Bundesministerium für Umwelt,
Naturschutz und Reaktorsicherheit
WA II 4 - 30117/3
RefL.: RDir Dr. Bergs Tel.: (022899) 305 -2583
Sb.: OAR Dreyer -3209

Stand: 19.11.2007

Lesefassung

Novellierung BioAbfV; hier: Anhang 2

(noch nicht ressortabgestimmt)

Anhang 2
Anforderungen an die Behandlung und die behandelten Bioabfälle zur Gewährleistung der seuchen- und phytohygienischen Unbedenklichkeit

Inhaltsverzeichnis

1 Allgemeine Anmerkungen 3

2 Behandlung zur Hygienisierung 4

2.1 Behandlungsverfahren zur Hygienisierung 4

2.2 Anforderungen an die Behandlung zur Hygienisierung 4

2.2.1 Pasteurisierung 4

2.2.1.1 Anforderungen an die Prozessführung 5

2.2.1.2 Prozessprüfung 5

2.2.1.3 Prozessüberwachung 5

2.2.1.4 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle 6

2.2.2 Aerobe Behandlung (Kompostierung) 6

2.2.2.1 Anforderungen an die Prozessführung 6

2.2.2.2 Prozessprüfung 6

2.2.2.3 Prozessüberwachung 6

2.2.2.4 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle 7

2.2.3 Anaerobe Behandlung (thermophile Vergärung) 7

2.2.3.1 Anforderungen an die Prozessführung 7

2.2.3.2 Ermittlung der Mindestverweilzeit 7

2.2.3.3 Prozessprüfung 8

2.2.3.4 Prozessüberwachung 8

2.2.3.5 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle 9

2.2.4 Anderweitige Behandlung zur Hygienisierung 9
2.2.4.1 Anforderungen an die Prozessführung 9
2.2.4.2 Prozessprüfung 9
2.2.4.3 Prozessüberwachung 10
2.2.4.4 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle 10

3 Prüfung der seuchen- und phytohygienischen Unbedenklichkeit 10

3.1 Prozessprüfung 11
3.1.1 Allgemeine Anforderungen 11
3.1.2 Anlagen zur aeroben Behandlung (Kompostierungsanlagen) 12
3.1.2.1 Mietenkompostierung 12
3.1.2.2 Andere Kompostierungsverfahren 13
3.1.3 Anlagen zur anaeroben Behandlung (thermophile Vergärungs-/Biogas-anlagen) 14

3.2 Prozessüberwachung 14

3.3 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle 16

4 Methoden zur Prüfung der seuchen- und phytohygienischen Unbedenklichkeit 17

4.1 Traceruntersuchungen zur Ermittlung der Mindestverweilzeit bei anaeroben Behandlungsverfahren (thermophile Vergärung) 18
4.1.1 Traceruntersuchung mit Sporen von *Bacillus globigii* 18
4.1.1.1 Vorbereitung 18
4.1.1.2 Durchführung der Untersuchung 20
4.1.1.3 Nachweismethode 20
4.1.1.4 Mindestverweilzeit 21
4.1.2 Traceruntersuchung mit Lithium 21
4.1.2.1 Vorbereitung 21
4.1.2.2 Durchführung der Untersuchung 21
4.1.2.3 Nachweismethode 22
4.1.2.4 Mindestverweilzeit 22

4.2 Prüfungen der Seuchenhygiene 22
4.2.1 Prozessprüfung 22
4.2.1.1 Testorganismus und Grenzwert 22
4.2.1.2 Einlageproben für aerobe Verfahren (Kompostierung) 23
4.2.1.3 Einlageproben für anaerobe Verfahren (thermophile Vergärung) 23
4.2.1.4 Nachweismethode 24

. . .

4.2.2 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle 24

4.3 Prüfungen der Phytohygiene 25

4.3.1 Prozessprüfung 25

4.3.1.1 Testorganismen und Grenzwerte 25

4.3.1.2 Testorganismus Plasmodiophora brassicae 25

4.3.1.2.1 Herstellung der Einlageproben für aerobe Behandlungsverfahren (Kompostierung) 26

4.3.1.2.2 Herstellung der Einlageproben für anaerobe Behandlungsverfahren (thermophile Vergärung) 26

4.3.1.2.3 Nachweis der Infektiosität mittels Biotest 26

4.3.1.3 Testorganismus Tomatensamen 28

4.3.1.3.1 Herstellung der Einlageprobe 29

4.3.1.3.2 Bestimmung der Keimrate mittels Biotest 29

4.3.1.4 Testorganismus Tabakmosaikvirus bei aeroben Behandlungsverfahren (Kompostierung) 30

4.3.1.4.1 Herstellung der Einlageproben 31

4.3.1.4.2 Nachweis der Infektiosität mittels Biotest 31

4.3.2 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle 34

5 Literatur 36

Tabelle 1: Behandlung zur Hygienisierung (Nr. 2) 39

Tabelle 2: Prüfungsumfang und Methoden (Nrn. 3 und 4) 41

1 Allgemeine Anmerkungen

Bioabfälle sind einer Behandlung zur Hygienisierung zuzuführen (§ 3 Abs. 1). In diesem Anhang sind die Anforderungen an die seuchen- und phytohygienische Unbedenklichkeit der Bioabfälle i.S.d. § 3 Abs. 2 enthalten. Hierzu sind Vorgaben an die Behandlung zur Hygienisierung (Anlagen und Verfahren) und Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle beschrieben.

Werden Bioabfälle einer anderweitigen Behandlung zugeführt, die den Anforderungen an die Hygienisierung nicht entspricht (z.B. mesophile Vergärung), ist die Behandlung zur Hygienisierung der Bioabfälle nach den Vorgaben dieses Anhangs zusätzlich durchzuführen.

Werden in Anhang 1 Nr. 2 genannte Materialien zusammen mit Bioabfällen einer Behandlung zur Hygienisierung (s. Nr. 2) zugeführt, gelten die Hygienisierungsvorgaben dieses Anhangs für das gesamte behandelte Material und nicht nur für die enthaltenen Bioabfälle.

Eine zusammenfassende Darstellung der Anforderungen an die Behandlung zur Hygienisierung und Prüfung der Bioabfälle ist in den Tabellen 1 und 2 enthalten.

2 Behandlung zur Hygienisierung

Eine zusammenfassende Darstellung der Anforderungen an die Behandlung zur Hygienisierung der Bioabfälle ist in Tabelle 1 enthalten.

2.1 Behandlungsverfahren zur Hygienisierung

Die Behandlung zur Hygienisierung der Bioabfälle erfolgt durch
- Pasteurisierung (Nr. 2.2.1),
- aerobe Behandlung (Kompostierung) (Nr. 2.2.2),
- anaerobe Behandlung (thermophile Vergärung) (Nr. 2.2.3) oder
- anderweitige Hygienisierungsmaßnahme (Nr. 2.2.4).

Die Grundsätze der Betriebshygiene zur Vermeidung einer Rekontamination der hygienisierten Materialien sind in jedem Fall zu beachten.

2.2 Anforderungen an die Behandlung zur Hygienisierung

2.2.1 Pasteurisierung

Sofern Bioabfälle einer zusätzlichen anderweitigen Behandlung zugeführt werden sollen, mit der die erforderliche Hygienisierung nicht erfolgt (z.B. mesophile Vergärung), kann die Pasteurisierung vor oder nach dieser Behandlung erfolgen.

2.2.1.1 Anforderungen an die Prozessführung

Vor der Pasteurisierung sind die Bioabfälle auf eine Teilchengröße mit einer Kantenlänge (zweidimensional) von jeweils maximal 12 mm zu zerkleinern. Das Material ist bei der Erhitzung zu homogenisieren und muss einen Wassergehalt aufweisen, der einen hinreichenden Wärmeübergang zwischen und innerhalb der Teilchen gewährleistet.

Die Prozesssteuerung in Pasteurisierungsanlagen muss für die Hygienisierung der Bioabfälle so erfolgen, dass eine Temperatur von mindestens 70 °C über einen zusammenhängenden Zeitraum von mindestens 1 Stunde im gesamten Material einwirkt.

2.2.1.2 Prozessprüfung

Für Pasteurisierungsanlagen ist eine Prozessprüfung gem. Nr. 3.1 nicht erforderlich.

Pasteurisierungsanlagen sind vor der Inbetriebnahme durch die zuständige Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, technisch abzunehmen. Die zuständige Behörde stellt eine Abnahmebescheinigung aus, wenn sie festgestellt hat, dass die Pasteurisierungsanlage mit den erforderlichen Einrichtungen und Geräten, insbesondere

– Geräten zur Überwachung der Temperatur,
– Geräten zur ständigen Aufzeichnung der Messergebnisse und
– einem angemessenen Sicherheitssystem zur Vermeidung einer unzulänglichen Erhitzung

ausgestattet ist und die Anlage die Anforderungen an die Prozessführung nach Nr. 2.2.1.1 erfüllt.

2.2.1.3 Prozessüberwachung

Die Prozessüberwachung ist nach den Vorgaben der Nr. 3.2 durchzuführen.

Die Aufzeichnungen des Temperaturverlaufs müssen mindestens drei Jahre aufbewahrt und der zuständigen Behörde auf Verlangen vorgelegt werden.

2.2.1.4 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle

Die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle sind nach den Vorgaben der Nr. 3.3 und den Methoden gem. Nr. 4.2.2 (Seuchenhygiene) und Nr. 4.3.2 (Phytohygiene) durchzuführen.

2.2.2 Aerobe Behandlung (Kompostierung)

2.2.2.1 Anforderungen an die Prozessführung

Die Prozesssteuerung in Kompostierungsanlagen muss für die Hygienisierung der Bioabfälle so erfolgen, dass über einen Zeitraum von mehreren Wochen ein thermophiler Temperaturbereich und eine hohe biologische Aktivität bei günstigen Feuchte- und Nährstoffverhältnissen sowie eine optimale Struktur und Luftführung gewährleistet sind. Der Wassergehalt soll mindestens 40 % betragen und der pH-Wert um 7 liegen. Im Verlauf der Kompostierung muss eine Temperatur von mindestens 55 °C über einen möglichst zusammenhängenden Zeitraum von 2 Wochen oder von 65 °C (bei geschlossenen Anlagen 60 °C) über drei Tage im gesamten Rottematerial einwirken.

2.2.2.2 Prozessprüfung

Für Kompostierungsanlagen ist die Prozessprüfung nach den Vorgaben der Nr. 3.1.1 und der Nr. 3.1.2 durchzuführen.

Zur Verwendung von Testorganismen (Test- und Indikatorkeime) und Prüfung über deren Abtötung bzw. Inaktivierung sind die Methoden
– für die Seuchenhygiene gem. Nr. 4.2.1 (außer Nr. 4.2.1.3) und
– für die Phytohygiene gem. Nr. 4.3.1 (außer Nr. 4.3.1.2.2)
anzuwenden.

2.2.2.3 Prozessüberwachung

Die Prozessüberwachung ist nach den Vorgaben der Nr. 3.2 durchzuführen.

