



universität
wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Beeinflussung der Milchsäurebildung
während der Maisquellung
durch
natürliche Biostabilisatoren“

Verfasserin

Christine Staudigl

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer. nat.)

Wien, 2012

Studienkennzahl lt. Studienblatt

A474

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Ernährungswissenschaften

Betreuer:

Ao. Univ. Prof. DI Dr. Emmerich Berghofer

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. DI Dr.Emmerich Berghofer vom Institut für Lebensmitteltechnologie der Universität für Bodenkultur Wien für die Korrektur meiner Diplomarbeit.

Besonderen Dank gebührt DI Dr.Walter Hein, dem Leiter der Abteilung Zuckertechnologie der Zuckerforschung Tulln für die wissenschaftliche Betreuung.

Weiters möchte ich mich bei DI Dr. Florian Emerstorfer für die zahlreichen Hilfestellungen, Korrekturen und Ratschläge bedanken.

Meiner Studienkollegin, Frau Mag. DI Silke Zinsberger danke ich ganz besonders für die schönen sowie harten Stunden während meines Studiums.

Einen großen Dank gebührt meiner Mutter Aloisia Huber und meinen verstorbenen Vater Hilmar Huber die mir die Ausbildung ermöglicht haben. Meiner Mutter danke ich besonders weil sie mich immer wieder motiviert hat.

Ganz herzlich möchte ich mich bei meiner Schwester Maria und ihrer Familie bedanken, die mir eine sehr große Hilfe waren.

Mein größter Dank gebührt meinem Mann Benedikt und meiner Tochter Nina, die den Endspurt meines Studiums mit mir gemeinsam absolviert haben und mich mit sehr viel Geduld unterstützt haben.

INHALTSVERZEICHNIS

<u>TABELLENVERZEICHNIS</u>	<u>V</u>
---	-----------------

<u>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</u>	<u>VI</u>
--	------------------

<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</u>	<u>VIII</u>
---	--------------------

<u>1 EINLEITUNG</u>	<u>1</u>
----------------------------------	-----------------

<u>2 LITERATURÜBERSICHT</u>	<u>2</u>
--	-----------------

2.1 MAIS (<i>ZEA MAYS L.</i>)	2
--	----------

2.1.1 ALLGEMEINES.....	2
------------------------	---

2.1.2 MAISKORNAUFBAU.....	3
---------------------------	---

2.1.3 VERWENDUNG VON MAIS BZW. MAISSTÄRKE	4
---	---

2.2 MAISSTÄRKEHERSTELLUNG	4
--	----------

2.2.1 MAISANLIEFERUNG/MAISREINIGUNG	5
---	---

2.2.2 MAISQUELLUNG	6
--------------------------	---

2.2.2.1 Quellverfahren	6
------------------------------	---

2.2.2.2 Maisquellwasser	8
-------------------------------	---

2.2.2.3 Einfluss von Milchsäure und Sulfit.....	8
---	---

2.2.3 KEIMABTRENNUNG.....	10
---------------------------	----

2.2.4 FASERABTRENNUNG	10
-----------------------------	----

2.2.5 GLUTENABTRENNUNG UND TROCKNUNG	11
--	----

2.2.6 STÄRKERAFFINATION	11
-------------------------------	----

2.2.7 STÄRKEENTWÄSSERUNG UND –TROCKNUNG	12
---	----

2.3 STÄRKE	12
-------------------------	-----------

2.3.1 GESCHICHTE DER STÄRKE	12
-----------------------------------	----

2.3.2 CHEMISCHEN AUFBAU DER STÄRKE.....	12
---	----

2.4 MIKROBIOLOGIE DER MILCHSÄUREGÄRUNG.....	13
--	-----------

<u>3 NATÜRLICHE BIOSTABILISATOREN</u>	<u>15</u>
--	------------------

3.1	DEFINITION, ENTDECKUNG UND ANWENDUNG NATÜRLICHER BIOSTABILISATOREN	15
3.2	HOPFENCHEMIE UND HOPFENPRODUKTE	17
3.2.1	HUMULONE ODER A-SÄUREN	17
3.2.2	LUPULONE ODER B-SÄUREN	17
3.2.3	ISO-A-SÄUREN.....	18
3.2.4	TETRAHYDROISO-A-SÄUREN.....	18
4	<u>AUFGABENSTELLUNG</u>	20
5	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	21
5.1	MATERIAL	21
5.1.1	TROCKENMAIS.....	21
5.1.2	QUELLWASSER.....	21
5.1.3	LIGHT STEEP LIQUOR.....	22
5.1.4	CORN STEEP LIQUOR.....	22
5.1.5	MRS-BOUILLON	22
5.1.6	NATRIUMBISULFIT	22
5.1.7	BIOSTABILISATORLÖSUNGEN	22
5.1.8	GERÄTE FÜR DIE MAISQUELLUNG IM LABORMAßSTAB	23
5.1.9	GERÄTE FÜR DIE VERSUCHE IN DER PILOTANLAGE.....	23
5.1.9.1	Quellung	23
5.1.9.2	Grobvermahlung	24
5.1.9.3	Feinvermahlung	24
5.1.9.4	Keimabtrennung.....	24
5.1.9.5	Extraktion.....	24
5.1.9.6	Feinfaserabtrennung.....	24
5.1.9.7	Kleberabtrennung, Konzentration, Raffination	24
5.1.9.8	Entwässerung	24
5.1.9.9	Trockner.....	24
5.1.9.10	Fördermedien und Zwischenbehälter	24
5.2	ANALYSENMETHODEN.....	26
5.2.1	BESTIMMUNG DES PH-WERTES	26
5.2.2	BESTIMMUNG VON L-MILCHSÄURE MITTELS YSI ANALYSATOR	27
5.2.3	BESTIMMUNG VON L-MILCHSÄURE MITTELS ENZYMATISCHE METHODE	28
5.2.4	BESTIMMUNG DER D-MILCHSÄURE MITTELS ENZYMATISCHER METHODE	33
5.2.5	BESTIMMUNG VON ETHANOL UND ACETAT MITTELS HPLC.....	38
5.2.6	BESTIMMUNG DER DICHTEN.....	41

5.2.7	PILOTVERSUCHE MAISTÄRKEHERSTELLUNG	41
6	<u>ENTWICKLUNG DES VERSUCHSMODELLS</u>	42
6.1	UNTERSUCHUNGEN ZUR ERARBEITUNG DES VERSUCHSMODELLS	42
6.2	VORVERSUCHE QUELLWASSER.....	43
6.2.1	VORVERSUCHSBEDINGUNGEN	43
6.2.2	VORVERSUCHSERGEBNISSE	44
6.2.2.1	Versuch I.....	44
6.2.2.2	Versuch II.....	45
6.2.2.3	Versuch III.....	46
6.2.2.4	Versuch IV	47
6.3	VORVERSUCH VORKULTUR	48
6.4	ZUSAMMENFASSUNG - VORVERSUCHE.....	49
6.5	GEWÄHLTES VERSUCHSMODELL UND ABGELEITETE VERSUCHE.....	49
7	<u>VERSUCHSDURCHFÜHRUNG</u>	52
7.1	HAUPTVERSUCHE - BIOSTABILISATOREN	53
7.2	HAUPTVERSUCHE - SULFIT.....	54
7.3	HAUPTVERSUCHE - SULFIT UND BIOSTABILISATOREN.....	55
7.4	HAUPTVERSUCHE - SULFIT UND BIOSTABILISATOREN - VARIATION DES ZUGABEZITPUNKTS 56	
7.5	PILOTVERSUCHE	57
7.5.1	PILOTANLAGE	57
7.5.1.1	Zugabe von Biostabilisatoren zum Quellwasser	58
7.5.1.2	Quellung	58
7.5.1.3	Grobvermahlung	59
7.5.1.4	Keimlingabtrennung	59
7.5.1.5	Feinvermahlung	59
7.5.1.6	Kleberabtrennung.....	59
7.5.1.7	Aufkonzentrierung und Raffination	60
7.5.1.8	Entwässerung und Trocknung.....	60
8	<u>ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....</u>	61
8.1	ERGEBNISSE DER HAUPTVERSUCHE - BIOSTABILISATOREN	61
8.1.1	PH-WERT-VERLAUF.....	61

8.1.2	MILCHSÄUREKONZENTRATIONSVORLAUF	63
8.1.3	ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONSVORLAUF	68
8.2	ERGEBNISSE HAUPTVERSUCHE - SULFIT.....	71
8.2.1	PH-WERT-VORLAUF.....	71
8.2.2	MILCHSÄUREKONZENTRATIONSVORLAUF	73
8.2.3	ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONSVORLAUF	74
8.3	ERGEBNISSE HAUPTVERSUCHE – SULFIT UND BIOSTABILISATOREN.....	75
8.3.1	PH-WERT-VORLAUF.....	75
8.3.2	MILCHSÄUREKONZENTRATIONSVORLAUF	78
8.3.3	ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONSVORLAUF	82
8.4	ERGEBNISSE HAUPTVERSUCHE – SULFIT UND BIOSTABILISATOREN – VARIATION DES ZUGABEZEITPUNKTS	85
8.4.1	PH-WERT-VORLAUF.....	85
8.4.2	MILCHSÄUREKONZENTRATIONSVORLAUF	87
8.4.3	ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONSVORLAUF	90
8.5	ERGEBNISSE PILOTVERSUCHE	92
8.5.1	MILCHSÄUREBILANZEN DER PILOTVERSUCHE 1-6.....	92
<u>9</u>	<u>SCHLUSSFOLGERUNGEN</u>	<u>96</u>
<u>10</u>	<u>ZUSAMMENFASSUNG.....</u>	<u>98</u>
<u>11</u>	<u>SUMMARY</u>	<u>99</u>
<u>12</u>	<u>LITERATURVERZEICHNIS.....</u>	<u>100</u>

