

# Nachweis osmophiler/osmotoleranter Hefen als Schadorganismen in Zucker sowie Rohstoffen und Lebensmitteln mit hohem Zuckergehalt

## Detection of osmophilic/osmotolerant yeasts as harmful organisms in sugar as well as in sugar-containing raw materials and foods

Birgit Fiedler

Bei der Zuckerverarbeitung und -lagerung sowie bei der Herstellung und Lagerung zuckerreicher Lebensmittel und deren Rohstoffe kommt es immer wieder zum Verderb oder zu Schäden durch osmophile/osmotolerante Hefen. Diese werden nicht durch hohe Zuckerkonzentrationen bzw. niedrige Wasseraktivitäten ( $a_w$ -Wert) in ihrem Wachstum behindert. Immer häufiger wird deshalb im Rahmen der Qualitätssicherung der gesonderte Nachweis solcher Hefen gefordert. Sowohl die Nährböden als auch die Verdünnungsflüssigkeiten zum Nachweis osmophiler/osmotoleranter Hefen müssen einen abgesenkten  $a_w$ -Wert besitzen. Dazu können den zum Nachweis von Hefen geeigneten Medien Zucker zugegeben werden. Geeignet ist der Zusatz von 40 g oder 50 g Glucose je 100 g Lösung (Massenanteil 40 % oder 50 %) bzw. 60 g Saccharose je 100 ml Lösung (Volumenanteil 60 %).

Sugar processing and storage as well as the manufacture and storage of sugar-containing foods and their raw materials are susceptible to spoilage or impairment by osmophilic/osmotolerant yeasts whose growth is not impeded by a high sugar concentration or low water activity ( $a_w$  value). In the context of quality assurance, this leads to an increasing demand for separate detection of such yeasts. Both substrates and diluting liquids for the detection of osmophilic/osmotolerant yeasts must possess a reduced  $a_w$  value. For this purpose, sugar can be added to the media suitable for yeast detection. An addition of 40 g or 50 g of glucose per 100 g of solution (40% or 50% of mass) or 60 g of sucrose per 100 ml of solution (60% of volume) is recommended.

### 1 Einleitung

Die durch osmophile Hefen verursachten Schäden bei der Zuckerverarbeitung und -lagerung sowie an zuckerreichen Lebensmitteln und den zu ihrer Herstellung verwendeten Rohstoffen sind vielfältig. Die industriell immer umfangreicher werdende Herstellung und Weiterverarbeitung unterschiedlicher, hochkonzentrierter Zuckerslösungen fördert die Selektion solcher Hefen, die in ihrem Wachstum nicht durch hohen osmotischen Druck und  $a_w$ -Werte (Wasseraktivitäten) unterhalb 0,87 eingeschränkt werden. Derartige als osmophil oder osmotolerant bezeichnete Hefen führen immer häufiger zu Schäden, die man früher nicht für möglich hielt [1]. Durch osmophile/osmotolerante Hefen werden Schäden verursacht wie:

- Verluste beim Raffinieren und Lagern von Zucker und Flüssigzucker [2-6];
- Platzen von Marzipanartikeln und gefüllter Schokolade [7-9];
- Verderb von Marmelade, Konfitüre, Gelee, Fruchtpräserven und Intermediate Moisture Food [10-13];
- Verderb von Salatsauce, Ketchup, Mayonnaise [11, 14];
- Verderb von Trockenfrüchten wie Feigen, Datteln und Aprikosen [7, 15, 16];
- Verderb alkoholfreier Erfrischungsgetränke [17].

Deshalb wird zur Sicherung der Qualität von Lebensmitteln häufig der gesonderte Nachweis dieser Organismengruppe gefordert.

Barnett et al. [18] testeten insgesamt 590 Hefespezies aus 80 Gattungen. Unter anderem untersuchten sie auch das Wachstumsver-

halten der Hefen bei  $a_w$ -Werten von 0,91 und 0,86 und konnten dem in Tabelle 1 dargestellten Ergebnis.

