

# Mikrobiologische Untersuchungen zur Lagerfähigkeit von Rohdicksaft

## Microbiological studies on the storability of raw thick juice

Birgit Fiedler, Peter-Volker Schmidt und Katrin Kunkel

Rohdicksaft aus Zuckerrüben ist kampagneunabhängig für die verarbeitende Industrie nur verfügbar, wenn ein lagerfähiges Produkt hergestellt wird. Die Lagerfähigkeit des Rohdicksaftes wird bestimmt durch Vermehrung und Stoffwechsel der im Produkt vorhandenen Mikroorganismen. Diese sind abhängig von der Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert), dem pH-Wert, der Lagertemperatur des Rohdicksaftes und der Zahl der Mikroorganismen. Rohdicksaft mit  $a_w$ -Werten  $> 0,88$  (entspricht Trockensubstanzgehalt  $< 67$  g/100 g) sind in der Regel nicht lagerfähig. Bei Lagerungsversuchen von Rohdicksaften mit  $a_w$ -Werten  $\leq 0,88$  war ein pH-Wert von 9 für die Lagerung günstiger als ein pH-Wert von 6, eine Lagertemperatur von 5 °C günstiger als eine solche von 15–20 °C oder 30 °C.

Osmophile Hefen sind im Rohdicksaft als Schadorganismen anzusehen. Sie können sich dort vermehren und sind in der Lage, bei einer Ausgangszellzahl von  $5 \cdot 10^5$  je ml Rohdicksaft mit einem  $a_w$ -Wert von 0,88 und einem pH-Wert von 9 bei 15–20 °C nach 98 Tagen makroskopischen Verderb unter Schaumbildung hervorzurufen. Rohdicksaft, der einen  $a_w$ -Wert von  $\leq 0,88$  und einen pH-Wert von 9 besaß und nicht mehr als  $1 \cdot 10^3$  Mikroorganismen je ml (davon höchstens  $1 \cdot 10^2$  osmophile Hefen) enthält, war bei 15–20 °C über 300 Tage lagerfähig, wenn die Oberfläche alle 3 Wochen mit einer Formalinmenge von 30 g/m<sup>2</sup> besprüht wurde.

Raw thick juice from sugar beets must be storable if it is to be processed after the campaign. The storability of raw thick juice is determined by the proliferation and metabolism of the microorganisms present in the product. These depend on the water activity ( $a_w$  value), pH and storage temperature of the raw thick juice, and the number of microorganisms. Raw thick juice with an  $a_w$  value exceeding 0.88 (equivalent to less than 67% dry substance by weight) is not storable as a rule. In storage tests of raw thick juice with  $a_w$  values  $> 0,88$ , a pH of 9 was found better than a pH of 6, and a temperature of 5 °C better than one of 15–20 °C or 30 °C.

Osmophilic yeasts are to be regarded as harmful in raw thick juice. They can multiply and, with a starting cell population of  $5 \cdot 10^5$  per ml of raw thick juice at an  $a_w$  value of 0.88, pH of 9, and temperature of 15–20 °C, after 98 days can cause macroscopic spoilage with foam formation. Raw thick juice with an  $a_w$  value of  $\leq 0,88$ , pH of 9, and not more than  $1 \cdot 10^3$  microorganisms per ml (of which at most  $1 \cdot 10^2$  osmophilic yeasts) was storable for 300 days at 15–20 °C provided the surface was sprayed every 3 weeks with 30 g/m<sup>2</sup> of formalin.

### 1 Einleitung

Über Herstellung und Verwertung von Rohdicksaft aus Zuckerrüben berichteten bereits Zama et al. [1], Accorsi et al. [2] und Manzke et al. [3]. Eine ständige, kampagneunabhängige Verfügbarkeit dieses Rohstoffes für die verarbeitende Industrie kann nur gewährleistet werden, wenn ein langfristig lagerfähiges Produkt hergestellt wird. Die Lagerfähigkeit von Rohdicksaft wird in erster Linie durch Vermehrung und Stoffwechsel der im Produkt vorhandenen Mikroorganismen bestimmt. Damit verbunden sind chemische Veränderungen, wie der Abbau von Saccharose und die Bildung unerwünschter Verbindungen.

Vermehrung, Wachstum und Stoffwechsel von Mikroorganismen im lagernden Rohdicksaft sind nur möglich in bestimmten Temperaturbereichen, bei günstigen pH-Werten sowie bei einer ausreichenden Versorgung der Organismen mit Wasser, Nährstoffen und Sauerstoff. Die Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert) ist zur Beurteilung der Wachstumsmöglichkeiten von Mikroorganismen besser geeignet als der Trockensubstanzgehalt des Rohdicksaftes. Der  $a_w$ -Wert gibt an, wieviel Wasser die Organismen für ihr Wachstum wirklich nutzen können, d.h. wieviel im Substrat chemisch nicht fest gebunden ist.

Fiedler [4] und Gutknecht et al. [5] zeigten, daß sich der  $a_w$ -Wert, von dem die Lagerfähigkeit eines Substrates abhängig ist, nicht ohne weiteres aus dem Trockensubstanzgehalt zuckerhaltiger Rohstoffe oder Lebensmittel errechnen oder herleiten läßt. Da es sich bei Rohdicksaft – wie er nach dem Eindampfen auf einen definierten Trockensubstanzgehalt und Einstellung des pH-Wertes in Tanks gelagert wird – nicht um ein steriles Produkt handelt, wechselnde Umweltbedingungen vorliegen und die Bildung von Kondenswasser mikrobielles Wachstum an der Oberfläche begünstigen kann, ergeben sich

bei der Entwicklung eines Verfahrens zur Herstellung und Lagerung dieses Saftes aus mikrobiologischer Sicht folgende Problemstellungen:

- Einfluß von  $a_w$ -Wert, pH-Wert und Temperatur des Rohdicksaftes auf die Vermehrung von originär enthaltenen Mikroorganismen während der Lagerung;
- Möglichkeit der Vermehrung inoculierter Schadorganismen im Rohdicksaft bei unterschiedlichen Lagerungsbedingungen;
- Einfluß der Formalinbehandlung der Oberfläche des Rohdicksaftes zur Unterdrückung des Mikroorganismen-Wachstums während der Lagerung.