Die Aufzeichnungen des Temperaturverlaufs und der Umsetzungszeitpunkte müssen mindestens drei Jahre aufbewahrt und der zuständigen Behörde auf Verlangen vorgelegt werden.

2.2.2.4 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle

Die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle sind nach den Vorgaben der Nr. 3.3 und den Methoden gem. Nr. 4.2.2 (Seuchenhygiene) und Nr. 4.3.2 (Phytohygiene) durchzuführen.

2.2.3 Anaerobe Behandlung (thermophile Vergärung)

2.2.3.1 Anforderungen an die Prozessführung

Die Prozesssteuerung in Vergärungs-/Biogasanlagen muss für die Hygienisierung der Bioabfälle so erfolgen, dass über den zusammenhängenden Zeitraum der Mindestverweilzeit die Hygienisierungstemperatur (thermophiler Bereich, mindestens 50 °C) auf das gesamte Material einwirkt. Hierbei dürfen die bei der bestandenen Prozessprüfung (s. Nr. 2.2.3.3) verwendete technisch vorgegebene oder nachgewiesene Mindestverweilzeit (s. Nr. 2.2.3.2) und die verwendete Hygienisierungstemperatur nicht unterschritten werden.

2.2.3.2 Ermittlung der Mindestverweilzeit

Sofern die Mindestverweilzeit im Fermenter nicht technisch mittels einer hydraulischen Absperrung innerhalb der Beschickungs- und Entnahmeintervalle vorgegeben ist, muss sie mittels einer Traceruntersuchung nach einer Methode gem. Nr. 4.1 vor der Prozessprüfung (s. Nr. 2.2.3.3) nachgewiesen werden.

Mit der Traceruntersuchung wird diejenige Zeitspanne an der Vergärungs-/Biogasanlage ermittelt, die alle Substratteile (fest und flüssig) als kürzeste Aufenthaltszeit im Fermenter haben. Dabei wird das zu vergärende Substrat vor der Zugabe in den Fermenter mit Indikatoren (Tracer) markiert. Die ermittelte Zeitspanne bis zur letzten Probe ohne Befund vor erstmaligem Nachweis des Tracers stellt die Mindestverweilzeit des zu vergärenden Materials im Fermenter dar.

Bis zum Vorliegen der Ergebnisse der Traceruntersuchung darf bei der Anlage die vom Anlagenhersteller bzw. -planer berechnete Mindestverweildauer nicht unterschritten werden. Damit die Mindestverweildauer nicht unterschritten wird, darf nach Erreichen des Sollfüllstandes in dem für die Hygienisierung relevanten Fermenter die vom Anlagenhersteller bzw. -planer ermittelte maximale tägliche Inputmenge nicht dauerhaft überschritten werden. Liegt eine entsprechende Berechnung nicht vor, ist sie in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, zu erstellen.

2.2.3.3 Prozessprüfung

Für Vergärungs-/Biogasanlagen ist die Prozessprüfung nach den Vorgaben der Nr. 3.1.1 und der Nr. 3.1.3 durchzuführen.

Bei der Prozessprüfung ist eine im thermophilen Temperaturbereich (mindestens 50 °C) erforderliche Hygienisierungstemperatur zu verwenden. Die Prozessprüfung ist mit der technisch vorgegebenen oder nachgewiesenen Mindestverweilzeit (s. Nr. 2.2.3.2) durchzuführen.

Zur Verwendung von Testorganismen (Test- und Indikatorkeime) und Prüfung über deren Abtötung bzw. Inaktivierung sind die Methoden
- für die Seuchenhygiene gem. Nr. 4.2.1 (außer Nr. 4.2.1.2) sowie
- für die Phytohygiene gem. Nr. 4.3.1.1 (außer Testorganismus Tabakmosaikvirus), Nr. 4.3.1.2 (außer Nr. 4.3.1.2.1) und Nr. 4.3.1.3

anzuwenden.

Wird die Prozessprüfung nicht bestanden, ist sie mit einer höheren Behandlungstemperatur und/oder verlängerten Mindestverweilzeit zu wiederholen.

2.2.3.4 Prozessüberwachung

Die Prozessüberwachung ist nach den Vorgaben der Nr. 3.2 durchzuführen.

Die Aufzeichnungen des Temperaturverlaufs und der Beschickungs- und Entnahmeintervalle müssen mindestens drei Jahre aufbewahrt und der zuständigen Behörde auf Verlangen vorgelegt werden.

2.2.3.5 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle

Die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle sind nach den Vorgaben der Nr. 3.3 und den Methoden gem. Nr. 4.2.2 (Seuchenhygiene) und Nr. 4.3.2 (Phytohygiene) durchzuführen.

2.2.4 Anderweitige Behandlung zur Hygienisierung

Andere Verfahren, mit denen eine gleichwertige Hygienisierung erzielt werden kann, können durch die zuständigen Behörde zugelassen werden. Für die Zulassung des Verfahrens ist, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, die gleichwertige Wirksamkeit der Hygienisierung gemessen an den Anforderungen dieses Anhangs nachzuweisen.

2.2.4.1 Anforderungen an die Prozessführung

Die Anforderungen an die Prozessführung zur Hygienisierung der Bioabfälle sind in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, so zu bestimmen und zu beschreiben, dass ein gleichwertiges Hygienisierungsniveau erreicht wird.

2.2.4.2 Prozessprüfung

Die Anforderungen an die Prozessprüfung sind in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, so zu bestimmen und zu beschreiben, dass ein gleichwertiges Hygienisierungsniveau unter Berücksichtigung der Vorgaben der Nr. 3.1.1 sowie der Methoden gem. Nr. 4.2.1 (Seuchenhygiene) und Nr. 4.3.1 (Phytohygiene) erreicht wird.

2.2.4.3 Prozessüberwachung

Die Anforderungen an die Prozessüberwachung sind in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, so zu bestimmen und zu beschreiben, dass ein gleichwertiges Hygienisierungsniveau unter Berücksichtigung der Vorgaben der Nr. 3.2 erreicht wird.

Die verfahrenspezifischen Parameter sind zu dokumentieren, mindestens drei Jahre aufzubewahren und der zuständigen Behörde auf Verlangen vorzulegen.

2.2.4.4 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle

Die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle sind nach den Vorgaben der Nr. 3.3 und den Methoden gem. Nr. 4.2.2 (Seuchenhygiene) und Nr. 4.3.2 (Phytohygiene) durchzuführen.

3 Prüfung der seuchen- und phytohygienischen Unbedenklichkeit

Die hygienische Unbedenklichkeit der Bioabfälle wird mit Hilfe von
– Prozessprüfung (Nr. 3.1),
– Prozessüberwachung (Nr. 3.2) und
– Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle (Nr. 3.3)
festgestellt.

Die seuchen- und phytohygienischen Untersuchungen sind nach Möglichkeit gleichzeitig durchzuführen.

Die behandelten Bioabfälle sind erst dann als hygienisch unbedenklich einzustufen, wenn alle Prüfungen (s. Nrn. 3.1 bis 3.3) bestanden sind.

Eine zusammenfassende Darstellung der Anforderungen an den Prüfungsumfang der seuchen- und phytohygienischen Unbedenklichkeit der Bioabfälle ist in Tabelle 2 enthalten.

3.1 Prozessprüfung

3.1.1 Allgemeine Anforderungen

Die Prozessprüfung ist eine Prüfung der einzelnen Behandlungsanlage zur Hygienisierung, die jeweils einmalig bei Neuerrichtung der Anlage und bei wesentlicher Änderung des Verfahrens durchzuführen ist. Hiermit wird die Wirksamkeit des Hygienisierungsverfahrens ermittelt. Dazu werden mit dem Bioabfall seuchen- und phytohygienisch relevante Test- oder Indikatororganismen in die Anlage eingebracht und anhand von Untersuchungen der behandelten Materialien überprüft, ob durch die Hygienisierung die Testorganismen abgetötet bzw. inaktiviert worden sind.

Für eine anderweitige Behandlung zur Hygienisierung (Nr. 2.2.4) sind die Anforderungen an die Prozessprüfung in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, so zu bestimmen und zu beschreiben, dass ein gleichwertiges Hygienisierungsniveau unter Berücksichtigung der Vorgaben dieses Abschnitts sowie der Methoden gem. Nr. 4.2.1 (Seuchenhygiene) und Nr. 4.3.1 (Phytohygiene) erreicht wird.

Eine Prozessprüfung ist innerhalb von 12 Monaten nach Inbetriebnahme einer neu errichteten Anlage durchzuführen. Dies gilt entsprechend für bereits geprüfte Anlagen bei Einsatz neuer Verfahren oder wesentlicher technischer Änderung der Verfahren oder Prozessführung.

Für die Prozessprüfung sind die Methoden (Probenahme, -vorbereitung, Untersuchungen und einzuhaltende höchstzulässige Grenzwerte) in der Seuchenhygiene gem. Nr. 4.2.1 und in der Phytohygiene gem. Nr. 4.3.1 und nach Maßgabe der nachfolgend für die jeweilige Anlage näheren Beschreibungen (s. Nrn. 3.1.2 und 3.1.3) anzuwenden.

Die Prozessprüfung gilt als bestanden, wenn die Grenzwerte gem. Nr. 4.2.1.1 (Seuchenhygiene) und Nr. 4.3.1.1 (Phytohygiene) in den zwei aufeinander folgenden Untersuchungsgängen jeweils nach dem für die Hygienisierung relevanten Verfahrensschritt nicht überschritten werden.

Bis zum erfolgreichen Abschluss der Prozessprüfung dürfen die Materialien aus der Behandlungsanlage zur Hygienisierung mit Zustimmung der zuständigen Behörde zur

Verwertung abgegeben werden, wenn die Prozessüberwachung durchgeführt und die Vorgaben der Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle eingehalten wurden und keine Anhaltspunkte gegen die hygienische Unbedenklichkeit dieser Materialien bestehen.

3.1.2 Anlagen zur aeroben Behandlung (Kompostierungsanlagen)

Die Prozessprüfung umfasst zwei zeitlich getrennte Untersuchungsgänge, wovon einer in der Winterperiode stattzufinden hat.

Die Testorganismen werden in charakteristische Rottebereiche oder in die für die thermische Inaktivierung der Testorganismen repräsentativen Prozessabschnitte eingebracht und nach der Entnahme auf überlebende bzw. infektiöse Testorganismen geprüft.

3.1.2.1 Mietenkompostierung

Die Untersuchungen erfolgen bei jedem Untersuchungsgang an insgesamt 60 Einzelproben, wovon 24 Proben auf die Prüfung der Seuchenhygiene und 36 Proben auf die Prüfung der Phytohygiene entfallen. Die Anzahl der Einzelproben ergibt sich dabei wie folgt:

– Bei der Prüfung der Seuchenhygiene wird 1 Testorganismus (s. Nr. 4.2.1) in Doppelproben in drei verschiedenen Rottezonen (Rand-, Kern- und Basis-Bereich) sowie an vier verschiedenen Stellen der Miete eingebracht.
– Bei der Prüfung der Phytohygiene werden 3 Testorganismen (s. Nr. 4.3.1) als Einzelproben in drei verschiedenen Rottezonen (Rand-, Kern- und Basis-Bereich) sowie an vier verschiedenen Stellen der Miete eingebracht.