Für den Nachweis osmophiler/osmotoleranter Hefen in zuckerreichen Rohstoffen und Lebensmitteln werden in verschiedenen Untersuchungsvorschriften sehr viele verschiedene Nährmedien und Flüssigkeiten zum Herstellen von Verdünnungsreihen angegeben, die in Tabelle 2 aufgeführt sind.

Es soll ermittelt werden, welche Verdünnungsflüssigkeit und welche Nachweismedien für osmophile/osmotolerante „Zuckerlinge“ am besten geeignet sind und in der täglichen Laborpraxis gehandhabt werden können.

### 2 Material und Methoden

#### 2.1 Material

Für die Untersuchungen sind osmophile Hefestämme benannt worden, die aus zuckerreichen Substraten isoliert wurden und bei  $a_w$ -Werten < 0,86 wachsen konnten:

- *Zygosaccharomyces rouxii* aus verdorbener Aprikosenkonfitüre,
- *Zygosaccharomyces rouxii* aus Flüssigzucker,
- *Pichia pastoris* aus Flüssigzucker,
- *Zygosaccharomyces rouxii* aus Rohrzucker.

Als Substrat zum Nachweis der enthaltenen osmophilen Hefen wurde ein Zuckerbrei, der als Zwischenprodukt bei der enzymatischen Herstellung von Glucose aus Maisstärke anfällt, sowie Rohrzucker benutzt.

#### 2.2 Methoden

##### 2.2.1 Verwendung verschiedener Lösungen zur Herstellung von Verdünnungsreihen zum Nachweis osmophiler Hefen

Von Rohrzucker, der mit den unter 2.1 genannten osmophilen Hefestämmen kontaminiert war, wurden Verdünnungsreihen mit

Tab. 1: Wachstum von Hefen nach Barnett et al. (1990) [18]

Hefespezies insgesamt Zahl der Gattungen	Wachstum auf Hefextrakt-Agar			
	mit 50 % <sup>1</sup> Glucose $a_w$ -Wert 0,91 gesamt eindeutig		mit 60 % <sup>1</sup> Glucose $a_w$ -Wert 0,86 gesamt eindeutig	
590	209	107	80	47
80	aus 41 Gattungen		aus 23 Gattungen	

<sup>1</sup> Massenanteile



Tab. 2: Nährmedien zum Nachweis osmophiler/osmotoleranter Hefen in zuckerreichen Substraten