Tabellenverzeichnis

TAB. 1 : MAISZUSAMMENSETZUNG (HOSENEY UND FAUBION, 1992)	3
TAB. 2: ÜBERNAHMEKRITERIEN DES MAISES (STÄRKEFABRIK ASCHACH, 2007).....	21
TAB. 3: ZUSAMMENSETZUNG DER VORMISCHUNG FÜR DIE ENZYMATISCHE L-LACTATBESTIMMUNG	31
TAB. 4: ZUSAMMENSETZUNG DES ANSATZES FÜR DIE ENZYMATISCHE L-LACTATBESTIMMUNG	32
TAB. 5: L-LACTATBESTIMMUNG VON MAISQUELLWASSER	33
TAB. 6: ZUSAMMENSETZUNG DER VORMISCHUNG FÜR DIE ENZYMATISCHE D-LACTATBESTIMMUNG	36
TAB. 7: ZUSAMMENSETZUNG DES ANSATZES FÜR DIE ENZYMATISCHEN D-LACTATBESTIMMUNG	37
TAB. 8: D-LACTATBESTIMMUNG VON MAISQUELLWASSER	38
TAB. 9: VERDÜNNUNGSKONZENTRATIONEN DES MISCHSTANDARDS	40
TAB. 10: LABORQUELLANSÄTZE I-IV	44
TAB. 11: WIRKSTOFFKONZENTRATIONEN VERSUCHE A, B UND C	53
TAB. 12: SULFITKONZENTRATIONEN VERSUCH D	54
TAB. 13: WIRKSTOFFKONZENTRATIONEN VERSUCHE E UND F.....	55
TAB. 14: WIRKSTOFFKONZENTRATIONEN VERSUCH G/1-2.....	56
TAB. 15: PILOTVERSUCHE 1-6	57
TAB. 16: BEWERTUNGSSYSTEM DER HEMMWIRKUNG	66
TAB. 17: HEMMWIRKUNG NACH 24 H QUELLZEIT	68
TAB. 18: HEMMWIRKUNG NACH 48 H QUELLZEIT	68
TAB. 19 HEMMWIRKUNG NACH 24 H QUELLZEIT	81
TAB. 20: HEMMWIRKUNG NACH 48 H QUELLZEIT	82
TAB. 21: HEMMWIRKUNG NACH 24 H QUELLZEIT	90
TAB. 22: HEMMWIRKUNG NACH 48 H QUELLZEIT	90
TAB. 23: MILCHSÄUREBILANZ PILOTVERSUCH 1: 1000 PPM SULFIT	93
TAB. 24: MILCHSÄUREBILANZ PILOTVERSUCH 2: 2.000 PPM SULFIT	94
TAB. 25: MILCHSÄUREBILANZ PILOTVERSUCH 3: 1.000 PPM SULFIT UND 5 PPM THI	94
TAB. 26: MILCHSÄUREBILANZ PILOTVERSUCH 4: 1.000 PPM SULFIT UND 20 PPM THI	94
TAB. 27: MILCHSÄUREBILANZ PILOTVERSUCH 5: 1.000 PPM SULFIT UND 10 THI NACH 24 H	95
TAB. 28: MILCHSÄUREBILANZ PILOTVERSUCH 6: 1.000 PPM SULFIT UND 100 PPM BETA	95
TAB. 29: MILCHSÄUREZUWACHS PILOTVERSUCHE 1-6	95

Abbildungsverzeichnis

ABB. 1: MAISPFLANZE (WWW.PROPLANTA.DE, 2008).....	2
ABB. 2: MAISKORNAUFBAU (WWW.NEWENERGYANDFUEL.COM, 2008).....	3
ABB. 3: STUFEN DER MAISSTÄRKEHERSTELLUNG (WWW.ZUCKERFORSCHUNG.AT, 2007)	5
ABB. 4: GEGENSTROMVERFAHREN MAISQUELLUNG (WAHL, 1969).....	7
ABB. 5: AMYLOSE (STICK, 2001)	13
ABB. 6: AMYLOPEKTIN (STICK, 2001)	13
ABB. 7: HOPFENGARTEN (WWW.CHEMIE-SCHULE.DE)	15
ABB. 8: HUMULON (VANHOENACKER, 2004)	17
ABB. 9: LUPULON (VANHOENACKER, 2004)	18
ABB. 10: WÜRZEKOCHEN DES BIERES (JASKULA, 2007).....	18
ABB. 11: TETRAHYDROISO-A-SÄUREN (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 1997).....	19
ABB. 12: YSI ANALYSATOR 2700 (ZFT, 2007).....	27
ABB. 13: PH-WERTE VERSUCH I	45
ABB. 14: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH I.....	45
ABB. 15: PH-WERTE VERSUCH II	46
ABB. 16: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH II.....	46
ABB. 17: PH-WERTE VERSUCH III	47
ABB. 18: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH III.....	47
ABB. 19: PH-WERTE VERSUCH IV.....	48
ABB. 20: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH IV	48
ABB. 21: LABORQUELLANSÄTZE	52
ABB. 22: WASSERBADSCHÜTTLER.....	52
ABB. 23: PILOTANLAGE ZUR MAISSTÄRKEHERSTELLUNG (WWW.ZUCKERFORSCHUNG.AT, 2007)	58
ABB. 24: PH-WERTE VERSUCH A.....	63
ABB. 25: PH-WERTE VERSUCH B.....	63
ABB. 26: PH-WERTE VERSUCH C	63
ABB. 27: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH A	65
ABB. 28: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH B	65
ABB. 29: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH C	66
ABB. 30: ESSIGSÄURE UND ETHANOLKONZENTRATION VERSUCH A	69
ABB. 31: ESSIGSÄURE UND ETHANOLKONZENTRATION VERSUCH B	69
ABB. 32: ESSIGSÄURE UND ETHANOLKONZENTRATION VERSUCH C	70
ABB. 33: PH-WERTE VERSUCH D	72
ABB. 34: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH D	73
ABB. 35: ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATION VERSUCH D.....	74
ABB. 36: PH-WERTE VERSUCH E/1.....	76
ABB. 37: PH-WERTE VERSUCH E/2.....	76
ABB. 38: PH-WERTE VERSUCH F/1.....	77
ABB. 39: PH-WERTE VERSUCH F/2.....	77

ABB. 40: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH E/1	79
ABB. 41: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH E/2	79
ABB. 42: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH F/1.....	80
ABB. 43: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH F/2.....	80
ABB. 44: ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONEN VERSUCH E/1	83
ABB. 45: ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONEN VERSUCH E/2	83
ABB. 46: ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONEN VERSUCH F/1.....	83
ABB. 47: ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONEN VERSUCH F/2.....	84
ABB. 48: PH-WERTE VERSUCH G/1	86
ABB. 49: PH-WERTE VERSUCH G/2	87
ABB. 50: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH G/1	88
ABB. 51: MILCHSÄUREKONZENTRATIONEN VERSUCH G/2	89
ABB. 52: ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONEN VERSUCH G/1	91
ABB. 53: ESSIGSÄURE- UND ETHANOLKONZENTRATIONEN VERSUCH G/2	91

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AGES	Agentur für Ernährungssicherheit
°Bé	Grad Baumé
Beta	Hopfen- β -Säuren
bzw.	Beziehungsweise
ca.	Circa
CO ₂	Kohlendioxid
CSL	Corn Steep Liquor
d.h	das heißt
g	Gramm
Gl.	Gleichung
h	Stunde
HPLC	High Performance Liquid Chromatographie
ICUMSA	International Commission for Uniform Methods of
ISO	Iso- α -Säuren
Kap.	Kapitel
kg	Kilogramm
l	Liter
LSL	Light Steep Liquor
mL	Milliliter
MRS	Milchsäurebouillion
NaOH	Natriumhydroxid
Nr.	Nummer
ppm	Parts per million
QW	Quellwasser
SO ₂	Schwefeldioxid
Tab.	Tabelle
THI- α -Säuren	Tetrahydriso- α -Säuren
TS	Trockensubstanz
U/min	Umdrehungen pro Minute
v. Chr	vor Christus
ZFT	Zuckerforschung Tulln