Die Proben am Rand dürfen mit ca. 10 cm Rottegut überdeckt werden. Die Proben bleiben bis zum Ende der Prüfung in den jeweiligen Bereichen.

Für kleine Anlagen mit einer jährlichen Kapazität von bis zu 3000 Tonnen Einsatzmaterialien ist ein um die Hälfte reduzierter Untersuchungsumfang (Halbierung der zu untersuchenden Einzelproben) zulässig. Diese Reduzierung erfolgt dadurch, dass die Testorganismen nur an zwei verschiedenen Stellen der Miete eingebracht werden.

3.1.2.2 Andere Kompostierungsverfahren

Die Untersuchungen erfolgen bei jedem Untersuchungsgang an insgesamt 60 Einzelproben, wovon 24 Proben auf die Prüfung der Seuchenhygiene (1 Testorganismus, s. Nr. 4.2.1) und 36 Proben auf die Prüfung der Phytohygiene (3 Testorganismen, s. Nr. 4.3.1) entfallen. Die Testorganismen werden in charakteristische Bereiche des Rottekörpers eingelegt oder bei dynamischen Verfahren in geeigneten Probebehältern mit dem Materialstrom durch den praxisüblichen Rotte- und Verfahrensprozess geschleust. Die eingesetzten Probenbehälter müssen eine ausreichende Perforation aufweisen, so dass die Stoffumsetzungsbedingungen innerhalb der Probenbehälter entsprechend denen des zu prüfenden Kompostierungsprozesses sind.

Bei dynamischen Verfahren ist darauf zu achten, dass alle Prüforganismen während des gesamten Einbringvorgangs zeitlich möglichst gleichmäßig zugegeben werden, so dass sie sich möglichst homogen im Rotteaggregat verteilen. Zusätzlich muss die Form der verwendeten Probenbehälter sicherstellen, dass es sich bezüglich des Verhaltens im Materialstrom und Verweilzeit entsprechend zum kompostierenden Material verhält.

Sofern die spezifische Anlagentechnik die Größe der Probenbehälter nicht begrenzt (z.B. freie Durchgänge bei Schnecken usw.), werden 12 Probenbehälter mit

– einem Testorganismus in Doppelproben zur Prüfung der Seuchenhygiene (siehe Nr. 4.2.1) und
– drei Testorganismen als Einzelproben zur Prüfung der Phytohygiene (siehe Nr. 4.3.1)

in das Rotteaggregat eingebracht (durchgeschleust). Ist die Einbringung (Durchschleusung) entsprechend großer Probenbehälter nicht möglich, müssen die Einzelproben auf eine entsprechend größere Anzahl kleinerer Probenbehälter verteilt werden.

Für kleine Anlagen mit einer jährlichen Kapazität von bis zu 3000 Tonnen Einsatzmaterialien ist ein um die Hälfte reduzierter Untersuchungsumfang (Halbierung der zu untersuchenden Einzelproben) zulässig. Diese Reduzierung erfolgt dadurch, dass statt der 12 nur 6 Probenbehälter eingebracht bzw. durchgeschleust werden.

3.1.3 Anlagen zur anaeroben Behandlung (thermophile Vergärungs-/Biogasanlagen)

Die Prozessprüfung umfasst zwei zeitlich getrennte Untersuchungsgänge mit einem Mindestabstand von 3 Monaten.

Die Untersuchungen erfolgen bei jedem Untersuchungsgang an insgesamt 24 Einzelproben, wovon 8 Proben auf die Prüfung der Seuchenhygiene und 16 Proben auf die Prüfung der Phytohygiene entfallen. Die Anzahl der Einzelproben ergibt sich dabei wie folgt:

- Bei der Prüfung der Seuchenhygiene wird 1 Testorganismus (s. Nr. 4.2.1) in Doppelproben sowie an vier verschiedenen Stellen im Fermenter (bei stehenden Fermentern in vertikaler und bei liegenden Fermentern in horizontaler Richtung) eingebracht.
- Bei der Prüfung der Phytohygiene werden 2 Testorganismen (s. Nr. 4.3.1 mit Ausnahme des Tabakmosaikvirus) in Doppelproben sowie an vier verschiedenen Stellen im Fermenter (bei stehenden Fermentern in vertikaler und bei liegenden Fermentern in horizontaler Richtung) eingebracht.

Für kleine Anlagen mit einer jährlichen Kapazität von bis zu 3000 Tonnen Einsatzmaterialien ist ein um die Hälfte reduzierter Untersuchungsumfang (Halbierung der zu untersuchenden Einzelproben) zulässig. Diese Reduzierung erfolgt dadurch, dass die Testorganismen nur an zwei verschiedenen Stellen im Fermenter eingebracht werden.

Die Testorganismen werden für die technisch vorgegebene oder nachgewiesenen Mindestverweilzeit (s. Nr. 2.2.3.2) in den Fermenter eingebracht und nach Entnahme untersucht.

Für die Durchführung der Prozessprüfung müssen für die Einlage und Entnahme von Proben geeignete Öffnungen in den Gärbehältern vorhanden sein.

3.2 Prozessüberwachung

Die Prozessüberwachung ist eine kontinuierliche Prüfung und Aufzeichnung der Temperatur während des Behandlungsverfahrens zur Hygienisierung. Hiermit wird nachge-

wiesen, ob die für die Hygienisierung erforderliche Temperatur über die notwendige Dauer während der Behandlung eingehalten wird.

Für eine anderweitige Behandlung zur Hygienisierung (Nr. 2.2.4) sind die Anforderungen an die Prozessüberwachung in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, so zu bestimmen und zu beschreiben, dass ein gleichwertiges Hygienisierungsniveau unter Berücksichtigung der Vorgaben dieses Abschnitts erreicht wird.

In Behandlungsanlagen zur Hygienisierung muss eine ständige und eingriffsfreie direkte Temperaturmessung im zu behandelnden Material und automatisierte Temperaturaufzeichnung vorgenommen werden. Die Messgeräte müssen regelmäßig, mindestens ein Mal pro Jahr, kalibriert werden. Die Kalibrierung ist zu dokumentieren; die Dokumentationen sind mindestens drei Jahre aufzubewahren und der zuständigen Behörde auf Verlangen vorzulegen.

In geschlossenen Kompostierungsanlagen kann eine ständige und eingriffsfreie Temperaturmessung und automatisierte Temperaturaufzeichnung auch im Abluftstrom der Kompostmiete erfolgen. In diesem Fall ist die Behandlungstemperatur über einen anlagenspezifischen Korrekturfaktor gegenüber der direkten Temperaturmessung im Rottegut zu ermitteln. Der anlagenspezifische Korrekturfaktor ist regelmäßig durch parallele direkte Temperaturmessungen im Rottegut zu überprüfen. Für die Temperaturmessung im Abluftstrom sind die Anforderungen in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, festzulegen.

Sofern bei offenen Kompostierungsanlagen eine ständige und eingriffsfreie Temperaturmessung und automatisierte Temperaturaufzeichnung nicht möglich ist, muss die Behandlungstemperatur in regelmäßigen Abständen, mindestens ein Mal je Arbeitstag, gemessen und dokumentiert werden.

Die Temperaturmessungen sind in repräsentativen Zonen der für die Hygienisierung relevanten Prozessabschnitte bzw. Anlageteile vorzunehmen.

Die Prozessüberwachung gilt als bestanden, wenn die für das jeweilige Verfahren vorgegebene Temperatur und Einwirkungsdauer (vgl. Nr. 2.2.1.1, 2.2.2.1, 2.2.3.1 bzw. 2.2.4.1) bei der Hygienisierung des Materials eingehalten wurde. Zeigt die Prozessüberwachung, dass die jeweiligen Anforderungen an die Prozessführung nicht eingehalten wurden, hat der Bioabfallbehandler die zuständige Behörde hierüber und über die eingeleiteten Maßnahmen unverzüglich zu informieren. Von der zuständigen Behörde sind, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, Maßnahmen zur Behebung der Mängel und zum Verbleib der unzureichend hygienisierten Bioabfälle anzuordnen.

3.3 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle

Die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle sind regelmäßige Untersuchungen der Materialien nach der Behandlung zur Hygienisierung auf Krankheitserreger, keimfähige Samen und austriebsfähige Pflanzenteile.

Die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle erfolgen nach der Hygienisierungsbehandlung (s. Nr. 2) am abgabefertigen Material.

Werden hygienisierte Bioabfälle zusammen mit in Anhang 1 Nr. 2 genannten Materialien einer nachfolgenden biologisch stabilisierenden Behandlung (z.B. mesophile Kofermentierung, Kompostierung) unterzogen, sind die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle erst nach der biologisch stabilisierenden Behandlung am abgabefertigen Material (Gärrest/Kofermentat bzw. Kompost) durchzuführen. Die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle können bereits unmittelbar nach der Hygienisierungsbehandlung am abgabefertigen Material durchgeführt werden, wenn die nachfolgende biologisch stabilisierende Behandlung der hygienisierten Bioabfällen in einem landwirtschaftlichen Betrieb zusammen mit dort angefallenen biologisch abbaubaren Materialien erfolgt und die behandelten Materialien (Gärrest/Kofermentat bzw. Kompost) auf selbst bewirtschaftete Betriebsflächen aufgebracht werden.

In Behandlungsanlagen zur Hygienisierung sind je angefangener 2000 Tonnen (Frischmasse) im Rahmen der Hygienisierung verwendeter Bioabfälle Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle durchzuführen. Die zuständige Behörde kann im Einvernehmen mit der zuständigen landwirtschaftlichen Fachbehörde bei sich nicht oder kaum verändern-

der Zusammensetzung nach Art, Beschaffenheit und gleicher Herkunft der verwendeten Bioabfälle zulassen, dass Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle erst ab einer größeren Menge als 2000 Tonnen durchgeführt werden. Bei sich erheblich verändernder Zusammensetzung nach Art, Beschaffenheit oder Herkunft der verwendeten Bioabfälle kann die zuständige Behörde anordnen, dass Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle für geringere Mengen als 2000 Tonnen durchgeführt werden. Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle sind jedoch mindestens alle drei Monate durchzuführen. Bei jeder Prüfung der hygienisierten Bioabfälle ist jeweils eine Probe in der Seuchenhygiene und in der Phytohygiene zu untersuchen.

Für die Prüfungen sind die Methoden (Probenahme, -vorbereitung, Untersuchungen und einzuhaltende höchstzulässige Grenzwerte) in der Seuchenhygiene gem. Nr. 4.2.2 und in der Phytohygiene gem. Nr. 4.3.2 anzuwenden.

