILLMANN et al. (1987) haben beschrieben, dass diese Viren selbst durch eine Pasteurisierung, also einer Erhitzung auf 70°C über 30 Minuten, nicht vollständig inaktiviert werden.

In den vorliegenden Untersuchungen konnten diese Aussage bestätigt werden, denn das Bovine Parvovirus konnte erst bei Temperaturen oberhalb von 65°C innerhalb von 2-5 Stunden inaktiviert werden.

Um einen Temperaturbereich oberhalb von 65°C erreichen zu können, wurde beim Einsatz von Klärschlamm (22% TS) eine Kalkmenge von 1,1kg /kg TS und bei der Verwendung von Panseninhalt (28% TS) 0,9kg /kg TS benötigt (s. Pkt. 4.2.4, Tab. 46). Bei einem Trockensubstanzgehalt des Panseninhalts von nur 16% konnte selbst mit einer Kalkmenge von 1,56kg CaO /kg TS innerhalb von 24 Stunden keine ausreichende Reduzierung des Bovinen Parvovirus nachgewiesen werden.

Im Gegensatz zu den anderen Substraten wurde in Gärrückständen das Bovine Parvovirus schon bei einer Kalkzumischung von 0,8kg /kg TS innerhalb von fünf Stunden um 4 Zehnerpotenzen reduziert. Bei diesem Mischungsverhältnis wurden Temperaturen von 60-70°C erreicht. Im großtechnischen Maßstab (0,9kg CaO/kg TS) wurden die Bovinen Parvoviren sogar in 30-60 Minuten ausreichend reduziert (s. Pkt. 5.2.9), im Gegensatz zu Klärschlamm wo die Reduzierung bis zu 24 Stunden dauerte.

Die schnellere Inaktivierung von BPV in Gärrückständen ist vermutlich auf den hohen Ammoniumgehalt des Substrats zurückzuführen (s. Pkt. 3.5.6; 3.9.3). Ammonium, welches in seiner ionisierten Form nicht viruzid ist, erhält seine inaktivierenden Fähigkeiten auf BPV durch die Umwandlung zu Ammoniak bei einem Anstieg von pH-Wert und Temperatur. Die Wirkung des Ammoniaks scheint dabei auf einer Spaltung der DNA zu beruhen (HOFERER, 2001; PESARO et al., 1995). Diesen additiven Inaktivierungseffekt des Ammoniaks zusätzlich zur Temperatureinwirkung wurde auch schon von anderen Autoren beschrieben (KOCH 1982, BURGE et al. 1983 und CRAMER et al. 1982).

Bei der Verwendung von 1,1kg CaO /kg TS konnte im Substrat Gärrückstand schon nach zwei Stunden eine Reduzierung des Bovinen Parvovirus um 4 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden (Tab. 36).

5.2.4 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit ECBO

Eine Reduzierung des Rinder Enterovirus um 4 Zehnerpotenzen konnte unabhängig vom verwendeten Substrat mit einer geringen Temperaturerhöhung von über 25°C und einem pH- Wert von >12,5 innerhalb von zwei Stunden erreicht werden. Beim Erreichen von Temperaturen oberhalb 30°C erfolgte eine ausreichende Reduzierung innerhalb von 1-2 Stunden (s. Pkt. 4.2.4.3, Tab. 47).

In den Substraten Klärschlamm und Gärrückstand wurden Temperaturen >25°C ab der Kalkzudosierung von 0,2-0,3kg CaO /kg TS erreicht. Im Substrat Panseninhalt mit einem TS-Gehalt von 16% konnte bei Einsatz von weniger als 0,7kg CaO/kg TS keine Temperaturen oberhalb von 25°C erreicht werden. Eine ausreichende Reduzierung des Rinder Enterovirus wurde in diesen Versuchen deshalb erst nach einer Lagerung des Kalk-Substrat-Gemisches von 24 Stunden nachgewiesen.

Aus den Ergebnissen lässt sich schließen, dass ECBO, im Gegensatz zum Bovinen Parvovirus, alleine durch die pH-Werterhöhung reduziert werden kann. Der Temperaturanstieg von über 25°C verstärkt die inaktivierende Wirkung des pH-Werts von >12,5 stark (s. Pkt. 2.5.6.) und verkürzt damit die Inaktivierungszeit von 24 Stunden auf zwei Stunden. Das unterschiedliche Tenazitätverhalten des ECBO-Virus und des Bovinen Parvovirus ist in Abbildung 51 vergleichend dargestellt.

Aufgrund der hohen Thermostabilität des Bovinen Parvovirus sollte überlegt werden, ob es der Verhältnismäßigkeit entspricht, BPV zusätzlich zum ECBO-Virus als Indikatorkeim zur Überprüfung der Desinfektionsleistung von Branntkalk in Bioabfällen einzusetzen.

Bisher wurde das Bovine Parvovirus als Indikatorkeim vor allem für die Überprüfung von Hygienisierungsprozessen in hohen Temperaturbereichen (50-80°C), wie zum Beispiel in Anaerobanlagen und als Testkeim für HBV, favorisiert.

Das ECBO- Virus findet dagegen jetzt schon als Modell-Virus für viele klinisch relevante Virusgruppen in der allgemeinen Desinfektionsmittelprüfung und in den Endproduktprüfungen für biologische Abfälle Verwendung (CEN, 2002; BRAUNINGER et al., 2000; EPA, 1993, MARTENS et al., 2000; SPIELMANN et al., 1987).

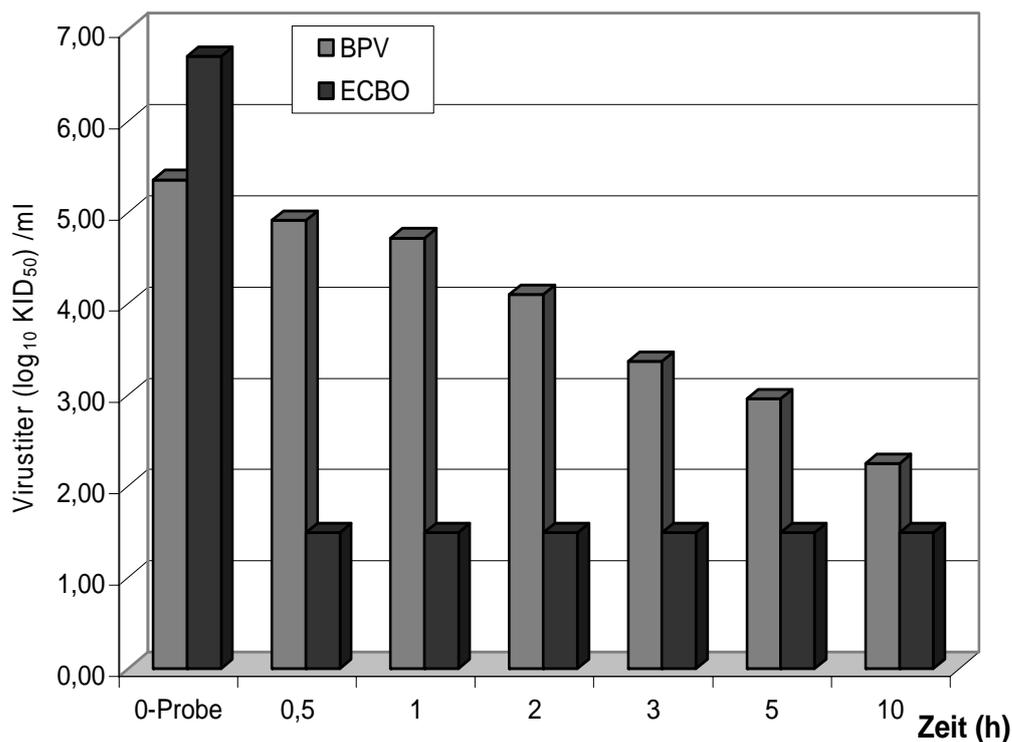


Abb. 51: Darstellung der Reduktion von ECBO und BPV durch Darstellung des Restkeimgehalts der Viren nach unterschiedlichen Zeitspannen, in Klärschlamm mit 0,9kg CaO /kg TS

Wenn man den Empfehlungen der allgemeinen Desinfektionsmittelprüfung folgt, kann man beim Einsatz von 0,3kg CaO/ kg TS und einer Lagerung von 24 Stunden mit einer ausreichenden Sicherheitsspanne von einer Hygienisierung der Bioabfälle in Bezug auf Viren ausgehen.

5.2.5 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit *S. senftenberg*

Salmonella senftenberg konnte in den Tenazitätsuntersuchungen in der halbertechnischen Anlage unabhängig von den verwendeten Substraten beim Einsatz von 0,3kg CaO /kg TS in den ersten 30 Minuten um 4 Zehnerpotenzen und innerhalb einer Stunde um 5 Zehnerpotenzen reduziert werden (s. Pkt. 4.2.4.4, Tab.48). Die verwendeten Kalkmengen führten dabei nur zu einer maximalen Temperaturerhöhung von 8°C, dass heißt, die Inaktivierung der Bakterien erfolgte ausschließlich über den pH-Wert von >12,5.

Im Substrat Panseninhalt (16% TS) entspricht die Kalkmenge 0,3kg /kg TS einem Mischungsverhältnis von 50g Kalk pro kg Substrat, im Gärrückstand (25% TS) und Klärschlamm (22% TS) einem Mischungsverhältnis von 75g CaO /kg Substrat.

Bei einer Reduzierung der Kalkzudosierung auf 0,2kg CaO /kg TS in den Substraten Klärschlamm (50g CaO /kg Klärschlamm) und Panseninhalt (25g CaO /kg Panseninhalt) erfolgte eine ausreichende Reduzierung von *Salmonella senftenberg* erst nach einer Lagerung des Kalk-Substrat-Gemisches von 24 Stunden.

Diese Ergebnisse decken sich überwiegend mit den Ergebnissen von OSTERTAG (1986), MIGNOTTE-CADIERGUES et al. (2001), JIMENEZ et al. (2000) und BUJOCZEK et al. (2001). OSTERTAG (1986) gibt eine Dosierungsempfehlung von 50-75kg CaO/m³ (entspricht 40-60g CaO /kg Klärschlamm) für die Abtötung von Salmonellen in Klärschlamm an. Dabei sollte ein pH-Wert von 12,5 erreicht und das Material 24 Stunden gelagert werden. BUJOCZEK et al. (2001) dagegen erreichten eine ausreichende Reduzierung von Salmonellen und Fäkalcoliformen Keimen in einem Tag schon bei Zusatz von 20g CaO /kg TS (0,02kg CaO /kg TS).

PFUDERER (1985) gibt für die Entseuchung von Klärschlamm von Salmonellen auch nur einen Wert von 120kg CaO/t TS (0,12kg CaO/kg TS) an. FRITSCHE (2001) dagegen konnte diesen Wert (0,1kg CaO/kg TS) nur bei solar getrocknetem Klärschlamm mit einem Trockensubstanzanteil von 60% erreichen.

Im Substrat Gärrückstand konnten auch mit niedrigeren Kalkmengen schnelle Inaktivierungserfolge erzielt werden. Beim Einsatz von 0,2kg CaO /kg TS konnte *S. senftenberg* innerhalb von nur einer Stunde um 5 Zehnerpotenzen reduziert werden. Beim Einsatz von nur 25g Kalk pro kg Substrat (0,08-1kg CaO /kg TS) erfolgte eine Inaktivierung dieser Keime innerhalb von 5-10 Stunden. Wie unter Pkt. 5.2.3. beschrieben, wird bei der Reaktion von Branntkalks mit dem Substrat Gärrückstand Ammoniak freigesetzt. Der erhöhte Ammoniakgehalt im Substrat könnte, wie im Fall der Bovinen Parvoviren, auch auf Salmonellen eine zusätzlich Inaktivierende Wirkung haben.

5.2.6 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit *E.coli*

Unabhängig von verwendetem Substrat konnte *E.coli* ebenso wie *S.senftenberg* schon bei einer Branntkalkzudosierung von 0,3kg /kg TS innerhalb von 30 bis 60 Minuten ausreichen reduziert werden. Die Inaktivierung der Bakterien erfolgte dabei alleine durch den gebildeten pH-Wert von >12,5 (s. Pkt. 4.2.4.4, Tab. 49).

LANG (1987) stellte bei gleichem pH-Niveau eine Reduzierung von *E.coli* um 5 Zehnerpotenzen erst nach drei Stunden fest; er erreichte dabei einen pH-Wert von >12,5 durch die Einmischung von Kalkhydrat (Ca(OH)₂) in Klärschlamm. Die Verwendung von gelöschtem Kalk anstatt Branntkalk bedingt wahrscheinlich die längere Inaktivierungszeit von *E.coli*. Dies lässt den Schluss zu, dass ein hoher

alkalischer pH-Wert zwar als Desinfektionsmaßnahme gegen *E.coli* ausreicht, die chemische Reaktion des Branntkalks mit dem Substrat aber zusätzlich die Reduzierung des Keims beschleunigt.

Bei einer Reduzierung der eingemischten Branntkalkmenge auf 0,2kg /kg TS in Klärschlamm und 0,08-1kg CaO /kg TS in Gärrückstand konnte innerhalb von 5 Stunden eine Inaktivierung von *Escherichia coli* nachgewiesen werden.