Quelle	Zusammensetzung		$a_w$ -Wert	pH-Wert	Bebrütung	Verwendung zum Nachweis osmophiler Hefen in
	osmotisch wirksame Substanz	Sonstiges				
Garat-Clement (1980) [19]; Zimmerli (1980) [20]	Glucose 55 % <sup>1</sup>	2,5 % Agar 0,2 % Hefeextrakt 0,1 % KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 0,5 % MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O 0,01 % CaCl <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O	0,890	5,5	28 °C 14 d	Marzipan und zuckerreichen Lebensmitteln
Schweizerischer Obstverband <sup>2</sup>	Glucose 33,3 % <sup>1</sup>	3,3 % Agar 10,0 % Malzextrakt	0,950	5,0	30 °C mind. 2 d	Obstkonzentraten
Int. Fruchtsaftunion; <sup>2</sup> Südzucker AG <sup>3</sup>	Fructose 40 % <sup>1</sup> 60 % <sup>1</sup>	2,0 % Agar 0,5 % Hefeextrakt	0,934		25 °C 5 und 10 d 14 und 28 d	Fruchtsaftkonzentraten unter und über 63 % TS
ICUMSA <sup>2</sup> ; Südzucker AG <sup>3</sup>	Rohrzucker 40 % <sup>1</sup>	1,6 % Agar 0,5 % Hefeextrakt 0,2 % Pepton 0,2 % lösliche Stärke 0,4 % NH <sub>4</sub> Cl 0,1 % Glycerol	0,965	7,0	30 °C 3 d	Zucker und zuckerreichen Lebensmitteln
Institut Fresenius <sup>2</sup> ;	Saccharose 23 %	1,0 % Agar 0,5 % NaCl 200 ml Hefewasser	0,980	4,2–4,4	30 °C 2, 5 und 6 d	alkoholfreien Erfrischungsgetränken, Säften
VDZ <sup>2</sup> ; Südzucker AG <sup>3</sup>	Saccharose 40 % <sup>1</sup>	2,0 % Agar 0,3 % Hefeextrakt 0,1 % (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,1 % MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O 0,2 % KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,965		30 °C 3 d	Zucker und zuckerreichen Lebensmitteln
Baumgart (1993) [23]	Saccharose 60 % <sup>4</sup>	Potato-Dextrose-Agar	0,942	5,2	30 °C 3 bis 5 d	Zucker und Fruchtzubereitungen
Kreger-Van Rij (1987) [24]	Glucose 50 % <sup>1</sup> 60 % <sup>1</sup>	1,5 % Agar 0,5 % Hefeextrakt	0,909	5,7	25 °C bis 28 d	Hefen auf Osmophile
Kreger-Van Rij (1987) [24]	Glucose 5 %	10,0 % NaCl	1,000			Hefen auf Osmophile
Sand (1973) [17]	Honigagar		0,940			zuckerreichen Lebensmitteln
Baumgart/Viregge (1984) [25]	Fructose 75 % <sup>4</sup>		0,900		25 °C	Marzipan
Pichardt (1989) [26]	Saccharose 35 % + Glucose 10 %	Würzeagar			25 °C 3 bis 6	Produkten mit hohem Zuckergehalt
Bernini/ Schmidt-Lorenz (1987) [27]; Baumgart (1993) [23]	Glucose 50 % <sup>1</sup>	Hefeextrakt-Agar	0,909			zuckerreichen Lebensmitteln (geringe Zellzahlen)

<sup>1</sup> Wassermittel, <sup>2</sup> aus Schmidt-Lorenz (1980) [21], <sup>3</sup> aus Handbuch Alkoholfreie Erfrischungsgetränke Teil 1 (1987) [22], <sup>4</sup> Massenkonzentration.

...Lösung (viertelstark) BAG-Nr. 7666 und einem Zusatz von 1,5 % Agar angelegt, parallel dazu mit einer Lösung, die 40 g Glucose je 100 g Lösung (Massenanteil 40 %) sowie 0,075 % Agar enthält. Die einzelnen Verdünnungen wurden mittels Tropfplattenverfahren auf Sabouraud-Agar (Merck Nr. 7662), dem 60 g Saccharose je 100 ml Lösung (Volumenanteil 60 %) zugegeben wurden, gemacht.

Die Auswertung erfolgte nach 48- bzw. 72stündiger Bebrütung bei 25 °C.

### Nachweis osmophiler Hefen in Zuckerlösungen mittels Membranfiltration

Ein Malzextraktbouillon (Merck Nr. 5397), der Glucose zugegeben wurde bis der  $a_w$ -Wert 0,89 betrug, wurde mit dem unter 2.1 genannten osmophilen Hefestamm *Zygosaccharomyces rouxii* aus Bierbrot beimpft. Nach Ermittlung der Zellzahl mittels Thoma-Zählkammer wurden daraus zählbare Verdünnungen mit der gleichen Malzextraktlösung hergestellt. Die einzelnen Verdünnungen wurden filtriert (Membranfilter mit 0,45 µm Porenweite). Nach der Filtration wurde ein Filter mit sterilem Wasser nachgespült, das anschließend. Die Filter wurden blasenfrei auf einen Nährboden aufge-

legt, der wie die o.g. Malzextraktlösung hergestellt war und 1,5 % Agar enthielt. Nach Bebrütung der Filter bei 25 °C wurden nach 72 Stunden die gewachsenen Kolonien ausgezählt.