1 Einleitung

Im Zuckerherstellungsprozess sind Maßnahmen zur Bekämpfung von Mikroorganismen wichtig, um Zuckerverlusten und Problemen aufgrund mikrobiologischen Wachstums entgegen zu wirken. So kam man zu Beginn der 1990er Jahre auf der Suche nach Alternativprodukten zu Formalin zu der Beobachtung, dass Hopfenprodukte erfolgreich zur Bekämpfung von thermophilen Mikroorganismen eingesetzt werden können. Die bakteriostatische Kraft des Hopfens wird schon seit über 800 Jahren zur Haltbarkeitsverlängerung von Bier genutzt. Ausgehend von diesen Beobachtungen kam es zur Entwicklung von Produktalternativen zu Formalin auf Basis von Hopfensäuren und in weiterer Folge Harzsäuren und Myristinsäure. Nachdem die Anwendungsgebiete für die Wirkstoffe im Laufe der Zeit auf die Herstellung von Biosprit und Backhefe erweitert werden konnten, wurde nun der Einsatz dieser „natürlichen Biostabilisatoren“ bei der Gewinnung von Maisstärke untersucht. Erste Ergebnisse im Bereich der Maisstärkeherstellung im Rahmen einer Diplomarbeit an der Zuckerforschung Tulln zeigten eine hemmende Wirkung von Hopfenprodukten auf die Milchsäurebildung bei der Lagerung von Nassmais (ZINSBERGER, 2008). Im Rahmen dieser Arbeit konnten auch erste Hinweise zur Beeinflussung der Milchsäurebildung während der Quellung von Nassmais, der mit den Wirkstoffen behandelt worden war, beobachtet werden. Eine weitere Diplomarbeit an der Zuckerforschung Tulln beschäftigte sich mit der Rückstandsanalytik der Hopfensäuren in der Stärke und Nebenprodukten (EGARTNER, 2008).

Derzeit wird bei der konventionellen Maisstärkeproduktion Sulfite im Quellschritt eingesetzt, um neben den technologischen Effekten eine Vermehrung unerwünschter Mikroorganismen und eine übermäßige Milchsäurebildung im Prozesswasser zu unterdrücken. Basierend auf diesen ersten Erkenntnissen wurden nun systematische Untersuchungen zu den Effekten von Hopfenprodukten auf die Milchsäurebildung während des Quellprozesses bei der Maisstärkeherstellung gestartet.

2 Literaturübersicht

2.1 Mais (*Zea mays* L.)

2.1.1 Allgemeines

Mais ist eine Pflanze aus der Familie der Süßgräser (*Poaceae*). Botanisch ist die ursprünglich aus Mexiko kommende Kulturpflanze als *Zea mays* L. definiert. Mais ist eine einhäusige Pflanze, die männlichen und weiblichen Blüten sind räumlich getrennt voneinander angeordnet. Die weiblichen Blüten werden kolbenförmig in den Blattachseln ausgebildet; die männlichen Blüten stehen rispenförmig an der Spitze des Haupttriebes (www.proplanta.de, 2008). Abb. 1 stellt den detaillierten Aufbau der Maispflanze dar.

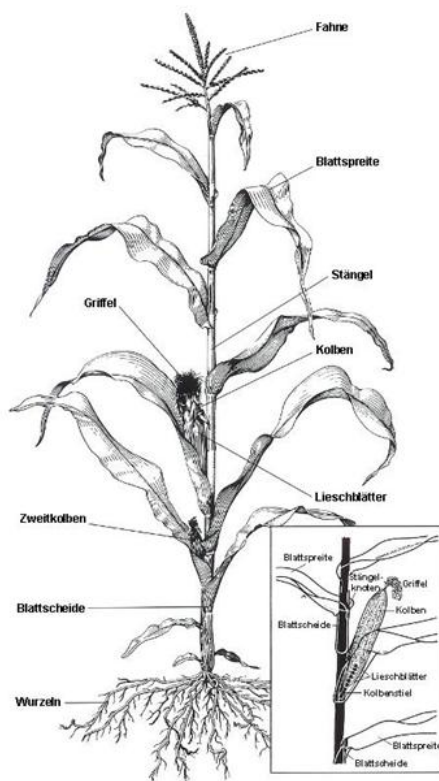


Abb. 1: Maispflanze (www.proplanta.de, 2008)

Durch die Besonderheit der C₄-Pflanzen, wie Mais, die CO₂ für die Photosynthese zunächst in ihren Stoffwechselwegen vorfixieren, können diese Sonnenenergie effektiver nutzen als andere einheimische Pflanzen (C₃-Pflanzen) und aus CO₂ große Mengen an Biomasse erzeugen. Mais ist ein Sommergetreide, die Aussaat erfolgt in

unseren Breiten Mitte April bis Anfang Mai, wenn der Boden warm genug ist und es zu keinen Frostschäden mehr kommen kann. Der Mais benötigt zum Keimen und Aufgehen eine minimale Temperatur von 10°C - die Keimung wird mit steigender Temperatur beschleunigt (BLACKLOW, 1972). Die Bestäubung der weiblichen Blüten erfolgt durch Windtransport der Pollen. Die Blütezeit erstreckt sich auf einen Zeitraum von Juli bis September - Erntezeit ist von September bis November.

2.1.2 Maiskornaufbau

Ein Maiskorn besteht aus einer Samenschale (Pericarp), dem Keimling (Germ) und dem stärkehaltigen Mehlkörper (Endosperm). In Abb. 2 ist der Aufbau des Maiskornes ersichtlich.

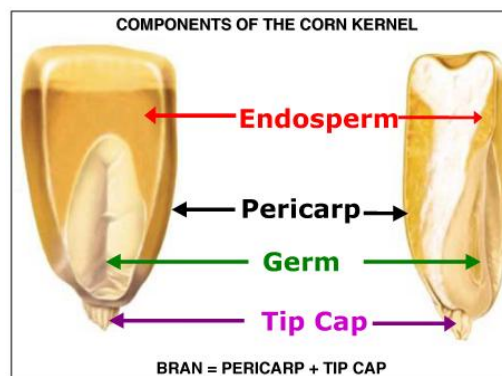


Abb. 2: Maiskornaufbau (www.newenergyandfuel.com, 2008)

Generell variieren die Komponenten sowie deren analytischen Bestandteile nach Sorte, Reifezustand, Anbaugebiet und klimatischen Bedingungen. Tab. 1 nach HOSENEY und FAUBION (1992) zeigt ein Beispiel für die prozentuelle Aufteilung des Maiskorns in Kleie, Endosperm und Keimling sowie die analytischen Anteile an Stärke, Protein, Fett und Asche in der jeweiligen Komponente.

Tab. 1 : Maiszusammensetzung (HOSENEY und FAUBION, 1992)

Komponente	Gewichtsanteil %	Stärke (%)	Protein (%)	Fett (%)	Asche (%)
Kleie (Bran)	5	0	2	1	2
Endosperm	82	98	75	15	17
Keimling	13	2	23	84	81

Getreideproteine werden nach ihrer Löslichkeit in vier Klassen eingeteilt. Albumine, löslich in Wasser, Globuline löslich in Salzlösungen aber unlöslich in Wasser, Prolamine löslich in 70% Ethanol und Gluteline löslich in Säuren und Basen. Das Speicherprotein im Endosperm liegt als Proteinkörper vor (WHITE und JOHNSON, 2003).

2.1.3 Verwendung von Mais bzw. Maisstärke

Mais ist eine universell einsetzbare Pflanze, neben der Nutzung zur Ernährung des Menschen und als Futterpflanze für Tiere gewinnt sie als nachwachsender Rohstoff in der Industrie und Energieversorgung immer mehr an Ansehen. Sie wird als Energiepflanze zur Herstellung von Biokraftstoffen und als Energiemais zur Herstellung von Maissilage als Biogassubstrat genutzt. Darüber hinaus erschließt Mais bei der Nassvermahlung zur Gewinnung von Maisstärke und Nebenprodukten einen großen Anwendungsbereich. Maisstärke wird in einer Vielzahl von Produkten im Food- und Non-Food Bereich verwendet (www.zuckerforschung.at, 2007). Im Lebensmittelbereich dient Stärke zur Ausbildung und Stabilisierung der Textur und Struktur sowie zur Wasserbindung und wird so in einer Vielzahl von Lebensmittelprodukten, von Säuglingsnahrung bis hin zur geriatrischen Diät, eingesetzt. Im Non-Food Bereich liegen die Haupteinsatzgebiete in der Herstellung von Papier-, Pappe-, Wellpappe, Klebstoffen, Klär- und Flockungsmitteln sowie in Bereichen der Wasserreinigung, Kunstfaserherstellung und -verarbeitung, Spinnerei, Filmherstellung, Herstellung von Überzügen, Lacken, Druckerei, Gerberei und Photographie (Müller, 1994; www.inaro.de, 2008). In Zukunft wird Stärke eine zunehmend bedeutende Rolle in der Herstellung von biologisch abbaubaren Kunststoffen spielen, wobei diese als Verpackungsmaterial oder in Formkörpern zur Herstellung von Verpackungsmaterial (Chips, Flocken, Polyesterbeutel), Spielwaren, Catering-Artikel (Teller, Besteck, Becher, Schalen), Food-Verpackungen (Becher, Folien, Schalen), Spritzgussartikel bis Dämmmaterialien eingesetzt werden können (www.inaro.de, 2008).