5.2.7 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit Fäkalstreptokokken

Fäkalstreptokokken (Enterokokken; FKS) zählen zu den umweltstabilsten der eingesetzten bakteriologischen Indikatorkeime. Sie zeichnet eine hohe Thermotoleranz (60°C über 30 Minuten) und ein Wachstum bei pH-Werten bis 9,6 aus (s. Pkt. 2.4.2). Durch das in unseren Versuchen eingestellte pH-Niveau von >12,9 (s. Pkt. 5.2.2) sollten FKS also genauso effizient wie Salmonellen und *E.coli* alleine durch den pH-Wert ohne nennenswerte Temperaturerhöhung abgetötet werden.

In den Ergebnissen zeigt sich, dass Enterokokken aber eine größere Toleranz gegen einen alkalischen pH-Wert von >12,5 besitzen als die eingesetzten Enterobacteriaceae. Beim Einsatz von 0,3kg CaO /kg TS konnten FKS um 4 Zehnerpotenzen innerhalb einer Stunde und um 5 Zehnerpotenzen erst innerhalb von 3-5 Stunden reduziert werden. Kalkdosierungen von 0,08-0,2kg /kg TS, je nach TS-Gehalt der Substrate, stellen zwar ebenfalls ein pH-Niveau von >12,5 im Kalk-Substrat-Gemisch ein, eine Inaktivierung von Fäkalstreptokokken erfolgte aber erst nach einer Lagerung der Mischung von 24-48 Stunden (Tab.50).

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchungen dieser Arbeit und die ermittelten D-Werte andere Autoren (HOFERER 2001) lassen den Schluss zu, dass die Inaktivierung des Indikatorkeims *S.senftenberg* zwar auch die ausreichende Reduzierung von *E.coli*-Isolate einschließt, aber nichts über Thermo- und Laugenstabilerer Keime, wie Enterokokken aussagt.

Fäkalstreptokokken (FKS, Enterokokken) dagegen können aufgrund ihrer Thermostabilität und der hohen Resistenz gegen alkalischen pH-Werte als Indikatorkeim für *S. senftenberg* und *E.coli* eingesetzt werden. FKS wird laut HOFERER (2001) von vielen Autoren vor allem für die Überprüfung von Biogasanlagen favorisiert.

5.2.8 Beurteilung der Tenazitätsuntersuchungen mit den Sporen von Clostridium perfringens

Die Ergebnisse der Tenazitätsuntersuchungen mit *Clostridium perfringens* Sporen sind aufgrund der Untersuchungsergebnisse nicht eindeutig auszuwerten.

Bei den Untersuchungen in Klärschlamm stellte sich heraus, dass sowohl beim Einsatz von 0,9kg CaO /kg TS wie auch bei einer Kalkmenge von 1,1kg /kg TS die Inaktivierungszeiten der Sporen von *Clostridium perfringens* zwischen drei Stunden und 7 Tagen streuen. Dabei wurde jeweils eine Reduktion um 4 Zehnerpotenzen erreicht (Tab. 51).

Im Substrat Panseninhalt konnte bei der Verwendung von 0,3kg CaO /kg TS eine Inaktivierung der Sporen in einem Zeitraum von 24 Stunden bis zu drei Wochen

festgestellt werden. Beim Einsatz von 0,9kg CaO /kg TS erfolgte eine ausreichende Reduzierung innerhalb von 24 Stunden.

In den Tenazitätsuntersuchungen im Substrat Gärrückstand und Kalkmengen von 0,2-0,7kg CaO /kg TS lagen die Ergebnisse bei Inaktivierungszeiten zwischen 5 und 24 Stunden.

In der Literatur geht man von einer benötigten Temperatur von mindestens 100°C oder einer Lagerung über 3 Monate bei pH >12 aus, um die Sporen von *Clostridium perfringens* abtöten zu können (ROLLE MAYR, 2002; HALL et al., 1992; ANDREASEN, 2001; BUJOCZEK et al., 2001). Da in keinen unseren Versuche diese Temperatur auch nur annähernd erreicht wurde und auch keine der Proben über drei Monate untersucht wurden, muss man davon ausgehen, dass sich ein großer Teil der eingesetzten *Clostridium perfringens* Kulturen nicht versport haben und so in den Versuchen nur vegetative Keime reduziert wurden.

Aufgrund dieser widersprüchlichen Ergebnisse mit *Clostridium perfringens* kann man davon ausgehen, dass die in dieser Arbeit verwendete Sporensuspension für Tenazitätsuntersuchungen nicht geeignet ist. KNIE et al. (2001) stellten in ihren Untersuchungen ebenfalls fest, dass dieser Keim aufgrund der schwankenden Untersuchungsergebnisse keine klare Aussage bezüglich seiner Inaktivierung zulässt. In weitere Untersuchungen sollten deshalb unterschiedliche Anzucht- und Nachweismethoden für *Clostridium perfringens*-Sporen verglichen und durch Erstellen von Inaktivierungskurven die Tenazität der hergestellten Sporen überprüft werden. Aufgrund der dargestellten Probleme wurde der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit auf aussagekräftigere Keime gelegt.

Clostridium perfringens-Sporen wurden in dieser Arbeit unter anderem als Indikatorkeime ausgewählt, weil sie für die Endproduktprüfung (nicht nachweisbar in 1g) für Bioabfälle auf europäischer Ebene zur Diskussion standen. Mittlerweile wird davon aber wieder Abstand genommen, da *Clostridium perfringens* ubiquitär im Boden vorkommt und seine vollständige Eliminierung eine zu hohe Anforderung an die Hygienisierung von Komposten/Gärrückständen stellen würde. Als sporenbildene Bakterien sind sie in der Lage, Temperaturen weit über 100°C zu überstehen. Um sie zu inaktivieren, müssten alle Komposte/Gärrückstände noch einem zusätzlichen Autoklavier- oder Sterilisationsgang unterzogen werden, was nicht der Sinn der biologischen Behandlung von Bioabfällen sein kann. Auch aus dem Entwurf der österreichischen Kompostverordnung wurde dieser Indikatorkeim wieder gestrichen (ANONYM, 2001 c).

5.2.9 Beurteilung der Praxisversuche

Die Versuche KS I-III wurden aufgrund des unzureichenden Versuchsaufbaus (s. Pkt. 4.3.1.1) in der Bewertung der Ergebnisse der Praxisversuche nicht berücksichtigt. Die widersprüchlichen Ergebnisse lassen darauf schließen, dass die vorliegende Außentemperatur durch die verzögerte Einbringung der Keimträger einen zu großen Einfluss auf die Inaktivierungszeiten hatte.

Im Versuch KS II konnte zwar innerhalb von einer Stunde die Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier um 98,6% gesenkt werden (Tab. 56) und das Bovine Parvovirus innerhalb von 24 Stunden um 4 Zehnerpotenzen reduziert werden (Tab. 57), aber im Versuch KS III mit derselben Versuchsdurchführung konnte im gesamten Untersuchungszeitraum keine Inaktivierung der eingebrachten Indikatororganismen erreicht werden.

Beim Einsatz von 0,9kg CaO /kg TS konnte in den Versuchen an der Praxisanlage die Entwicklungsfähigkeit der Askarideneier in Klärschlamm nach den ersten 15 Minuten und in Gärrückstand nach weiteren 15 Minuten um 99,9% gesenkt werden. *Salmonella senftenberg* wurde innerhalb von 15 Minuten und Fäkalstreptokokken nach 30 Minuten um 5 Zehnerpotenzen in den eingesetzten Substraten reduziert (Tab. 72).

Tab. 72: Darstellung der Inaktivierungszeiten von Askarideneiern, dem Bovinen Parvovirus, *S. senftenberg* und Fäkalstreptokokken in den Praxisversuchen

| Substrat | kg CaO/ kg TS | Temp. | Askarideneier | BPV | S. senft. | FKS |
|---------------------------|---------------|---------|---------------|---------|-----------|---------|
| Klärschlamm 18-22% TS | 0,9 | 53-57°C | 15 min. | 24 h | 15 min. | 30 min. |
| | 1,1 | 63-73°C | 15 min. | 24 h | 15 min. | 15 min. |
| Gärrückstand 18-20% TS | 0,9 | 62-75°C | 30 min. | 30 min. | 15 min. | 30 min. |
| | 1,1 | 71-78°C | 30 min. | 1 h | 15 min. | 15 min. |

Legende:

TS : Trockensubstanz

BPV: Bovines Parvovirus

S.senft: *Salmonella senftenberg*

FKS: Fäkalstreptokokken

Für die Reduzierung von bovinen Parvoviren spielt die Ammoniakfreisetzung eine wichtige Rolle (s. Pkt. 5.2.3). Nur wenn bei der Hygienisierung viel (>50ppm) Ammoniak freigesetzt wurde, wie im Fall der Gärrückstände, konnte eine Inaktivierung der Viren in kurzer Zeit erfolgen. Um denn additiven Inaktivierungseffekt des Ammoniak, zusätzlich zu der Temperatureinwirkung auf die Bovinen Parvoviren zu verdeutlichen, wurde die Reduktion des Virus in Klärschlamm und Gärrückstand in der Abbildung 52 vergleichend dargestellt.

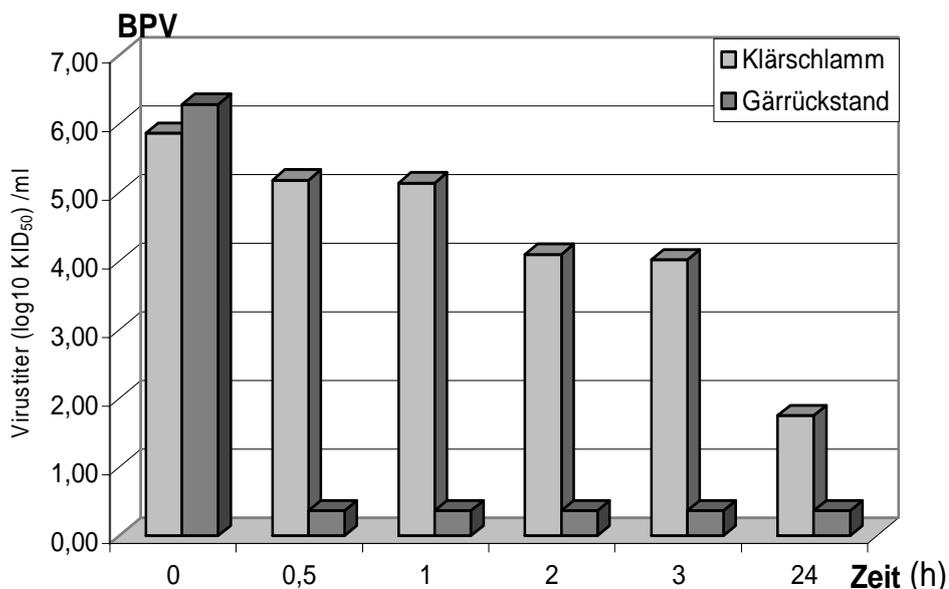


Abb. 52: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung Des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in Klärschlamm und Gärrückstand mit 0,9kg CaO /kg TS im Praxisversuch

In Gärrückstand konnte aufgrund der starken Ammoniakbildung durch den hohen Ammoniumgehalt (1,8-2,2% bezg. auf TS) des Substrats (s. Pkt. 4.3.3) innerhalb von 30 Minuten eine Reduktion des Virus um 5 Zehnerpotenzen nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu wird im Substrat Klärschlamm (Ammoniumgehalt 0,6-0,8% bezg. auf TS) eine Inaktivierungszeit von 24 Stunden benötigt.

Die Ergebnisse der Praxisversuche zeigten, dass die Zeiten für die Inaktivierung der Keime gegenüber den halbtechnischen Versuchen teilweise drastisch reduziert werden konnten. Dies hängt damit zusammen, dass im stationären Zustand der Temperaturfluss sofort wirksam werden konnte. Dagegen stellte sich im Chargenbetrieb die Temperatur erst über einen längeren Zeitraum langsam ein.

Eine alternative Hygienisierungsmöglichkeit von Bioabfällen ist die Kompostierung. Die Kosten der Kompostierung liegen bei einem TS-Gehalt von 20% zwischen 60 und 110€/t Bioabfall. Für die Hygienisierung werden beim Einsatz von Branntkalk zwischen 16-20 €/t Bioabfall benötigt. Zusätzlich sind entweder Investitionskosten oder Mietkosten für das Mischaggregat und die Kalkdosierung erforderlich. Diese Kosten sind jedoch in starkem Maße abhängig von den Jahresdurchsatzmengen (SCHIRM et al., 2003). QUICKER et al. (2002) sehen die landwirtschaftliche Klärschlammverwertung immer noch als den derzeit kostengünstigsten Weg der Entsorgung an.

5.3 Schlussfolgerung

Für eine Hygienisierung unterschiedlicher Bioabfälle mit Branntkalk konnte aufgrund der vorliegenden Ergebnisse verschiedene Schlussfolgerungen gezogen werden.