Die Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle gelten als bestanden, wenn die Grenzwerte gem. Nr. 4.2.2 letzter Absatz (Seuchenhygiene) und Nr. 4.3.2 letzter Absatz (Phytohygiene) in keiner der entnommenen Proben überschritten werden.
Werden bei einer Prüfung der hygienisierten Bioabfälle die Grenzwerte nicht eingehalten, hat der Bioabfallbehandler die zuständige Behörde über das Untersuchungsergebnis und die eingeleiteten Maßnahmen unverzüglich zu informieren. Wenn die Wiederholung der Prüfung zum gleichen Ergebnis führt oder wiederholt in verschiedenen untersuchten Proben die Grenzwerte überschritten werden, sind von der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen, Maßnahmen zur Behebung der Mängel anzuordnen.

4 Methoden zur Prüfung der seuchen- und phytohygienischen Unbedenklichkeit

Eine zusammenfassende Darstellung der Anforderungen an die Methoden zur Prüfung der Bioabfälle ist in Tabelle 2 enthalten.

4.1 Traceruntersuchungen zur Ermittlung der Mindestverweilzeit bei anaeroben Behandlungsverfahren (thermophile Vergärung)

Zur Beurteilung der hygienisierenden Wirkungsweise von anaeroben Behandlungsverfahren ist die Kenntnis der Mindestverweilzeit der Abfallsuspension im Fermenter von Bedeutung. Muss die Mindestverweilzeit ermittelt werden, ist hierfür eine Traceruntersuchung durchzuführen. Bei der Traceruntersuchung wird die Abfallsuspension vor dem Eintritt in den Fermenter mit Indikatoren (Tracern) markiert und deren erstmaliges Auftreten am Auslauf erfasst.

Für die Traceruntersuchung in Anaerobanlagen zur Hygienisierung biologisch abbaubarer Abfälle sind biologische Tracer mit den Sporen von *Bacillus globigii* (s. Nr. 4.1.1) oder chemische Tracer mit Lithium (s. Nr. 4.1.2) geeignet.

4.1.1 Traceruntersuchung mit Sporen von *Bacillus globigii*

Als biologischer Tracer werden die Sporen von *Bacillus globigii* verwendet. Sporen dieses Testbakteriums kommen natürlicherweise nicht in den biologischen Substraten vor, sie sind apathogen für Mensch und Tier, überstehen die Prozesseinwirkungen in Anaerobanlagen und sind problemlos nachweisbar.

4.1.1.1 Vorbereitung

Benötigte Materialien und Reagenzien

– Trypton-Glucose-Bouillon (TGB),
  zur Herstellung der Impfkultur von *Bacillus globigii*-Sporen:
  Hefeextract: 2,5 g,
  Trypton: 5,0 g,
  Glucose: 1,0 g,
  Wasser (destilliert): 1000 ml.

– Hefeextract-Agar (MYA),
  zur Herstellung von *Bacillus globigii*-Sporen:
  Pepton aus Fleisch: 10,0 g,
  Hefeextrakt: 2,0 g,
  $MnSO_4$, H_2O: 0,04 g,
  Agar: 15 g,
  Wasser (destilliert): 1000 ml.

– *Bacillus globigii* Stammkultur,
  zur Herstellung der *Bacillus globigii* Stammkulturen-Sporensuspension:
  Bacillus globigii (DSM[1)] No. 675 (*Bac. atrophaeus*) oder
  Bacillus globigii (DSM[1)] No. 2277 (*Bac. atrophaeus*) oder
  Bacillus globigii (Stammsammlung der Universität Hohenheim[2)]).
– Zentrifuge mit einer Beschleunigung von 10000 g.

Probenherstellung

Trypton-Glucose-Bouillon (TGB):

Die Bouillon wird in Portionen von je 10 bzw. 100 ml in Prüfröhrchen gegeben. Es wird im Autoklaven sterilisiert. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert des Mediums 7,2 (± 0,2) gemessen bei 20 °C betragen.

Hefeextract-Agar (MYA):

Der Agar wird in Roux-Flaschen oder Petrischalen gegeben. Es wird im Autoklaven sterilisiert. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert des Mediums 7,0 (± 0,2) gemessen bei 20 °C betragen.

Bacillus globigii Stammkulturen-Sporensuspension:

Die *Bacillus globigii*-Sporensuspension ist in Anlehnung an CEN Draft prEN 14347 (2003) herzustellen.

Der TGB-Nährboden wird mit etwa 10^6 Sporen aus einer zuvor hergestellten Charge beimpft. Es wird bei 30 °C bebrütet, um eine Kultur in der exponentiellen Wachstumsstufe mit etwa 10^7 Bazillen je Milliliter zu erhalten. 2 oder 3 ml dieser Kultur werden in eine Roux-Flasche mit MYA übertragen und mehrere Male geneigt, so dass die Impfkultur mit der gesamten Oberfläche des Agars in Berührung kommt. Überschüssige Impfkultur wird entfernt.

Die Roux-Flasche wird bei 30 (± 1) °C bebrütet. Nach dem dritten Bebrütungstag wird der Zustand der Kultur unter einem Mikroskop, vorzugsweise einem Phasenkontrastmikroskop, bewertet. Wenn die Sporenbildung noch nicht begonnen hat, sollte noch einmal von vorn begonnen werden. Anderenfalls wird die Bebrütung fortgesetzt, bis sich

---

1) DSM: Deutsche Stammsammlung für Mikroorganismen, Marscheroder Weg 1b, 38124 Braunschweig

2) Universität Hohenheim, Institut für Umwelt- und Tierhygiene, Garbenstrasse 30, 70599 Stuttgart

die geimpften Zellen aufgelöst haben (8 - 10 Tage). Die Kulturen werden wiedergewonnen und in Suspension in Wasser gegeben.

Durch Zentrifugieren in Wasser werden vier aufeinander folgende Spülvorgänge durchgeführt. Die letzte Suspension wird in einen Kolben mit Schraubverschluss übertragen und 10 Minuten bei 75 (± 1) °C erwärmt.

4.1.1.2 Durchführung der Untersuchung

Der biologische Tracer wird einmalig in Form einer Sporensuspension gleichmäßig während eines Beschickungsintervalls dem Fermenter zugegeben. Es wird einer Beschickungscharge soviel Sporensuspension beigemischt, dass pro Gramm Fermenterinhalt mindestens 10^6 Sporen vorhanden sind.
Eine Kontrolle der Konzentration der *Bacillus globigii*-Sporen in der Suspension ist durchzuführen.

Nach der Zuführung der Sporensuspension erfolgt die Probennahme (Einzelprobe von ca. 1 kg) im Austrag solange, bis der Tracer erstmalig in einer Probe nachweisbar ist, und zwar mindestens
– jede Stunde bis einschließlich der 24. Stunde,
– darauf folgend alle zwei Stunden bis einschließlich der 36. Stunde,
– darauf folgend alle vier Stunden bis einschließlich der 48. Stunde,
– darauf folgend alle sechs Stunden.

4.1.1.3 Nachweismethode

Aus den zu untersuchenden Proben werden zur Vorverdünnung 20 g in 180 ml Natriumchlorid (0,9 %-ige Kochsalzlösung) eingewogen und ca. 20 Stunden bei 4 °C auf dem Schüttler durchmischt. Nach einer ausreichenden Durchmischung werden je 1 ml der Probe in geometrischer Reihe bis zur Verdünnungsstufe 10^{-8} in jeweils 9 ml NaCl-Lösung pipettiert. Anschließend werden jeweils 0,1 ml jeder Verdünnungsstufe auf zwei parallele Standard-I-Agarplatten pipettiert und mit einem ausgeglühten Drahtspatel gleichmäßig verteilt (Inkubation 37 °C/24 Stunden).

Ausgezählt werden auf den Nährbodenplatten nur jene Kolonien, die ein typisches orange-rotes Wachstum zeigen.

4.1.1.4 Mindestverweilzeit

Die Mindestverweilzeit ergibt sich aus dem Zeitraum zwischen der Zugabe der *Bacillus globigii*-Sporensuspension und der letzten Probe ohne Befund vor erstmaligem Nachweis des biologischen Tracers im Austrag des Fermenters.

4.1.2 Traceruntersuchung mit Lithium

4.1.2.1 Vorbereitung

Bestimmung der Lithium-Grundbelastung in der Abfallsuspension
Zunächst ist die natürliche Lithium-Grundbelastung in der Abfallsuspension zu bestimmen. Hierzu wird vor Prüfungsbeginn über einen Zeitraum von mindestens 5 Tagen jeweils eine repräsentative Probe am Austrag des Fermenters entnommen und der Lithiumgehalt bestimmt. Je nach Bioabfallzusammensetzung beträgt die Grundbelastung an Lithium in der Regel zwischen 1 und 5 mg je kg Trockenmasse.

Benötigte Materialien
Tracer: *Lithiumhydroxid-Monohydrat*

4.1.2.2 Durchführung der Untersuchung

Für die Untersuchung ist die Lithiumkonzentration von 50 mg/kg Trockenmasse bezogen auf den gesamten Fermenterinhalt (vollständige Durchmischung) einzustellen. Die erforderliche Lithiummenge ist abhängig vom Fermenternutzvolumen der zu überprüfenden Vergärungsanlage. Der Tracer wird in gelöster Form gleichmäßig während eines Beschickungsintervalls dem Fermenter zugegeben.
Von dieser Lithiumsuspension ist eine Rückstellprobe bis zum Vorliegen der Ergebnisse aufzubewahren.

Nach der Zuführung des Tracers erfolgt die Probennahme (Einzelprobe von ca. 1 kg) im Austrag solange, bis der Tracer erstmalig in einer Probe nachweisbar ist (Lithiumkonzentration > Grundbelastung), und zwar mindestens

– jede Stunde bis einschließlich der 24. Stunde,
– darauf folgend alle zwei Stunden bis einschließlich der 36. Stunde,
– darauf folgend alle vier Stunden bis einschließlich der 48. Stunde,
– darauf folgend alle sechs Stunden.

4.1.2.3 Nachweismethode

Zur Ermittlung der Lithiumkonzentration werden die Proben nach EN ISO 11885 (Stand 1997) analysiert.

4.1.2.4 Mindestverweilzeit

Die Mindestverweilzeit ergibt sich aus dem Zeitraum zwischen der Zugabe des Lithiumtracers und der letzten Probe ohne Konzentrationserhöhung vor erstmaligem Nachweis des Tracers im Austrag des Fermenters. Der Tracer ist nachgewiesen, wenn die festgestellte Konzentration von Lithium die ermittelte Grundbelastung um die doppelte Standardabweichung, die bei den gemäß Nr. 4.1.2.1 entnommenen Proben ermittelt wird, übersteigt.

4.2 Prüfungen der Seuchenhygiene

4.2.1 Prozessprüfung

4.2.1.1 Testorganismus und Grenzwert

Die Prozessprüfung erfolgt mit dem Testkeim *Salmonella senftenberg* W_{775} *(*H_2S*-negativ)*.

