

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für biologische Schädlingsbekämpfung, Darmstadt

## Über das natürliche Vorkommen von *Bacillus thuringiensis* in Getreide und Getreideprodukten im Hinblick auf eine mikrobiologische Bekämpfung von Mehlmotten (*Phycitidae*) im Vorratsschutz

On the natural occurrence of *Bacillus thuringiensis* in grain and grain products with respect to the microbial control of flour moths (*Phycitidae*) in stored products

Von A. Krieg

### Zusammenfassung

Zur Bekämpfung von Mehlmotten (*Phycitidae*, Lep.) in Getreidelägern stellt *Bacillus thuringiensis* eine Alternative zu chemischen Insektiziden dar. Hygienische Bedenken gegen eine derartige Anwendung mögen von der Überzeugung getragen sein, daß jede mikrobielle Kontamination von Lebensmitteln so klein wie möglich gehalten werden sollte. Entsprechende Vorbehalte sind jedoch nur dann überzeugend, wenn durch eine mikrobiologische Behandlung die Zahl von relevanten Mikroorganismen unvertretbar stark erhöht wird. – Befunde über die natürliche Kontamination von Getreide und Getreideprodukten sind daher für lebensmittelhygienische Überlegungen wichtig. Nach unseren Ergebnissen lag die Kontaminationsrate bei einheimischem Getreide zwischen  $3,6 \times 10^5$  und  $2,4 \times 10^7$  Bakterien/g und bei einheimischen Getreideprodukten zwischen  $0,6 \times 10^5$  Bakterien/g Weizenmehl als Minimum und  $1,1 \times 10^8$  Bakterien/g Roggenkleie als Maximum. Der Anteil an Sporenbildnern beträgt dabei meist weniger als 1 %. Bei Weizenmehl aus Ägypten mit einer Keimzahl von  $1,9 \times 10^6$  Bakterien/g lag der Sporenbildneranteil wesentlich höher und erreichte 10 %. Neben *B. cereus* wurde auch *B. thuringiensis* aus Getreideprodukten isoliert. – Eine Kalkulation über die Beeinflussung des Kontaminationsgrades von Getreideprodukten infolge einer Behandlung von lagerndem Getreide mit *B. thuringiensis* wird vorgelegt, und die lebensmittelhygienischen Konsequenzen einer solchen Anwendung werden diskutiert sowie Methoden zur Reduzierung des Gehaltes an lebenden Sporen in bestimmten Getreideprodukten erwähnt.

### Abstract

The application of *Bacillus thuringiensis* is a useful alternative to chemical insecticides for control of lepidopterous pests (*Phycitidae*) in stored grain. The discussion on the microbial control in this area may be influenced by the statement that any contamination of food has to be minimized. However, problems may only arise if the number of relevant microorganisms is increased in a disproportionate manner. Therefore data on the natural contamination rate of cereals may be helpful for safety considerations. Our results revealed a contamination rate of native cereals (samples from the Federal Republic of Germany) of about  $3,6 \times 10^5$  to  $2,4 \times 10^7$  bacteria/g grain and about  $0,6 \times 10^5$  to  $1,1 \times 10^8$  bacteria/g grain products, of which the percen-

tage of spore-formers was lower than 1 per cent. In wheat flour from Egypt with a contamination rate of  $1,9 \times 10^6$  bacteria/g, the percentage of spore formers was higher and reached 10 per cent. Besides *B. cereus* also *B. thuringiensis* could be isolated from grain products. – A calculation is submitted on the influence of one application of *B. thuringiensis* to stored grain on the contamination level of grain products. Safety aspects of an application of *B. thuringiensis* on grain under warehouse conditions are discussed as well as methods mentioned which are useful to reduce the active spore content of special grain products.

### Einleitung

Der *Bacillus thuringiensis* (= *B. t.*) wurde 1911 als Erreger der Schlauffsucht von Raupen der Mehlmotte (*Ephestia [Anagasta] kuehniella*) von BERLINER erstmals beschrieben. Später wurde dann *B. t.* aus einer Reihe weiterer Insekten isoliert und seine Pathogenität für etwa 200 Lepidopteren-Arten nachgewiesen (vgl. KRIEG 1961, 1967; KRIEG u. LANGENBRUCH 1981). Inzwischen wird *B. t.* gegen mehr als 50 Arten von Schadraupen im Freiland weltweit mit Erfolg angewandt. Der Bedarf in der Land- und Forstwirtschaft und die entsprechende jährliche Weltproduktion hat inzwischen die 1000-t-Grenze überschritten. Die wichtigste Indikation für *B. t.* in der Bundesrepublik Deutschland ist z. Z. die Bekämpfung des Maiszünslers (*Ostrinia nubilalis*) im Maisanbau (vgl. LANGENBRUCH, 1976, 1979).