### 2 Material und Methoden

Rohdicksaft mit unterschiedlichen Trockensubstanzgehalten und pH-Werten wurde in Kunststoffbehältern mit 7,5 l bzw. 5 l Inhalt bei verschiedenen Temperaturen gelagert. Die Behälter waren nur zur Hälfte gefüllt, damit ihr Inhalt vor der Probenahme durch Schütteln homogenisiert werden konnte. Durch den dabei erfolgten Sauerstoffeintrag kann die Entwicklung von Mikroorganismen begünstigt werden sein.

Die Oberfläche des Rohdicksaftes wurde entweder im Abstand von 3 Wochen mit 35%igem Formalin in einer Menge von je 30 g/m<sup>2</sup> besprüht oder unbehandelt belassen. Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich über 300 Tage und war so gewählt, daß Proben für die mikrobiologischen Untersuchungen 16 bis 20 Tage nach dem Besprühen entnommen wurden. Parallel zu den mikrobiologischen Untersuchungen im Abstand von etwa 45 Tagen (Tab. 1) erfolgten chemische Analysen der Rohdicksaftproben durch Rieck [6].

Tabelle 1: Übersicht zu den mikrobiologischen Untersuchungen des Rohdicksaftes

Keimgruppe	verwendetes Nährmedium	Bebrütung	
		Temperatur in °C	Zeit in h
aerobe, mesophile Bakterien	Nähragar	25	48 und 72
schleimbildende Bakterien	Weman-Lorenz-Agar	25	48
Hefen und Schimmelpilze	Sabouraud-Agar	25	48
osmophile Hefen und Schimmelpilze	Sabouraud-Agar mit einem Massenanteil von 50 % Glucose	25	72

Der  $a_w$ -Wert wurde mit dem Meßgerät „humidat IC“ der Firma mawasina (Schweiz) ermittelt.

### 2.1 Lagerung von Rohdicksaft mit unterschiedlichen Trockensubstanzgehalten und pH-Werten

Für die Lagerungsversuche von Rohdicksaft mit unterschiedlichen Trockensubstanzgehalten und pH-Werten bei Temperaturen von  $t_1 = 5^\circ\text{C}$ ,  $t_2 = 15^\circ\text{C}$  und  $t_3 = 25^\circ\text{C}$  wurden die in Tabelle 2 dargestellten Varianten ausgewählt.

### 2.2 Lagerung von Rohdicksaft nach Beimpfung mit unterschiedlichen Mikroorganismen ohne Formalinbehandlung der Oberfläche

Für diese Versuchsreihe wurde Rohdicksaft mit einem  $a_w$ -Wert von 0,88 verwendet. Dieser entsprach einem Trockensubstanzgehalt von etwa 67 g/100 g zu Beginn der Lagerung. Die Rohdicksäfte mit pH-Werten von 6 und 9 wurden bei  $110^\circ\text{C}$  15 min sterilisiert und gezielt mit Mikroorganismen beimpft. Die Lagerung der kontaminierten Proben erfolgte bei Temperaturen von  $t_1 = 5^\circ\text{C}$  und  $t_2 = 15-20^\circ\text{C}$ . In regelmäßigen Abständen wurde eine mikrobiologische Untersuchung entsprechend Tabelle 1 durchgeführt.

Als Inoculum für je 200 ml sterilen Rohdicksaft wurde jeweils 1 ml einer gut bewachsenen Suspension von *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Micrococcus freudenreichii*, *Staphylococcus spec.*, *Zygosaccharomyces rouxii* - LMB 1, *Zygosaccharomyces rouxii* - LMB 2 und *Zygosaccharomyces rouxii* - LMB 32 sowie 1 ml eines Gemisches aus den osmophilen Hefen LMB 1, LMB 2 und LMB 31 eingesetzt.

Für die Untersuchung des Wachstums von Hyphomyceten fand ein Gemisch aus *Aspergillus glaucus*, *Penicillium crysogenum* und *Penicillium notatum* Verwendung. Je 50 ml Rohdicksaft wurden mit 0,1 ml und 0,2 ml des Hyphomyceten-Gemisches beimpft, so daß sich eine Zellzahl von  $2 \cdot 10^4$  bzw.  $4 \cdot 10^4$  je ml Rohdicksaft ergab. Die verwendeten Mikroorganismen-Stämme wurden der Sammlung der Arbeitsgruppe Pflanzliche Lebensmittel des Lehrstuhles Mikrobiologie der Humboldt-Universität zu Berlin entnommen.

### 2.3 Lagerung von Rohdicksaft unter provozierten Bedingungen mit und ohne Formalinbehandlung der Oberfläche im Vergleich zu Dicksaft

In der letzten Versuchsreihe wurde Rohdicksaft mit einem  $a_w$ -Wert von 0,830 (Trockensubstanzgehalt etwa 67 g/100 g) und einem pH-Wert von 9 bei einer Temperatur von  $t = 15^\circ\text{C}$  bis zu 300 Tagen gelagert. Als Vergleich diente eine Probe Dicksaft mit  $a_w$ -Werten von 0,885 und 0,865 (Trockensubstanzgehalt 65 g/100 g) und einem pH-Wert von 10.