Die Prozessprüfung gilt in der Seuchenhygiene als bestanden, wenn in den zwei aufeinander folgenden Untersuchungsgängen jeweils nach dem für die Hygienisierung relevanten Verfahrensschritt in keiner Probe Salmonellen nachweisbar sind.

4.2.1.2 Einlageproben für aerobe Verfahren (Kompostierung)

Der Testkeim *Salmonella senftenberg W_{775} (H_2S-negativ)* wird in Standard-I-Bouillon bei 37 °C über 18 - 24 Stunden inkubiert. Die so erzeugte Keimsuspension soll eine Mikroorganismenkonzentration von mindestens 10^7 - 10^8 KBE/ml enthalten. Die Konzentration ist durch Vergleich mit einem Standard (z.B. McFarland) oder/und dem Oberflächenverfahren bzw. MPN-Verfahren (Most Probable Number) zu bestimmen.

Bei der Kompostierung wird pro Probe ca. 225 g frisches, homogenisiertes und zerkleinertes Bioabfallmaterial aus der zu überprüfenden Anlage mit 25 ml dieser Keimsuspension getränkt und anschließend in sterile Zwiebel- oder Kunststoffsäckchen verpackt. Die Einlage der Proben in das Kompostiergut erfolgt entweder in dieser Form oder in grob perforierten stabilen und für den jeweiligen Prozess geeigneten Probenbehältern. Nach Durchlaufen des für die Hygienisierung relevanten Verfahrensabschnitts werden die Probenbehälter wieder entnommen und jeweils 50 g des homogenisierten Inhalts eines Probensäckchens in 450 ml gepuffertem Peptonwasser mit Novobiocin über 30 Minuten bei 4 °C langsam ausgeschüttelt (150 rpm) und anschließend über 22 (± 2) Stunden bei 36 (± 2) °C inkubiert. Die so erhaltene Suspensionslösung wird für die Identifizierung von Salmonellen benutzt.

4.2.1.3 Einlageproben für anaerobe Verfahren (thermophile Vergärung)

Die Herstellung der Keimsuspension erfolgt wie in Nr. 4.2.1.2 Absatz 1 beschrieben.

In Vergärungsanlagen wird in Abhängigkeit von der Verfahrensweise jeweils 1 ml der Keimsuspension von *Salmonella senftenberg W_{775} (H_2S-negativ)* entweder mit Hilfe von Plastikampullen (2 ml Inhalt) oder auf Diffusionskeimträgern nach RAPP (1995; mod. nach SCHWARZ, 2003) in den Prozess eingeschleust. Diffusionskeimträger werden außer mit 1 ml der Keimsuspension auch mit 9 ml Gärrückstand angefüllt. Das Einbringen der Plastikampullen bzw. der Diffusionskeimträger erfolgt in den für die thermische Inaktivierung relevanten Prozessabschnitten bzw. Anlageteilen jeweils für die ermittelte Mindestverweilzeit (s. Nr. 4.1) und Hygienisierungstemperatur. Nach Durchlaufen des Verfahrens wird jeweils der Gesamtinhalt, max. 1 ml der Plastikampullen in 9 ml gepuffertes Peptonwasser bzw. max. 10 ml der Diffusionskeimträger in 90 ml gepuffertes Peptonwasser mit Novobiocin (Voranreicherung) gegeben, kurz geschüttelt (150 rpm)

. . .

und über 22 (± 2) Stunden bei 36 (± 2) °C inkubiert. Die so erhaltene Suspension wird für die Identifizierung von Salmonellen benutzt.

4.2.1.4 Nachweismethode

Die Identifizierung von Salmonellen erfolgt mit den nach den oben beschriebenen Methoden hergestellten Suspensionslösungen (s. Nr. 4.2.1.2 bzw. 4.2.1.3). Hierzu werden jeweils 0,1 ml aus der gut durchmischten Voranreicherung in 10 ml Anreicherungsbouillon nach Rappaport bei 36 (± 2) °C und bei 42 (± 1) °C über 22 (± 2) Stunden inkubiert. Anschließend werden Parallelausstriche auf Brillantgrün-Phenolrot-Saccharose-Agar (BPLSA) und Xylose-Lysin-Desoxycholat-Agar (XLD) angelegt und bei 36 (± 2) °C über 22 (± 2) Stunden inkubiert. Salmonellenverdächtige Kolonien werden auf Nutrient-Agar überimpft und bei 36 (± 2) °C für 22 (± 2) Stunden inkubiert. Die Identifizierung erfolgt entweder biochemisch und/oder serologisch aufgrund der Körper- und Geißelantigene (O- und H-Antigene) nach ARBEITSGRUPPE CEN TC 308/WG1/TG5. Bei der Durchführung im Labor sind Kontrollproben mitzuführen.

Zur Kontrolle der Überlebensfähigkeit (Tenazität) des Teststammes werden parallel zur Prozessprüfung vier Kontrollproben hergestellt. Diese Kontrollproben werden nicht in das Hygienisierungsverfahren eingebracht, sondern in feuchtem Sand (z.B. Eimer mit Quarzsand, Befeuchtung mit deionisiertem Wasser) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) gelagert und nach Abbruch der Prozessprüfung aufgearbeitet. Die Kontrollproben sollten bei mindestens drei der vier Proben positive Salmonellenbefunde liefern; anderenfalls ist die Tenazität des Teststammes nicht als ausreichend anzusehen.

4.2.2 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle

Für die Prüfung der hygienisierten Bioabfälle in der Seuchenhygiene werden aus einer gut durchmischten Sammelprobe (ca. 3 kg) jeweils 50 g Material nach der oben angegebenen Methode (s. Nr. 4.2.1) auf das Vorhandensein von Salmonellen untersucht. Die Sammelmischprobe setzt sich aus mindestens fünf verschiedenen Teilproben einer Charge des hygienisierten, gem. Nr. 3.3 zu untersuchenden Materials zusammen.

Die Prüfung der hygienisierten Bioabfälle gilt in der Seuchenhygiene als bestanden, wenn in jeweils 50 g der entnommenen Sammelproben Salmonellen nicht nachweisbar sind.

4.3 Prüfungen der Phytohygiene

4.3.1 Prozessprüfung

4.3.1.1 Testorganismen und Grenzwerte

Aus der Vielzahl von Phytopathogenen und Pflanzensamen, die im Ausgangsmaterial von Bioabfallbehandlungsanlagen vorkommen, werden folgende Leit- oder Indikatororganismen in Prozessprüfungen verwendet:

– *Plasmodiophora brassicae* (Kohlhernie),
  Grenzwert im Biotest: Befallsindex ≤ 0,5 je Prüfbereich,
– Tomatensamen,
  Grenzwert im Biotest: ≤ 2 % keimfähige Samen je Prüfbereich,
– zusätzlich bei aerober Behandlung (Kompostierung) gem. Nr. 2.2.2:
  Tabakmosaikvirus (TMV),
  Grenzwert im Biotest: ≤ 4 % Restinfektiosität (Relativwert zur Positivkontrolle) je Prüfbereich.

Die Prozessprüfung gilt in der Phytohygiene als bestanden, wenn in den zwei aufeinander folgenden Untersuchungsgängen jeweils nach dem für die Hygienisierung relevanten Verfahrensschritt in den Proben je Prüfbereich die angegebenen Grenzwerte bei den Parametern *Plasmodiophora brassicae* und Tomatensamen nicht überschritten sowie bei dem Parameter Tabakmosaikvirus um nicht mehr als maximal 30 % überschritten werden.

4.3.1.2 Testorganismus Plasmodiophora brassicae

Die Prüfung erfolgt in Anlehnung an die von BRUNS et al. (1994) weiterentwickelte Methodik nach KNOLL et al. (1980).

4.3.1.2.1 Herstellung der Einlageproben für aerobe Behandlungsverfahren (Kompostierung)

Das Gallenmaterial (Infektionsmaterial mit dem Erreger *Plasmodiophora brassicae*) wird bis zur Herstellung der Einlageproben bei -25 °C tiefgefroren. Jede in den Kompostierungsprozess eingesetzte Probe enthält eine Menge von 30 g nachweislich infektiösem, wärmetoleranten Gallenmaterials mit *Plasmodiophora brassicae* von befallenen Kohlpflanzen, 430 g Boden und 200 g des jeweiligen Kompostrohmaterials. Dies entspricht einem Verhältnis von ca. 5 % Gallenmaterial zu 65 % Boden und 30 % Kompost. Die einzelnen Probenanteile werden intensiv gemischt und in rottebeständige Beutel (Maschenweite max. 1 × 1 mm) eingefüllt; dabei ist sicherzustellen, dass kein Probenaustrag in den umgebenden Kompost erfolgt.
Entsprechend hergestellte Kontrollproben werden während des Versuchszeitraumes in feuchtem, sterilisiertem Sand bei Zimmertemperatur gelagert.

4.3.1.2.2 Herstellung der Einlageproben für anaerobe Behandlungsverfahren (thermophile Vergärung)

Bei Vergärungs-/Biogasanlagen werden 30 g Gallenmaterial mit *Plasmodiophora brassicae* von befallenen Kohlpflanzen in Gazebeutel (Maschenweite max. 1 × 1 mm) in die für die thermische Inaktivierung relevanten Prozessabschnitte bzw. Anlageteile eingebracht.
Entsprechend hergestellte Kontrollproben werden während des Versuchszeitraumes in feuchtem, sterilisiertem Sand bei Zimmertemperatur gelagert.

4.3.1.2.3 Nachweis der Infektiosität mittels Biotest

Eine vorhandene Restinfektion von *Plasmodiophora brassicae* in den Einlageproben erfolgt durch Prüfung in Anlehnung an die von BRUNS et al. (1994) weiterentwickelte Methode nach KNOLL et al. (1980) und BUCZACKI et al. (1975).

Benötigte Materialien

– Mischwanne,
– Messbecher (4000 ml),
– Kunststofftöpfe (13 × 13 × 13 cm, ca. 1 l), passende Untersetzer,

– zertifiziertes Saatgut Sarepta-Senf (*Brassica juncae*),
– Substratdämpfer,
– Sand, Körnung 0,8 - 1,2 mm (z.B. Buntsandstein mit guter Pufferkapazität, pH ca. 6,5),
– Weißtorf (pH ca. 3,5),
– pH-Meter,
– Einmalhandschuhe (für jede Probe ein Paar),
– wasserlöslicher Volldünger (fest oder flüssig).

Probenaufbereitung

Nach Rückgewinnung aus dem geprüften Hygienisierungsverfahren werden die Einlageproben mit dem Erreger *Plasmodiophora brassicae* sorgfältig zerkleinert und mit einem Sand-Torfgemisch (5 Stunden bei 80 °C gedämpft) auf ein Volumen von 4000 ml aufgefüllt und gut homogenisiert.

Da der pH-Wert einen starken Einfluss auf die Infektiosität von *Plasmodiophora brassicae* ausübt (Optimum: pH 6,0 ± 0,2), ist der pH-Wert der hergestellten Substratmischung zu überprüfen und gegebenenfalls durch Erhöhung des Torfanteils zu korrigieren.