### 2.2.3 Nachweis osmophiler Hefen auf Nährmedien mit unterschiedlichen $a_w$ -Werten

Von Zuckerbrei, der mit einem Gemisch der unter 2.1 genannten osmophilen Hefestämme kontaminiert war, wurde eine Verdünnungsreihe mit einer Lösung angelegt, die 50 g Glucose/100 g Lösung (Massenanteil 50 %) enthielt. Die Zellzahl der osmophilen Hefen wurde mittels Gußplattenverfahren parallel auf 5 unterschiedlichen Nährmedien bestimmt. Diese enthielten als Grundsubstrat Malzextrakt-Agar (Merck Nr. 5398) und hatten einen pH-Wert von 5,5. Als osmotisch wirksame Substanz wurde Glucose in unterschiedlichen Konzentrationen zugesetzt. Durch den variierenden Anteil an Glucose konnten verschiedene Wasseraktivitäten ( $a_w$ -Werte) in den Nachweismedien erreicht werden.

Die Wasseraktivität wurde mittels Feuchte-/Temperaturregler „Humidat-IC“ und dem dazugehörigen Probensensor enBSK S/N 2553 (novasina) ermittelt.

Folgende Nährmedien wurden miteinander verglichen:



- Nährmedien mit 55 g Glucose/100 g Lösung (Massenanteil 55 %) und  $a_w$ -Wert 0,89, mit und ohne Paraffinölbeschichtung,
  - Nährmedium mit 50 g Glucose/100 g Lösung (Massenanteil 50 %) und  $a_w$ -Wert 0,91,
  - Nährmedien mit 77 g Glucose/100 g Lösung (Massenanteil 77 %) und  $a_w$ -Wert 0,80, mit und ohne Zusatz von 0,1 % OTC.
- Nach Bebrütung der angelegten Petrischalen bei 30 °C für 72 Stunden und weiterer Kontrolle nach 5, 7 und 14 Tagen erfolgte die Auswertung.

### 2.2.4 Nachweis osmophiler/osmotoleranter Hefen auf Nährmedien mit unterschiedlichen Zuckerzusätzen und $a_w$ -Werten

Die unter 2.1. genannten osmophilen Hefestämme wurden in einer Bouillon, die einen Massenanteil von 50 % Rohrzucker enthielt und einen pH-Wert von 5,5 besaß, bei 30 °C angezüchtet. Zum Anlegen der Verdünnungsreihe wurde eine Lösung mit Massenanteilen von 40 % Glucose und 0,075 % Agar verwendet.

Es wurde eine Keimzahlbestimmung mittels Tropfplattenverfahren auf unterschiedlichen Nährmedien durchgeführt. Diese enthielten als Grundsubstrat Sabouraud-Agar (Merck Nr. 7662) und besaßen einen pH-Wert von 5,5:

- Sabouraud-Agar,  $a_w$ -Wert 0,97;
- Sabouraud-Agar mit 50 g Glucose/100 g Lösung (Massenanteil 50 %),  $a_w$ -Wert 0,91;
- Sabouraud-Agar mit 75 g Fructose/100 ml Lösung (Massenkonzentration 75 %),  $a_w$ -Wert 0,90;
- Sabouraud-Agar mit 60 g Saccharose/100 ml Lösung (Massenkonzentration 60 %),  $a_w$ -Wert 0,94.

Die beimpften Petrischalen wurden bei 30 °C für 48 und 72 Stunden bebrütet und ausgewertet.

## 3 Ergebnisse und Diskussion

Abbildung 1 zeigt einen Vergleich zwischen den Zellzahlen osmophiler Hefen, die nachgewiesen wurden, wenn als Verdünnungsflüssigkeit eine Lösung mit einem Massenanteil von 40 % Glucose und eine viertelstarke Ringer-Lösung eingesetzt wird.

Setzt man die Zellzahlen, die mit Verdünnung in Glucose ermittelt werden, gleich 100 %, so wurde bei jeder parallelen Versuchsreihe mit Ringer-Lösung eine geringere Zellzahl osmophiler Hefen ermittelt. Die Differenz konnte wie in Versuch 7 bei über 60 % liegen. Die Hefezellen sterben offensichtlich durch osmotischen Schock ab, wenn sie von einem zuckerreichen Substrat in eine wäßrige Lösung gelangen.