Die Hälfte der Proben wurde mit Erde kontaminiert, die neben einem Melassetank gesammelt wurde. Diese Erde enthielt je Gramm  $81 \cdot 10^6$  mesophile aerobe Bakterien und  $1410 \cdot 10^6$  Hefen, davon  $5 \cdot 10^6$  osmophile Hefen.

Das Inoculum betrug 1 g Erde je 1 l Rohdicksaft bzw. Dicksaft. Je-

Tabelle 2: Varianten der Lagerung von Rohdicksaft

Variante	TS-Gehalt $w_{TS}$ in g/100 g	$a_w$ -Wert	pH-Wert	Temp. $t$ in °C	Formalin
1	58	0,920	6 und 9	15	+
2	60	0,930	6	5	+
3	60	0,930	9	15	+
4	67	0,880	6	15, 25	+
5	67	0,880	9	15, 25	+
6	70	0,840	6	15, 25	+
7	72	0,870	6 und 9	15, 25	+

weils eine Hälfte der infizierten und der nichtinfizierten Rohdicksaft-Proben erhielt alle 3 Wochen eine Behandlung der Oberfläche mit 35%igem Formalin in einer Menge von 30 g/m<sup>2</sup>. Die anderen Proben blieben unbehandelt. Dicksaft wurde in jedem Fall mit Formalin behandelt. Alle 45 Tage erfolgte eine mikrobiologische Untersuchung der Proben nach der in Tabelle 1 dargestellten Übersicht.

### 2.4 Einfluß von Formalin auf das Wachstum von Hefen

Der Formalineinfluß auf das Wachstum von Hefen wurde geprüft, indem je 150 ml des in Abschnitt 2.2 aufgeführten Rohdicksaftes mit je 0,1 ml eines Gemisches aus den Hefen LMB 1 und LMB 2 beimpft und bei einer Temperatur von  $t = 20^\circ\text{C}$  gelagert wurden. Die Hälfte der angelegten Proben wurde mit 35%igem Formalin in einer Menge von 30 g/m<sup>2</sup> Oberfläche besprüht und diese Behandlung nach 24 Stunden wiederholt. Anschließend erfolgte alle 48 Stunden die Ermittlung der Zellzahl der inoculierten osmophilen Hefen wie in Tabelle 1 beschrieben.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

### 3.1 Lagerung von Rohdicksaft mit unterschiedlichen $a_w$ -Werten und pH-Werten

Nach Angaben von Rieck [6] und Weise [7] kann Rohdicksaft mit einem Trockensubstanzgehalt  $\geq 67$  g/100 g gelagert werden, ohne zu verderben. Durch die Ermittlung der  $a_w$ -Werte von Rohdicksaft (Tab. 2) und die mikrobiologischen Untersuchungen während der Lagerung können diese Ergebnisse bestätigt werden.

Rohdicksäfte mit einem Trockensubstanzgehalt  $\geq 67$  g/100 g besitzen  $a_w$ -Werte von 0,88 oder darunter. Bei diesen  $a_w$ -Werten werden die meisten Mikroorganismen inhibiert, wie Mossel [8] und Beuchat [9] feststellten. Im  $a_w$ -Wert-Bereich unterhalb 0,88 wachsen - neben einigen, für die Lagerung von Rohdicksaft bedeutungslosen Mikroorganismen - osmophile Hefen sowie einige Hyphomyceten. Letztere benötigen jedoch neben den bereits genannten Bedingungen ausreichend Sauerstoff. Zu beachten ist, daß auch Bakteriensporen  $a_w$ -Werte unterhalb 0,87 überdauern und bei einer späteren Verdünnung des Substrates zu vegetativen Zellen auskeimen können.

Rohdicksaftproben mit  $a_w$ -Werten über 0,88 (Trockensubstanzgehalt  $\leq 62$  g/100 g) verderben in der Regel innerhalb einer Lagerdauer von 42 Tagen. Einzelne Rohdicksaftproben mit einem Trockensubstanzgehalt von 60 g/100 g und einem pH-Wert von 9 lagerten bei Temperaturen von  $t_1 = 5^\circ\text{C}$  und  $t_2 = 15^\circ\text{C}$  280 Tage lang, ohne mikrobiell zu verderben. In diesen Proben wurden zu Beginn der Lagerung keine Mikroorganismen nachgewiesen.

Trotz dieser Ergebnisse stellt die Lagerung von Rohdicksaft mit  $a_w$ -Werten oberhalb 0,88 ein hohes Risiko dar. Der Verderb von Rohdicksaft-Proben mit Trockensubstanzgehalten  $\leq 62$  g/100 g konnte nicht durch niedrige Lagertemperaturen ( $5^\circ\text{C}$ ) oder hohe pH-Werte (9) verzögert werden.