Biotest

Als Versuchsgefäße werden 13 × 13 × 13 cm Kunststofftöpfe verwendet. Für jede reisolierte Erregerprobe, die mit dem Sand-Torf-Gemisch auf je 4000 ml aufgefüllt wurde, werden vier Gefäße mit je fünf Nachweispflanzen Sarepta-Senf (*Brassica juncea*) angelegt; dabei werden in jedes Gefäß vorgezogene Keimpflanzen (1. Laubblattbildung) einpikiert. Der Biotest wird als randomisierter Versuch im Gewächshaus oder in einer Klimakammer bei 6000 - 9000 Lux und einer Temperatur von mindestens 20 °C aufgestellt. Die Pflanzen werden ab der dritten Woche wöchentlich einmal gedüngt. Die Vegetationszeit des Biotests bis zur Bonitur der Nachweispflanzen beträgt 4 - 5 Wochen.

Nach Ende des Biotests wird zum einen die Anzahl der befallenen Pflanzen gezählt und zum anderen die Wurzelgallenbildung nach einer Boniturskala von 0 - 3 nach BUCZACKI et al. (1975) bewertet:

Befallsklasse	Beschreibung der Symptome
0	Keine sichtbaren Symptome
1	Leichte Gallenbildung an Haupt- und Nebenwurzeln
2	Mittlere Gallenbildung an Haupt- und Nebenwurzeln
3	Starke Gallenbildung am gesamten Wurzelsystem

Bewertung der Boniturnoten

Für jede einzelne Erregerprobe (Wiederholung) werden die Boniturnoten für den Befall der Einzelpflanzen (Befallsklasse = Kl) nach folgender Formel im Befallsindex zusammengefasst:

$$\text{Befallsindex je Erregerprobe (Wiederholung)} = \frac{\sum \text{Pflanzen} \times \text{Kl } 1^{3)} + \sum \text{Pflanzen} \times \text{Kl } 2^{3)} + \sum \text{Pflanzen} \times \text{Kl } 3^{3)}}{\sum \text{Pflanzen je Erregerprobe (Wiederholung)}}$$

Der Befallsindex für einen Prüfbereich ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel des Befallsindex aller Wiederholungen (Erregerproben) des jeweiligen Prüfbereichs:

$$\text{Befallsindex je Prüfbereich}^{4)} = \frac{\sum \text{Befallsindices je Erregerprobe (Wiederholung)}}{\sum \text{Wiederholung je Prüfbereich}}$$

Liegt der Befallsindex je Prüfbereich ≤ 0,5, so ist die Prüfung als bestanden zu bewerten.

4.3.1.3 Testorganismus Tomatensamen

Die Prüfung erfolgt in Anlehnung an die bei POLLMANN und STEINER (1994) angegebene Methodik.

---

3) Boniturklasse 1, 2, bzw. 3

4) Einlagebereich bei Prozessprüfungen, z.B. Kompostierung: Rand, Kern, Basis; Vergärung: unterschiedliche Bereiche des Fermenters

Für die Herstellung der Einlageprobe und die Bestimmung der Keimrate mittels Biotest werden folgende Materialien benötigt:

– Kunststoff-Petrischalen mit Deckel (Ø 9 cm),
– Rundfilterpapier,
– Tomatensaatgut (*Lycopersicon lycopersicum [L.] Karsten ex Farw.*), Sorte Saint-Pierre (Synonym: San Pedro).

4.3.1.3.1 Herstellung der Einlageprobe

Etwa 1 g oder 400 Tomatensamen (*Lycopersicon lycopersicum [L.] Karsten ex Farw.*) der Sorte Saint-Pierre (Synonym: San Pedro) in einen kleinen Beutel aus unverrottbarem Gazestoff (Maschenweite 1 × 1 mm) füllen und vor dem Verschließen auf der gesamten Gazefläche verteilen, um eine möglichst geringe Schichtdecke der Tomatensamen zu erreichen. Die Keimfähigkeit der Tomatensamen muss vor der Durchführung der Untersuchungen bestimmt werden. Zur Prüfung darf nur Saatgut mit einer Mindestkeimfähigkeit von 90 % herangezogen werden.

4.3.1.3.2 Bestimmung der Keimrate mittels Biotest

Nach Beendigung der Untersuchung wird der Testorganismus aus den Einlageproben entnommen und umgehend einer Keimfähigkeitsprüfung unterzogen.

Biotest

Die Tomatensamen aus der Einlageprobe entnehmen und 200 Samen abzählen. Die restlichen Samen während 1 bis 2 Tagen unter Wohnraumbedingungen (20 - 50 % rel. Luftfeuchte, etwa 20 °C) zurücktrocknen, luftdicht verschließen und für etwaige Wiederholungen der Keimfähigkeitsbestimmung im Kühlschrank aufbewahren (Rückhalteprobe). Die abgezählten Samen in sauberem Zustand, falls erforderlich abgewaschen, zur Keimfähigkeitsbestimmung auslegen, z.B. 4 × 50 Samen in abgedeckten Petrischalen mit 9 cm Durchmesser auf 4 Lagen angefeuchtetem Filterpapier bei 25 °C und Belichtung in einem geeigneten Raum oder Klimaschrank (ANONYM, 1993).

Im siebentägigen Rhythmus wird die Anzahl der gekeimten Tomatensamen solange ausgezählt, bis keine weiteren Samen keimen. Als gekeimt gilt der Samen, bei dem die Wurzel und/oder der Spross sichtbar ausgetreten ist. Sind nach 21 Tagen keine Samen gekeimt, wird die Keimfähigkeitsprüfung abgeschlossen.

Bewertung der Ergebnisse

Die Gesamtzahl gekeimter Samen wird festgestellt und als Prozentsatz der verwendeten Samen in der geprüften Aliquote (200 Samen) angegeben. Die Keimfähigkeit der Tomatensamen für einen Prüfbereich ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel der Keimfähigkeitsraten aller Wiederholungen (Erregerproben) des Prüfbereichs.

4.3.1.4 Testorganismus Tabakmosaikvirus bei aeroben Behandlungsverfahren (Kompostierung)

Die Prüfung erfolgt in Anlehnung an die im Rahmen des UFOPLAN FuE-Vorhaben FKZ 200 33 331 weiterentwickelte Halbblattmethode nach SAMUEL und BALD (1933).

Für die Herstellung der Einlageproben und den Nachweis mittels Biotest werden folgende Materialien und Reagenzien benötigt:

- Kunststofftöpfe 500 ml mit Bodenlochung und Unterschalen,
- wasserlösliche Mehrnährstoffdünger,
- Tabaksaatgut (*Nicotiana tabacum „Samsun“*),
- Tabaksaatgut (*Nicotiana glutinosa L.*),
- Einheitserde 0 (EE0) als Pflanzsubstrat,
- Mörser und Pistill,
- Karborund/Bentonit-Gemisch (Verhältnis 1:1),
- Phosphatpuffer nach Sörensen (pH 7) oder entsprechendes handelsübliches Produkt),
- TMV-haltige Suspension (Pflanzenpresssaft aus TMV-infizierten Tabakpflanzen),
- Filtriergaze,
- handelsübliche Wattestäbchen,
- Glas- oder Kunststoffgefäße, verschließbar,
- Aufbewahrungsgefäße bzw. Feuchteschalen.

4.3.1.4.1 Herstellung der Einlageproben

Die Vermehrung des Virus erfolgt in Tabakpflanzen (*Nicotiana tabacum „Samsun“*), in denen es sich systemisch ausbreitet. Dazu werden die Tabakpflanzen bei 18 – 22 °C unter Gewächshausbedingungen bis zum 5-Blattstadium herangezogen. Zur Inokulation werden 2 oder 3 untere Blätter mit einem Gemisch aus Karborund und Bentonit (1:1) dünn eingepudert und die TMV-haltige Suspension (Pflanzenpresssaft aus TMV-infizierten Tabakpflanzen) in 0,05 mol/l Phosphatpuffer nach Sörensen oder entsprechend (pH 7) auf die bestäubten Blätter aufgetragen. 2 - 3 Wochen nach Inokulation können dann virushaltige Blätter mit mosaikartigen Verfärbungen für die Untersuchungen verwendet werden.

Jede in den Kompostierungsprozess eingeschleuste Probe enthält 10 g TMV-infizierte Tabakblätter (*Nicotiana tabacum „Samsun“*), die in ein rottebeständiges Gazesäckchen (Maschenweite 1 × 1 mm) gefüllt werden. Damit die Rottebedingungen auf die TMV-infizierten Tabakblätter einwirken können, ist das Gazesäckchen der Einlageprobe vollständig mit Kompostrohmaterial zu umgeben.

Es sind Positivkontrollen aus 10 g mit TMV infizierten Tabakblättern (*Nicotiana tabacum „Samsun“*) derselben Charge herzustellen, die bei -18 °C aufbewahrt werden.

4.3.1.4.2 Nachweis der Infektiosität mittels Biotest

Die stattgefundene Inaktivierung der durch den Hygienisierungsprozess der Kompostierung geleiteten Erregerproben wird mittels Biotest unter Anwendung der Halbblattmethode nach WALKEY (1991) auf der Grundlage von SAMUEL und BALD (1933) untersucht.

Probenaufarbeitung

Nach Beendigung des hygienisierenden Verfahrensschritts (z.B. Entnahme nach Beendigung der Prozessprüfung auf einer Kompostierungsanlage) wird die TMV-Erregerprobe von eventuell vorhandenen nicht verrotteten groben Bestandteilen befreit. Unter Zusatz von 30 ml Phosphatpuffer nach Sörensen oder entsprechend (0,05 mol/l; pH 7) erfolgt in einem Mörser die Zerkleinerung der Probe. Die Probensuspension wird auf die

Filtriergaze gegeben und ausgepresst. Der Probenextrakt wird in ein verschließbares Glas- oder Kunststoffgefäß überführt.
Mit den mitgeführten Positiv-Kontrollproben wird in gleicher Weise verfahren.

Biotest

Als Nachweis für die Infektion werden die Extrakte aus den Proben und aus den Kontrollen auf Blätter der Testpflanze (*Nicotiana glutinosa L.*) aufgetragen. Der Biotest erfolgt an Nachweispflanzen, die sich im 6-8 Blattstadium befinden.

Für die Inokulation der 12 reisolierten TMV-Erregerproben werden insgesamt 12 Nachweispflanzen benötigt, wobei je Prüfbereich vier Proben an vier Pflanzen getestet werden.