In einer vorausgehenden Arbeit (KRIEG, 1981) war über die Pathologie und Epidemiologie der *B. t.*-Infektion von Mehlmotten (*Phycitidae*) berichtet worden und in diesem Zusammenhang auch erstmals über das Vorkommen von *B. t.* in einer Mehlprobe (aus einer Mühle in Alt-Kairo). Im Mittelpunkt der vorliegenden Arbeit steht das natürliche Vorkommen von *B. t.* in deutschem Getreide und Getreideprodukten. Entsprechende Erhebungen erscheinen wichtig im Zusammenhang mit lebensmittelhygienischen Fragen bei der Bekämpfung von Mehlmotten in Getreidelägern mit *B. t.*

### Bisherige Bekämpfungsversuche

Schon BERLINER (1915) erwog die Verwendung von *B. t.* zur biologischen Bekämpfung der Mehlmotte. Entsprechende

Vorversuche im Laboratorium stellte dann MATTES (1927) an. Den Mißerfolg seiner Experimente erklärte der Autor damit, daß er mit Raupen in Gespinsten arbeitete, die bei seiner Behandlungsmethode von dem Sporenpräparat schlecht erreicht wurden. – Aus heutiger Sicht ist allerdings zu bemerken, daß die in Gespinsten lebenden Altraupen auch infolge der bekannten Alterstoleranz schon relativ unempfindlich gegenüber *B. t.* sind (vgl. KRIEG, 1981).

Bei späteren Laboruntersuchungen von JAKOB (1951), BURGESS u. CAMMELL (1962), YAMVRIAS (1962), KRIEG (1964), VAN DER LAAN u. WASSINK (1964) u. a. wurde deshalb versucht, durch Zumischung von *B. t.*-Präparaten zum Mehl den Entwicklungszyklus von *E. kühniella* bereits im hochempfindlichen Eiraupe-Stadium zu unterbrechen. Die dazu benutzten Präparate auf der Basis von *B. t.* var. *thuringiensis* (Serotyp H-1) bzw. var. *alesti* (Serotyp H-3a) bewirkten eine nahezu 100%ige Mortalität bei Zumischung von 0,1–0,3%. Entsprechende Ergebnisse erhielt auch MCGAUGHEY mit var. *kurstaki* (Serotyp H-3a, b) bei *Ephesia [Cadra] cautella* und *Plodia interpunctella*.

GOLEBIOWSKA (1964) machte dann erstmals den Vorschlag, die Entwicklung von Mehlmotten-Populationen durch eine Oberflächenbehandlung des Substrats zu verhindern. Bei entsprechenden Laborversuchen mit Präparaten auf der Basis von *B. t.* var. *thuringiensis*, var. *alesti* und var. *galleriae* (Serotyp H-5a,b) erzielte sie eine 53–100%ige Abtötung der Jung-raupen von *E. kühniella*. Ähnliches empfahl MCGAUGHEY (1976) zur Bekämpfung von *E. cautella* und *P. interpunctella* mit var. *kurstaki*.

Erfolgreiche praxisnahe Versuche in Getreidelägern mit kommerziellen Präparaten auf der Basis von *B. t.* var. *kurstaki* wurden dann von SCHMIDT u. WOHLGEMUTH (1979) gegen *P. interpunctella* (1979) in Deutschland<sup>1)</sup> sowie von MCGAUGHEY u. DICKE (1980)<sup>2)</sup> gegen *E. cautella* und *P. interpunctella* in den USA durchgeführt, wobei sich die Oberflächenbehandlung, d. h. das Aufbringen einer *B. t.*-haltigen Schutzschicht auf den Getreidevorrat, für eine Bekämpfung als ausreichend erwies.

### Problemstellung

Im Zusammenhang mit der Bekämpfung von Mehlmotten in ihrem Biotop mit *B. t.* stellt sich zunächst die Frage nach den hygienischen Konsequenzen einer künstlichen Kontamination von Mehl und anderen Getreideprodukten (vgl. BERLINER, 1915). In dieser Hinsicht ist vor allem auch wissenschaftlich, ob nicht *B. t.* und verwandte Sporenbildner bereits natürlicherweise im Getreide und in seinen Mahlprodukten vorkommen. Einen Beitrag zu dieser Diskussion soll die vorliegende Arbeit leisten.

### Material und Methode

Das untersuchte Getreide und die entsprechenden Mahlprodukte deutscher Herkunft stammten von 6 Warenproben aus einer Mühle in Hessen und von 5 Proben aus einer Mühle in Württemberg. Zum Vergleich dienende ägyptische Mehlproben (je eine) stammten von einer Mühle in Alt-Kairo und vom Markt in Kairo<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Präparat Thuricide (0,6–1,0 × 10<sup>10</sup> Sporen + Kristalle/g) Fa. Sandoz, USA

<sup>2)</sup> Präparat Dipel (2,5 × 10<sup>10</sup> Sporen + Kristalle/g) Fa. Abbott, USA

<sup>3)</sup> Für die Überlassung der Proben aus Ägypten sei Herrn Dr. M. M. Matter, National Research Centre, Kairo-Dokki, gedankt.