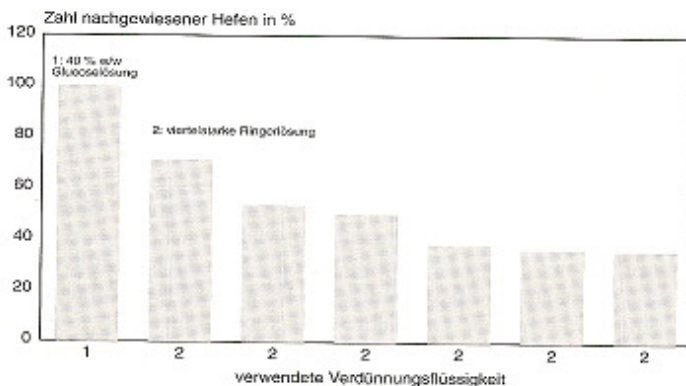


Abb. 1: Verdünnungsflüssigkeit zum Nachweis osmophiler/osmotoleranter Hefen

Als Beweis dafür kann auch Tabelle 3 gelten. Sie zeigt, daß die Spülung eines Membranfilters mit Wasser dazu führt, daß die aus Zuckerlösungen isolierten Hefen in geringerer Zahl anwachsen als auf Vergleichsproben, die ohne Spülung des Membranfilters ange-

Tab. 3: Vergleich der Zellzahl eines osmophilen Stammes von *Zygosaccharomyces rouxii* nach Membranfiltration aus einer Glucoselösung mit einem  $a_w$ -Wert von 0,89 mit und ohne Nachspülen des Filters mit sterilem Wasser

Probe-Nr.	Zellzahl mit Spülung des Membranfilters mit Wasser	Zellzahl ohne Spülung des Membranfilters mit Wasser
1	74 · 10 <sup>4</sup>	125 · 10 <sup>4</sup>
2	85 · 10 <sup>4</sup>	110 · 10 <sup>4</sup>
3	90 · 10 <sup>4</sup>	140 · 10 <sup>4</sup>

legt wurden. Bei der durchgeführten Untersuchung starben 33 % der Hefezellen durch osmotischen Schock ab. Von Mossel und Bax [28] gibt es ähnliche Untersuchungen, die eine Differenz der Zellzahlen osmophiler Hefen von 2 Zehnerpotenzen nachweisen.

Osmophile/osmotolerante Hefen können sich in Zucker und zuckerreichen Substraten im Gegensatz zu anderen Mikroorganismen vermehren und damit große Schäden verursachen. Ein sicherer Nachweis auch von Einzelorganismen ist deshalb sehr wichtig.

Es muß, wie von Baumgart [23] vorgeschlagen, beim Nachweis osmophiler Hefen aus zuckerreichen Substraten als Flüssigkeit zum Anlegen von Verdünnungsreihen, zum Spülen von Membranfiltern sowie zur Herstellung und zum Transport von Tupfern unbedingt eine Zuckerlösung mit einem  $a_w$ -Wert von 0,93 oder niedriger verwendet werden. Geeignet ist eine Lösung, die Massenanteile von 40 % oder 50 % Glucose enthält.

Nach Mossel und Bax [28] sowie Gould und Corry [30] ist eine absolute Selektivität für osmophile/osmotolerante Hefen erst bei  $a_w$ -Werten unterhalb von 0,88 möglich. Solche Hefen benötigen nach