2.2 Maisstärkeherstellung

Bei der Herstellung von Stärke aus Mais hat sich der Nassvermahlungsprozess seit Jahrzehnten bewährt. In den letzten Jahren hat er ein beachtliches Maß an Wirtschaftlichkeit und Automation erfahren. Die Maisstärkeherstellung ist in folgende Stu-

fen, die in Abb. 3 dargestellt sind, gegliedert. Die einzelnen Verfahrensschritte werden folgend beschrieben.

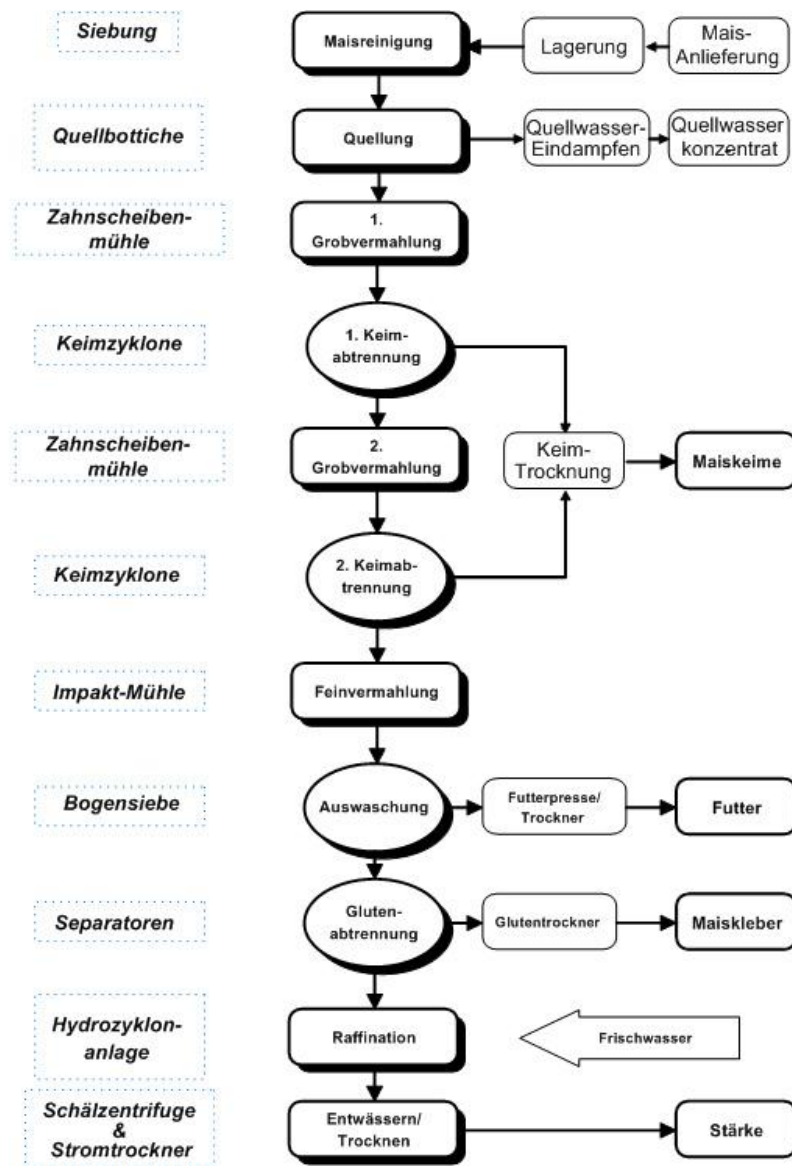


Abb. 3: Stufen der Maisstärkeherstellung (www.zuckerforschung.at, 2007)

2.2.1 Maisanlieferung/Maisreinigung

Nach Anlieferung des Maises in die Stärkefabrik, wird dieser mittels Sieb und Aspirationsanlagen von Steinen, Maisspindeln, Sand, Metallteilen und Bruchkörnern gereinigt. Die Reinigung des Kornes umfasst den ersten wichtigen Schritt in der Stärkeherstellung. Die Anwesenheit von Fremdmaterial könnte die Fraktionen der gemahlenen Stärke verunreinigen und es könnte den freien Fluss des Quellwassers zwischen den Quellbottichen stören (JACKSON und SHANDERA, 1995).

2.2.2 Maisquellung

Die Maisquellung ist ein wichtiger und gleichzeitig sehr zeitaufwendiger, kritischer Verfahrensschritt. Dabei handelt es sich nicht nur um ein schlichtes Quellen der Maiskörner in Wasser, sondern es beinhaltet die Aufrechterhaltung einer korrekten Balance zwischen dem Wasserstrom, der Temperatur, der Sulfitkonzentration und des pH-Wertes. Dabei wird das Maiskorn in einem wässrigen Milieu unter kontrollierten Bedingungen wie Temperatur, Zeit, Sulfitkonzentration und Milchsäurekonzentration im Gegenstromprinzip gequollen (JACKSON und SHANDERA, 1995). Die Hauptziele des Maisquellungsprozesses sind, chemische und physikalische Änderungen im Maiskorn hervorzurufen wie die Auswaschung der löslichen Proteine aus dem Korn, eine effektive Trennung des Endosperms vom Keimling und Schale und die quantitative Separierung der Stärke vom Protein. Dabei stellt die Trennung der Stärke vom Protein einen schwierigen Schritt dar (WHISTLER et al., 1984). Somit ist der erste Schritt der Maisquellung das Weichwerden der Körner, damit diese in den nachfolgenden Schritten in die einzelnen Kornbestandteile zerlegt werden können. Abhängig vom jeweilig in der Stärkefabrik angewendeten Verfahren beansprucht die Maisquellung eine Zeitspanne von 24- 52 h bei angewendeten Temperaturen von 45- 55 °C (HAROS et al., 2004). Durch die hohen Quelltemperaturen werden die Zellwände des Maiskorns porös und erleichtern so die Absorption von Sulfit und das Auswaschen von löslichen Stoffen (JACKSON und SHANDERA, 1995). In den nachfolgenden Unterpunkten des Kapitels 3.2.2 werden das Quellverfahren sowie die Einflussfaktoren auf den Verfahrensschritt – der Maisquellung – besprochen.

2.2.2.1 Quellverfahren

Früher wurde Mais durch das so genannte „Einbottichverfahren“ gequollen. Dabei wurde der Mais bei einer SO₂ Konzentration von 0,2-0,3% bei 50 °C für 40-48 Stunden gequollen. Durch die schlechte Ökonomie dieses Verfahrens, wurde sie durch das Gegenstrom Verfahren ersetzt (WAHL, 1969). In Abb. 4 ist das Gegenstromverfahren schematisch dargestellt.

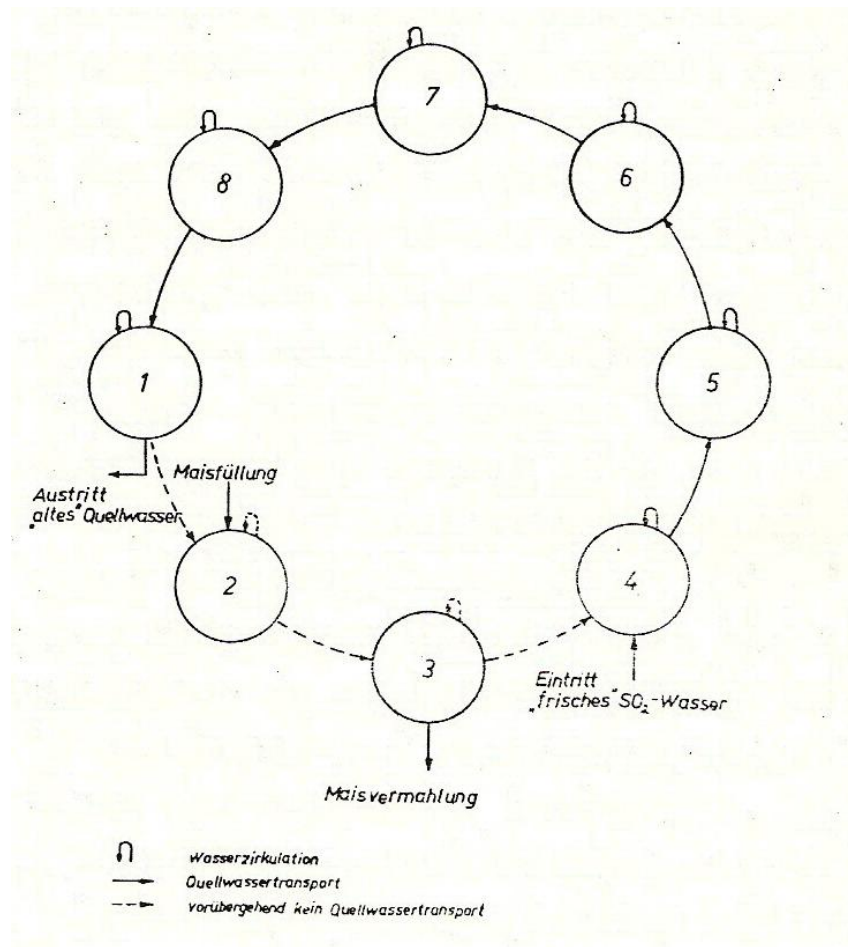


Abb. 4: Gegenstromverfahren Maisquellung (WAHL, 1969)