Die Einmischversuche mit den unterschiedlichen Bioabfällen und Maschinen haben gezeigt, dass sich nicht alle anfallenden Substrate zur Hygienisierung mit Branntkalk eignen. Substrate mit homogener Konsistenz und einen TS-Gehalt von 20-30% lassen sich am besten maschinell mit Branntkalk zu einer homogenen Mischung vermengen. Faserhaltige Substrate, wie Panseninhalt und Mist, sollten vor der Verarbeitung zerkleinert werden. Für die Untersuchungen stellte sich deshalb der Lödige Chargenmischer (Mischer 2) mit integriertem Messerkopf für alle verwendeten Substrate als optimal heraus.

Eine Veränderung der Trockensubstanz oder der chemischen Zusammensetzung der Substrate kann eine schwächere oder verzögerte Reaktion des Branntkalks mit dem Substrat hervorrufen. Deshalb sollte immer eine pH- und Temperaturerfassung während des Desinfektionsverfahren erfolgen.

Die Ergebnisse der Praxisversuche zeigen, dass die Zeiten für die Inaktivierung der Keime gegenüber den halbtechnischen Versuchen teilweise drastisch reduziert werden konnten. Deshalb sollten Ergebnisse die im Labor- oder halbtechnischen Maßstab gewonnen wurden immer in Praxisversuchen verifiziert werden.

Für die Überprüfung des Hygienisierungserfolges im Praxisbetrieb können *S. senftenberg* und Fäkalstreptokokken für den bakteriellen Bereich empfohlen werden. Eine ausreichende Reduzierung von *E.coli*-Isolaten wird durch die Inaktivierung von *S. senftenberg* gewährleistet. Für die Kontrolle der Desinfektionsleistung des Kalks in Bezug auf Viren stellte sich das ECBO-Virus als ideal heraus. Für Klärschlämme, insbesondere beim Zufluss von Schlachthofabwasser, wird als Hygienisierungsmaßstab zusätzlich die ausreichende Reduzierung von Askarideneiern (um 99,9%) empfohlen.

Das Bovine Parvovirus sollte aufgrund seiner hohen Thermotoleranz in Routineuntersuchungen nicht verwendet werden.

Unabhängig vom eingesetzten Substrat sollten 0,3kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz eingemischt werden, damit mit einer ausreichenden Reduzierung von *S. senftenberg* und *E.coli* innerhalb von einer Stunde ausgegangen werden kann. Fäkalstreptokokken werden bei diesem Mischungsverhältnis innerhalb 3-5 Stunden inaktiviert.

Wenn eine Lagerung des Kalk-Substrat-Gemisches von 24 Stunden gewährleistet wird, kann die Kalkmenge auf 0,2kg CaO /kg TS reduziert werden und bei einem pH-Wert von >12,5 von einer Hygienisierung in Bezug auf Viren und Enterobacteriaceen ausgegangen werden.

Die Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern konnte mit einer Kalkmenge von 0,45kg /kg TS und einer Lagerung des Substratgemisches von 2 Monaten in Klärschlamm ausreichend reduziert werden. Anlagen mit weniger Lagerkapazitäten müssen, um eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Spulwurmeier um 99,9% in kürzerer Zeit erreichen zu können, 0,9kg CaO /kg TS einsetzen.

Für die Reduzierung von bovinen Parvoviren spielt die Ammoniakfreisetzung eine wichtige Rolle (s. Pkt. 5.2.3). Nur wenn bei der Hygienisierung Ammoniak freigesetzt wurde, wie im Fall der Gärrückstände, konnte eine Inaktivierung der Viren in kurzer Zeit (30-60 Minuten) erfolgen.

Zusammenfassend kann man feststellen, dass die Untersuchungen gezeigt haben dass sich nicht alle Bioabfälle für eine maschinelle homogene Vermischung mit Branntkalk eignen und sich für die Substrate keine einheitliche Kalkzudosierung für eine Desinfektion festlegen lassen. Der Einmischungsvorgang, die Kalkmenge und die Lagerung der Bioabfälle müssen jeweils den Eigenschaften der Substrate (Trockensubstanz, Konsistenz, Ammoniumgehalt) und den gesetzlichen Vorgaben für den erlaubten Restkeimgehalt im Endprodukt angepasst werden.

6. Zusammenfassung

Zur Etablierung eines großtechnischen Verfahrens zur Hygienisierung verschiedener Bioabfälle mit Branntkalk wurden halbtechnische Versuche an zwei Versuchsanlagen mit Substrate unterschiedlicher Konsistenz und Trockensubstanz (Klärschlamm, Gärrückstand, Rindermist und Panseninhalt) durchgeführt. Der Hygienisierungseffekt wurde anhand der Reduzierung folgender ausgewählter Indikatorkeime überprüft: *S. senftenberg*, *Clostridium perfringens* Sporen, *Enterococcus faecium*, *E.coli*, Bovine Parvovirus, ECBO-Virus und Askarideneiern. Die bakteriellen Vertreter wurden als Suspension, die Viren und die parasitären Dauerstadien in Keimträgern in die Versuche eingebracht. Die Ergebnisse wurden in Hinblick auf einen betriebssicheren Einsatz unter Praxisbedingungen verifiziert.

In Vorversuchen im Labor und im halbtechnischen Maßstab wurde die Möglichkeit der homogenen Einmischung von Branntkalk in die unterschiedlichen Substrate überprüft und die Kalkbedarfsmenge zu Hygienisierung der Produkte ermittelt.

In den Untersuchungen stellte sich heraus, dass eine homogene Vermischung des Branntkalks notwendig ist, um eine gleichmäßige Temperatur- und pH-Wertentwicklung in den Substraten erreichen zu können. Bei der Verwendung von unproblematischen Substraten (homogene Konsistenz, 20-30% TS-Gehalt) sind für diesen Zweck sowohl der verwendete Chargenmischer als auch das kontinuierliche Mischaggregat geeignet. Bei der Verwendung von faserhaltigen Substraten wie Panseninhalt und Mist konnte nur im Chargenmischer mit integriertem Zerkleinerungsaggregat eine homogene Mischung erzielt werden.

Die Kalkmenge, die chemische Zusammensetzung und die Trockensubstanz der Substrate sind für die maximal erreichten Temperaturen und die Zeit in der diese erreicht werden ausschlaggebend. Beim Einsatz von Substraten mit niedriger Trockensubstanz (< 20% TS) muss die Kalkmenge erhöht werden um denselben Effekt wie bei Substraten mit höheren TS-Gehalt zu erzielen.

Mit einer Kalkmenge von 0,2kg CaO /kg TS konnte ein pH-Wert von >12,5 eingestellt werden. Nach einer Lagerung von 24 Stunden bei pH >12,5 kann von einer ausreichenden Reduzierung des ECBO-Virus, *S.senftenberg* und *E.coli* ausgegangen werden.

Bei der Verwendung von 0,3kg CaO/kg TS können *S. senftenberg* und *E.coli* innerhalb von einer Stunde und Fäkalstreptokokken nach 3-5 Stunden unabhängig vom eingesetzten Substrat um 5 Zehnerpotenzen reduziert werden. Sporen von *Clostridium perfringens* können mit diesen Kalkmengen nicht ausreichend geschädigt werden.

Eine Reduzierung des Rinder Enterovirus um 4 Zehnerpotenzen konnte unabhängig vom verwendeten Substrat bei einem pH- Wert von >12,5 und einer geringen Temperaturerhöhung auf >25°C schon innerhalb von zwei Stunden nachgewiesen werden.

Bei der Freisetzung von Ammoniak kann das Bovine Parvovirus in kurzen Zeitspannen inaktiviert werden. Im Praxisbetrieb wird beim Einsatz von 0,9kg CaO /kg TS im Substrat Gärrückstand eine ausreichende Reduzierung innerhalb von 30 Minuten erreicht. Klärschlamm sollte nach der Einmischung von 0,9kg CaO /kg TS 24 Stunden gelagert werden bevor von einer Inaktivierung des BPV ausgegangen werden kann.

Die Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern kann mit einer Kalkmenge von 0,45kg /kg TS durch Einstellen eines pH-Werts von >12,5 innerhalb von 2 Monaten in

Klärschlamm ausreichend reduziert werden. Anlagen mit wenigen Lagerkapazitäten müssen, um eine Reduzierung der Entwicklungsfähigkeit der Spulwurmeier um 99,9% in kürzerer Zeit erreichen zu können, 0,9kg CaO /kg TS einsetzen. Im Praxisversuch konnte mit dieser Kalkmenge die Entwicklungsfähigkeit der Askarideneiern nach 30 Minuten um 99,9% verringert werden.

7. Summary

A series of semi-technical experiments was conducted to establish an industrial method for the hygienisation of organic wastes using quick lime. The reduction of selected indicator organisms (*S. senftenberg*, *Clostridium perfringens* spores, *Enterococcus faecium*, *E. coli*, Bovine Parvovirus, ECBO Virus and *Ascaris suum* eggs) in organic waste of different texture and dry substance content (sewage sludge, rumen content, fermentation residuals from biogas facilities and cow manure) was measured to determine the hygienisation effect. Different bacteria ssp. were brought into the substrate as suspension; viruses and *Ascaris suum* eggs in germ carriers. The results were validated with respect to safety in an industrial environment

In preliminary laboratory and semi-technical experiments it was determined, whether the native products and the quick lime could be mixed homogeneously and also the amount of quick lime necessary to achieve a satisfactory hygienisation of the products.

The results of these experiments show that a regular development of temperature and pH can only be reached in a homogeneous mixture. If less problematic substrates are used (i.e. homogeneous consistence, 20-30% D.S.), both, the chargen mixer as well as the continuous mixing device could be used to produce a homogenous mixture. For more fibrous substrates, e.g. rumen contents and cow manure, only the chargen mixer with its integrated crushing device was able to produce a homogeneous mixture.

The amount of quick lime, the chemical composition and the total solids content of the substrates are relevant for the maximum increase in temperature and the amount of time necessary to reach the maximum temperature. When substrates with low dry substance content (< 20% D.S.) were used, the amount of quick lime had to be increased to reach the same effect as in substrates with a higher dry substance.

Using 0.2kg CaO/kg D.S., a pH of >12.5 could be reached. When stored for more than 24 h at pH >12.5, a sufficient reduction of ECBO-Virus, *Salmonella senftenberg* and *E.coli* can be assumed.

Using 0.3kg CaO/kg D.S., both *S. senftenberg* and *E.coli* were reduced by 5 powers of 10 within one hour, *Enterococcus faecium* within three to five hours, not dependent on the substrate examined. Spores of *Clostridium perfringens* could not be reduced sufficiently with this amount of quick lime.

A reduction of the ECBO-Virus by four powers of ten could be reached independently of the substrate examined within two hours at pH >12.5 and a small increase in temperature to >25 °C.

When ammonium is released, the Bovine parvovirus can be inactivated in short amounts of time. In the industrial process, a sufficient reduction can be reached in residuals from biogas facilities within 30 minutes using 0.9kg CaO/kg D.S.. Sewage sludge should be stored for 24 hours after mixing in 0.9kg CaO/kg D.S., before a sufficient reduction of BPV can be assumed.

The viability of *Ascaris suum* eggs can be reduced sufficiently within two months in sewage sludge using 0.45kg CaO/kg D.S. to create a pH >12.5. Facilities without sufficient storage capacity have to use 0.9 kg CaO/kg D.S. to reduce the viability of *Ascaris suum* eggs by 99.9% in a shorter period of time. In the industrial process, a reduction of the viability of the *Ascaris suum* eggs by 99.9% was reached within 30 minutes, when 0.9kg CaO/kg D.S. were used.

8. Literaturverzeichnis

AKRIVOS, J., MAMAIA, D., KATSARA, K. und ANDREADAKIS, A. (2000)
Agricultura utilisation of lime treated sewage sludge, Water Science Technology Vol. **42** (9), 203-210.

ANDREASEN, P. (2001)
Sludge into Biosolids: Processing, Diposal, Utilisation, Chapter 14 Chemical stabilisation. IWA Publishing, Edited by Spinosa and Vesilind.

ANDREADAKIS, A.D. (2000)
Treatment and disinfection of sludge using quicklime
Sludge Treatment and there effekt of pathogene,
URL.europa.eu.int./comm/evironment/sludge/workshoppart2.pdf

ANONYM (1992)
AbfKlärV, Klärschlammverordnung vom 15. April 1992 (BGBl. I S.912), geändert durch VO v. 6.3.1997 (BGBl. I S.446)

ANONYM (1994)
KrW-/AbfG, Gesetz zur Förderung der Kreislaufwirtschaft und Sicherung der umweltverträglichen Beseitigung von Abfällen, BGBl I 1994, 2705

ANONYM, (1998)
BioAbfV (Bioabfallverordnung), Verordnung über die Verwertung von Bioabfällen auf landwirtschaftlich, forstwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Böden vom 21. Sept. 1998 (BGBl. I S. 2955)

ANONYM, (1999)
Düngemittelverordnung, vom 4. August 1999, BGBl. S.1758, geändert am 17.12.1999, BGBl. I. S. 2451

ANONYM (2001 a)
AbfAbIV, Ablagerungsverordnung (Verordnung über die umweltverträgliche Ablagerung von Siedlungsabfällen und über biologische Abfallbehandlungsanlagen) vom 20.Februar 2001

ANONYM (2001 b)
TierKBG, Tierkörperbeseitigungsgesetz. Gesetz über die Beseitigung von Tierkörpern, Tierkörperteilen und tierischen Erzeugnissen, von 11 April 2001, BGBl I S.523

ANONYM, (2001 c)
Stellungnahme Deutschland zum Arbeitspapier „Die biologische Behandlung von Bioabfällen“, zweiter Entwurf, Stand 2001.