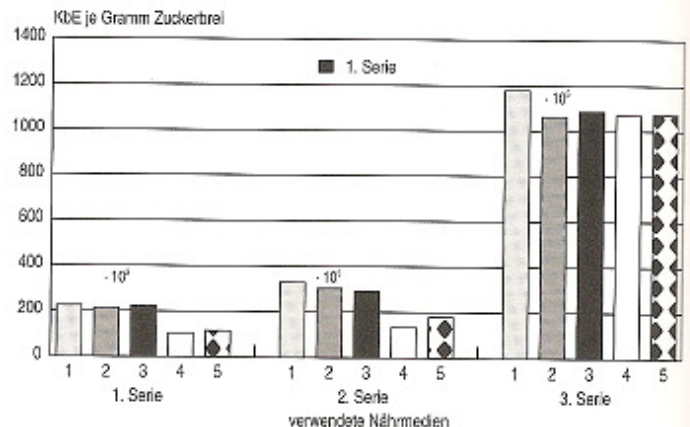


Abb. 2: Nachweis osmophiler Hefen auf Nährmedien mit verschiedenen Wasseraktivitäten durch Zusatz von Glucose 1-5 verwendete Nährmedien mit  $a_w$ -Wert: 1 und 2 = 0,89; 3 = 0,91, 4 und 5 = 0,80

Tab. 4: Prozentualer Anteil nachgewiesener osmophiler Hefen aus Zuckerbrei bei Verwendung von Nährmedien mit unterschiedlichen  $a_w$ -Werten durch Zusatz von Glucose

Nährmedium	1. Serie	2. Serie	3. Serie
1. Nach [29] mit Paraffin $a_w$ -Wert 0,89	100,0	100,0	100,0
2. Nach [29] ohne Paraffin $a_w$ -Wert 0,89	95,0	91,7	90,2
3. 50 % <sup>1</sup> Glucose $a_w$ -Wert 0,91	99,3	88,8	92,2
4. 77 % <sup>1</sup> Glucose ohne OTC $a_w$ -Wert 0,80	46,3	40,6	90,8
5. 77 % <sup>1</sup> Glucose mit 0,1 % OTC $a_w$ -Wert 0,80	51,1	54,4	91,0

<sup>1</sup> Massenanteile



Pitt und Christian [31] sogar Umgebungsbedingungen unter einem  $a_w$ -Wert von 0,85 oder mindestens von 0,865 [32–34].

Abbildung 2 und Tabelle 4 zeigen die auf unterschiedlichen Nährmedien mit  $a_w$ -Werten zwischen 0,91 und 0,80 ermittelten Zellzahlen osmophiler Hefen aus einem Zuckerbrei.

Bei den 3 durchgeführten Versuchsreihen ist zu erkennen, daß die Ergebnisse auf den beiden im Abschnitt 2.2.3 zuerst aufgeführten Nährmedien mit  $a_w$ -Werten von 0,91 und 0,89 gut übereinstimmen. Eine Paraffinölbeschichtung zum Schutz gegen Austrocknung der angelegten Petrischalen, wie sie von Illi und Daepf [29] empfohlen wird, ist nicht notwendig.

Die in Abschnitt 2.2.3 zuletzt aufgeführten Nährmedien mit einem  $a_w$ -Wert von 0,80 zeigen für die osmophilen Hefen nur bei Zellzahlen von  $10^6$ /g Zuckerbrei eine Übereinstimmung mit den anderen verwendeten Medien. Bei geringeren Zellzahlen können nur etwa 50 % der enthaltenen osmophilen Hefen nachgewiesen werden.

Für den Nachweis osmophiler/osmotoleranter Hefen, die schädlich für Zucker und zuckerreiche Substrate sind, sollte der  $a_w$ -Wert des verwendeten Mediums nicht unter 0,89 liegen, da das Wachstum der Hefen eingeschränkt und das Ergebnis verfälscht wird.

Nährmedien mit niedrigeren  $a_w$ -Werten (z.B. 0,80) haben neben der zu geringen Zellzahl an osmophilen Hefen, die nachgewiesen wird, noch einen weiteren Nachteil. Nach 8tägiger Lagerung kristallisiert die enthaltene Glucose aus und der Nährboden ist unbrauchbar. Das gleiche geschieht auch bei der Bebrütung der angelegten Petrischalen. Die Zählung der gewachsenen Kolonien wird erschwert, weil diese von den Zuckerkrystallen nicht sicher zu unterscheiden sind.