An den Nachweispflanzen werden die Vegetationsspitze und die unteren älteren Blätter entfernt, so dass jeweils vier voll ausgebildete Blätter für die Inokulation an den Pflanzen verbleiben. Für die bessere Vergleichbarkeit bei Lokalläsionen an Pflanzen mit Blättern unterschiedlicher Größe und Alter ist das lateinische Quadrat als Versuchsanordnung zu wählen. Voraussetzung hierfür ist die gleich große Anzahl an TMV-Proben, Testpflanzen und Blättern. Bei der Prozessprüfung werden die drei charakteristischen Prüfbereiche des Rottekörpers in jeweils vierfacher Wiederholung überprüft. Das folgende Schema verdeutlicht die Versuchsanordnung der Halbblattmethode unter Einbeziehung der Positiv-Kontrollprobe (P) für die vier zu prüfenden TMV-Proben (A, B, C, D) eines Prüfbereichs:

	Pflanze 1		**Pflanze 2**		**Pflanze 3**		**Pflanze 4**	
Blatt-position	Blatthälfte (aus Richtung Blattspitze)		Blatthälfte (aus Richtung Blattspitze)		Blatthälfte (aus Richtung Blattspitze)		Blatthälfte (aus Richtung Blattspitze)	
	links	rechts	links	rechts	links	rechts	links	rechts
1. Blatt	**A**	**P**	**P**	**D**	**C**	**P**	**P**	**B**
2. Blatt	**B**	**P**	**P**	**A**	**D**	**P**	**P**	**C**
3. Blatt	**C**	**P**	**P**	**B**	**A**	**P**	**P**	**D**
4. Blatt	**D**	**P**	**P**	**C**	**B**	**P**	**P**	**A**

Die Blätter können im Hinblick auf die durchzuführenden Behandlungen auf der Blattunterseite mit einem wasserfesten Filzstift gekennzeichnet werden. Zuerst wird immer die Untersuchungsprobe aufgetragen und anschließend die Kontrollprobe.

Dann werden die Blätter der Nachweispflanzen mit einem Gemisch aus Karborund und Bentonit (1:1) dünn eingepudert. Der Proben- bzw. Kontrollextrakt wird mit einem Wattestäbchen auf die Blätter aufgetragen, wobei die bestäubten Blatthälften mit dem Extrakt zweimal gleichmäßig mit leichtem Druck und mit Handbewegungen, die von der Mittelader zum Blattrand verlaufen, bestrichen werden. Dabei wird das Blatt mit einer Hand von der Blattunterseite her unterstützt.

Sofort nach der Behandlung werden die Tabakblätter direkt am Spross abgeschnitten und die anhaftenden Karborund-/Bentonit-Reste von der Blattoberfläche mit Leitungswasser vollständig entfernt (Sprühflasche oder Brause). Für die Inkubation werden die behandelten Blätter entweder in ein mit Wasser gefülltes Gefäß gestellt oder in entsprechende Feuchteschalen gelegt. Im Anschluss werden die behandelten Blätter bis zur Symptomausbildung in eine Klimakammer oder ein klimatisiertes Gewächshaus bei 22 - 25 °C gestellt. Während des Inkubationszeitraums werden die behandelten Blätter täglich für 16 Stunden beleuchtet (Belichtungsstärke mindestens 2000 Lux).

Spätestens 5 Tage nach der Inokulation sind die Infektionsherde in Form von nekrotischen Lokalläsionen deutlich zu erkennen. Hierbei handelt es sich um kleine runde Flecken von 2 - 3 mm Durchmesser, deren Zentren aus abgestorbenem Gewebe bestehen.

Bewertung der Ergebnisse

Zur Bewertung werden die gebildeten Läsionen einer jeden Blatthälfte getrennt ausgezählt. Die Auswertung erfolgt durch Addition der Läsionen der jeweiligen vier Blatthälften, die jeweils mit der Proben- bzw. Kontrolllösung inokuliert worden sind. Die Restinfektiosität der Erregerproben wird prozentual in Relation zur Positiv-Kontrolle ausgedrückt.

Für jede einzelne Erregerprobe (Wiederholung) wird die relative Restinfektion auf vier inokulierten Tabakblätter nach folgender Formel zusammengefasst:

$$\text{Restinfektion [relativ] je Erregerprobe (Wiederholung)} = \frac{B1\ (LE \times 100)/LK + B2\ (LE \times 100)/LK + B3\ (LE \times 100)/LK + B4\ (LE \times 100)/LK}{\sum \text{inokulierter Tabakblätter}}$$

B1 = inokuliertes Blatt der ersten Pflanze

B2 = inokuliertes Blatt der zweiten Pflanze

B3 = inokuliertes Blatt der dritten Pflanze

B4 = inokuliertes Blatt der vierten Pflanze

LE = Läsionszahl der Erregerprobe

LK = Läsionszahl der Positiv-Kontrollprobe

Die Restinfektion [Relativwert] des Erregers Tabakmosaikvirus für einen Prüfbereich ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel der relativen Restinfektionen aller Wiederholungen (Erregerproben) des jeweiligen Prüfbereichs:

$$\text{Restinfektion [relativ] je Prüfbereich}^{5)} = \frac{\sum \text{Restinfektion [relativ] je Erregerprobe (Wiederholung)}}{\sum \text{Wiederholung je Prüfbereich}}$$

Liegt die Restinfektion [Relativwert] je Prüfbereich ≤ 4 %, so ist die Prüfung als bestanden zu bewerten.

4.3.2 Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle

Bei der Prüfung der hygienisierten Bioabfälle in der Phytohygiene wird der Gehalt an keimfähigen Samen und austriebsfähigen Pflanzenteilen im hygienisierten, gem. Nr. 3.3 zu untersuchenden Material mit der Kultivierungsmethode bestimmt.

5) Einlagebereich bei Prozessprüfungen von Kompostierungsverfahren: Rand, Kern, Basis

Probenvorbehandlung

Das Volumengewicht und der Salzgehalt des Prüfsubstrats sind zu bestimmen. Bei Komposten wird die Originalprobe <10 mm gesiebt. Zu nasse und nicht siebfähige Komposte werden vorgetrocknet (Lufttrocknung). Pasteurisierte Materialien und Gärrückstände werden ungesiebt verwendet.

Benötigte Materialien

- Kunststoffschalen mit Bodenlochung oder gleichwertige Versuchsbehältnisse,
- Gießmatten,
- Nadellochfolie,
- geeignetes Mischsubstrat (z.B. schwach zersetzter Hochmoortorf mit ca. 4 g kohlensaurem Kalk pro Liter, welches frei von keimfähigen Samen und austriebsfähigen Pflanzenteilen ist).

Durchführung

3 l gesiebtes (FS < 10 mm) bzw. 1 l flüssiges Prüfsubstrat werden zur Keimstimulierung 3 Tage einer Temperatur von 4 °C ausgesetzt. Nach Bestimmung des Salzgehaltes (Bundesgütegemeinschaft Kompost 1998) wird das so behandelte Prüfsubstrat mit einer geeigneten Mischkomponente (KCl-Gehalt = 0 g/l) so verdünnt, dass die Prüfmischung einen Salzgehalt von < 2 g KCl pro Liter aufweist. Als Mischkomponente, die frei von keimfähigen Samen und austriebsfähigen Pflanzenteilen sein muss, eignet sich Hochmoortorf mit ca. 4 g kohlensaurem Kalk pro Liter. Die Prüfmischung wird in einer Schichtdicke von ca. 10 mm in Versuchsschalen (Kunststoffschalen mit Bodenlochung oder gleichwertige Behältnisse, die mit einer Gießmatte und einer Nadellochfolie als Verschmutzungsschutz ausgelegt sind) gleichmäßig ausgebracht, leicht angedrückt und durch Gießen auf volle Wasserkapazität gebracht. Danach werden die Versuchsbehältnisse über einen Zeitraum von 15 Tagen bei einer Beleuchtungsstärke von mindestens 1000 Lux und einer Temperatur von 18 - 20 °C ohne direkte Sonneneinstrahlung belassen. Der Wasserverlust wird regelmäßig durch Überbrausen ausgeglichen. Um eine Austrocknung zu vermeiden, sollen die Schalen mit Glas- oder Kunststoffscheiben so abgedeckt werden, dass ein Luftaustausch weiterhin möglich ist.

Berechnung

Nach 15 Tagen Kulturdauer werden die aufgelaufenen Pflanzen gezählt und bezogen auf einen Liter Prüfsubstrat auf 2 Kommastellen genau angegeben.

Die Prüfung der hygienisierten Bioabfälle gilt in der Phytohygiene als bestanden, wenn der Gehalt an keimfähigen Samen und austriebsfähigen Pflanzenteilen maximal 2 pro Liter Prüfsubstrat ist.

5 Literatur

ANONYM
EN ISO-Normen, Beuth-Verlag GmbH, Berlin und Köln

ANONYM
Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut. Seed Science and Technology 21, Supplement, Vorschriften, 1993

ARBEITSGRUPPE CEN TC 308/WG1/TG5 (EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG)
Detection of Salmonella spp. in Sludges, Soils, Soil Improvers, Growing Media Biowastes - Part 3: Presence/absence method by liquid enrichment in peptone-novobiocin medium followed by Rappaport-Vassiliadis. January 2004; TCWI049; Secretariat AFNOR
(Charakterisierung von Schlämmen - Nachweis von Salmonellen - Teil 3: Methode der Flüssiganreicherung in Peptonwasser mit Novobiocin in Kombination mit Rappaport-Vassiliadis-Medium zum qualitativen Nachweis des Vorkommens bzw. der Freiheit von Salmonellen in einer definierten Probenmenge)

BRUNS, C., GOTTSCHALL, R., MARCINISZYN, E., SCHÜLER, C., ZELLER, W., WOLF, G. und VOGTMANN, H.
Phytohygiene der Kompostierung - Sachstand, Prüfmethoden, F.- und E.-Vorhaben, Tagungsband „BMFT-Statusseminar Neue Techniken der Kompostierung", Hamburg, S. 191-206, 1994

BUCZACKI, S. T., TOXOPEUS, H., MATTUSCH, P., JOHNSTON, T. D., DIXON, G. R. and HOBOLTH, L. A.
Study of physiologic specialization in plasmodiophora brassicae; proposals for rationalization through an international approach, Transactions for the British Mycological Society, 65, pp. 295-303, 1975

BUNDESGÜTEGEMEINSCHAFT KOMPOST E.V.
Methodenhandbuch zur Analyse von Kompost, Köln, 4. ergänzte und überarbeitete Auflage, 1998

CEN - EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG, CENTRAL SECRETARIAT
Draft prEN 14347 (2003): Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika-Sporozide Wirkung (Basistest) - Prüfverfahren und Anforderungen (Phase 1, Stufe 1)

KNOLL, K.-H., STRAUCH, D. und HOLST, H.
Standardisierung von Hygieneuntersuchungen für Kompostierungsverfahren. Forschungsbericht 79-10302403, Umweltforschungsplan des BMI, Abfallwirtschaft, 1980

POLLMANN, B. und STEINER, A. M.
A standardized method for testing the decay of plant diaspores in biowaste composts by using tomato seed, Agribiological Research, 47, 1, 24-31, 1994