Ursache des Verderbs war die Entwicklung osmophiler Hefen, aber auch sporenbildender Bakterien, Kokken und Hyphomyceten. Schimmelpilze traten in einem Teil der untersuchten Rohdicksaftproben erst auf, als bereits der Verderb durch andere Mikroorganismen nachweisbar war. Die regelmäßige Behandlung der Saftoberfläche mit Formalin und eine begrenzte Sauerstoffversorgung in den

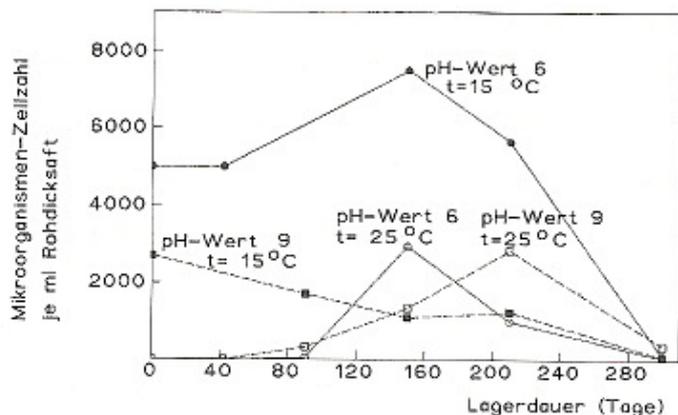


Abb. 1: Entwicklung der Mikroorganismen während der Lagerung von Rohdicksaft ( $a_w$ -Wert 0,88; pH-Wert 6 bzw. 9) bei  $t = 15$  °C und 25 °C und Formalinbehandlung der Oberfläche

Lagerbehältern scheint am wirkungsvollsten gegen Hyphomyceten zu sein.

Die Rohdicksaftproben mit  $a_w$ -Werten  $\leq 0,88$  zeigten erst nach 90 bzw. 150 Tagen einen Anstieg des Hefe- bzw. Bakterienwachstums. Dabei konnte ein Unterschied zwischen den Proben mit einem pH-Wert von 6 und solchen mit einem pH-Wert von 9 festgestellt werden (Abb. 1). Der Anstieg der Zellzahlen und der unterschiedliche Gehalt an Mikroorganismen in den gelagerten Rohdicksäften zeigte sich auch an der Veränderung der reduzierenden Substanzen. Diese stiegen in den Proben mit einem pH-Wert von 6 wesentlich stärker an als in den Proben mit einem pH-Wert von 9 (vgl. [3]). Dieser Anstieg des Gehaltes an reduzierenden Substanzen im Rohdicksaft ist immer erst später zu verzeichnen als der Anstieg des Gehaltes an Mikroorganismen.

### 3.2 Lagerung von Rohdicksaft nach Beimpfung mit unterschiedlichen Mikroorganismen ohne Formalinbehandlung der Oberfläche

Nach der gezielten Kontamination mit verschiedenen Bakterien und osmophilen Hefen zeigte sich bei Rohdicksaftproben mit einem  $a_w$ -Wert von 0,88 und pH-Werten von 6 und 9 sehr deutlich, daß der höhere pH-Wert für die Lagerfähigkeit vorteilhaft ist (Abb. 2). Die Zahl der Mikroorganismen stieg bei einem pH-Wert von 9 bei beiden gewählten Lagertemperaturen ( $t_1 = 5$  °C und  $t_2 = 15-20$  °C) erst wesentlich später wieder an und erreichte auch nach einer Lagerdauer von 200 Tagen nicht die Höhe wie beim pH-Wert von 6. Die pH-

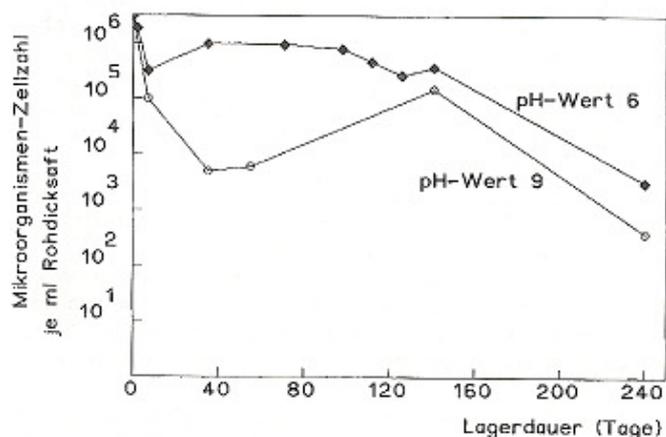


Abb. 2: Entwicklung der Zellzahl inoculierter Mikroorganismen während der Lagerung von Rohdicksaft ( $a_w$ -Wert 0,88; pH-Wert 9 bzw. 6) bei  $t = 15-20$  °C, ohne Formalinbehandlung der Oberfläche

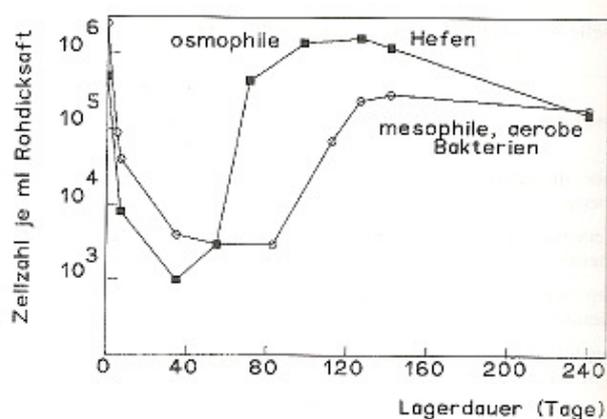


Abb. 3: Entwicklung der Zellzahl mesophiler aerober Bakterien und osmophiler Hefen während der Lagerung von Rohdicksaft ( $a_w$ -Wert 0,88; pH-Wert 9) bei  $t = 15-20$  °C, ohne Formalinbehandlung der Oberfläche

Werte waren nach dieser Zeit bei der Lagertemperatur  $t = 15-20$  °C von 9,0 auf 5,9 und von 6,0 auf 4,8 gesunken.