Unter Verwendung von Phosphatpuffer (pH 7,2) nach SÖRENSEN mit Netzmittelzusatz (2,5% Tween 80) wurden aus Mahlprodukten (Mehl, Kleie) homogene Suspensionen im Verhältnis 1 g/100 ml hergestellt. – Getreideproben (Körner) wurden mit dem gleichen Puffer im Verhältnis 10 g/100 ml aufgeschwemmt und 30 min geschüttelt. Nach dem Absetzen der Körner wurde der 1 : 10 verdünnte Überstand weiterverarbeitet.

Die qualitative bakteriologische Untersuchung erfolgte durch fraktioniertes Ausstreichen auf Platten von Nähragar und anschließender Diagnose der Einzelkolonien. Geprüft wurde auf

- morphologische Eigenschaften (Untersuchung von Ausstrichpräparaten im Phasenkontrast und/oder nach Gramfärbung),
- biochemische Leistungen in der sog. Bunten Reihe und
- serologisches Verhalten (H-Antigen-Agglutinationstest) bei ausgewählten Isolaten<sup>4)</sup>.

Hierzu vgl. BERGEY, 1974; DE BARIAC u. BONNEFOI, 1962; NORRIS, 1964; KRIEG, 1971.

Die quantitative bakteriologische Untersuchung, jeweils mindestens 3 Tests pro Einzelprobe, erfolgte nach dem Kochschen Plattenverfahren bei geeigneten Verdünnungsstufen (10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>). Als Nährboden diente: Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar (OXOID, CM-129). Als leicht angreifbare Kohlehydratquelle fand Glucose (1%ig) und zur besseren Erkennung von Glucose-positiven Tiefenkolonien Neutralrot als pH-Indikator Verwendung. – Zur quantitativen Erfassung der Sporenbildner wurden die Nicht-Sporenbildner in den Proben vor der Kultur durch Erhitzen (10 min bei 85 °C) inaktiviert und später nach Bebrütung die angewachsenen Kolonien auf Sporen- und vor allem auf Kristallbildung mikroskopisch untersucht.

### Ergebnisse

#### A) Getreide und Mahlprodukte aus Deutschland

Die bei der Bearbeitung einheimischer Produkte von Weizen und Roggen sowie deren Mahlprodukte (insgesamt 11 Proben) ermittelten Titerwerte sind in Tabelle 1 dargestellt. Beim Vergleich ergibt sich durch den Mahlprozeß eine gewisse Fraktionierung mit einer Keim-Anreicherung in der Kleie und einer entsprechenden Keim-Verminderung im Mehl. Die Gesamtkeimzahl lag beim Weizen und seinen Mahlprodukten niedriger als beim Roggen. Entsprechend verhielten sich die Sporenzahlen.

Bei der Differentialdiagnose der in Getreide und in Mahlprodukten vorkommenden Sporenbildner fanden sich bei Weizen und Roggen in den Proben aus Hessen insgesamt 9 Isolate aus der *B. cereus*-Gruppe (Hw-1 . . . Hw-4; Hr-1 . . . Hr-5), darunter 5 *B. t.*-Isolate, die alle einer Varietät angehörten.

Aus entsprechenden Proben aus Württemberg wurden ebenfalls 9 Isolate (Ww-1 . . . Ww-3; Wr-1 . . . Wr-6) erhalten, darunter 4 *B. t.*-Isolate, die 2 verschiedenen Varietäten zugeordnet wurden: vgl. Tabelle 2.

#### B) Ausländisches Mehl

Hier standen leider keine Proben des Ausgangsgetreides zur Verfügung, sondern nur solche von Mehl (2 Proben) aus ägyptischem Weizen.

Der Kontaminationsgrad lag bei Mehl aus Alt-Kairo bei 1,9 × 10<sup>6</sup> Keimen/g und 2,0 × 10<sup>5</sup> Sporen/g und bei dem Mehl vom Markt in Kairo bei 0,2 × 10<sup>6</sup> Keimen/g und 1,8 × 10<sup>4</sup> Sporen/g.

Differentialdiagnostisch fanden sich 4 Isolate aus der *B. cereus*-Gruppe, darunter 2 Varietäten von *B. t.*; vgl. Tabelle 2.

<sup>4)</sup> Dr. H. DE BARIAC vom Institut Pasteur (Paris) sei für ihre Unterstützung bei der Serodiagnose gedankt.