Die Quellung im Gegenstromprinzip erfolgt in großen, runden am Auslauf konischen Behältern mit einem Fassungsvermögen von mehreren hundert Tonnen. Die Bottiche bestehen aus Stahl oder aus mit korrosionsfestem Material ausgekleideten Behältern. Es sind mindestens sechs bis acht Behälter in Serie geschaltet und das Quellwasser wird im Kreis gepumpt. Ein am unteren Teil des Quellbehälters eingebautes Siebrohr ermöglicht eine Weiterleitung des Quellwassers mithilfe von Pumpen in den nächsten Behälter. Jeder Quellbehälter hat eine eigene Quellwasserzirkulation mit eingebautem Wärmetauscher, um die Quellungstemperatur bei angewandeter Temperatur konstant zu halten. Das mit SO₂ behandelte Prozesswasser gelangt von oben in den Quellbottich mit dem am längsten gequollenen Mais und wird nach bestimmter Zeit weitergeleitet. Das SO₂ soll vorwiegend eine kontrollierte Milchsäuregärung zulassen. Das Quellwasser fließt im Gegenstrom zur Quelldauer des Maises (TEGGE, 2004). In der ersten Periode der Maisquellung kommt es zu einer intensiven Lactatbildung, da frischer Mais und altes Quellwasser aufeinander treffen. Als Substrat stehen die löslichen Zucker aus dem Maiskorn zur Verfügung. Wobei sich

im zweiten Teil der Quellung die chemische Wirkung des Schwefeldioxids niederschlägt, da der gequollene Mais auf das frische Quellwasser trifft. Dabei soll die Aktivität unerwünschter Mikroorganismen gehemmt und die Stärkeausbeute gefördert werden (JACKSON und SHANDERA, 1995).

2.2.2.2 Maisquellwasser

Es gibt eine Vielzahl von Untersuchungen zur Quellwasserzusammensetzung sowie die Auswirkungen von einzelnen Prozessparametern, wie Milchsäure-, Sulfitkonzentration und Temperatur auf den Quellprozess (HAROS et al., 2004; ROUSHDI et al., 1981; SHANDERA et al., 1995; COX et al., 1944; WATSON et al., 1951; DU et al., 1996; ECKHOFF et al., 1991; BISS und COGAN, 1996). Quellwasser ist ein Gemisch aus Kohlehydraten, Aminosäuren, Peptiden, organischen Komponenten, Schwermetallen, anorganischen Ionen und myo-inositol Phosphaten. Als Kohlenhydrate beinhaltet es Monosaccharide wie Glukose und Fruktose in hoher Konzentration, geringe Konzentration an Galaktose, Arabinose und Xylose sowie weitere Kohlenhydratverbindungen. Als Proteinbausteinen dienen vor allem Glutaminsäure bzw. Glutamin, Leucin, Prolin und Asparaginsäure bzw. Asparagin. Physiologisch relevante Ionen sind Kalium, Natrium, anorganisches Phosphat und Chlorid. Mit voranschreitender Quellungszeit kommt es zu einer Erhöhung der Trockensubstanz sowie der Kohlenhydrate, Fette und des Aminosäurenanteils im Quellwasser (HULL et al., 1996).

2.2.2.3 Einfluss von Milchsäure und Sulfit

In der ersten Periode der Maisquellung trifft durch das Gegenstromprinzip frischer Mais auf altes Quellwasser und es kommt zu einer intensiven Milchsäurebildung (TEGGE, 2004). Da bei der Wasseraufnahme des Maises lösliche Zucker ins Quellwasser übertreten, stellen diese ein reichhaltiges Substrat für die darin lebenden Milchsäurebakterien dar. Diese Bakterien sind im Gegensatz zu anderen Mikroorganismen in der Lage bei höheren Temperaturen (Quelltemperatur von 48-50°C) und Säurekonzentrationen zu überleben. Milchsäurebakterien benötigen wenig Sauerstoff und sind gegenüber Sulfit tolerant. Die Milchsäure, welche den pH-Wert nahe vier hält, spielt eine wesentliche Rolle im Puffersystem des Maisquellwassers. Bei diesem pH-Wert werden unerwünschte Bakterien in ihrer Bildung und ihrem Wachstum gehemmt und die Vermahlungseigenschaften des gequollenen Korns werden verbes-

sert. (WATSON et al., 1955). Hohe Milchsäurekonzentrationen sind darüber hinaus für den technologischen Prozess relevant, da die Proteine ansonsten in einer Form vorliegen in der diese während der Verdampfung einer Hitzedenaturierung unterliegen und Beläge bilden, die schwer zu entfernen sind (BLANCHARD, 1992). Die Milchsäure verbessert die SO_2 Absorption ins Innere des Korns durch Einwirkung auf die Zellwände des Endosperms und ermöglicht die Auflösung und Lockerung der Proteinmatrix, in welcher die Stärkegranula eingebettet sind (SHANDERA et al., 1995; COX et al., 1944). Untersuchungen zum Einfluss der Milchsäure auf die Wasserabsorptionsgeschwindigkeit von Maiskörnern beim Quellungsvorgang wurden von ROUSHDI et al. (1981) beschrieben. Es wurden Quellwässer mit niedriger und hoher Konzentration an Sulfid sowie mit und ohne Milchsäure verwendet. Dabei stellte sich heraus, dass die Wasseraufnahme der Maiskörner bei den Versuchsansätzen mit niedriger Sulfidkonzentration und Milchsäure am höchsten ausfiel. Ebenfalls wurden bei den genannten Ansätzen die höchste Löslichkeit und Diffusion von Proteinen aus dem Maiskorn in das Quellwasser festgestellt. Die so gequollenen Maiskörnern zeigten bei der Verarbeitung die beste Stärkeausbeuten hinsichtlich der Auftrennung des Maiskorns in Stärke, Protein und Nebenbestandteile (ROUSHDI et al., 1981). Ähnlichen Ergebnisse zeigten auch weitere Studien (DAILEY, 2002; HAROS et al., 2004) die sich mit den Auswirkungen der Milchsäure auf den Maisquellungsprozess beschäftigten. Diese zeigten, dass in Anwesenheit von Milchsäure im Maisquellwasser die Sulfiddiffusion erleichtert und somit der Zerfall der Proteinmatrix im Endosperm gefördert wird wodurch eine erhöhte Löslichkeit des Proteins und einer Erhöhung der Stärkeausbeute begünstigt wird.

Die Hauptaufgabe des SO_2 bei der Quellung umfasst die Spaltung der Disulfidbindungen, das Auflösen der Proteinmatrix und dem damit verbundenen Abkapseln der Stärkekörner (WHISTLER, et al., 1984). Diese Separation von Protein und Stärke wird unter anderem auf die reduzierende Spaltung von Disulfidbindungen unter Entstehung von Sulfhydrylgruppen zurückgeführt (TEGGE, 2004). Die Stärkekörner sind in einer wasserunlöslichen Proteinmatrix, bestehend aus den Hauptproteinen Zein und Glutelin, eingebettet (KNIGHT, 1969). Von Interesse ist daher die Auflösung dieser Glutelinmatrix um die Trennung der Stärke vom Protein zu erleichtern. Während der Maisquellung kommt es zu einem fortlaufenden Abbau der unlöslichen Proteinmatrix im Korn. Etwa 20-25% der unlöslichen Proteine werden abhängig vom SO_2

Gehalt gelöst. Damit stellt der Abbau der unlöslichen Kornproteine einen wichtigen Parameter für die Maisquellung dar. Die Zugabe von SO₂ in den Prozess führt zu einer starken Erhöhung der löslichen Proteine, bedingt durch den beschleunigten Abbau der im Korn befindlichen unlöslichen Proteine (BISS und COGAN, 1988).

Die Kombination aus einer gewissen Menge an Milchsäure und Sulfite führt zu einer Verbesserung der Stärke-Protein Trennung und trägt zu einer Erhöhung der Stärkeausbeute bei.

2.2.3 Keimabtrennung

Nach Abschluss der Quellung werden die gequollenen Maiskörner mittels Zahnscheibenmühlen grob vermahlen. Um eine möglichst vollständige Keimabtrennung zu ermöglichen, geschieht dieser Vorgang zweistufig, wobei die Mahlscheiben an die Korngröße angepasst werden. Dadurch können die elastisch gewordenen Keime möglichst unbeschädigt freigelegt werden und kein Fett in die Suspension übertreten. Die Keimabtrennung erfolgt mittels Flotationsprinzip in Hydrozyklonen. Die Separation erfolgt aufgrund des hohen Druckes und der hohen Strömungsgeschwindigkeit sehr schnell. Die Keimlinge gelangen mit der Stärkemilch in den Oberlauf und die spezifisch schwerere Mahlgut in den Unterlauf. Mittels Bogensiebe wird die Stärkemilch von den Keimen getrennt. Danach wird mittels Waschung die an den Keimen anhaftende Stärke entfernt. Die Maiskeime werden anschließend in Schneckenpressen auf einen Feuchtigkeitsgehalt von etwa 52 % entwässert und in Röhrenbündel-Trocknern oder Wirbelschicht-Trockner getrocknet. Sie enthalten etwa 50-58 % Fett, 14 % Protein, 10 % Rohfaser, 8 % Stärke, 3-5 % Wasser, 3 % Mineralstoffe und 4 % sonstige Substanzen und können zur Ölgewinnung verwendet werden (TEGGE, 2004).