Bakterien und osmophile Hefen verhalten sich während der Lagerung des Rohdicksaftes unterschiedlich, wie Abbildung 3 verdeutlicht. Während die inoculierten Bakterien im Rohdicksaft mit einem  $a_w$ -Wert von 0,88 und einem pH-Wert von 9 bei den gewählten Lagertemperaturen ( $t_1 = 5$  °C und  $t_2 = 15-20$  °C) auch nach 150 Tagen ihren Ausgangswert nicht wieder erreichen, sind osmophile Hefen als Schädlinge anzusehen. Ihre Ausgangszellzahl von  $5 \cdot 10^5$  je ml Rohdicksaft erreichten sie bei Temperaturen von 15–20 °C bereits nach 60 Tagen wieder und konnten sie um eine weitere Zehnerpotenz erhöhen, so daß der Rohdicksaft nach 98 Tagen makroskopisch verdorben war, was durch Schaumbildung angezeigt wurde. Es ist deshalb darauf zu achten, daß Rohdicksaft bei der Einlagerung nicht mehr als  $1 \cdot 10^2$  osmophile Hefen je ml enthält und auch während der Lagerung eine Kontamination mit diesen Organismen ausgeschlossen wird.

Für die Unterdrückung des Wachstums von Mikroorganismen in lagernden Rohdicksäften sind auch niedrige Temperaturen geeignet. Die Zellzahl der in den Rohdicksaft inoculierten Bakterien und Hefen bleibt konstant oder sinkt sowohl bei einem pH-Wert von 6 als auch bei einem pH-Wert von 9 allmählich ab (Abb. 4).

Eine Lagertemperatur von 5 °C für den Rohdicksaft ist jedoch unter Praxisbedingungen nur in den Wintermonaten erreichbar. Bei höheren Lagertemperaturen (15–20 °C und 30 °C) folgt die Entwicklung der Mikroorganismen im Rohdicksaft der Vermehrungskurve nach Monod [10]. Das bedeutet, daß vor dem Absinken der Zellzahl in der

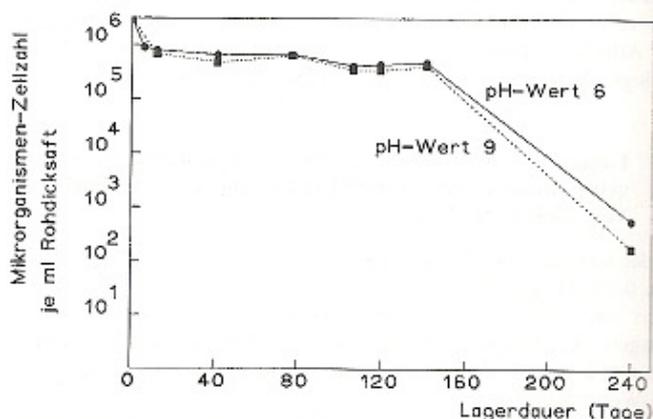


Abb. 4: Entwicklung der Zellzahl inoculierter Mikroorganismen während der Lagerung von Rohdicksaft ( $a_w$ -Wert 0,88; pH-Wert 6 bzw. 9) bei  $t = 5$  °C, ohne Formalinbehandlung der Oberfläche

letalen Phase ein Anstieg gegenüber der Ausgangszellzahl in der Wachstumsphase erfolgt (vgl. Abb. 1).

Der Verderb von Rohdicksäften kann ebenfalls durch Schimmelpilze erfolgen, die sich bei entsprechend günstigen Bedingungen (Temperatur, pH-Wert, Sauerstoff, Kondenswasserbildung) an der Oberfläche des Rohdicksaftes entwickeln. Mit Schimmelpilzen kontaminierte Dicksäfte mit einem Trockensubstanzgehalt zwischen 68 g/100 g und 70 g/100 g und einem pH-Wert von 8,9 verdarben nach 150tägiger Lagerung bei Zimmertemperatur (*Tay-Gun* [11]).

Bei den eigenen Untersuchungen zeigte sich, daß bei einer Einsaat von  $2 \cdot 10^4$  Hyphomyceten je ml Rohdicksaft mit einem  $a_w$ -Wert von 0,88 bei pH-Werten von 6 und 9 sowie Lagertemperaturen von  $t_1 = 5^\circ\text{C}$  und  $t_2 = 15\text{--}20^\circ\text{C}$  nach 90 Tagen noch kein Oberflächenwachstum auftritt. Bei einem Inoculum von  $4 \cdot 10^4$  Hyphomyceten je ml Rohdicksaft und einer Lagertemperatur von  $t = 30^\circ\text{C}$  trat nach 44 Tagen eine makroskopische Veränderung der Oberfläche auf. Das Hyphomyceten-Wachstum war sichtbar und nach 135 Tagen war die gesamte Oberfläche des Rohdicksaftes mit Schimmelpilzen überzogen.

Die Voraussetzungen dafür bildeten ein großer Kopfraum im Lagerbehälter mit ausreichender Sauerstoffversorgung, eine hohe Lagertemperatur, eine sehr hohe Kontamination mit Schimmelpilzen und die fehlende Oberflächenbehandlung des Rohdicksaftes mit Formalin. Durch kleine Kopfräume im Tank, regelmäßige Behandlung der Rohdicksaftoberfläche mit Formalin und Verhinderung von Kontaminationen während der Lagerung kann das Wachstum von Schimmelpilzen auch über eine Lagerdauer von 300 Tagen wirksam unterdrückt werden. Dieses wird durch die Untersuchungsergebnisse der nichtkontaminierten Rohdicksäfte mit einem  $a_w$ -Wert von 0,88 bestätigt (siehe Abschnitt 3.1.).