Tabelle 1. Kontaminationsgrad von einheimischem Getreide und einheimischen Getreideprodukten

Probe	Herkunft	Titer $\times 10^{-6}$ der mesophilen Aerobier (Gesamtkeimzahl)	Titer $\times 10^{-3}$ der aeroben Sporenbildner (Sporenkeimzahl)	Nachweis von <i>Bacillus thuringiensis</i>	
Weizen – Körner	Hessen	2,22	1,02	+	
	Württemberg	0,36	0,15	–	
	Mehl	Hessen	0,42	0,60	+
		Württemberg	0,06	0,85	+
Kleie	Hessen	46,7	29,8	+	
	Württemberg	3,46	18,0	–	
Roggen – Körner	Hessen	18,8	50,7	+	
	Württemberg	23,6	0,54	–	
	Mehl	Hessen	3,26	1,31	–
		Württemberg	0,26	5,68	+
Kleie	Hessen	107,4	762,5	+	

## Diskussion

### 1. Das natürliche Vorkommen von *B. t.* in Getreide und Getreideprodukten

Die Tatsache, daß *B. t.* bisher bevorzugt aus Raupenkadavern von Mehlmotten (Phycitidae) isoliert werden konnte (vgl. BERLINER, 1911; NORRIS, 1964; KRIEG, 1968; VAŇKOVÁ u. PURRINI, 1979, KRIEG, 1981), gibt zu der Annahme Anlaß, daß wohl seit Beginn des Getreide-Anbaus und der -Lagerhaltung vom Menschen *B. t.*-kontaminierte Getreideprodukte konsumiert worden sind.

Um diese Erwartung experimentell zu bestätigen, waren zunächst Proben aus Ägypten untersucht worden, jener traditionsreichen Kornkammer der Welt, in der sich noch heute z. T. recht alte Mühlen in Betrieb befinden. In solchen verhältnismäßig alten Biotopen von Vorratsschädlingen war wohl am

ehesten mit einem natürlichen Auftreten von *B. t.* als Begrenzungsfaktor von Mehlmotten-Populationen zu rechnen und auch mit einem Vorkommen von *B. t.* in den Mahlprodukten. In Proben von Weizenmehl aus einer Mühle in Alt-Kairo lag der Sporengehalt mit  $2 \times 10^5$  Sporen/g relativ hoch und erreichte einen Anteil von etwa 10 % der Gesamtkeimzahl. In diesem Mehl fanden wir erstmals (neben *B. cereus*) auch *B. thuringiensis*, und zwar 2 verschiedene Varietäten (KRIEG, 1981). – Im Vergleich dazu wiesen Proben von vermarktetem Mehl aus Kairo zwar „nur“ einen Gehalt von  $1,8 \times 10^4$  Sporen/g auf; doch entsprach dies wiederum einem Anteil an der Gesamtkeimzahl von etwa 10 %.

Vergleicht man damit den Sporengehalt von Mehlen und Mahlprodukten aus Kanada (als einer der modernen Kornkammern der Welt), so liegt dieser in bezug auf *B. cereus* bei  $1,1-2,7 \times 10^3$ /g, also um 2 bzw. 1 Zehnerpotenz(en) niedri-

Tabelle 2. Isolate der *B. cereus/B. thuringiensis* Gruppe aus Getreide und Getreideprodukten

Isolat	Probe	Herkunft	Produktion Kristalltoxin	Produktion Acetyl-methylcarbinol	Produktion Urease	Abbau Mannit	Abbau Mannose	Abbau Saccharose	Abbau Salicylin	H-Serotyp	Species	Varietät
Ew-1	Weizen-Mehl	Ägypten	+	+	–	–	+	+	+	1	thuringiensis	thuringiensis
Ew-2	Weizen-Mehl	Ägypten	+	+	–	–	–	–	+	5	thuringiensis	galleriae
Ew-3	Weizen-Mehl	Ägypten	–	+	–	–	–	–	–	ND*	cereus	var.
Ew-4	Weizen-Mehl	Ägypten	–	+	–	–	–	+	–	ND	cereus	var.
Hw-1	Weizen-Körner	Hessen	+	+	–	–	–	–	+	5	thuringiensis	galleriae
Hw-2	Weizen-Kleie	Hessen	+	+	–	–	–	–	+	5	thuringiensis	galleriae
Hw-3	Weizen-Mehl	Hessen	+	+	–	–	–	–	+	5	thuringiensis	galleriae
Hw-4	Weizen-Mehl	Hessen	–	+	–	–	–	+	–	ND	cereus	var.
Hr-1	Roggen-Körner	Hessen	+	+	–	–	–	–	+	5	thuringiensis	galleriae
Hr-2	Roggen-Körner	Hessen	–	+	–	–	+	+	–	ND	cereus	mycooides
Hr-3	Roggen-Körner	Hessen	–	+	–	–	+	–	–	ND	cereus	var.
Hr-4	Roggen-Kleie	Hessen	+	+	–	–	–	–	+	5	thuringiensis	galleriae
Hr-5	Roggen-Mehl	Hessen	–	+	–	–	+	+	+	ND	cereus	var.
Ww-1	Weizen-Mehl	Württemberg	–	+	–	–	+	+	–	ND	cereus	var.
Ww-2	Weizen-Mehl	Württemberg	–	+	–	–	+	+	–	ND	cereus	var.
Ww-3	Weizen-Mehl	Württemberg	+	+	–	–	+	+	+	1	thuringiensis	thuringiensis
Wr-1	Roggen-Körner	Württemberg	–	+	–	–	–	+	–	ND	cereus	mycooides
Wr-2	Roggen-Körner	Württemberg	–	+	–	–	–	+	–	ND	cereus	var.
Wr-3	Roggen-Körner	Württemberg	–	+	–	–	+	+	+	ND	cereus	var.
Wr-4	Roggen-Mehl	Württemberg	+	+	–	–	+	+	+	1	thuringiensis	thuringiensis
Wr-5	Roggen-Mehl	Württemberg	+	(+)	–	–	+	+	–	1	thuringiensis	thuringiensis
Wr-6	Roggen-Mehl	Württemberg	+	–	–	–	–	–	–	3	thuringiensis	kurstaki