RAPP, A.
Hygienisch-mikrobiologische Untersuchungen zum Verhalten von ausgewählten Bakterien und Viren während der längerfristigen Speicherung von Flüssigmist in Güllegemeinschaftsanlagen. Agrarwissenschaftliche Dissertation, Universität Hohenheim, 1995

SCHWARZ, M.
Vergleichende seuchenhygienisch-mikrobiologische Untersuchungen an horizontal und vertikal beschickten, bewachsenen Bodenfiltern mit vorgeschalteter Mehrkammerausfaulgrube bzw. einem als Grobstofffang dienenden Rottebehälter (Rottefilter). Veterinärmedizinische Dissertation, FU Berlin, 2003

PHILIPP, W., ADE-KAPPELMANN, K., LORENZ, H., KLAGES, S., MARCINISZYN, E.
Überprüfung der phyto- und seuchenhygienischen Unbedenklichkeit von Vergärungsrückständen aus der anaeroben Behandlung von Bioabfällen, Vorhaben FKZ 200 33 331, Umweltforschungsplan des BMU, 2004 (Abschlußbericht noch nicht veröffentlicht)

WALKEY, D. G. A.
Applies plant virology, Second edition, Chapman and Hall, London, 1991

Tabelle 1: Behandlung zur Hygienisierung (Nr. 2)

Verfahren / Anforderungen	Pasteurisierung (Nr. 2.2.1)	aerobe Behandlung (Kompostierung, Nr. 2.2.2)	anaerobe Behandlung (thermophile Vergärung, Nr. 2.2.3)	anderweitige Hygienisierung (Nr. 2.2.4)
Prozessführung	– Zerkleinerung des zu behandelnden Materials auf eine Teilchengröße mit Kantenlänge (zweidimensional) von jeweils max. 12 mm – Erhitzung des Materials auf mindestens 70 °C über zusammenhängenden Zeitraum von mindestens 1 Std. – Hinreichender Wärmeübergang auf und innerhalb Material (Homogenisierung, ausreichender Wassergehalt)	– Material muss über mehrere Wochen im thermophilen Temperaturbereich, dabei mindestens • Temperatur 55 °C über möglichst zusammenhängenden Zeitraum von 2 Wochen oder • Temperatur 65 °C (geschlossenen Anlage 60 °C) über drei Tage behandelt werden – Wassergehalt des Materials mindestens 40 % – pH-Wert ca. 7	Material muss – über die technisch vorgegebene oder mit Traceruntersuchung ermittelte Mindestverweilzeit und – mit der bei der Prozessprüfung ermittelten Temperatur (thermophiler Temperaturbereich, mindestens 50 °C) behandelt werden	Bestimmung und Beschreibung der Anforderungen in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen
Prozessprüfung	– Nicht erforderlich – Technische Abnahme und Ausstellung einer Abnahmebescheinigung durch zuständige Behörde	Erforderlich	Erforderlich	– Erforderlich – Bestimmung und Beschreibung der Anforderungen in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen
Prozessüberwachung	Erforderlich	Erforderlich	Erforderlich	– Erforderlich – Bestimmung und Beschreibung der Anforderungen in Abstimmung mit der zuständigen Behörde, ggf. unter Hinzuziehung eines Sachverständigen
Prüfung der hygienisierten Bioabfälle	Erforderlich	Erforderlich	Erforderlich	Erforderlich

Verfahren / Anforderungen	Pasteurisierung (Nr. 2.2.1)	aerobe Behandlung (Kompostierung, Nr. 2.2.2)	anaerobe Behandlung (thermophile Vergärung, Nr. 2.2.3)	anderweitige Hygienisierung (Nr. 2.2.4)
Sonstiges	Sofern zusätzlich anderweitige Behandlung erfolgt, mit der Hygieneanforderungen nicht eingehalten werden (z.B. mesophile Vergärung), kann Pasteurisierung vor oder nach einer solchen Behandlung durchgeführt werden	–	–	Nachweis einer gleichwertigen Wirksamkeit der Hygienisierung

Tabelle 2: Prüfungsumfang und Methoden (Nrn. 3 und 4)

Prüfungen / Anforderungen	Prozessprüfung	Prozessüberwachung	Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle
Aufgabe und Zeitpunkt	Kontrolle des Wirkungsgrades des Verfahrens: – Neu errichtete Anlagen (innerhalb von 12 Monaten nach Inbetriebnahme) – Bereits geprüfte Anlagen bei Einsatz neuer Verfahren oder wesentlicher Änderung der Verfahren/Prozessführung (innerhalb von 12 Monaten nach Einsatz/Änderung)	Fortlaufende Temperaturkontrolle: – Kontinuierliche Temperaturmessung in repräsentativen Zonen im relevanten Hygienisierungsbereich (-teil) und – prüffähige Aufzeichnung von Daten (u.a. Temperatur, Umsetztermine bzw. Befüllung/Entleerung)	Endkontrolle: Regelmäßige Untersuchungen des hygienisierten Materials

Prüfungen / Anforderungen	Prozessprüfung	Prozessüberwachung	Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle
Untersuchungsgänge	– Anlagen zur aeroben Behandlung (Kompostierungsanlagen): 2 Untersuchungsgänge, davon einer in der Winterperiode – Anlagen zur anaeroben Behandlung (thermophile Vergärungs-/ Biogasanlagen): 2 Untersuchungsgänge, Mindestabstand 3 Monate – Anlagen zur anderweitigen Hygienisierung: gem. anlagenspezifischer Bestimmung und Beschreibung	– Pasteurisierungsanlagen, Anlagen zur aeroben Behandlung (Kompostierungsanlagen) und Anlagen zur anaeroben Behandlung (thermophile Vergärungs-/Biogasanlagen): Eingriffsfreie Temperaturmessung und automatisierte Temperaturaufzeichnung; sofern bei Kompostierungsanlagen nicht möglich, Temperaturmessungen und -aufzeichnungen in regelmäßigen Abständen (mindestens ein Mal je Arbeitstag) – Anlagen zur anderweitigen Hygienisierung: gem. anlagenspezifischer Bestimmung und Beschreibung – Aufbewahrung der Aufzeichnungen 3 Jahre	– Je angefangener 2000 Tonnen (Frischmasse) im Rahmen der Hygienisierung verwendeter Bioabfälle, mindestens alle drei Monate – Probenahme am abgabefertigen Material bei aerober Behandlung (Kompostierungsanlagen), anaerober Behandlung (Vergärungs-/Biogasanlagen) und anderweitiger Hygienisierung – Probenahme am abgabefertigen Material bei Pasteurisierung: • nach der Pasteurisierungsbehandlung; • nach anschließender biologischen Stabilisierungsbehandlung, sofern biologisch stabilisierende Behandlung (z.B. mesophile Kofermentierung, Kompostierung) der pasteurisierten Bioabfälle zusammen mit in Anhang 1 Nr. 2 genannten Materialien erfolgt; dies gilt nicht, wenn anschließende biologisch stabilisierende Behandlung der pasteurisierten Bioabfälle in landwirtschaftlichem Betrieb zusammen mit dort angefallenen biologisch abbaubaren Materialien und Aufbringung der behandelten Materialien auf selbst bewirtschaftete Betriebsflächen erfolgt

Prüfungen / Anforderungen	Prozessprüfung	Prozessüberwachung	Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle
Probenzahl (je Untersuchungsdurchgang)	– Anlagen zur aeroben Behandlung (Kompostierungsanlagen): • Probenzahl je Untersuchungsdurchgang: 60, davon Seuchenhygiene: 24, Phytohygiene: 36 • Anlagenkapazität ≤ 3000 Tonnen Einsatzmaterialien/Jahr halbierte Probenzahl – Anlagen zur anaeroben Behandlung (thermophile Vergärungs-/ Biogasanlagen): • Probenzahl je Untersuchungsdurchgang: 24, davon Seuchenhygiene: 8, Phytohygiene: 16 • Anlagenkapazität ≤ 3000 Tonnen Einsatzmaterialien/Jahr halbierte Probenzahl – Anlagen zur anderweitigen Hygienisierung: gem. anlagenspezifischer Bestimmung und Beschreibung	–	– Jeweils eine Probe in der Seuchenhygiene und in der Phytohygiene – Proben sind Sammelmischproben (ca. 3 kg) aus je fünf Teilproben einer Charge des hygienisierten Materials

Prüfungen / Anforderungen	Prozessprüfung	Prozessüberwachung	Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle
Prüforganismen	– Anlagen zur aeroben Behandlung (Kompostierungsanlagen): • Seuchenhygiene: 1 Testorganismus (*Salmonella senftenberg* W_{775}, H_2S-*neg.*) • Phytohygiene: 3 Testorganismen (*Plasmodiophora brassicae*, Tomatensamen, Tabakmosaikvirus) – Anlagen zur anaeroben Behandlung (thermophile Vergärungs-/ Biogasanlagen): • Seuchenhygiene: 1 Testorganismus (*Salmonella senftenberg* W_{775}, H_2S-*neg.*) • Phytohygiene: 2 Testorganismen (*Plasmodiophora brassicae*, Tomatensamen) – Anlagen zur anderweitigen Hygienisierung: gem. anlagenspezifischer Bestimmung und Beschreibung	–	– Seuchenhygiene: Salmonellen – Phytohygiene: Keimfähige Samen und austriebsfähige Pflanzenteile

Prüfungen / Anforderungen	Prozessprüfung	Prozessüberwachung	Prüfungen der hygienisierten Bioabfälle
Prüfung bestanden	Grenzwerte werden in keiner der entnommenen Proben überschritten: – Seuchenhygiene (Nr. 4.2.1.1 letzter Absatz): Keine Salmonellen nachweisbar – Phytohygiene (Nr. 4.3.1.1). • *Plasmodiophora brassicae* (Kohlhernie), Grenzwert im Biotest: Befallsindex ≤ 0,5 je Prüfbereich (Grenzwert darf nicht überschritten werden) • Tomatensamen, Grenzwert im Biotest: ≤ 2 % keimfähige Samen je Prüfbereich (Grenzwert darf nicht überschritten werden) • Zusätzlich bei aerober Behandlung (Kompostierung) gem. Nr. 2.2.2: Tabakmosaikvirus (TMV), Grenzwert im Biotest: ≤ 4 % Restinfektiosität (Relativwert zur Positivkontrolle) je Prüfbereich (Grenzwert darf nicht mehr als maximal 30 % überschritten werden)	Vorgegebene Temperatur und Einwirkungsdauer des jeweiligen Hygienisierungsverfahrens wurden bei der Hygienisierung des Materials eingehalten (jeweilige Anforderungen s. Tabelle 1 Tabellenzeile „Prozessführung“)	Grenzwerte werden in keiner der entnommenen Proben überschritten: – Seuchenhygiene (Nr. 4.2.2 letzter Absatz): In jeweils 50 g der entnommenen Sammelproben Salmonellen nicht nachweisbar – Phytohygiene (Nr. 4.3.2 letzter Absatz): Gehalt an keimfähigen Samen und austriebsfähigen Pflanzenteilen maximal 2 pro Liter Prüfsubstrat