ANONYM (2003)
Diskussionspapier, gemeinsame Entwicklung der VDLUFA und ATV-DVW: Gütesicherung Klärschlamm, Stand 19.11.2002. ATV-DVWK Hauptgeschäftsstelle, 53773 Hennef.

- BANAS, S., DELOGE, M., MAUL, A. und SCHWARTZBROD, J. (2002)**
Sludge hygienization: Helminth eggs destruction by lime treatment. Ascaris eggs as model. UMR 7564 CNRS / UHP, Fakultät der Pharmazie, Universität Nancy.
- BAUMGÄRTNER, B. (2001)**
Klärschlamm Entsorgung in der Schweiz.
Aktuelle Tendenz der Klärschlamm Entsorgung, 76. Siedlungswasserwirtschaftliche Kolloquium am 11.10.2001, Stuttgarter Bericht zur Siedlungswasserwirtschaft Band 165, Kommissionsverlag Oldenburg Industrieverlag GMBH, München.
- BANICK, C.G., BERGS, C.G. und LINDNER, K.H. (2002)**
Verwertung von Bioabfällen und Klärschlamm, Erich Schmidt Verlag, Berlin
- BIOGAS-Forum, (2002)**
Was ist Biogas?, URL. www.biogas.ch/was_ist.htm
- BERG, G., SULLIVAN, G. und VENOSA, A. D. (1988)**
Low-temperatures Stability of Virus in Sludges. Appl. Env. Microb. **54** (3), 839-841
- BERGS, C-G. (1999)**
Bioabfälle/Bioabfallverordnung. Tagungsband zum 7. Hohenheimer Seminar: Biologische Abfallbehandlung- Erste Erfahrungen mit der Bioabfallverordnung in Deutschland, 29.-31. März 1999, Universität Hohenheim. Hrsg. Böhm, R. Verlag der dt. Veterinärmedizin Ges.. 2-9
- BOCH, J., SUPPERER, R. und ECKERT, J. (1992)**
Veterinärmedizinische Parasitologie, 4. Auflage, Verlag Paul Parey.
- BÖHM, R., MARTENS, W. und BITTIGHOFER, P.M. (1989)**
Aktuelle Bewertung der Luftkeimbelastung in Abfallbehandlungsanlagen.
Abfall-Wirtschaft – Neues aus Forschung und Praxis. BAEZA-Verlag, Witzenhausen.
- BÖHM, R. (1993)**
Verhalten ausgewählter Salmonellen in der Umwelt.
Dtsch. Tierärztl. Wschr., **100**, 275-278
- BÖHM, R. (1999)**
Begründung der Hygieneregulierung und vergleichbare Regelungen in anderen Ländern. Tagungsband zum 7. Hohenheimer Seminar: Biologische Abfallbehandlung- Erste Erfahrungen mit der Bioabfallverordnung in Deutschland, 29.-31. März 1999, Universität Hohenheim. Hrsg. Böhm, R. Verlag der dt. Veterinärmedizin Ges.
- BÖHM, R. (2001)**
Aspekte der Seuchenhygiene und Anforderung an die Verwertung von Klärschlamm, Kompost und Gülle. Landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm, Gülle und andere Dünger unter Berücksichtigung des Umwelt- und Verbraucherschutzes, BMU/BMVEL Wissenschaftliche Anhörung. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V., Darmstadt. p.p. 61-84

BÖHM, R. (2002)

Anforderungen der Hygiene an biologische Verfahren.
ATV-Handbuch, Mechanische und biologische Verfahren der Abfallbehandlung,
Kapitel 16, Hrsg. ATV-DVWK. Ernst & Sohn Verlag, Berlin

BOLANZ, K., OSTERTAG, S., PESCHEN, N., STRAUCH, D. und ZEHENDNER H.
(1988)

Klärschlammseuchung durch Rohschlammaufkalkung mit nachfolgender
mesophilen Faulung. GWf- Wasser/Abwasser **129**, Heft 10, 627-631

BÄRUNINGER, S.; FISCHER, I. und PETERS, J. (1994)

Zur Temperaturstabilität des bovinen Parvovirus. Zbl. Hyg., **196**, 20-278

BRAUNINGER, S., PETERS, J., BORCHERS, U. und KAO, M. (2000)

Further studies on thermal resistance of bovine parvovirus against moist and dry
heat. Int. J. Hyg. Environ. Health 2000 Mar.; **203** (1), 71-75

BRAUNMILLER, P., BÖHM, R., HOFERER, M., MARTENS, W. und PHILIPP, W.
(2000)

Abschlußbericht zu „Aeroben und anaeroben Behandlung von Bio- und
Küchenabfällen sowie anderen Rest- und Abfallstoffen tierischer Herkunft unter den
Aspekten der Seuchenhygiene. Inst. für Umwelt und Tierhygiene der Universität
Hohenheim, Stuttgart.

BREITENFELD P., MARTENS W., PHILIPP, W. und BÖHM, R. (1998)

Substrathygienische Untersuchungen, Teilbereich I von Human-/ Veterinärhygiene
der Bioabfallkompostierung, Hrsg. Deutsche Bundesstiftung Umwelt, Initiative zum
Umweltschutz Band 9, Zeller Verlag, Osnabrück.

BUJOCZEK, G., REINERS, R.S. and OLASZKIEWICZ, J. A. (2001)

Abiotic factors affecting inactivation of pathogens in sludge. Water Science and
Technology. Vol. **44** (10), 79-84.

Bundesverband der Deutschen Kalkindustrie e.V. (1986)

Behandlung maschinell entwässerter Klärschlämme mit Feinkalk, Darstellung
funktionstüchtiger Anlagen, Bundesverband der dt. Kalkindustrie, Köln

BURGE, W.D., CRAMER, W.N. and KAWATA, K. (1983)

Effekt of heat on virus inactivation by ammonia. Appl. Environ. Microbiol., Vol. **46** (2),
446-451.

BW-agrar (2002)

BW agrar, Landwirtschaftliche Wochenblatt 169,**49**,10

CANDINAS, T. und CHASSOT, G.M. (1997)

Klärschlamm 1984, 1989 und 1994: Abfall, Dünger und Träger von
Umweltinformationen. Bundesamt für Umweltschutz, Wald und Landwirtschaft,
Schweiz.

CARRINGTON, E.G., PIKE, D., AUTY, D. and MORRIS, R. (1989)

Destruktion of faecal bacteria, Enterovirus and ova of parasites I wastewater sludge by aerobic thermophilic and anaerobic mesophilic digestion. Water Science and Technology. URL:www.cepis.ops-oms-wastewater

CEN (Europäisches Komitee für Normung), (1997)

EN 1040 vom Februar 1997, Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika - Bakterizide Wirkung (Basistest) – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 1), Zentral Sekretariat, rue de Stassart 36, Brüssel.

CEN (Europäisches Komitee für Normung), (2001 A)

Draft WI 216024, CEN/TC 216 WG2 N133 Rev 4 vom März 2001, englische Fassung, Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika- Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der bakteriziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich- Prüfverfahren und Anforderungen. Zentral Sekretariat, rue de Stassart 36, Brüssel.

CEN (Europäisches Komitee für Normung), (2001 B)

PrEN 14347, CEN TC 216 vom Dezember 2001, Chemische Desinfektionsmittel – Sporozide Wirkung (Basistest) – Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 1), Zentral Sekretariat, rue de Stassart 36, Brüssel.

CEN (Europäisches Komitee für Normung), (2001 C)

Draft WI 216040, CEN/TC 216 WG2 – N146 vom Juni 2001, englische Fassung, Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika- Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der sporiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich- Prüfverfahren und Anforderungen. Zentral Sekretariat, rue de Stassart 36, Brüssel.

CEN (Europäisches Komitee für Normung), (2002)

Draft WI 216026, CEN/TC 216/WG2 – N147 vom Januar 2002, englische Fassung, Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika- Quantitativer Suspensionsversuch zur Bestimmung der viruziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel und Antiseptika für den Veterinärbereich- Prüfverfahren und Anforderungen. Zentral Sekretariat, rue de Stassart 36, Brüssel.

CHABRIER, J. P. (2000)

Thermal drying – microbiological quality of dried sludge
Sludge Treatment and there effekt of pathogene,
URL.europa.eu.int./comm/evironment/sludge/workshoppart2.pdf

CHARDONNENS, M. und CANDINAS, A. (2001)

Risikobeurteilung der Düngemittel und Auswirkung für die Entsorgungswirtschaft – Anmerkung aus der Schweiz. Landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm, Gülle und andere Dünger unter Berücksichtigung des Umwelt- und Verbraucherschutzes, BMU/BMVEL Wissenschaftliche Anhörung. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V., Darmstadt.p.p.255-264

CRAMER, W.N., BUEGE, W.D. and KAWATA, K. (1982)

Kinetics of virus inactivation by ammonia. Appl. Environ. Microbiol., 45 (3), 760-765

DEDIE, K. , BOCKENMÜHL, J., KÜHN, H., VOLKMER, K.-J. und WEINKE, T. (1993)

Salmonellosen mit enteritidischem Verlauf. In Bakterielle Zoonosen bei Tier und Mensch . Ferdinand Enke-Verlag, 1.Aufl. 1993, Stuttgart. p.p. 295-392

DÖLL, W. und SCHMIDT, H. (1969)

Die Keimausbeute von Clostridien auf selektiven und nicht selektiv Anaeroben-Nährböden, dargestellt an Reinkulturen von verschiedenen Clostridien- Spezies. Zentralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Org., **212**, 109-114

DUCAN, C.L. und STRONG, C.M. (1965)

Improved medium for sporulation of *Clostridium perfringens*. Appl. Microbiol. **16**, 82-96.

EMBERT, G. (1999)

Die Folgen der Bioabfallverordnung für das Düngemittelrecht. Tagungsband zum 7. Hohenheimer Seminar: Biologische Abfallbehandlung- Erste Erfahrungen mit der Bioabfallverordnung in Deutschland, 29.-31. März 1999, Universität Hohenheim. Hrsg. Böhm, R. Verlag der dt. Veterinärmedizin Ges.p.p.10-20

EPA (Environmental Protection Agency- USA), (1993)

Standarts for the Use and Disposal of Sewage Sludge; CFR Title 40 Protection of Environment, Chapter I Part 503, Washington D.C.

EPA (Environmental Protection Agency- USA), (2000)

Guide to field storage of Biosolids and other organic by -Products used in Agriculture and for soil resource management, Chapter 4-Pathogenes. July 2000 EPA/832-B-00-007; Revised Edition; Washington D.C.

ERIKSEN, L., ANDREASEN, P. und ILSØE, B. (1995)

Inactivation of *Ascaris suum* eggs during storage in lime treated sewage sludge. Wat. Res., Vol. **30** (4). 1026-1029.

Europäische Kommission, (2001)

Arbeitspapier „Die biologische Behandlung von Bioabfällen“, zweiter Entwurf, Stand 12. Februar 2001 URL.europa.eu.int/comm/environment/waste/biodegradable2.de.pdf

Europäische Kommission, (2000)

Arbeitsdokument Klärschlambewirtschaftung, 3. Fassung, Stand 27.04.2000 Anhang 1: Verfahren zur Behandlung von Klärschlamm.

FEACHEM, R.G., BRADLEY, D.S., GAVELICK, H. und MARA, D.D. (1983),

Sanitation and disease health aspects of excreta and wastewater management. World Bank Studies in Water Supply and Sanitation 3. John Wiley & Sohn, Chister

FEHRENBACH, H. (2001)

Ökobilanz für die Verwertung organischer Düngemittel, Landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm, Gülle und andere Dünger unter Berücksichtigung des Umwelt- und Verbraucherschutzes, BMU/BMVEL Wissenschaftliche Anhörung. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V., Darmstadt

FRICKE, K. (2002)

Abfallmengen und Qualität für biologische Verwertungs- und Behandlungsverfahren. ATV-Handbuch, Mechanische und biologische Verfahren der Abfallbehandlung, Hrsg. ATV-DVWK. Ernst & Sohn Verlag, Berlin

FRIEDRICH, H. (2001)

Neue Strategien der Klärschlamm Entsorgung in NRW – Ordnungsgemäße und schadlose Verwertung nach KRW-/ABFG und im Einklang mit dem Bodenschutz. Aktuelle Tendenz der Klärschlamm Entsorgung, 76. Siedlungswasserwirtschaftliche Kolloquium am 11.10.2001, Stuttgarter Bericht zur Siedlungswasserwirtschaft Band 165, Kommissionsverlag Oldenburg Industrieverlag GMBH, München

FRIEDRICH, H., FEHRENBACH, H., GIEGRICH, J. und KNAPPE, F. (2002)

Ökobilanz der verschiedenen Entsorgungswege des Klärschlammes. Müll und Abfall **34** (10),558-568

FRITSCH, M. (2001)

Hygienisierung von Klärschlamm durch solare Trocknung, Diplomarbeit des Inst. für Agrartechnik in den Tropen und Subtropen und des Inst. für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim, Garbestr.30, Stuttgart.