\*ND = nicht determiniert

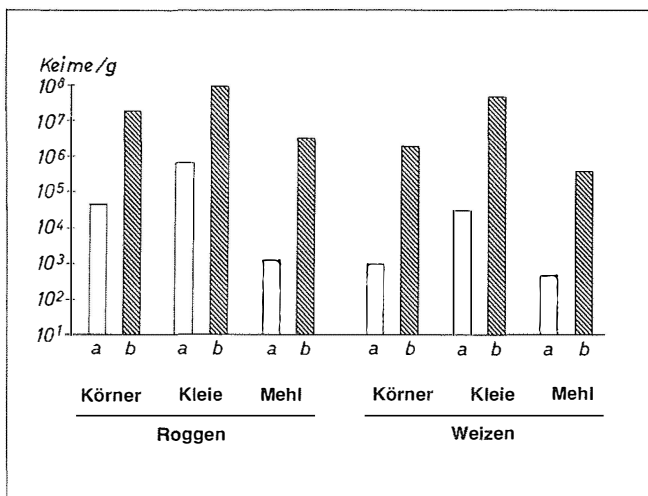


Abb. 1. Keimzahlen von Getreide und Getreideprodukten aus einer Mühle in Hessen. Durchschnitt von jeweils 4 Ermittlungen:  
a) Titer der aeroben Sporenbildner (= Sporenzahl)  
b) Titer der mesophilen Aerobier (= Gesamtkeimzahl)

ger. Diese Angaben stammen von HOLBROOK u. ANDERSON (1980) und wurden an 20 Mehlproben ermittelt.<sup>5)</sup> Da keine Angaben zur Gesamtkeimzahl vorliegen, ist in diesem Falle der relative Sporengehalt nicht abzuschätzen.

Weil der insektenpathogene *B. t.* nur schwer (aufgrund seiner Kristallbildung und ggf. seiner H-Antigene) von *B. cereus* zu differenzieren ist, muß davon ausgegangen werden, daß bei lebensmittelhygienischen Erhebungen (s. o.) das Vorkommen von *B. t.* im allgemeinen nicht erkannt wird.

Eine Arbeit von SPICHER u. ZWINGELBERG (1980), die über die Mikroflora des Getreides und ihr Verhalten beim Mahlprozeß berichtet und sich auf deutsche Verhältnisse bezieht, nennt bakterielle Gesamtkeimzahlen um  $2,5 \times 10^6$  Bakterien/g bei Weizenkörnern. In den Mahlprodukten lag jeweils der Bakteriengehalt von Kleie höher und der von Mehl niedriger. Leider erfolgte in dieser Arbeit keine besondere Erfassung und Differenzierung der Sporenbildner.

Mit den hier vorgelegten Ergebnissen von 6 Warenproben aus einer Mühle bei Darmstadt und von 5 Warenproben aus einer Mühle in Württemberg sollte ein Beitrag zur Beurteilung deutscher Getreideerzeugnisse im Hinblick auf Gesamtkeimzahl und Gehalt an Sporenbildnern geleistet werden. Dabei ergaben sich zunächst hinsichtlich der Gesamtkeimzahl bei Getreidekörnern, Kleie und Mehl übereinstimmende Befunde mit den Resultaten von SPICHER u. ZWINGELBERG. – Was den Sporengehalt betrifft, so lag der von uns in dem deutschen Weizenmehl festgestellte Titer bei  $0,6\text{--}0,9 \times 10^3$  Sporen/g. Er lag damit in vergleichbarer Höhe zu dem der kanadischen Proben, aber wesentlich niedriger als in ägyptischen Mehlen. Aber auch in den deutschen Proben konnte neben Sporenbildnern aus der *B. subtilis/mesentericus*-Gruppe, vor allem *B. cereus* und *B. t.* diagnostiziert werden. Bei Roggenmehl lag der Sporengehalt höher, nämlich bei  $1,3\text{--}5,7 \times 10^3$  Sporen/g. Der Gehalt an Sporenbildnern lag bei Weizenmehl zwischen 0,14 und 1,41 % und bei Roggenmehl zwischen 0,04 und 2,2 % der Gesamtkeimzahl.