2.2.4 Faserabtrennung

Nach erfolgreicher Keimabtrennung wird die Maissuspension mittels Stift- oder Impaktmühlen fein vermahlen, um die noch in den Zellen eingeschlossene Stärke freizulegen. Die Fasern sollen bei diesem Prozess möglichst wenig zerkleinert werden, während die Zellen aufplatzen und die Stärke mittels Siebung und Waschung leicht abgetrennt werden kann. Die Abtrennung der gröberen Schalen und der Feinfasern erfolgt in mehrstufigen Bogensiebstationen. Im Anschluss erfolgt eine Wa-

10

schung im Gegenstrom mit Prozesswasser, um einen geringen Gehalt an auswaschbarer Stärke zu erreichen. Anschließend erfolgt eine Entwässerung mittels Schneckenpressen auf 45 % Trockensubstanzgehalt. Die Erzeugung von Maisfutter erfolgt mittels Antrocknen von konzentriertem Maisquellwasser an Maisfasern in Röhrenbündel-Trockner (TEGGE, 2004).

2.2.5 Glutenabtrennung und Trocknung

Nach Abtrennung von Schalen- und Faserbestandteile liegt die so genannte „Mühlenstärke“ oder Rohstärke vor. Um einer Beschädigung der Apparate für die Glutenabtrennung und Stärkeraffination durch Sand entgegenzuwirken durchläuft die Mühlenstärke zunächst einen Entsandungszyklon. Mithilfe von Düsen-Separatoren und Multizyklen erfolgt eine Trennung in drei Phasen, nämlich Stärke, Protein und Lösliches. Bei den Düsen-Separatoren gelangt die Stärkemilch als schwere Phase durch die Düsen nach außen, während das Protein und der lösliche Anteil gemeinsam mit dem Prozesswasser die Anlage als Oberlauf verlassen. Die Konzentrierung der leichten Phase erfolgt im Glutenkonzentrator mittels Düsenseparatoren. Die Glutenfraktion wird im Vakuum-Drehfilter, Plattenpressfilter oder Dekanter entwässert. Danach erfolgt eine Trocknung in Strom- und Röhrenbündel-Trockner. Die Maisgluten werden entweder als Glutenmehl oder in Pelletsform gehandelt (TEGGE, 2004).

2.2.6 Stärkeraffination

In der Maissuspension befinden sich trotz Glutenabtrennung noch geringe Mengen an Protein sowie Lösliches und etwaige Feinfasern. Der Prozess der Stärkeraffination beinhaltet eine mehrstufige Multizyklonanlage mit intensivem Waschprozess im Gegenstromverfahren und anschließender Konzentrierung. Die leichte Phase aus Gluten und Feinfasern wird der Glutenabtrennung rückgeführt. In der letzten Stufe der aus bis zu zwölf Stufen bestehenden Multizyklon-Batterien wird Frischwasser zugegeben und der Oberlauf in den vorhergehenden Multizyklon geleitet. Die Stärkemilch hat am Ende der Raffination einen Trockensubstanzgehalt von 40-42 % (TEGGE, 2004).

2.2.7 Stärkeentwässerung und –trocknung

Aus energiesparenden Gründen erfolgt die Entwässerung zunächst auf mechanischen Weg mittels Zentrifugen auf einen Feuchtigkeitsgehalt von 32-34 %. Lagerfähige Maisstärke mit einem Feuchtigkeitsgehalt von 14 % wird mittels pneumatischen Trocknern wie z. B. Stromtrocknern erzeugt (TEGGE, 2004).

2.3 Stärke

2.3.1 Geschichte der Stärke

Die Verwendung von Stärke geht schon auf das Jahr 3500 v. Chr. zurück. Zu diesen Zeiten wurde sie als Klebehilfsstoff zur Herstellung von Papyrusblättern verwendet. Die älteste schriftliche Belegung über Stärkeherstellung findet man aus dem Jahre 234-149 v. Chr. Weizenkörner wurden nach einem zehntägigen Quellungsprozess, bei dem sie zweimal täglich mit frischem Wasser gegossen wurden, ausgepresst und die gewonnene Stärke wurde in der Sonne getrocknet. Ebenfalls wurde die Stärke Mitte des 16. Jahrhunderts für kosmetische Zwecke gehandelt. Vorerst wurde nur Weizen als Rohstoff verwendet, dann dienten auch Kartoffeln als Stärkelieferant. Um 1700 wurde in den Vereinigten Staaten von Amerika überwiegend Mais für die Stärkeproduktion verwendet. Ein wenig später entstanden auch in Europa Maisstärkefabriken. Das Einweichen das so genannte „Quellen“ mit Schwefeldioxid ist erst seit 1875 der erste Schritt zur Maisstärkegewinnung (TEGGE, 2004).

2.3.2 Chemischen Aufbau der Stärke

Stärke wird von allen höheren Pflanzen produziert und als Stärkekörner in den Wurzeln, Rhizome, Knollen, Früchten und Samen als Energiereserve gespeichert. Die Syntheseorganellen stellen in photosynthetisch aktiven Zellen den Chloroplasten, in Speichergewebe die Amyloplasten dar. In den Amyloplasten werden die Stärkekörner gebildet, während die Stärke in den Chloroplasten zwischen den Thylakoiden eingebettet ist. Die Form, Größe und Schichtung der Stärkekörner der einzelnen Pflanzenarten und Speicherorgane ist häufig artspezifisch. Stärke besteht aus zwei Polymeren, der geradkettigen Amylose und dem verzweigt-kettigen Amylopektin. Diese liegen in der Maisstärke im Verhältnis von ca. 1:4 vor. Die Amylose besteht aus kettenförmig angereihten α 1,4 verknüpften α -D Glucoseeinheiten (Maltose) die zu

einem Makromolekül verbunden sind. Die Molekülkette ist wie eine Schraube gewunden (STICK, 2001). Die Abb. 5 zeigt den chemischen Aufbau der Amylose.

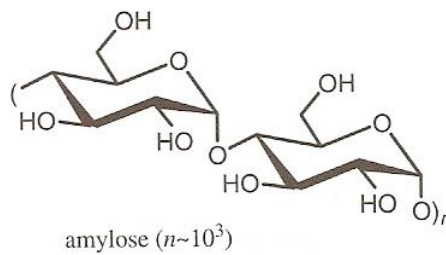


Abb. 5: Amylose (Stick, 2001)

Amylopektin ist ein größeres Polymer als Amylose und ist reich verzweigt. Es besteht aus den gleichen verknüpften Maltoseeinheiten wie die Amylose, jedoch weist es alle 10 Maltoseeinheiten α 1,6 Verzweigungen mit unterschiedlicher Länge auf. Amylose ist ebenso wie Amylopektin schraubig gewunden (STICK, 2001). Das Formelbild ist in Abb. 6 ersichtlich.

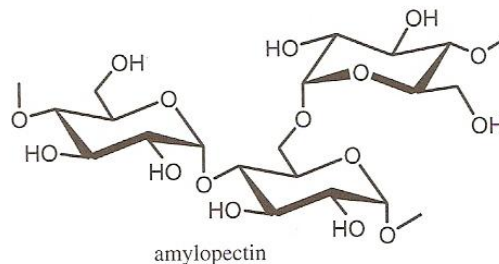
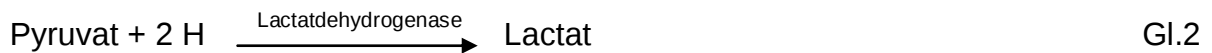


Abb. 6: Amylopektin (Stick, 2001)

2.4 Mikrobiologie der Milchsäuregärung

Milchsäurebakterien sind in der Natur weit verbreitet und werden in der Familie der *Lactobacteriaceae* zusammengefasst. Sie können als Kokken, Langstäbchen sowie als Kurzstäbchen auftreten. Alle Angehörigen sind Gram-positiv, bilden keine Sporen und sind unbeweglich. Sie benötigen zum Wachstum Zucker, Vitamine, Aminosäuren, Purine und Pyrimidine. Bei der Energiegewinnung wird Milchsäure ausgeschieden, wodurch als selektive Bedingung ein saures Milieu entsteht und viele andere Bakterien gehemmt werden. Milchsäurebakterien sind aerotolerante Anaerobier, denen wichtige Komponenten der Atmungskette fehlen. Sie gewinnen ihre Energie da-

her durch homo- und heterofermentative Milchsäuregärung. Bei der homofermentativen Milchsäuregärung entsteht beinahe ausschließlich Milchsäure. Dabei wird Glucose über die Glykolyse zu Lactat abgebaut. Dies wird dadurch erreicht, dass die Lactatdehydrogenase Pyruvat zu Lactat reduziert (Gl 1 und Gl. 2) (FRITSCH, 1999).



Die heterofermentative Milchsäuregärung unterscheidet sich wesentlich von der homofermentativen Milchsäuregärung. Es werden neben Milchsäure auch weitere Produkte wie Acetat, Ethanol und CO_2 gebildet. Den Bakterien, die diesen Weg nutzen fehlen Schlüsselenzyme für die Glykolyse. Die Glukose wird daher nicht über die Glykolyse sondern über den Pentose-Phosphat-Weg abgebaut (siehe Gl.3) (FRITSCH, 1999).