GERBA, C.P., PEPPER, I.L. und WHITEHEAD, L.F. (2002)

A risk assessment of emerging pathogens of concern in the land application of biosolids. Water Science Technology. Vol. **46** (19), 225-230.

GRALLE, A. (1988)

Technologie der Nachkonditionierung von Klärschlamm mit Branntkalk. Tagungsband des 2. Hohenheimer Seminars : Entseuchung von Klärschlamm – Erfahrungsberichte aus der Praxis-, 23-24.Feb.1988, Universität Hohenheim. Hrsg, Strauch, D., Verlag der Veterinärmedizinischen Ges.p.p.158-167

HAIBLE, C. (1989)

Hygienische-Mikrobiologische Untersuchungen über die Langzeitlagerung von Klärschlamm. Vet.med. Diss., Universität Gießen.

HALL, J.E. und NEWMAN, P.J. (1992)

Treatment and use of sewage sludge and liquid agricultural wastes, Review of Cost 68/681 programme, 1972-90. Commission of the European Communities. Science, Research and Development. EUR 14330 EN

HOFERER, M. (2001)

Seuchenhygienische Untersuchung zur Inaktivierung ausgewählter Bakterien und Viren bei der mesophilen und thermophilen anaeroben alkalischen Faulung von Bio- und Küchenabfällen sowie anderen Rest- und Abfallstoffen tierischer Herkunft. Vet.med. Diss., Freie Universität Berlin

HUNSINGER, B. (2002)

Untersuchungen über die Auswirkung der zukünftigen europäischen Desinfektionsmittelprüfung auf die Zulassung von Desinfektionsmitteln für die Tierseuchendesinfektion im Vergleich zu bisherigen Prüfungen nach den Richtlinien der DVG. Dissertation in Vorbereitung, Freie Universität Berlin.

ILSØE, B., Kryggard, A.C., Nansen, P. und Hendriksen, S.A. (1990)

Bovine Cysticercosis in Denmark. A study of possible causes of infection infarms with heavily infected animals. Acta. Vet Scand. **31**, 159-68

JEPSEN, S.-E. (2001)

Klärschlammverwertung in Dänemark, Landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm, Gülle und andere Dünger unter Berücksichtigung des Umwelt- und Verbraucherschutzes, BMU/BMVEL Wissenschaftliche Anhörung. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V., Darmstadt

JIMENEZ, B., BARRIOS, J.A. and MAYA, C. (2000)

Class B biosolids production from wastewater sludge with high content generated in an advanced primary treatment. Water Science and Technology Vol **42** (9), 103-110

JIMENEZ-CISNEROS, B.E., MAYA-RENDON, C. and SALGADO-VALAZQUEZ, G. (2001)

The elimination of helminth ova, faecal coliforms, Salmonella and protozoan cyst by various physicochemical processes in wastewater and sludge. Water Science and Technology Vol. **43** (12), 179-182

JIMENEZ, B., MAYA, C., SANCHEZ, E., ROMERO, A., LIRA, L. and BARRIOS, J.A. (2002)

Comparison of the quantity and quality of the microbiological content of sludge in countries with low and high content of pathogens. Water Science and Technology Vol **46** (10),17-23

JOCHEMCZYK, M. (1986)

Hygienisch-mikrobiologische Untersuchung bei der mesophilen anaeroben Stabilisierung von Panseninhalt, zugleich ein Beitrag zur chemischen Desinfektion des Faulraumablaufes. Agrar. wiss. Diss., Universität Hohenheim.

KÄRBER, G. (1931)

Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. Naumyn-Schmiedeberg's Arch. Exp. Pathol. Pharmakol., **162**,380

KARUNIAWATI, A. (2001)

Untersuchung von Umweltproben auf „viable but not culturable“ Salmonellen und enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC), Agrar. wiss. Diss., Hohenheim

KERN, H. (2002)

ATV-Handbuch Mechanische und biologische Verfahren der Abfallbehandlung.
ATV- Handbuch, Mechanische und biologische Verfahren der Abfallbehandlung,
Hrsg. ATV-DVWK. Ernst Sohn Verlag, Berlin.

KNIE, A., HAUMACHER, R., BÖHM, R., MARTENS, W. und PHILIPP, W. (1999)

Abschlußbericht zur Untersuchung zur Emission von Keimen aus Biogasanlagen des
Inst. für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim, Stuttgart.

KNIE, A., BÖHM, R., MARTENS, W. und PHILIPP, W. (2001)

Untersuchung zur Inaktivierung von Indikatororganismen in anaeroben
Kofermentationsanlagen, Teil 2A des Abschlußbericht zum Forschungsvorhaben
UTOX 98009 „Untersuchung zur Seuchen- und Phytohygiene in Anaerobanlagen
(Halb- bzw. großtechnische Anlagen)“, Inst. für Umwelt und Tierhygiene der
Universität Hohenheim, Stuttgart.

KOCH, K. (1982)

Hygienisch-virologische Untersuchungen bei der Kalkkonditionierung von
Klärschlamm. *Forum Städte-Hygiene* **33**, 117-119

KRAUS, P. (1999)

Anaerobbehandlung. Tagungsband zum 7. Hohenheimer Seminar: Biologische
Abfallbehandlung- Erste Erfahrungen mit der Bioabfallverordnung in Deutschland,
29.-31. März 1999, Universität Hohenheim. Hrsg. Böhm R., Verlag der dt.
Veterinärmedizinischen Ges. p.p.112-124

KUDVA, I. T., BLANCH, K. und HOVDE, C.J. (1998)

Analysis of *Escherichia coli* O157:H7: Survival in ovine or bovine manure and
manure slurry. *Appl Environ. Microbiol.*, **64** (9), 3166-3174.

LANG, A. (1987)

Mikrobiologische Untersuchungen über die Eignung verschiedener
Indikatororganismen zur seuchenhygienischen Beurteilung von Klärschlamm.
Agrar. wiss. Diss., Universität Hohenheim

LOLL, U. (2000)

Problemstellung, Bio- und Restabfallstoffbehandlung III, biologisch- mechanisch –
thermisch. Witzenhausen-Institut, Neues aus Forschung und Praxis, Hrsg. Wiemer,
K. und Kern, M., Fachbuchreihe Abfall-Wirtschaft des Witzenhausen-Institut

LÖTSCHER, R. und HUNGERBÜHLER, N. (1997)

Abfälle zur Verwendung als Dünger, Bestandsaufnahme für die Schweiz.
Interner Bericht des Institutes für Umweltschutz und Landwirtschaft (IUL), Hrsg. Eidg.
Forschungsanstalt für Agraökologie und Landbau, Bern.

MADIGAN, M.-T., MARTINCKO, J. und PARKER, J. (2001)

Brock Mikrobiologie. Spektrum, Akademischer Verlag, Heidelberg.

MAN, J.C. (1983)

MPN-Tables Corrected. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **17**, 301-305

MARTENS, W.; FINK, A., PHILIPP, W., WEBER, A., WINTER, D. und BÖHM, R. (1999)

Seuchenhygienische Bewertung von Anaerobieranlagen. Tagungsband zum 7. Hohenheimer Seminar: Biologische Abfallbehandlung- Erste Erfahrungen mit der Bioabfallverordnung in Deutschland, 29.-31. März 1999, Universität Hohenheim. Hrsg. Böhm R., Verlag der dt. Veterinärmedizinischen Ges..p.p.150-163

MARTENS, W. und BÖHM, R. (1999)

Public health aspect connected to the use of sludge on land.
euro-case.org/aktivities/Martens.pdf

MARTENS, W., PHILIPP, W. und BÖHM, R. (2000)

Seuchenhygienische Bewertung von Anaerobverfahren unter besonderer Berücksichtigung der landwirtschaftlichen Kofermentation. Bio- und Restabfallbehandlung IV, biologisch-mechanisch –thermisch. Witzenhausen-Institut für Abfall, Hrsg.: Wiemer K. und Kern M., Druckhaus Göttingen.

MARTIN, A., SWARBRICK, J., CAMMARATA, A. und STRICKER, H. (1987)

Physikalische Pharmazie, 3. Auflage. Wiss. Verl.-Ges., Stuttgart

METZNER, G. (2001)

BSE-Problematik aus wasserwirtschaftlicher Sicht.
Bayrisches Landesamt für Wasserwirtschaft, URL:bayern.de/lfw/, Pressemitteilung.

MIGNOTTE-CADIERGUES, B., MAUL, A., CAPIZZI, S. und SCHWARTZBROD, L. (2001)

The Effekt of liming on the microbiological quality of urban sludge. Water Science and Technology Vol. **43** (12), 195-200.

MOOS, A. und HAAS, S.(2000)

Abschlußbericht zur Inaktivierung von ausgewählten potentiellen Tierseuchenerregern in der Kompostierung und in Anaerobanlagen
Forschungsvorhaben 95 HS 059 der Universität Hohenheim, Inst. Für Umwelt und Tierhygiene und der BFAV (Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere), Tübingen.

NELSON, K.L. und DARBY, J.L. (2002)

Determination of inactivation Rate of Ascaris eggs in wastewater stabilization Pond sludge using dialysis Chambers and Sludge cores. Water Environ. Res., **74** (4), 362-369

OSTERTAG, S. und STRAUCH, D. (1986)

Hygienisch-bakteriologische Untersuchungen bei der Kalkhydratbehandlung von Rohabwasser und Primärschlamm sowie der Nachkonditionierung von Siloschlamm mit Branntkalk. GWf-Wasser/Abwasser, **127**, Heft 6, 291-297

OSTERTAG, S. (1987)

Mikrobiologische - hygienische Untersuchungen über die Anwendung von Brannt- und Löschkalk zur Klärschlammmentseuchung. Dissertation, Vedewa Schriftenreihe, Band 4. Agrar. wiss. Diss., Universität Hohenheim

PENDINGER, T. (1990)

Seuchenhygienische Untersuchungen bei der großtechnischen Optimierung einer anaerob-thermophil-mesophilen Klärschlammstabilisierung. Agrar. wiss. Diss., Universität Hohenheim.

PESARO, T., SORG, I. und METZLER, A. (1995)

In situ inactivation of animal viruses and a coliphage in nonaerated liquid and semiliquid animal wastes. Appl. Environ. Microbiol., **61**(1), 92-97.

PESCHEN, N., MATTHES, B., SCHUSTER, G. und WOLF, P. (1985)

Hinweise zur Technik der Nachbehandlung von Klärschlamm mit Feinkalk. Kommunalwirtschaft **9**, 380

PFUDERER, G. (1985)

Desinfektionswirkung von Kalk bei den verschiedenen Verfahren der Klärschlammbehandlung. Agrar. wiss. Diss., Universität Hohenheim, Stuttgarter Bericht zur Siedlungswasserwirtschaft Band 89

PHILIPP, W. und OSTERTAG, S. (1986)

Entseuchungsverfahren mit chemischer bzw. physikalischer Wirkung – Technologie-Tagungsband des 1. Hohenheimer Seminars : Entseuchung von Klärschlamm 8. April 1986, Universität Hohenheim. Hrsg. Strauch D., Verlag der dt. Veterinärmedizinischen Ges..p.p.159-191

PHILIPP, W. und BÖHM, R. (1997)

Hygieneanforderung an Verfahren der Bioabfallvergärung. Bio- und Restabfallbehandlung. Hrsg. Wiemer, K. Verlag Witzhausen, p.p.313-344

PHILIPP, W. (2001)

Interne Mitteilung, Vorlesungsskript „Umwelt und Tierhygiene“ des Instituts Umwelt und Tierhygiene der Universität Hohenheim, Stuttgart

PHILIPP, W. und BÖHM, R. (2002)

Bewertung der bakteriologischen Untersuchungsergebnisse von Inputstoffen und Substratproben vor und nach der anaeroben Behandlung in 20 verschiedenen Biogasanlagen mit unterschiedlichen technischen Einrichtungen und Verfahrensprozessen, Ergebnisse aus dem F&E- Vorhaben „Optimierung der Anaerobtechnik zur Behandlung von Bioabfällen aus Sicht der Hygiene sowie Erarbeitung eines Hygiene-Prüfsystems für Anaerob-Anlagen“ Unveröffentlicher interner Bericht des Inst. Für Umwelt- und Tierhygiene, Universität Hohenheim

PIETSCH, O. (1981)

Salmonella. Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren, Bd.III, Hrsg. Blobel H. und Schliesser Th.. Fischer Verlag, Stuttgart

PLACHY, P., JURIS, P., PLACHA, I. und Venglovky, J. (1996)

Use of hydrates lime for disinfection of sewage sludge containing Salmonella typhimurium and Ascaris suum as model pathogens, Vet Med (Praha),**41** (8), 255-259.