<sup>5)</sup> Auch in Proben von pasteurisierter Milch fanden sich vergleichbare Sporenzahlen bezüglich der *B. cereus*-Gruppe, was im Hinblick auf diätetische Zubereitungen hygienisch nicht uninteressant ist!

Die „International Commission on Microbial Specifications for Foods“ nennt als oberste Toleranzgrenze für „diätetische Lebensmittel“  $10^6$  mesophile aerobe Bakterien/g und speziell  $10^4$  *B. cereus*/g. – Während bei deutschem Weizenmehl und bei ägyptischem Weizenmehl vom Kairoer Markt die Gesamtkeimzahl (Bakterien) deutlich unter der Toleranzgrenze lag, wurde dieser Wert bei deutschem Roggenmehl zum Teil erreicht und bei ägyptischem Weizenmehl aus der Mühle von Alt-Kairo deutlich überschritten. Die Zahlen bezüglich Sporenbildnern aus der *B. cereus/B. t.*-Gruppe lagen dagegen bei den deutschen und kanadischen Weizenmehlen unter dem o. g. Limit und nur bei den ägyptischen Mehlen darüber, allerdings bei dem Mehl vom Markt in Kairo nur unwesentlich. Der Sporengehalt des geprüften deutschen Roggenmehls lag zwar deutlich über dem des deutschen Weizenmehls, aber noch unter dem o. g. Limit.

## 2. Kalkulationen über den Sporengehalt von Getreide und Getreideprodukten nach einem Einsatz von *B. t.* gegen Mehlmotten

SCHMIDT u. WOHLGEMUTH (1979) hatten vorgeschlagen, auf das zu schützende Getreide eine 10 cm hohe Deckschicht mit einem Gehalt von  $10^7$  Sporen/g aufzubringen. Wenn man eine Schütthöhe von 5 m annimmt, so entspricht dies bei Umrechnung auf den gesamten Getreidevorrat etwa  $5 \times 10^5$  Sporen/g Getreide.

Damit würde zwar das Toleranz-Limit (s. o.) um eine Zehnerpotenz überschritten, die Gesamtkeimzahl jedoch nicht auffallend geändert.

Nun ist aber zu berücksichtigen, daß während der Verarbeitung des Getreides in Abhängigkeit vom Reinigungs- und Vermahlungsprozeß auch eine gewisse Fraktionierung erfolgt. Dafür sprechen die Befunde von SPICHER u. ZWINGELBERG (1980) sowohl als auch unsere Befunde hinsichtlich des Keimbzw. Sporengehaltes von Getreidekörnern, Kleie und Mehl (Abb. 1).

Weiterhin sind in diesem Zusammenhang Ergebnisse von MCGAUGHEY et al. (1980) aufschlußreich: Durch Behandlung von Weizenkörnern mit 125 mg Dipel/kg (was somit der Konzentration in der Deckschicht nach SCHMIDT u. WOHLGEMUTH entspricht) setzten sie eine künstliche Ausgangskontamination von  $10^7$  *B. t.*-Sporen/g. Nachdem diese Körner aber zu Mehl (entsprechend 71 % des Ausgangsmaterials) verarbeitet worden waren, wies letzteres nur noch einen Gehalt von  $2 \times 10^5$  Sporen/g auf. In diesem Experiment wurde also eine Sporen-Reduktion im Mahlprodukt um 98 % gegenüber der Ausgangskontamination erreicht (in anderen Experimenten von 95–99 %).

Überträgt man diese Erfahrungen auf die Verhältnisse bei der Behandlung von SCHMIDT u. WOHLGEMUTH, so wären – *ceteris paribus* – im Mehl anstatt  $5 \times 10^5$  Sporen/g (s. o.) schließlich weniger als  $10^4$  Sporen/g zu erwarten.

Diese Endkonzentration an Sporenbildnern läge damit bereits im Toleranzbereich für *B. cereus* in „diätetischen Lebensmitteln“ (s. o.). Somit dürfte durch eine Behandlung von lagerndem Getreide mit *B. t.* mit der von MCGAUGHEY (1978), MCGAUGHEY u. DICKE (1980) sowie von SCHMIDT u. WOHLGEMUTH (1979) empfohlenen Methode eine nur schwer nachweisbare und lebensmittelhygienisch kaum relevante Steigerung der mikrobiologischen Kontamination in einheimischen Mehlen zu erwarten sein. Diese Kalkulation fällt natürlich dort noch günstiger aus, wo der Sporengehalt ohnehin höher liegt als in deutschem Mehl.

### 3. Ausblick: Biologische Bekämpfung und moderne Lebensmittelhygiene

Im Zusammenhang mit der Möglichkeit einer mikrobiellen Bekämpfung von Mehlmotten empfahl BERLINER, dem zum Netzen des Getreides vor dem Mahlprozeß benutzten Wasser *B. t.* zuzumischen, um so nicht nur eine Kontamination der Mahlprodukte, sondern auch der Müllereimaschinen zu erreichen. Demgegenüber zielen die derzeitigen Bemühungen vor allem auf einen Einsatz von *B. t.* in Getreidelägern durch Aufbringen in einer Schutzschicht.