3 Natürliche Biostabilisatoren

3.1 Definition, Entdeckung und Anwendung natürlicher Biostabilisatoren

Die Bezeichnung „natürliche Biostabilisatoren“ wurde für eine Gruppe von Wirkstoffen, die für die Anwendung in der Zuckerindustrie entwickelt wurde, definiert. Die Bezeichnung „natürlich“ bezieht sich dabei auf die Herkunft der Wirkstoffe, da die Substanzen ausschließlich aus Pflanzen stammen. Hopfen- β -Säuren stammen aus der Hopfenpflanze, Harzsäuren aus Baumharzen und Myristinsäure aus Palmkernöl. Der Begriff „Biostabilisatoren“ soll verdeutlichen, dass biologische Vorgänge in technischen Prozessen stabilisiert bzw. begrenzt werden (HEIN et al., 2006).

Der Kulturhopfen, botanisch auch *Humulus lupulus* L. genannt, ist eine zweihäusige Kletterpflanze, die zur Familie der Hanfgewächse (*Cannabaceae*) gehört. Die Hopfenpflanze ist kälteresistent und ihr Wurzelsystem reicht tief in den Boden. In Hopfenkulturen zur kommerziellen Nutzung werden nur weibliche Pflanzen angebaut (VERZELE und DE KEUKELEIRE, 1991). In Abb. 7 ist ein so genannter Hopfengarten zu sehen, die Triebe der Hopfenpflanzen werden dabei mit Hilfe von Gerüstanlagen nach oben geleitet.



Abb. 7: Hopfengarten (www.chemie-schule.de)

Die weibliche Hopfenpflanze bildet so genannte Dolden (Zapfen) aus, die aus Deck- und Vorblättern sowie der Spindel bestehen (HEYSE, 1994). In diesen Fruchtständen befinden sich zahlreiche Lupulinkörner mit bitter schmeckenden bakterizid wirksamen Stoffen, den sogenannten Humulonen und Lupulonen. Die α -Säuren oder

Humulone sind, nach Umwandlung zu Iso- α -Säuren beim Würzekochen, für die Bittere des Biers verantwortlich. Die Hopfen- β -Säuren oder Lupulone haben im Braubereich eine untergeordnete Bedeutung, weisen aber eine stärkere antibakterizide Wirkung auf. Mittlerweile ist die bakterizide Wirkung des Hopfens im Brauereiwesen eher in den Hintergrund getreten, da zur Haltbarmachung andere Verfahren, wie die Pasteurisation genützt werden (POLLACH et al., 1996). Aus Imagegründen kamen die Werke der Agrana Zucker GmbH im Jahre 1991 zum Entschluss, freiwillig auf Formalin zur Bekämpfung von Mikroorganismen bei der Zuckergewinnung zu verzichten. Aufgrund dessen musste gänzlich auf Desinfektionsmittel im Extraktionsbereich verzichtet werden. Dies führte zu gesteigerten Mikroorganismenaktivitäten sowie zu erhöhten Milchsäurewerten in den Säften, und somit zu hohen Zuckerverlusten (POLLACH, et al., 1996). Eine wichtige Beobachtung wurde dann im Zuge von Studien zur Nutzung des Monosaccharidabbaus zwecks Verbesserung der Schnitzelabpressbarkeit gemacht. Im Rahmen dieser Studien wurde eine verknüpfende Wirkung zwischen thermophilen Mikroorganismen und einem Brauereiprodukt - das Reste von Hopfensäuren enthielt - hergestellt. Es wurde festgestellt, dass die bakteriostatische Wirkung des Hopfens, die schon seit 800 Jahren bei der Verbesserung der Lagerfähigkeit von Bier genutzt wird, auch erfolgreich für die Bekämpfung von mikrobiologischer Aktivität in der Zuckertechnologie genutzt werden kann (HOLLAUS und POLLACH, 1993). Bereits im Jahre 1937 beschäftigte sich Shimwell mit den Hopfensäuren und erkannte deren bakterizide Wirkung (SHIMWELL, 1937). Teuber und Schmalreck erkannten 1973 die bakterizide Wirkung von Humulon, Lupulon, Isohumulon und Humulinsäure in Form des Blockierens biologischer Membranen (TEUBER und SCHMALRECK, 1973). Die Kontaktaufnahme mit der Hopfenindustrie führte dazu, dass man auf den so genannten Baseextrakt aufmerksam wurde. Dies ist ein Nebenprodukt der Herstellung von Isoextrakt, mit hohem α -Säuregehalt welches dem fertigen Bier zur Standardisierung des Bittergeschmacks zugesetzt wird. Es ist eine hochviskose, dunkelgrüne klebrige Paste mit einem β -Säuregehalt von zirka 50%. Anfänglich wurde es als alkoholische Lösung oder in geschmolzener Form eingesetzt (HEIN, et al., 2006). Ab 1994 führte die Agrana Zucker GmbH Versuche mit den Hopfen β -Säuren erfolgreich durch. Durch die Verwendung von Hopfensäuren bei der Bierherstellung konnte eine gesundheitsgefährdende Wirkung ausgeschlossen werden (HEIN, et al., 2006). Ausgehend von den erfolgreichen Versuchen in der Zuckerindustrie wurde die Firma BetaTec Hopfenpro-

dukte GmbH in Nürnberg, Deutschland als Tochter der renommierte Firma der Hopfenbranche Barth Haas Group gegründet. Die Forschung resultierte in ein einfach und bequem anzuwendendes Produkt, eine alkalische Lösung mit einem Hopfen- β -Säuren-Gehalt von 10% (BetaStab 10A) (HEIN, et al., 2006).

3.2 Hopfenchemie und Hopfenprodukte

3.2.1 Humulone oder α -Säuren

Die Humulone (α -Säuren) sind die wichtigsten und bekanntesten Bestandteile des Hopfens. Sie liegen in fünf homologen Strukturen vor. In Abb. 8 ist die Strukturformel des n-Humulons dargestellt. Daneben sind die drei wichtigsten Formeln der homologen Vertreter angegeben (VERZELE und DE KEUKELEIRE, 1991).

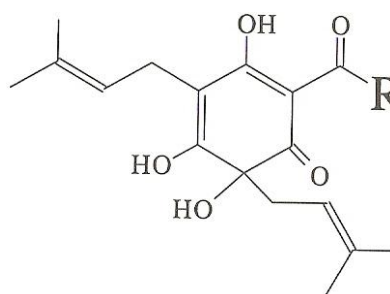
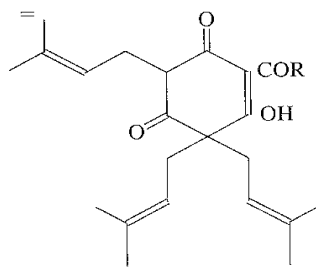
	Name	R
	Humulon	$-\text{CH}_2(\text{CH}_3)_2$
	Cohumulon	$-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
	Adhumulon	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$

Abb. 8: Humulon (VANHOENACKER, 2004)

3.2.2 Lupulone oder β -Säuren

Lupulone unterscheiden sich von Humulonen nur durch die Seitenkette an der C3-Position (Isopentyl Kette statt einer Hydroxyl-Gruppe) und kommen ebenfalls in fünf Homologen vor. In Abb. 9 ist die Strukturformel des Lupulons dargestellt. Daneben sind die drei wichtigsten homologen Vertreter angegeben (VERZELE und DE KEUKELEIRE, 1991).



Name	R
Lupulon	$-\text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_3)$
Colupulon	$-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$
Adlupulon	$-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$

Abb. 9: Lupulon (VANHOENACKER, 2004)

3.2.3 Iso- α -Säuren

Die Derivate der α -Säuren, die sogenannten Iso- α -Säuren, erfüllen im Zuge der Bierherstellung als Bitterstoff eine bedeutende Aufgabe als Geschmackskomponente. Jedes Humulon ist in der Lage zur *Cis-* und *Trans* Form zu isomerisieren. Daraus ergeben sich aus den drei Hauptvertretern der Humulone (Adhumulon, Cohumulon, Humulon) insgesamt sechs Hauptisohumulone. Die Umwandlung der begrenzt löslichen α -Säuren in gut lösliche *Cis-* und *Trans-Iso- α -Säuren* geschieht beim Würzekochen des Bieres (JASKULA, 2007). In Abb. 10 ist die Umwandlung des Humulons in das Isohumulon dargestellt. Die entstehenden Isohumulone besitzen einen Kern aus fünf Kohlenstoffatomen.