PLYM-FORSHELL, L. (1995) (zit. bei HOFERER, 2001)
Survival of Salmonellas and Ascaris Suum eggs in a thermophilic biogas plant. Acta vet. Scand.,36, 79-85

POHLIG-SCHMITT, U. (1987)
Seuchenhygienische Untersuchung bei der thermophilen und mesophilen anaeroben alkalischen Faulung von kommunalem Klärschlamm. Agrar. wiss. Diss., Universität Hohenheim.

PSCHYREMBEL (1994)
Klinisches Wörterbuch, Auflage 257, Verlag Walter de Gruyter Berlin- New York,.

QUICKER, P. und FAULSTICH, M. (2002)
Kosten der Klärschlamm Entsorgung. Wasser & Boden, Zeitschrift für Wasserwirtschaft, Bodenschutz und Abfallwirtschaft, **54** (6),22-25

RAPP, A. (1995)
Hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen zum Verhalten von ausgewählten Bakterien und Viren während der längerfristigen Speicherung von Flüssigmist in Güllegemeinschaftsanlagen, Agrar. wiss. Diss., Universität Hohenheim.

ROLLE, M und MAYR, A. (1993)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, Hrsg. von Anton Mayr – 6. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

ROLLE, M und MAYR, A. (2002)
Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre, Hrsg. von Anton Mayr – 7. neu bearb. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

ROMMEL, M. (2000)
Veterinärmedizinische Parasitologie (Boch & Supperer), Hrsg, Rommel M.. 5. Auflage, Parey Verlag, Berlin

RÜFFLER, H., ROSENWINKEL, K.H. und OTTE-WITT, R. (1983)
Z. Wasser-Abwasser-Forsch. **16**,220

SAIER, M. (1987)
Untersuchung zum Verhalten human- und tierpathogener thermostabiler Viren bei der Pasteurisierung von Klärschlamm, Agrar. wiss. Diss., Universität Hohenheim.

SCHAAF, H. (2001)
Behindert die landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm die Erzeugung hochwertiger Nahrungsmittel? Landwirtschaftliche Verwertung von Klärschlamm, Gülle und andere Dünger unter Berücksichtigung des Umwelt- und Verbraucherschutzes, BMU/BMVEL wissenschaftliche Anhörung. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft e.V., Darmstadt

SCHIRM, V., PHILIPP, W., BÖHM, R., WECKER, A. und WEBER, N. (2003)
Entwicklung einer sicheren Methode zur Bioabfallhygienisierung mit Kalk.
Abschlußbericht zum Forschungsvorhaben AiF Nr.1/03/ C 023 i/e des
Forschungsinstituts der Forschungsgemeinschaft Kalk und Mörtel e.V., Köln und des
Institutes für Umwelt und Tierhygiene der Universität Hohenheim, Stuttgart.

SCHLACKL, A. (2002)
Vorkommen und Tenazität von *Corynebacterium pseudotuberculosis* in
ausgewählten Probenahmen und auf Oberflächen. Diplomarbeit des Instituts für
Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim, Stuttgart.

SCHMIDT-HORNIG, G. (1999)
Vorgehen der Bundesländer zur Umsetzung der Bioabfallverordnung am Beispiel
Baden-Württemberg. Tagungsband zum 7. Hohenheimer Seminar: Biologische
Abfallbehandlung- Erste Erfahrungen mit der Bioabfallverordnung in Deutschland,
29.-31. März 1999, Universität Hohenheim. Hrsg. Böhm R., Verlag der dt.
Veterinärmedizinischen Ges.p.p.48-54

SUCKER, H. und ASCHE, H. (1991)
Pharmazeutische Technologie, 2. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart

SCHUH, R. (1984)
Untersuchungen über das Vorkommen von Parasiteneiern im Klärschlamm von
Abwasserreinigungsanlagen in Baden-Württemberg sowie über den Einfluß auf Eier
von *Ascaris suum*. Diplomarbeit am Inst. für Umwelt- und Tierhygiene der Universität
Hohenheim, Stuttgart

SCHUH, R., PHILIPP, W. und STRAUCH, D. (1985)
Influence of sewage sludge with and without lime treatment on the development of
Ascaris suum eggs. In „Inactivation of micro-organism in sewage sludge by
stabilization processes“ Hrsg, Strauch, D., Havelaar A-H. & L`Hermite, 110-113.

SCHWARZ, M. (2002)
Vergleichende seuchenhygienisch-mikrobiologische Untersuchungen an einer
horizontal und drei vertikal beschickten Pflanzenkläranlagen mit vorgeschalteter
Mehrkammerfaulgruppe bzw. einem als Grobstofffang dienenden Rottebehälter
(Rottefilter). Dissertation in Vorbereitung, Freie Universität Berlin

SELBITZ, H.-J. (1992)
Lehrbuch der veterinärmedizinischen Bakteriologie. Gustav Fischer Verlag Jena,
Jena-Stuttgart.

SINGLETON, P. (1995)
Einführung in die Bakteriologie. Quelle & Meyer, Wiesbaden

SPILLMANN, S. K., TRAUB, F., SCHWYZER, M. und WYLER, R. (1987)
Inactivation of animal viruses during sewage treatment. *Appl Environ Microbiol*, **53**(9),
2077-81.

STRAUCH, D. (1964)

Die Abwasserbeseitigung aus tierärztlicher Sicht.
Dt. Tierärztl. Wschr. **71**, 386-390

STRAUCH, D. und BERG, T. (1980)

Mikrobiologische Untersuchungen zu Hygienisierung von Klärschlamm, 6. Mitteilung
Gwf Wasser/Abwasser **121**, Heft 10

STRAUCH D. und SCHREIBER-ROTHSCHILD, R. (1980)

Mikrobiologische Untersuchungen zur Hygienisierung von Klärschlamm. GfW-
Wasser/Abwasser **121**, Heft 12, 607-611

STRAUCH, D., KÖNIG, W., PHILIPP, W. und EVERS, F.H. (1981)

Untersuchung über die Tenazität von Salmonellen und Askarideneier bei der
Ausbringung von Klärschlamm in Waldbeständen. Zbl. Bakt. Hyg., I Abt., Orig. B.
174, 461-470

STRAUCH, D. und PHILIPP, W. (1983)

Seuchenhygienische Probleme des Klärschlammes.
Zbl. Bakt. Hyg. I Abt., Orig. B. **178**, 142-154

STRAUCH, D., SCHREIBER-ROTHSCHILD, R., PFUDERER, G. & KOCH, K.(1983)

Hygienische Gesichtspunkte der Kalkbehandlung von Klärschlamm und Abwasser.
Gwf-Wasser/Abwasser, Heft 12, 3-10

STRAUCH, D (1988)

Krankheitserreger und ihre epidemiologische Bedeutung.
Tierärztliche Praxis 3 : 21-27

STRAUCH, D. (1991)

Survial of Pathogenic Micriorganims and Parasites in Excreta, Manure and Sewage
Sludge. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 10: 813-846

STRAUCH, D. (1997)

Hygieneaspekte bei der Nutzung landwirtschaftlicher Biogasanlagen zur
Kofermentation. Amtstierärztlicher Dienst und Lebensmittelkontrolle, **1+2**, 61-
69+121+132

SOLDIERER, W. und STRAUCH, D. (1991)

Kinetik der Inaktivierung von Salmonellen bei der thermischen Desinfektion von
Flüssigmist. J. Vet.Med.B.,38,561-574

SOLDIERER, W. (1991)

Experimentelle Untersuchung zum Einfluß einer thermischen Desinfektion von
Flüssigmist auf die Vermehrungsfähigkeit ausgewählter Mikroorganismen.
Vet. med. Diss., Universität Gießen.

TRAUB, F., SPILLMANN, S. K., SCHWYZER, M. & WYLER, R. (1986)

Method for determing Virus Inaktivation durind Sludge Treatment Processes.
Appl. and Environ Microbiology. Vol **52** (3), 498-503

WASMUS, A., BECK, E.G., HOMRINGHAUSEN, E., MOLL, W., PRUCHA, J. und SCHMIDT, P. (1986)

Klärschlammbehandlung mit niedrigen Kalkmengen aus seuchenhygienischen Gesichtspunkten. Form-Städte-Hygiene 37.p.p.79-82

WEBER, H., MÜLLER, G. (1996)

Biologie der Lebensmittel, Grundlage, Behr`s Verlag, Hamburg.

WEILAND, P. (2002)

Biologische Verfahren zur Bio- und Grünabfallverwertung und Restabfallbehandlung (Abschn. 6.3.2.). ATV- Handbuch, Mechanische und biologische Verfahren der Abfallbehandlung, Hrsg. ATV-DVWK.Ernst Sohn Verlag, Berlin.

WELLINGER, A., BASERGA, U., EDELMANN, W., EGGER, K. und SEILER, B. (1991)

Biogas-Handbuch. Verlag Wirtz AG Aarau

WESTPHAL, P.A. und CHRISTIANSEN, G. L. (1983)

Lime stabilisation effectiveness of two process modifications. J.Wat.Poll.Contr. Fed. **55**, 1381-1386

ZIMMERMANN, K.-H. (1992)

Stoffflüsse bei der Lagerung und Ausbringung von Stallmist. Umweltverträgliche Verwertung von Festmist, KTBL Arbeitspapier 182. KTBL-Schriften-Vertrieb im Landwirtschaftsverlag GmbH, Münster-Hiltrup

9. Anhang

9.1. Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abb.1: Darstellung des Zusammenhang zwischen Trockensubstanzgehalt und CaO – Gehalt..... | 43 |
| Abb. 2: Darstellung der Arbeitsabschnitte Vorversuche, halbtechnische Versuche und Praxisversuch | 43 |
| Abb. 3: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 0,9kg CaO/kg TS im Labormischer und im Mischer 1 (halbtechnisch) | 55 |
| Abb.4: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes während der Labor- und halbtechnischen Versuche mit 0,6kg CaO /kg TS im Gärrückstand | 57 |
| Abb. 5: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes während der Labor- und halbtechnischen Versuche mit 0,8kg CaO/kg TS im Gärrückstand | 58 |
| Abb. 6: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes während der Labor- und halbtechnischen Versuche mit 1kg CaO/kg TS im Gärrückstand | 58 |
| Abb. 7a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 0,45kg CaO /kg TS (zu Abb.7) | 62 |
| Abb. 7: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,45kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm. | 63 |
| Abb. 8a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 0,9 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.8)..... | 64 |
| Abb. 9: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 65 |
| Abb. 9a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 1,1 kg CaO /kg Trockensubstanz (zu Abb.9)..... | 66 |
| Abb. 10: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus, durch Darstellung des Restkeimgehaltes des Virus nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 67 |
| Abb. 11: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus, durch Darstellung des Restkeimgehaltes des Virus nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 68 |
| Abb.12: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Klärschlamm mit 0,2 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.16) | 70 |
| Abb.13: Darstellung der mittleren Reduktion von <i>S. senftenberg</i> und Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,9 kg CaO/kg TS) versetzten Klärschlamm | 73 |
| Abb.14: Darstellung der mittleren Reduktion von <i>E-coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,9 kg CaO/kg TS) versetzten Klärschlamm..... | 74 |

| | |
|---|----|
| Abb.15: Darstellung der mittleren Reduktion von <i>S. senftenberg</i> und Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,1 kg CaO/kg TS) versetzten Klärschlamm | 76 |
| Abb. 16: Darstellung der Reduktion von <i>E-coli</i> durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,1kg CaO /kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 76 |
| Abb.17: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,7 kg CaO /kg TS (zu Tab. 20) | 78 |
| Abb. 18: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,9 kg CaO /kg Trockensubstanz (zu Tab. 21)..... | 79 |
| Abb. 19: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,25 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (16% TS)..... | 80 |
| Abb. 19a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 1,25 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb. 19)..... | 80 |
| Abb. 20: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,56 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... | 82 |
| Abb. 20a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 1,56 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.20)..... | 82 |
| Abb.21: Darstellung der Reduzierung des Bovinem Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,25 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... | 85 |
| Abb.22: Darstellung der Reduzierung des Bovinem Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,56 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... | 86 |
| Abb. 23: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,3 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.25)..... | 87 |
| Abb. 24: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,6 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.26)..... | 88 |
| Abb.25: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 1,56 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.27) | 89 |
| Abb. 26: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes während der Versuche mit 0,3kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.29) | 92 |
| Abb. 27: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> und Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,3kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt | 92 |
| Abb. 28: Darstellung der mittleren Reduktion von <i>E-coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen mit Branntkalk (0,3 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt | 93 |
| Abb.29: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,6 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Tab.30)..... | 94 |

| | |
|--|-----|
| Abb.30: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 0,9 kg CaO/kg Trockensubstanz (28% TS) | 96 |
| Abb.31: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Panseninhalt mit 1,25 kg CaO/kg Trockensubstanz | 97 |
| Abb. 32: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,7kg CaO /kg Trockensubstanz (zu Tab.33) | 99 |
| Abb. 33: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,8 kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 100 |
| Abb. 33a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,8 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.33) | 100 |
| Abb. 34: Darstellung der mittleren Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1kg CaO /kg TS) versetztem Gärrückstand (25% TS)..... | 101 |
| Abb. 34a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 1 kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.34) | 102 |
| Abb. 35: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 1,1 kg CaO /kg Trockensubstanz (zu Tab.34) | 103 |
| Abb. 36: Darstellung der Reduktion des Bovinem Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,8 kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 104 |
| Abb.37: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 107 |
| Abb. 37a: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,2kg CaO/kg Trockensubstanz (zu Abb.37) | 107 |
| Abb. 38: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,4kg CaO /kg Trockensubstanz (Tab.37) | 108 |
| Abb. 39: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes im Gärrückstand mit 0,06kg CaO /kg Trockensubstanz..... | 110 |
| Abb. 40: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,08kg CaO /kg Trockensubstanz..... | 111 |
| Abb. 41: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,2kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz | 114 |
| Abb. 42: Darstellung der mittleren Reduktion von <i>S. senftenberg</i> und Fäkal - streptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 114 |
| Abb.43: Darstellung der mittleren Reduktion von <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand... | 115 |
| Abb. 44: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in Gärrückstand mit 0,7kg CaO /kg Trockensubstanz..... | 117 |