Während in diesem Sinne *B. t.* zum Schutz von Vorräten und speziell von Getreide in den USA inzwischen zugelassen wurde<sup>6)</sup>, ist dies in der Bundesrepublik jedoch noch nicht der Fall. Hier sollte aber bei einem Zulassungsverfahren von *B. t.* zur Mehlmotten-Bekämpfung berücksichtigt werden, daß bei Getreideimporten aus den USA in Zukunft mit einer entsprechenden Kontamination durch *B. t.*-Sporen zu rechnen ist.

Da eine nachträgliche Elimination von Sporen aus solchermaßen behandeltem Getreide illusorisch ist, lohnt es sich, zu überlegen, wie man lebensmitteltechnisch den mikrobiologischen Status von bestimmten „diätetischen“ Getreideprodukten (wie z. B. Edelkleie) entscheidend verbessern kann. Hierzu bietet sich neuerdings die Möglichkeit einer  $\gamma$ -Strahlen-Inaktivierung an, wie sie in der Bundesrepublik bereits zur Behandlung von bestimmten Formen von Krankenkost und sogar zur Entkeimung von Kartoffeln zugelassen ist (vgl. TEZEREN, 1981). Unter Berücksichtigung dieser Entwicklung auf dem Gebiet der Lebensmitteltechnologie könnte dem Verlangen, „diätetische“ Getreideprodukte praktisch keimfrei herzustellen, in einer optimalen Form entsprochen werden, ganz unabhängig davon, ob nun *B. t.* zur Schädlingsbekämpfung eingesetzt wird oder nicht.

Für Mehl und andere Mahlprodukte, die zu Backwaren verarbeitet werden, ist ein solcher Aufwand selbstverständlich nicht erforderlich, da die Ofenhitze sowohl die Sporen von *B. t.* als auch von anderen Bazillen inaktiviert (Reduktionsrate ca.  $10^{-4}$ ).

Da alle derzeitigen Bemühungen sowohl in Nordamerika als auch in Europa darauf abzielen, *B. t.* zum Vorratsschutz in Getreidelägern einzusetzen (s. o.), sollte bei der Diskussion über die Rückstandssituation in Erwägung gezogen werden, ob nicht ein gewisser Gehalt an *B. t.* in Mahlprodukten im Sinne von BERLINER mehr Vorteile als Nachteile bringt. Selbst subletale Dosen von *B. t.* können nämlich hemmend auf die Entwicklung von Mehlmotten in Vorräten einwirken.