### 3.3 Lagerung von Rohdicksaft unter provozierten Bedingungen mit und ohne Formalinbehandlung der Oberfläche im Vergleich zu Dicksaft

Die Entwicklung der Mikroorganismen während der Lagerung von Rohdicksaft mit einem  $a_w$ -Wert von 0,83 und einem pH-Wert von 9 sowie Dicksaft bei einer Temperatur von  $t = 15^\circ\text{C}$  zeigt Abbildung 5. Bei allen Proben, mit Ausnahme des nichtinfizierten Dicksaftes,

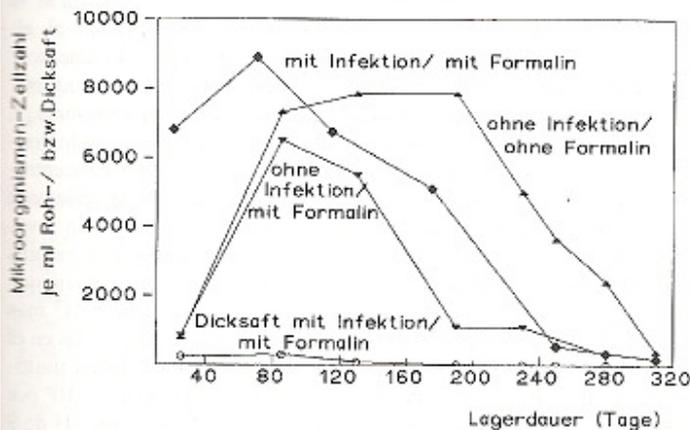


Abb. 5: Entwicklung der Mikroorganismen-Zellzahl während der Lagerung von Rohdicksaft ( $a_w$ -Wert 0,83; pH-Wert 9) und Dicksaft ( $a_w$ -Wert 0,865; pH-Wert 10) bei  $t = 15^\circ\text{C}$ , unter provozierten Bedingungen

stieg der  $a_w$ -Wert während der 300tägigen Lagerung an (Tab. 3). Das kann mit mikrobieller Tätigkeit in Verbindung gebracht werden. In der Dicksaftprobe, ohne gezielte mikrobielle Kontamination, konnten während der gesamten Lagerdauer keine Mikroorganismen nachgewiesen werden.

In Anlehnung an Ergebnisse von *Depolt*, referiert von *Bohn* [12], wird empfohlen, bei der Rohdicksaftlagerung die Oberfläche im Ab-

Tabelle 3: Veränderung der  $a_w$ -Werte von Rohdicksaft und Dicksaft während der Lagerung bei  $t = 15^\circ\text{C}$

Probe	$a_w$ -Werte nach Lagerdauer in Tagen	
	0	300
Rohdicksaft TS-Gehalt $w_{TS} = 67 \text{ g/100 g}$ pH-Wert = 9		
ohne Infektion/ohne Formalin	0,830	0,860
ohne Infektion/mit Formalin	0,830	0,855
mit Infektion/mit Formalin	0,835	0,860
Dicksaft TS-Gehalt $w_{TS} = 65 \text{ g/100 g}$ pH-Wert = 10		
ohne Infektion/mit Formalin	0,885	0,870
mit Infektion/mit Formalin	0,865	0,885

stand von 3 Wochen mit 35%igem Formalin in einer Menge von  $30 \text{ cm}^3/\text{m}^2$  zu behandeln. Da dieses nach 10 Tagen zu 40–50 % und nach 50 Tagen zu 80–85 % abgebaut ist, muß die Behandlung regelmäßig wiederholt werden (*Blümke* [13]). Für Rohdicksaft, der mit einem  $a_w$ -Wert von 0,83 und einem pH-Wert von 9 bei einer Temperatur von  $t = 15^\circ\text{C}$  lagerte, kann bestätigt werden, daß die angegebene Behandlung der Oberfläche mit Formalin die Entwicklung der Mikroorganismen wirksam unterdrückte, und eine Lagerung über 300 Tage ohne nachweisbaren Zuckerverlust ermöglichte [6]. Dabei darf jedoch die Kontamination des Rohdicksaftes zu Beginn der Lagerung nicht zu hoch sein ( $1 \cdot 10^3$  Zellen – davon höchstens  $1 \cdot 10^2$  osmophile Hefen je ml Rohdicksaft).

Bei den Proben, die nicht mit Formalin behandelt wurden, stieg der originäre Organismengehalt um eine Zehnerpotenz im Verlauf einer 100tägigen Lagerung (Abb. 5). Nach einer Lagerdauer  $> 270 \text{ d}$  begann die Hydrolyse eines Teiles der Saccharose. Der Gehalt an reduzierenden Substanzen hatte nach 315 Tagen um  $3,8 \text{ g/100 g}$  Trockensubstanz und nach 360 Tagen um  $13,4 \text{ g/100 g}$  Trockensubstanz zugenommen.

### 3.4 Einfluß von Formalin auf das Wachstum von Hefen

Wie die bisherigen Ausführungen zeigen, kann eine ganzjährige, kampagneunabhängige Verfügbarkeit von Rohdicksaft nur gewährleistet werden, wenn neben der Einstellung des  $a_w$ -Wertes und des pH-Wertes eine regelmäßige Behandlung der Oberfläche mit Formalin erfolgt. Es war zu prüfen, wie lange Mikroorganismen, insbesondere osmophile Hefen, in ihrem Wachstum und Stoffwechsel durch das aufgebrauchte Formalin gehemmt werden können.