Tab. 5: Vergleich der Zellzahl osmophiler Hefen aus Rohrzucker auf Nährmedien mit unterschiedlichen  $a_w$ -Werten durch Zusatz von Glucose, Fructose oder Saccharose

Zellzahl osmophiler Hefen · 10 <sup>6</sup> je Gramm Rohrzucker nachgewiesen auf:			
Sabouraud- Agar mit 60 % <sup>1</sup> Saccharose $a_w$ -Wert 0,94	Sabouraud- Agar mit 50 % <sup>2</sup> Glucose $a_w$ -Wert 0,91	Sabouraud- Agar mit 75 % <sup>1</sup> Fructose $a_w$ -Wert 0,90	Sabouraud- Agar $a_w$ -Wert 0,97
21	20	18	16
22	19	17	21
23	23	20	23
26	25	21	24
27	17	17	14
35	19	19	19
42	30	32	42
58	39	38	57
65	35	40	39
112	74	54	84

<sup>1</sup> Massenkonzentration, <sup>2</sup> Massenanteil.

In der letzten Versuchsreihe, deren Ergebnisse in Tabelle 5 dargestellt sind, wurden Nährmedien zum Nachweis osmophiler Hefen getestet, die  $a_w$ -Werte zwischen 0,90 und 0,95 besaßen, denen aber zur Senkung des  $a_w$ -Wertes entweder Glucose, Fructose oder Saccharose zugesetzt wurde. Es zeigte sich, daß der Zusatz von Saccharose mit einer Massenkonzentration von 60 % wie er von Baumgart [23] vorgeschlagen wird, besser geeignet ist als Fructose oder Glucose, obwohl der  $a_w$ -Wert etwas höher liegt (0,94). Die Saccharose-Nährböden sind klar und durchscheinend. Es gibt bei der Sterilisation keine Karamelisierung des Zuckers und damit keine bräunlichen Verfärbungen wie bei Glucose und Fructose. Diese Verfärbungen erschweren das Auszählen der Kolonien auf den Petrischalen. Wendet man ein Tropfplattenverfahren an, sind die auszuzählenden Kolonien ohnehin klein und liegen räumlich dichter beieinander als bei einem Gußplattenverfahren.

Es konnte auf dem Saccharose-Nährmedium (in Abschnitt 2.2.4 zuletzt genanntes Nährmedium) auch die höchste Zellzahl an osmophilen Hefen nachgewiesen werden (siehe Tab. 5).

## 5 Schlußfolgerungen

Osmophile/osmotolerante Hefen können im Gegensatz zu anderen Mikroorganismen in Zucker und zuckerreichen Rohstoffen und Lebensmitteln zur Vermehrung gelangen und damit große Schäden verursachen.

Die für den Nachweis von Hefen in Untersuchungsvorschriften angegebenen und industriell hergestellten Nährböden und Verdünnungsflüssigkeiten können für osmophile/osmotolerante zucker-schädigende Hefen nicht angewendet werden.

Osmophile/osmotolerante Hefen unterliegen beim Übergang von zuckerreichen Substraten in wäßrige Lösungen sehr schnell einem osmotischen Schock, sterben ab und können nicht mehr nachgewiesen werden.

Bei der Untersuchung von Zucker, zuckerreichen Rohstoffen und Lebensmitteln auf osmophile/osmotolerante Hefen muß folgendes beachtet werden:

- Flüssigkeiten zum Anlegen von Verdünnungsreihen, zum Spülen von Membranfiltern, zum Anlegen und Transportieren von Tupferproben u.ä. sollten  $a_w$ -Werte von 0,93 oder darunter besitzen. Sehr gut geeignet sind sterile Glucoselösungen mit 40 g oder 50 g des Zuckers in 100 g Lösung (Massenanteil 40 oder 50 %).
- Für die Ermittlung der Zellzahl osmophiler/osmotoleranter Hefen mittels Gußplatten- oder Tropfplattenverfahren müssen Nährmedien mit abgesenktem  $a_w$ -Wert eingesetzt werden. Die Absenkung der Wasseraktivität kann durch Zusatz von Zucker (z.B. Glucose, Saccharose) zu den für den Nachweis von Hefen üblichen Nährmedien erfolgen.
- Der  $a_w$ -Wert des Nachweismediums soll nicht unter 0,89 liegen, da sonst das Wachstum der Hefen eingeschränkt wird und sich ein verfälschtes Ergebnis zeigt.
- Günstig ist eine Wasseraktivität des Nachweismediums für osmophile/osmotolerante Hefen zwischen 0,89 und 0,94. Eine Abgrenzung zu normalen Hefen ist dabei möglich und alle „Zuckerschädlinge“ werden erfaßt.
- Geeignet sind Nährböden mit einem Massenanteil von 50 % Glucose ( $a_w$ -Wert 0,91) oder einer Massenkonzentration von 60 % Saccharose ( $a_w$ -Wert 0,94).
- Bei der Anwendung eines Tropfplattenverfahrens sollte in jedem Fall ein Nährmedium mit Saccharosezusatz verwendet werden. Der klare, durchscheinende Nährboden ermöglicht eine unkomplizierte Auszählung der gewachsenen Kolonien. Bei einem Zusatz von Glucose erhält man nach der Sterilisation leicht bräunlich gefärbte Nährböden.

## Literatur

- 1 Windisch, S.: Nachweis und Wirkung von Hefen in zuckerhaltigen Lebensmitteln. *Alimenta* (1977/78) 23–29
- 2 Devillers, P.: Ursprung mikrobiologischer Kontamination des Zuckers. *Ind. alim. agric.* 80 (1963) 705–713
- 3 Goodacre, B.C.: Zuckerverluste bei Raffinerieprozessen. *Sucr. Belge* 100 (1981) 95–103
- 4 Gutknecht, E.: Zusammenhang zwischen Qualität des Rohrohrzuckers und der Verarbeitungsfähigkeit bei der Umarbeitung. Diss. Humboldt-Universität zu Berlin, 1984
- 5 Schara, A.: Die Lagerung von Zuckersirup aus mikrobiologischer Sicht. *Erfrischungsgetränk* 21 (1968) 908–914
- 6 Kelm, W.: Flüssige Zucker – Rohstoff und Halbfabrikate für die Getränkeindustrie. *Mineralbrunnen* 26 (1976) 336–337
- 7 Leveau, J.; Boutix, M.: Untersuchungen über extreme Wachstumsbedingungen osmophiler Hefen. *Ind. alim. agric.* 96 (1979) 1147–1151
- 8 Windisch, S.; Neumann, I.: Über die „Wasserflecken“ des Marzipans und ihre Entstehung. *Z. Lebensm.-Unters. u. Forsch.* 129 (1965) 9–16
- 9 Blaschke-Hellmessen, R.; Teuschel, G.: *Saccharomyces rouxi* Boutroux als Ursache von Gärungserscheinungen in geformten Marzipan- und Persipanartikeln und deren Verhütung im Herstellerbetrieb. *Nahrung* 14 (1970) 249–267
- 10 Maltschewsky, N.: Über den Verderb von Obstdauerwaren durch Schimmelpilze. *Z. Lebensm.-Unters. u. Forsch.* 102 (1955) 172–185
- 11 Thomas, D.S.; Davenport, R.R.: *Zygosaccharomyces bailii* – a profile characteristics and spoilage activities. *Food Microbiol.* (1985) 157–169
- 12 Jermini, M.; Schmidt-Lorenz, W.: Wachstum von osmotoleranten Hefen bei verschiedenen  $a_w$ -Werten. *J. Food Prot.* 50 (1987) 404–410
- 13 Bhajekar, D.V.; Kulkarni, P.R.: Osmotolerant yeasts isolates from fruit preserves. *Nahrung* 35 (1991) 99–101
- 14 Meyer, R.S.; Grant, M.A.; Luedecke, L.O.; Leung, H.K.: Effects of pH and water