| | |
|---|-----|
| Abb.45: Darstellung der Kalkmenge in Abhängigkeit der Einstellung an der Pumpendrehzahl | 122 |
| Abb. 46: Darstellung der Durchsatzmenge in Abhängigkeit von der Pumpendrehzahl | 123 |
| Abb. 47: Darstellung der Abkühlung des Mischgutes in unterschiedlichen Schicht-tiefen..... | 123 |
| Abb. 48: Darstellung der unterschiedliche Kalkzugabemengen bei konstantem Klärschlammzufluss (KS)..... | 125 |
| Abb.49: Darstellung der unterschiedliche Kalkzugabemengen bei konstanter Zugabe von Gärrückstand (GR) | 131 |
| Abb. 50: Darstellung der Temperaturentwicklung von gekalkten Gärrückständen nach Austrag aus dem Mischaggregat | 132 |
| Abb. 51: Darstellung der Reduktion von ECBO und BPV durch Darstellung des Restkeimgehalts der Viren nach unterschiedlichen Zeitspannen, in Klärschlamm mit 0,9kg CaO /kg TS..... | 142 |
| Abb. 52: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung Des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in Klärschlamm und Gärrückstand mit 0,9kg CaO /kg TS im Praxisversuch | 146 |

9.2. Bildverzeichnis

| | |
|---|----|
| Bild 1: Photographie des Mixchers 2 | 47 |
| Bild 2: Schemazeichnung des Mixchers 3 | 50 |

9.3 Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tab. 1: Auswahl von Viren, die vom Menschen ausgeschieden werden und deren Vorkommen im Klärschlamm erwartet werden kann (STRAUCH, 1991; modifiziert nach BÖHM, 2002)..... | 5 |
| Tab. 2: Auswahl von Bakterien, die im Klärschlamm vorkommen (STRAUCH, 1991; modifiziert nach BÖHM, 2002)..... | 6 |
| Tab. 3: Auswahl von Parasiten, die meist in Form von Dauerstadien im Klärschlamm vorkommen können (STRAUCH, 1991) | 6 |
| Tab. 4: Bakterielle Zoonosenerreger, die in biologischen Rest- und Abfallstoffen in Europa vorkommen können (BÖHM, 1999)..... | 8 |
| Tab.5: Darstellung des Gehaltes (KBE/g) an nativen Salmonellen, Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> in unterschiedlichen Klärschlammchargen | 52 |
| Tab.6: Darstellung des Gehaltes (KBE/g) an nativen Salmonellen, Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> in unterschiedlichen Panseninhaltchargen | 52 |
| Tab.7: Darstellung des Gehaltes (KBE/g) an nativen Salmonellen, Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> in unterschiedliche Gärrückstandchargen | 52 |
| Tab.8: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit unterschiedlichen Branntkalkmengen versetztem Bioabfall..... | 53 |
| Tab. 9: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit unterschiedlichen Branntkalkmengen versetztem zerkleinerten Bioabfall | 54 |
| Tab.10: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit unterschiedlichen Branntkalkmengen im Labormischer versetztem Panseninhalt | 56 |
| Tab.11: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) im Mischer 1 versetztem Panseninhalt | 56 |
| Tab.12: Darstellung des Temperaturverlaufes und des pH-Wertes in mit unterschiedlichen Branntkalkmengen im Labormischer versetztem Gärrückstand.... | 57 |
| Tab. 13: Darstellung der TS-Gehalte im Kern- und Randbereich verschiedener Bioabfälle bei diskontinuierlichen Mischaggregaten (Mischer 2) | 59 |
| Tab.14: Darstellung der pH-Werte unterschiedlicher Bakterienbouillons nach Einwaage von Kalk-Substrat-Gemische direkt nach dem Einmischen nach zwei und 24 Stunden mit einer Nullprobe von einem pH > 12 | 60 |
| Tab. 15: Darstellung der Reduktion des ECBO-Virus, durch Darstellung de Restkeimgehaltes des Virus nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 69 |
| Tab. 16: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Restkeimgehaltes der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 70 |
| Tab. 17: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.col</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Restkeim- | |

| | |
|--|----|
| gehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,3 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 71 |
| Tab. 18: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Restkeim- gehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,9 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 72 |
| Tab. 19: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Restkeim- gehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,1 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 75 |
| Tab. 20: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,7 kg/ CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (28% TS) | 77 |
| Tab. 21: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,9 kg CaO /kg TS) versetztem Panseninhalt (28% TS) | 78 |
| Tab.22: Versuch PIV : Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,25 CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (16% TS) | 81 |
| Tab. 23: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus, durch Darstellung des Keimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,7 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (TS 28%) | 83 |
| Tab. 24: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus, durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,9 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt (TS 28%) | 84 |
| Tab.25: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,3 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... | 87 |
| Tab. 26: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,6 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... | 88 |
| Tab. 27: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,56 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... | 89 |
| Tab. 28: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Keimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... | 90 |
| Tab. 29: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,3kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... | 91 |
| Tab.30: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken und <i>E.coli</i> durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,6 kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt ... | 94 |

| | |
|---|-----|
| Tab. 31: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... | 96 |
| Tab. 32: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken und <i>E.coli</i> durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,25kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt ... | 97 |
| Tab. 33: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneier, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,7 kg CaO /kg TS) versetztem Gärrückstand (30% TS)..... | 98 |
| Tab. 34: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand (30% TS)..... | 102 |
| Tab.35: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 105 |
| Tab.36: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 106 |
| Tab.37: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,4kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 108 |
| Tab.38: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch die Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,06kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 110 |
| Tab.39: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> Sporen durch die Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,08kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 111 |
| Tab.40: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch die Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,1kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 112 |
| Tab.41: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch die Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 113 |
| Tab.42: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken und <i>E.coli</i> durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,3kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand... | 116 |
| Tab.43: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> , Fäkalstreptokokken, <i>E.coli</i> und <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts der Bakterien nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,7kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 117 |

| | |
|--|-----|
| Tab.44: Darstellung der Reduktion von <i>Clostridium perfringens</i> -Sporen durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,7kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... | 117 |
| Tab. 45: Darstellung der Inaktivierungszeit der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen..... | 118 |
| Tab. 46: Darstellung der Inaktivierungszeit des Bovinen Parvovirus in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen | 119 |
| Tab. 47: Darstellung der Inaktivierungszeit des ECBO-Virus in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen | 119 |
| Tab.48: Darstellung der Inaktivierungszeit von <i>Salmonella senftenberg</i> in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen | 120 |
| Tab.49: Darstellung der Inaktivierungszeit von <i>E.coli</i> in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen..... | 120 |
| Tab.50: Darstellung der Inaktivierungszeit von Fäkalstreptokokken in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen | 121 |
| Tab.51: Darstellung der Inaktivierungszeit von <i>Clostridium perfringens</i> Sporen in unterschiedlichen Substraten versetzt mit verschiedenen Kalkmengen | 121 |
| Tab.52: Darstellung des Temperaturverlaufes in Klärschlamm mit 0,8kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz | 126 |
| Tab. 53: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,8kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm | 126 |
| Tab.54: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (0,8 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 126 |
| Tab.55: Darstellung des Temperaturverlaufes in Klärschlamm mit 1,1kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz | 127 |
| Tab. 56: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm | 127 |
| Tab. 57: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit Branntkalk (1,1 kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 128 |
| Tab. 58: Darstellung des Temperaturverlaufes in Klärschlamm mit 0,9kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz. | 129 |
| Tab. 59: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit unterschiedlichen Mengen Branntkalk versetztem Klärschlamm..... | 129 |
| Tab. 60: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk / kg TS versetztem Klärschlamm | 129 |

| | |
|---|-----|
| Tab. 61: Darstellung der Reduktion von <i>S. senftenberg</i> durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Klärschlamm | 130 |
| Tab. 62: Darstellung der Reduktion von Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Klärschlamm | 130 |
| Tab. 63: Darstellung des Temperaturverlaufes in Klärschlamm mit 1,1kg CaO/ kg Trockensubstanz. | 131 |
| Tab.64: Darstellung des Temperaturverlaufes in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk pro kg Trockensubstanz versetztem Gärrückstand..... | 133 |
| Tab. 65: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern, in Prozent, nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Gärrückstand..... | 133 |
| Tab. 66: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Gärrückstand | 133 |
| Tab. 67: Darstellung der Reduktion von <i>Salmonella senftenberg</i> durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Gärrückstand..... | 134 |
| Tab. 68: Darstellung der Reduktion von Fäkalstreptokokken durch Darstellung des Restkeimgehalts nach unterschiedlichen Zeitspannen, in mit 0,9 und 1,1kg Branntkalk /kg TS versetztem Gärrückstand | 134 |
| Tab. 69: Darstellung der Berechnung des Mischungsgrades bei einem Mischbetrieb von 450 kg Klärschlamm /h und 36kg CaO/h bei 31°C | 135 |
| Tab. 70: Darstellung der Berechnung des Mischungsgrades bei einem Mischbetrieb von 450 kg Klärschlamm /h und 79kg CaO/h bei 55°C | 135 |
| Tab. 71: Darstellung der rechtlichen Vorgaben zur Desinfektion in Reduktionsfaktoren für Bakterien, Viren und parasitären und bakteriologische Dauerstadien | 138 |
| Tab. 72: Darstellung der Inaktivierungszeiten von Askarideneiern, dem Bovinen Parvovirus, <i>S. senftenberg</i> und Fäkalstreptokokken in den Praxisversuchen .. | 146 |
| Tab.73: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen | 177 |
| Tab.74: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm..... | 177 |
| Tab.75: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch der Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm | 177 |
| Tab.76: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch der Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm | 177 |

- Tab.77:** Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,25kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... 177
- Tab.78:** Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,56kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt..... 178
- Tab.79:** Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch der Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,25kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt 178
- Tab.80:** Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch der Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,56kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt 178
- Tab.81:** Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,8kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... 178
- Tab.82:** Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1kg CaO/kg TS) 178
- Tab.83:** Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand..... 179

9.4. Tabellen

Tab.73: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Kernbereich in % | | | Randbereich in % | | |
|---------|------------------|------------|-------------|------------------|------------|-------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch I | Versuch II | Versuch III |
| 0-Probe | 78 | 61 | 72 | 78 | 61 | 72 |
| 2h | 25 | 14 | 85 | 78 | 61 | 77 |
| 5h | 14 | 7 | 1 | 46 | 71 | 80 |
| 10h | 0 | 0 | 0 | 26 | 20 | 69 |
| 24h | 0 | 0 | 0 | 26 | 20 | 67 |

Tab.74: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Kernbereich in % | | | Randbereich in % | | |
|---------|------------------|------------|-------------|------------------|------------|-------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch I | Versuch II | Versuch III |
| 0-Probe | 71 | 73 | 70 | 71 | 63 | 70 |
| 2h | 0 | 0 | 3 | 1 | 3 | 3 |
| 5h | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 2 |
| 10h | 0 | 0 | 0 | 0 | --- | 0 |
| 24h | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | --- |

Tab.75: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch der Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,9kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Kernbereich KID ₅₀ /ml | | | Randbereich KID ₅₀ /ml | | |
|---------|-----------------------------------|------------|-------------|-----------------------------------|------------|-------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch I | Versuch II | Versuch III |
| 0-Probe | 3,16E+05 | 5,89E+04 | 3,16E+05 | 3,16E+05 | 5,89E+04 | 3,16E+05 |
| 30min. | 3,16E+02 | 1,72E+04 | 1,22E+05 | 3,16E+02 | 1,83E+04 | 2,30E+05 |
| 1h | 3,16E+02 | 1,43E+04 | 2,24E+05 | 3,16E+02 | 1,78E+04 | 1,40E+05 |
| 2h | 3,16E+02 | 6,26E+02 | 1,98E+04 | 3,16E+02 | 6,26E+03 | 3,16E+04 |
| 3h | --- | --- | 3,25E+03 | 1,83E+02 | 2,35E+03 | 4,34E+03 |
| 5h | <5,60E+01 | 1,83E+02 | 2,53E+03 | <5,60E+01 | 1,83E+02 | 2,53E+03 |
| 10h | <5,60E+01 | 1,83E+02 | 3,16E+02 | <5,60E+01 | --- | 3,16E+02 |