Abbildung 6 zeigt, daß die Zellzahl osmophiler Hefen in den Proben, die mit Formalin behandelt wurden, schneller abfiel als in den unbehandelten Proben. Vom 8. Tag an sank der Formalineinfluß und war nach 20 Tagen aufgehoben. Die inoculierten Hefen entwickelten

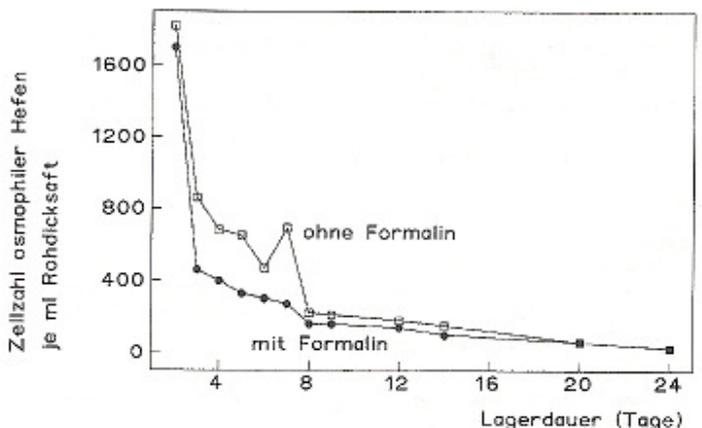


Abb. 6: Einfluß von Formalin auf das Wachstum osmophiler Hefen in Rohdicksaft ( $a_w$ -Wert 0,88; pH-Wert 9) bei  $t = 20^\circ\text{C}$

sich ab diesem Zeitpunkt genauso wie in der Probe ohne Formalinbesprühung. Das bedeutet, daß für die Gewährleistung der Lagerfähigkeit des Rohdicksaftes die Formalinbehandlung nach etwa 20 Tagen wiederholt werden muß, wie es bei den durchgeführten Untersuchungen erfolgte. Wegen der vielen bekannten Nachteile von Formalin sollte geprüft werden, ob für die Gewährleistung der Lagerfähigkeit von Rohdicksaft nicht ein anderes wirksames Desinfektionsmittel eingesetzt werden kann.

Da Rohdicksaft für biotechnologische Synthesen vorgesehen ist, muß ausgeschlossen werden, daß die Mikroorganismen, die diese Synthesen durchführen, durch das Formalin beeinträchtigt werden. Steiner [14] ermittelte bei Versuchen zur mikrobiellen Zellsubstanzsynthese in Nährlösungen, denen unmittelbar bei der Herstellung Formalin in einer Konzentration von 0,05 % zugegeben wurde, den gleichen bioökonomischen Koeffizienten wie bei Proben ohne Formalinzugabe und schlußfolgerte, daß das Besprühen der Oberfläche des Rohdicksaftes mit Formalin die biotechnologischen Prozesse nicht beeinträchtigt. Versuche von Nickisch-Hartfiel und Mauch [15] zur kontinuierlichen Kultivierung von *Saccharomyces cerevisiae* ergaben erst bei einer Formalin-Konzentration von 0,13 % eine inhibierende Wirkung. Solche Konzentrationen werden bei Verwendung von verdünntem Rohdicksaft für biotechnische Synthesen auch dann nicht erreicht, wenn er unmittelbar nach dem Besprühen der Oberfläche mit Formalin genutzt wird.

#### 4 Schlußfolgerungen

Aus den gewonnenen Untersuchungsergebnissen können folgende Schlußfolgerungen gezogen werden:

- Die Lagerfähigkeit von Rohdicksaft wird in erster Linie durch Vermehrung und Stoffwechsel der im Produkt vorhandenen Mikroorganismen bestimmt.
- Vermehrung und Stoffwechsel dieser Organismen sind abhängig von der Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert), dem pH-Wert, der Lagertemperatur, den verfügbaren Nährstoffen und dem im Lagerbehälter vorhandenen Sauerstoff.
- Der  $a_w$ -Wert zeigt an, wieviel Wasser den Organismen für ihr Wachstum zur Verfügung steht und im Substrat nicht bereits chemisch gebunden ist. Er kann nicht direkt aus dem Trockensubstanzgehalt des Rohdicksaftes ermittelt werden.
- Die Lagerung von Rohdicksaft mit einem  $a_w$ -Wert  $> 0,88$  stellt ein hohes mikrobiologisches Risiko dar und wird nicht empfohlen.
- Die Lagerfähigkeit von Rohdicksaft kann nach den ermittelten Untersuchungsergebnissen über 300 Tage gewährleistet werden, wenn folgende Bedingungen erfüllt sind:

$a_w$ -Wert  $\leq 0,88$ ; pH-Wert = 9; Lagertemperatur  $\leq 20$  °C;

Mikroorganismengehalt je ml Rohdicksaft zu keinem Zeitpunkt der Lagerung  $\geq 1 \cdot 10^3$ , davon höchstens  $1 \cdot 10^2$  osmophile Hefen;

Vermeidung mikrobieller Kontaminationen während der Herstellung und Lagerung des Rohdicksaftes – es ist besonders auf osmophile Hefen und Schimmelpilze zu achten;

Regelmäßige Formalinbehandlung der Saftoberfläche (alle 3 Wochen  $30 \text{ g/m}^2$ , 35%ig);

Begrenzung des Sauerstoffeintrags in den Lagerbehälter.