### Literatur

- AFIFY, A. M. u. M. M. MATTER, 1970. Zunehmende Toleranz (LT-Werte) von *Anagasta kühniella* Z. gegen *Bacillus thuringiensis* mit dem Alter der Larvalentwicklung. Anz. Schädlingskde. **43**, 97–100.
- BARJAC, H. DE, u. A. BONNEFOI, 1962. Essai de classification biochimique et sérologique de 24 souches de *Bacillus* du type *thuringiensis*. Entomophaga **7**, 5–31.
- BARJAC, H. DE u. F. LEMILLE, 1970. Presence of flagellar antigenic subfactor in serotype 3 of *Bacillus thuringiensis*. J. Invert. Path. **15**, 139–140.
- BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology (BUCHANAN, R. E., N. E. GIBBONS, eds.) 8. Aufl., Williams & Wilkens, Baltimore, 1268 pp. 1974.
- BERLINER, E., 1911. Über die Schlarfsucht der Mehlmottenraupe. Zschr. ges. Getreidewesen **3**, 63–70.
- BERLINER, E., 1915. Über die Schlarfsucht der Mehlmottenraupe (*Ephestia kühniella* Zell.) und ihren Erreger *Bacillus thuringiensis*, n. sp. Zschr. angew. Ent. **2**, 29–56.
- BURGES, H. D. u. M. E. CAMMELL, 1962. Tests of *Bacillus thuringiensis* against moth larvae. Pest Infest. Res. (London) p. 13–14.
- GOLEBIEWSKA, Z., 1964. (Effect of environmental factors on efficiency of *Bacillus thuringiensis* microbial insecticide on *Ephestia kühniella* Zeller). Prace nauk. Inst. Ochr. Rośl. **6** (2), 123–144. (Poln.)
- HOLBROOK, R. u. J. M. ANDERSON, 1980. An improved selective and diagnostic medium for the isolation and enumeration of *Bacillus cereus* in foods. Canad. J. Microbiol. **26**, 753–759.
- International Commission on Microbial Specifications for Foods (ICMSF) zit. nach SPICHER, G.: Zur Frage der mikrobiologischen Qualität von Getreidevollkornerzeugnissen. Lebensmittelchemie und gerichtliche Chemie **33**, 103–104, 1979.
- JAKOBS, S. E., 1951. Bacteriological control of the flour moth, *Ephestia kühniella* Z. Proc. Soc. appl. Bact. **13**, 83–91.
- KRIEG, A., 1961. *Bacillus thuringiensis* Berliner. Über seine Biologie, Pathogenie und Anwendung in der biologischen Schädlingsbekämpfung (In memoriam Dr. Ernst Berliner, 1880–1957). Mitt. Biol. Bundesanst. Berlin-Dahlem **103**, 79 pp.
- KRIEG, A., 1964. *Bacillus thuringiensis* Berliner und seine Wirkung auf die Mehlmotte *Anagasta kühniella* (Zell.). Zschr. angew. Zool. **51**, 13–23.
- KRIEG, A., 1967. Neues über *Bacillus thuringiensis* und seine Anwendung. Mitt. Biol. Bundesanst. Berlin-Dahlem **125**, 106 pp.
- KRIEG, A., 1968. Über das Vorkommen verschiedener Varietäten von *Bacillus thuringiensis* in Deutschland. Zbl. Bakt. I. O. **207**, 83–90.
- KRIEG, A., 1971. Use of cryptograms for characterization of strains of *Bacillus thuringiensis*/*B. cereus* group. J. Invertebrate Path. **17**, 297–298.
- KRIEG, A., 1981. Über das Auftreten von *Bacillus thuringiensis* als Krankheitserreger bei Mehlmotten (Phycitidae) mit einem Hinweis auf sein Vorkommen in Getreideprodukten. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. **33**, 129–132.
- KRIEG, A. u. G. A. LANGENBRUCH, 1981. Susceptibility of arthropod species to *Bacillus thuringiensis*. In: BURGES (ed.): "Microbial control of insects, mites and plant diseases" Vol. 2, Academic Press, London, p. 837–896.
- LAAN, P. A. VAN DER u. H. J. M. WASSINK, 1964. Susceptibility of different species of stored-products moth-larvae to *Bacillus thuringiensis*. Entomophaga, Mém. hors Sér. **2**, 315–322.
- LANGENBRUCH, G. A., 1976. Maiszünslerbekämpfung mit *Bacillus thuringiensis*. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. **28**, 148–156.
- LANGENBRUCH, G. A., 1979. Vergleich zweier Spritzgestänge zur biologischen Maiszünslerbekämpfung. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. **31**, 185–189.
- MATTES, O., 1927. Parasitäre Krankheiten der Mehlmotten-Larven und Versuche über ihre Verwendbarkeit als biologisches Bekämpfungsmittel. Sitzungsber. Ges. Beförderung ges. Naturwiss., Marburg, **62**, 382–417.
- MCGAUGHEY, W. H., 1976. *Bacillus thuringiensis* for controlling three species of moth in stored grain. Canad. Entom. **108**, 105–112.
- MCGAUGHEY, W. H., 1978. Effect of larval stage on the susceptibility of Almond moth and Indian meal moth to *Bacillus thuringiensis*. J. econ. Ent. **71**, 923–925.
- MCGAUGHEY, W. H. u. E. B. DICKE, 1980. Methods of applying *Bacillus thuringiensis* to stored corn for moth control. J. econ. Ent. **73**, 228–229.
- MCGAUGHEY, W. H., E. B. DICKE, K. F. FINNEY, L. C. BOLTE u. M. D. SHOGREN, 1980. Spores in dockage and mill fractions of wheat treated with *Bacillus thuringiensis*. J. Econ. Ent. **73**, 775–778.
- NORRIS, J. R., 1964. The classification of *Bacillus thuringiensis*. J. appl. Bact. **27**, 439–447.
- SCHMIDT, H. U. u. R. WOHLGEMUTH, 1979. Ein praxisnaher Versuch zur Ermittlung der Dauerwirkung von *Bacillus thuringiensis* Berliner gegen die Dörrobstmotte *Plodia interpunctella* Hbn. in einem Schüttbodenlager. Anz. Schädlingskde. **52**, 52–56.
- SPICHER, G. u. H. ZWINGELBERG, 1980. Die Mikroflora des Getreides im Reinigungs- und Vermahlungsdiagramm. IV. Mittlg.: Untersuchungen über das Verhalten der Mikroflora im Verlauf der Reinigung und Vermahlung des Getreides. Zbl. Bakt. II. **135**, 313–327.
- TERZEREN, N., 1981. Bestrahlte Kost: Sterilisationsmethode findet Anklang. Selecta **20**, 1592.
- VANKOVÁ, J. u. K. PURRINI, 1979. Natural epizootics caused by bacilli of the species *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus*. Z. Angew. Ent. **88**, 216–221.
- YAMVRIAS, L., 1962. Contribution à l'étude du mode d'action de *Bacillus thuringiensis* Berliner vis à vis la teigne de la farine *Anagasta (Ephestia) kühniella* Zeller (Lépidoptère). Entomophaga **7**, 101–159.

<sup>6)</sup> z. B. „Top Side Dipel“ (Loveland, Ind. Inc., Colorado/USA) lt. EPA Reg. No. 36208-3