Tab.76: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch der Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,1kg CaO/kg TS) versetztem Klärschlamm

| Zeit | Kernbereich KID ₅₀ /ml | | | Randbereich KID ₅₀ /ml | | |
|---------|-----------------------------------|------------|-------------|-----------------------------------|------------|-------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch I | Versuch II | Versuch III |
| 0-Probe | 5,62E+05 | 1,39E+05 | 4,72E+06 | 5,62E+05 | 1,39E+05 | 4,72E+06 |
| 30min. | 2,24E+04 | 1,43E+05 | 1,37E+06 | 1,98E+04 | 8,04E+04 | 4,72E+06 |
| 1h | 1,89E+03 | 3,98E+03 | 1,11E+04 | 6,26E+03 | 3,52E+04 | 1,57E+05 |
| 2h | --- | 1,11E+02 | <5,60E+01 | 2,80E+03 | 5,44E+03 | 1,57E+04 |
| 3h | --- | <5,60E+01 | <5,60E+01 | 4,97E+02 | 4,97E+02 | 9,56E+02 |
| 5h | --- | <5,60E+01 | <5,60E+01 | 1,11E+02 | 1,11E+02 | 3,16E+02 |
| 10h | --- | <5,60E+01 | <5,60E+01 | <5,60E+01 | <5,60E+01 | 1,11E+02 |

Tab.77: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Askarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,25kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Kernbereich in % | | | | Randbereich in % | | | |
|---------|------------------|------------|-------------|------------|------------------|------------|-------------|------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch VI | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch IV |
| 0-Probe | 75 | 90 | 76 | 57 | 75 | 90 | 76 | 57 |
| 3h | 70 | 81 | 76 | 65 | 68 | 85 | 76 | 61 |
| 5h | 68 | 33 | 76 | 65 | 68 | 82 | 76 | 61 |
| 10h | 71 | 4 | 76 | 65 | 68 | 94 | 76 | 61 |
| 24h | 63 | 4 | 74 | 65 | 68 | 82 | 76 | 61 |

Tab.78: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Ascarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1,56kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Kernbereich in % | | | Randbereich in % | | |
|---------|------------------|------------|-------------|------------------|------------|-------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch I | Versuch II | Versuch III |
| 0-Probe | 75 | 90 | 57 | 75 | 90 | 57 |
| 1h | 70 | 81 | 57 | 75 | 82 | 61 |
| 3h | 35 | 5 | 65 | 78 | 82 | 61 |
| 5h | 3 | 1 | 5 | 75 | 7 | 61 |
| 10h | 0 | 0 | 1 | 75 | 0 | 61 |
| 24h | 0 | 0 | 1 | 70 | 0 | 60 |

Tab.79: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch der Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,25kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Kernbereich KID ₅₀ /ml | | | Randbereich KID ₅₀ /ml | | |
|---------|-----------------------------------|------------|-------------|-----------------------------------|------------|-------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch I | Versuch II | Versuch III |
| 0-Probe | 2,47E+05 | 1,78E+05 | 5,98E+05 | 2,47E+05 | 1,78E+05 | 5,89E+05 |
| 1h | 2,21E+04 | 1,11E+05 | 1,00E+05 | 4,56E+05 | 1,75E+05 | 1,00E+05 |
| 3h | 2,21E+04 | 7,57E+03 | 3,16E+04 | 4,56E+05 | 7,86E+04 | --- |
| 5h | --- | 3,98E+02 | 3,16E+04 | 3,16E+04 | 2,17E+04 | 3,16E+04 |
| 10h | 4,08E+03 | 3,62E+02 | 4,39E+03 | 1,37E+04 | 4,58E+03 | 3,16E+04 |
| 24h | 5,62E+03 | 1,77E+02 | 4,39E+03 | 7,75E+03 | 3,52E+03 | 2,24E+04 |

Tab.80: Darstellung der Reduktion des Bovinen Parvovirus durch der Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (1,56kg CaO/kg TS) versetztem Panseninhalt

| Zeit | Kernbereich KID ₅₀ /ml | | | Randbereich KID ₅₀ /ml | | |
|---------|-----------------------------------|------------|-------------|-----------------------------------|------------|-------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch I | Versuch II | Versuch III |
| 0-Probe | 2,47E+05 | 1,78E+05 | 5,98E+05 | 2,47E+05 | 1,78E+05 | 5,89E+05 |
| 1h | 1,26E+05 | 3,09E+05 | 1,26E+05 | 5,62E+04 | 1,11E+05 | 1,26E+05 |
| 3h | 5,45E+03 | 2,44E+03 | 7,31E+03 | 8,86E+03 | 5,27E+04 | 1,72E+04 |
| 5h | 1,97E+02 | 6,26E+03 | 7,31E+03 | 4,57E+03 | 3,16E+02 | 1,72E+04 |
| 10h | 1,49E+02 | 1,77E+02 | 1,77E+02 | 5,44E+02 | 6,26E+02 | 1,26E+03 |
| 24h | 1,60E+02 | 1,77E+02 | 4,82E+02 | 3,85E+02 | 8,86E+02 | 1,72E+03 |

Tab.81: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Ascarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (0,8kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Kernbereich in % | | | Randbereich in % | | |
|---------|------------------|------------|-------------|------------------|------------|-------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch III | Versuch I | Versuch II | Versuch III |
| 0-Probe | 50 | 66 | 50 | 50 | 66 | 50 |
| 2h | 50 | 64 | 0 | 50 | 60 | 1 |
| 5h | 0 | 0 | --- | 2 | 60 | 0 |
| 10h | 0 | 0 | 0 | 0 | 58 | 0 |
| 24h | --- | 0 | 0 | 0 | 2 | --- |

Tab.82: Darstellung der Entwicklungsfähigkeit von Ascarideneiern nach unterschiedlichen Zeitspannen der Inkubation in mit Branntkalk (1kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Kernbereich in % | | Randbereich in % | |
|---------|------------------|------------|------------------|------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch I | Versuch II |
| 0-Probe | 66 | 50 | 66 | 50 |
| 2h | 62 | 50 | 62 | 50 |
| 5h | 1 | 0 | 6 | 9 |
| 10h | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 24h | 0 | 0 | 0 | 0 |

Tab.83: Darstellung der Reduktion des Rinder Enterovirus durch Darstellung des Keimgehaltes nach unterschiedlichen Zeitspannen in mit Branntkalk (0,2kg CaO/kg TS) versetztem Gärrückstand

| Zeit | Kernbereich KID ₅₀ /ml | | Randbereich KID ₅₀ /ml | |
|---------|-----------------------------------|------------|-----------------------------------|------------|
| | Versuch I | Versuch II | Versuch I | Versuch II |
| 0-Probe | 3,16E+06 | 1,78E+07 | 3,16E+06 | 1,78E+07 |
| 1h | 1,66E+04 | 6,20E+01 | 2,10E+05 | 9,27E+04 |
| 3h | 3,90E+01 | 3,10E+01 | 2,10E+05 | 3,10E+01 |
| 5h | 3,10E+01 | 3,10E+01 | 3,10E+01 | 3,10E+01 |
| 8h | 3,10E+01 | 3,10E+01 | 3,10E+01 | 3,10E+01 |
| 24h | 3,10E+01 | 3,10E+01 | 3,10E+01 | 3,10E+01 |

9.5. Abkürzungen

| | |
|-------------------|---|
| Abb. | Abbildung |
| Aqua dest. | destilliertes Wasser |
| BPV | Bovines Parvovirus |
| Clost. perf. | <i>Clostridium perfringens</i> |
| CPE | cytophatischer Effekt |
| DS-Medium | Ducan und Strong Medium |
| DMEM | Dulbeccos modifiziertes Eagles Medium |
| ECBO | bovines Enterovirus (enteric cytopathogene bovine orphan) |
| <i>E.coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| FKS | FBS, Fetale Bovine Serum (= fötales Kälberserum) |
| FKS | Fäkalstreptokokken (<i>Enterococcus faecium</i>) |
| FTG | Fluidthioglykolat-Medium |
| g | Gramm |
| Hrsg. | Herausgeber |
| KBE | Koloniebildende Einheit |
| Kg | Kilogramm |
| KID ₅₀ | Dosis, die 50% der Zellkultur infiziert |
| MAK | maximale Arbeitsplatzkonzentration |
| max. | maximal |
| min. | Minuten |
| MPN | Most-probable-number |
| n.a. | nicht auswertbar |
| n.n. | nicht (mehr) nachweisbar |
| USP | Caseinpepton-Sojamehlpepton-Lösung |
| PBS | Phospat-buffered-saline |
| pH | negativ dekadischer Logarithmus der Hydroniumionenkonzentration |
| Pkt. | Punkt |
| S. senft. | <i>Salmonella senftenberg</i> |
| Tab. | Tabelle |
| TS | Trockensubstanzgehalt |

9.6. Puffer und Lösungen

Alle Standardchemikalien wurden von der Firma Merck, D-64271 Darmstadt bezogen

- **Versen-Trypsin-Lösung** (pH-Wert: 7,0)

| | |
|--|---------------|
| ⇒ NaCl | 80,00 g |
| ⇒ KHI | 2,00g |
| ⇒ KH_2PO_4 | 2,00 g |
| ⇒ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$ | 23,10 g |
| ⇒ $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ | 1,00 g |
| ⇒ $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ | 1,32 g |
| ⇒ Trypsin 1:250 ⁵³ | 12,50g |
| ⇒ Versen (Tryplex III) ⁵⁴ | 12,50 g |
| ⇒ Streptomycin Sulfat | 0,50 g |
| ⇒ Penecillin G | 0,50 g |
| ⇒ Aqua dest. | ad 1000,00 ml |
| ⇒ pH-Wert mit 1 M NaOH eingestellt | |

- **Phospat-buffered-saline (PBS)** (pH-Wert:7,5)

| | |
|---|---------------|
| ⇒ NaCl | 8,00 g |
| ⇒ KHI | 0,20 g |
| ⇒ H_2PO_4 | 0,12 g |
| ⇒ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ | 0,91 g |
| ⇒ Aqua dest. | ad 1000,00 ml |
| ⇒ pH-Wert mit 1 M NaOH eingestellt | |

- **Beef-Extrakt-Lösung** (pH-Wert: 8,5)

| |
|--|
| ⇒ 4% Fleischextrakt trocken granuliert ⁵⁵ |
| ⇒ 0,5m NaCl |
| ⇒ Einstellen auf pH 8,5 mit 0,5n NaOH |

- **Phospat/Beladungs-Puffer** (pH-Wert: 6,0)

| | |
|--|------------|
| ⇒ Kaliumdihydrogenphospat (KH_2PO_4 : 9,073g/l) | 88,9 Teile |
| ⇒ di-Natriumhydrogenphospat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$: 11,87 g/l) | 11,1 Teile |

- **Duncan und Strong Medium**

| | |
|---------------------------------------|-------|
| ⇒ Natriumthioglycolat | 1 g |
| ⇒ di-Natriumhydrogenphosphat 7-hydrat | 5 g |
| ⇒ Pepton aus Casein | 20 g |
| ⇒ Hefeextrakt | 2 g |
| ⇒ lösliche Stärke | 3 g |
| ⇒ Laktose (Monohydrat) | 1 g |
| ⇒ L-Arginin | 2,5 g |
| ⇒ Proteose Pepton | 10 g |
| in Auqa dest | |

⁵³ Difco, D-86156 Augsburg, Art. Nr. 0152-15-9

⁵⁴ Merck, D-64271 Darmstadt, Art. Nr. 1.08418.0100

⁵⁵ Merck, D-64271 Darmstadt, Art. Nr. 1.03979.0500

Danksagung

Herrn Prof. Dr. R. Böhm möchte ich für die Überlassung des Themas, der Bereitstellung eines Arbeitsplatzes am Institut für Umwelt- und Tierhygiene der Universität Hohenheim, die guten Arbeitsbedingungen und seine stete Unterstützung danken.

Herrn Prof. Dr. Dr. habil G. Baljer mochte ich ausdrücklich für die freundliche Annahme der Arbeit und deren Vertretung am Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen danken.

Meinen besonderen Dank gilt Herrn Dr. W. Phillip für die gewährte Betreuung und fachliche Beratung.

Einen ganz besonderen Dank gilt auch der Forschungsgemeinschaft Kalk und Mörtel e.V. des Bundesverbandes der deutschen Kalkindustrie, besonders Herrn Dr. A. Wecker und Herrn N. Weber für gute fachliche Beratung und die freundliche Unterstützung bei der Planung und Durchführung der Praxisversuche.

Allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Institutes für Umwelt- und Tierhygienedanke ich für ihre Hilfsbereitschaft und das gute Arbeitsklima. Meinen besonderen Dank gilt in diesem Zusammenhang Frau P. Veit und Frau U. Hahn die mir bei den zahlreichen diagnostischen Untersuchungen im Labor tatkräftig zur Seite standen.

Ebenfalls danke ich den Mitarbeitern der Kläranlage Hammerstein für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Praxisversuche sowie allen beteiligten Firmen für die Überlassung der Substrate.

Für die Finanzierung des bearbeiteten Forschungsvorhabens gilt meinem Dank der Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen e.V. (AiF).

Meinen Mann Florian und meiner Familie möchte ich meinen ganz herzlichen Dank für ihre Unterstützung und Motivation zukommen lassen.