Eingegangen am 8. Oktober 1992

#### Literatur

- 1 Zama, F.; Accorsi, C.A.; Mantovani, G.: *Ind. Sacc. Ital.* 67 (1974) 131–136
- 2 Accorsi, C.A.; Zama, F.; Mantovani, G.: *Ind. Sacc. Ital.* 69 (1976) 145–150
- 3 Manzke, E.; Schmidt, P.-V.; Rieck, R.; Senge, B.; Steiner, B.: *Zuckerind.* 117 (1992) 984–990
- 4 Fiedler, B.: *Lebensmittelind.* 38 (1991) 45–47
- 5 Gutknecht, E.; Held, K.; Fiedler, B.: *Zuckerind.* 117 (1992) 248–253
- 6 Rieck, R.: Herstellung und Lagerung von Rohsaftkonzentrat. Diss. Humboldt-Universität zu Berlin, 1991
- 7 Weise, H.: Forschungsbericht Z.092003. Forschungszentrum Biotechnologie, Berlin
- 8 Mossel, D.A.A.: *J. Appl. Bacteriol.* 34 (1971) 95
- 9 Beuchat, L.R.: *Cereal Foods World* 26 (1981) 345–349

- 10 Müller, G. (Hrsg.): *Wörterbuch der Biologie*. G. Fischer-Verlag, Jena 1980
- 11 Taygun, N.: *Saker* 62 (1967) 36
- 12 Bohn, K.: Dicksaftlagerung. In: Urban, D. (Hrsg.): *Die Zuckerherstellung*. Fachbuchverlag, Leipzig 1984, 637–647
- 13 Blümke, R.: Die Lösung mikrobiologischer Probleme bei der Lagerung von Vorkalkungsstrübe – ein Beitrag zur Einführung eines neuen Verfahrensschrittes bei der Weißzuckerherstellung. Diss., Humboldt-Universität zu Berlin, 1977
- 14 Steiner, B.: Biotechnologische Verwertung von Zwischenprodukten der Rübenverarbeitung. Diss., Humboldt-Universität zu Berlin, 1991
- 15 Nickisch-Hartfiel, A.; Mauch, W.: *Zuckerind.* 109 (1984) 711–714

#### Recherches microbiologiques sur l'aptitude au stockage du jus dense (Résumé)

Le travail du jus dense de betteraves ne peut se faire en dehors de la campagne par une sucrerie disponible que si on fabrique un produit stockable. L'aptitude au stockage du jus dense est déterminée par la multiplication et le métabolisme des microorganismes présents dans le produit. Ceux-ci dépendent de l'activité de l'eau  $a_w$ , du pH, de la température de stockage du jus dense et du nombre de microorganismes. Du jus dense avec des valeurs  $a_w > 0,88$  (ce qui correspond à des teneurs en matières sèches inférieures à 67 g/100 g) sont en règle générale inaptes au stockage. Dans des essais de stockage de jus dense à des valeurs  $a_w$  inférieures ou égales à 0,88 un pH de 9 s'est montré favorable qu'un pH de 6 et une température de stockage de 5 °C plus favorable que des températures de 15–20 °C ou 30 °C. Les levures osmophiles dans le jus dense sont à considérer comme des organismes nuisibles. Elles peuvent s'y multiplier et sont capables avec une population finale de  $5 \cdot 10^5$  par ml de jus dense, avec une valeur de  $a_w$  de 0,88, un pH de 9 à 15–20 °C de provoquer après 98 jours une altération visible à l'oeil nu avec formation de mousse. Du jus dense qui avait une activité  $a_w \leq 0,88$  et un pH de 9 et ne contenait pas plus de  $1 \cdot 10^3$  microorganismes par ml (dont au plus  $1 \cdot 10^2$  levures osmophiles) est resté apte au stockage à 15–20 °C au-delà de 300 jours si on pulvérisait sa surface toutes les trois semaines avec une solution de formol à raison de 30 g/m<sup>2</sup>.

#### Investigaciones microbiológicas acerca de la estabilidad al almacenaje de jugo crudo concentrado (Resumen)

Independientemente de la campaña, el jugo crudo concentrado de remolachas azucareras solamente es disponible para la industria si se elabora un producto estable al almacenaje. La estabilidad al almacenaje del jugo crudo concentrado se determina por el aumento y el metabolismo de los microorganismos presentes en el producto. Los microorganismos dependen de la actividad del agua (valor  $a_w$ ), del valor pH, de la temperatura de almacenaje, del jugo crudo concentrado y del número de microorganismos. Jugos crudos concentrados con valores  $a_w > 0,88$  (equivalente a contenidos de materia seca  $< 67 \text{ g/100 g}$ ) generalmente no son estables al almacenaje. En investigaciones de almacenaje de jugos crudos concentrados con valores  $a_w \leq 0,88$  un valor pH de 9 fue más favorable para el almacenaje que un pH de 6 así como una temperatura de almacenaje de 5 °C más favorable que una de 15–20 °C o de 30 °C. Levaduras osmófilas en el jugo crudo concentrado son organismos dañinos que pueden multiplicarse en el jugo: partiendo de un número de células de  $5 \cdot 10^5$  por ml de jugo crudo concentrado, un valor  $a_w$  de 0,88, un valor pH de 9 y a 15–20 °C pueden producir deterioro macroscópico y formación de espuma después de 98 días. Jugo crudo concentrado con un valor  $a_w \leq 0,88$  y un valor pH de 9 y de no más que  $1 \cdot 10^3$  microorganismos por ml (de éstos maximalmente  $1 \cdot 10^2$  levaduras osmófilas) fue almacenable a 15–20 °C durante más de 300 días si se rociaba la superficie con formalina (30 g/m<sup>2</sup>) cada 3 semanas.

Anschrift der Verfasser: Dr.-Ing. Birgit Fiedler, Dr. sc.techn. Peter-Volker Schmidt und Dipl.-Ing. Katrin Kunkel, Fachbereich Lebensmitteltechnologie der Humboldt-Universität zu Berlin, Invalidenstraße 42, D-10115 Berlin.