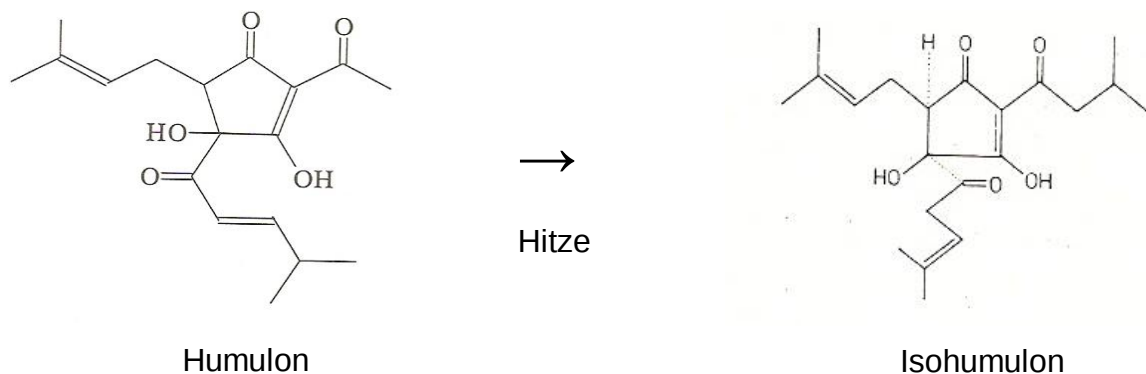
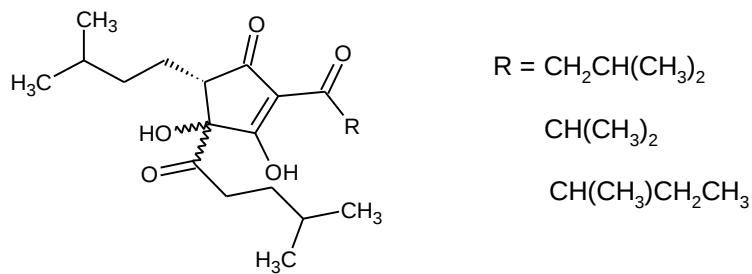


Abb. 10: Würzekochen des Bieres (JASKULA, 2007)

3.2.4 Tetrahydroiso- α -Säuren

Es gibt zwei Wege zur Herstellung von Trans-Tetrahydroiso- α -Säuren. Einer davon geschieht durch Isomerisation der Tetrahydrohumulone und darauffolgender Separierung der Tetrahydroiso- α -Säuren. Der zweite Weg kann durch Hydrogenolyse der Colupulone mit darauffolgender Oxidation und Isomerisation beschriftet werden.

Die Tetrahydroiso- α -Säuren zeichnen sich durch ausgeprägte Bitterkeit und bakterienhemmende Aktivität aus, sind dabei aber lichtstabil wodurch die Bildung von 3-Methyl-2-buten-Mercaptan, welches für den Lichtgeschmack im Bier verantwortlich ist, verhindert (VERZELE und DE KEUKELEIRE, 1991). Das Formelbild der Tetrahydroiso- α -Säuren ist in der Abb. 11 dargestellt.



Tetrahydroiso- α -Säuren

Abb. 11: Tetrahydroiso- α -Säuren (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 1997)

4 Aufgabenstellung

In Rahmen dieser Diplomarbeit sollte der Einfluss der Hopfensäuren auf die Milchsäurebildung während des Quellprozesses untersucht werden. Diese Versuche sollten primär im Labormaßstab erfolgen, wobei eine möglichst einfache und gut reproduzierbare Versuchsanordnung entwickelt werden sollte.

Die erste Aufgabe war es ein geeignetes Versuchsmodell für die Laborquellversuche zu entwickeln um die Dynamik der Milchsäurebildung während der großtechnischen Maisquellung gut abbilden zu können. Danach sollte herausgefunden werden, mit welchem Wirkstoff bzw. Wirkstoffkonzentration eine Hemmung der Milchsäurebildung erreicht werden kann. In einem weiteren Schritt sollte überprüft werden, welche Konzentration an Sulfit nötig ist, um den mikrobiologischen vom chemischen Effekt der Maiskornerweichung zu entkoppeln, um so eine überschüssige Sulfitzugabe durch Hopfenbitterstoffe ersetzen zu können. Weiter sollte die Hemmwirkung der Biostabilisatoren auf die Milchsäurebildung bei Zugabe zum bereits einige Zeit laufenden Quellprozess untersucht werden.

Mit den Erkenntnissen der Laborquellversuche, sollte dann Mais im Technikumsmassstab verarbeitet bzw. Stärke erzeugt werden, um Erkenntnisse über die Hemmwirkung der Biostabilisatoren auf die Milchsäurebildung während des Quellvorganges zu erhalten. Diese Versuche sollten auf der in der ZFT vorhandenen Pilotanlage unter Mithilfe erfahrener ZFT-Mitarbeiter durchgeführt werden.

5 Material und Methoden

5.1 Material

5.1.1 Trockenmais

Bei dem in den Versuchen verwendeten Mais handelt es sich um österreichischen Körnermais. Dieser ist aus in Österreich zugelassenen Gelbmaissorten (laut Sortenliste AGES) zusammengesetzt und erfüllt die Anforderungen der Rohstoffspezifikation „Euro Stärkemaiss“ für die Übernahme in der Maisstärkefabrik in Aschach (Agrana Stärke). Er wurde von der Stärkefabrik Aschach zur Verfügung gestellt und wurde in Runden imern trocken bei einer Temperatur von 22°C gelagert. Der verwendete Mais ist speziell für die Stärkegewinnung mittels Nassvermahlung geeignet. Die Übernahme kriterien des Maises der Stärkefabrik Aschach sind in der nachfolgenden Tabelle (Tab.2) dargestellt.

Tab. 2: Übernahme kriterien des Maises (STÄRKEFABRIK ASCHACH, 2007)

Spezifikation	Angabe in %
Hitze geschädigte Körner	0-1
Bruch	0-5
Besatz	0-0,1
Siebung (>8 mm)	34 (H*), 45 (Z*)
Stärkegehalt	70-72
Keimfähigkeit	65-100
Lösliche Stärke	0-2,5
Promatest	32
Proteingehalt	9-11
Trockensubstanz	88-92
H*: Hartmais, Z*: Zahnmais	

5.1.2 Quellwasser

Das Quellwasser für die Versuche im Labor - und Pilotmaßstab wurde aus der Maisstärkefabrik (AGRANA Stärke GmbH) Aschach in regelmäßigen Abständen bezogen. Es wurde direkt während der Maisstärkeproduktion aus den Quellbottichen an

dafür vorgesehenen Probeentnahmestellen entnommen. Anschließend wurde es in einem Kühlraum bei 4 °C in der ZFT gelagert.

5.1.3 Light Steep Liquor

Unter Light Steep Liquor (LSL) versteht man Quellwasser, welches zu Beginn der Maisquellung vom Quellbottich abgezogen wird.

5.1.4 Corn Steep Liquor

Unter Corn Steep Liquor versteht man LSL, welcher über eine Verdampfung geführt und dabei auf einen Trockensubstanzgehalt von 60 % aufkonzentriert wird. Er ist dadurch haltbar und kann als Handelsprodukt auf den Markt gebracht werden.

5.1.5 MRS-Bouillon

Für die Vorversuche wurde ein MRS-Bouillon hergestellt (Lactobacillus Bouillon nach De Man, Rogosa und Sharke, Fa. Merck 10661). Die Lösung wurde laut Gebrauchsanweisung hergestellt.

5.1.6 Natriumbisulfit

Für die Laborversuche sowie die Pilotversuche wurde eine Natriumbisulfitlösung (40%) zur Verfügung gestellt von der Maisstärkefabrik Aschach AGRANA Stärke GmbH, A

5.1.7 Biostabilisatorlösungen

Die für die Versuche benötigten Hopfenprodukte wurden von der Firma BetaTec Hopfenprodukte GmbH zur Verfügung gestellt. Zum Einsatz kamen THI- α -Säuren, ISO- α -Säuren und Hopfen- β -Säuren.

THI- α -Säuren sind in einer Konzentration von 9 % $\pm$ 1 % (w/w) in einer wässrig, basischen Lösung enthalten. Im Handel werden sie als LactoStab™ bezeichnet und sind bei der Firma BetaTec Hopfenprodukte erhältlich (ANONYMOUS1, 2005). Die Lösung wurde bei +22 °C gelagert

ISO- α -Säuren sind in einer Konzentration von 30 % $\pm$ 0,5 % (w/v) in einer wässrig, basischen Lösung enthalten. Im Handel werden sie als IsoStab™ bezeichnet und sind bei der Firma BetaTec Hopfenprodukte erhältlich (ANONYMOUS, 2004). Die Lösung wurde bei +6 °C im Kühlraum gelagert.

Hopfen- β -Säuren sind in einer Konzentration von 10 % $\pm$ 1 % (w/w) in einer wässrig, basischen Lösung enthalten. Im Handel werden sie als BetaStab® 10A bezeichnet und sind bei der Firma BetaTec Hopfenprodukte erhältlich (ANONYMOUS, 2005). Die Lösung wurde bei +6 °C im Kühlraum gelagert.

5.1.8 Geräte für die Maisquellung im Labormaßstab

- Schüttelwasserbad (GFL)
- Sieb
- Bechergläser 250 mL
- Waage (LE 4202S, Sartorius AG, D)
- Einwegpipetten 5 mL (LW 4728 Pastette, Alpha Laboratories, UK)
- Kolbenhubpipette (710030, 710020, 710500 Biohit)
- Pipettenspitzen (Proline, Biohit GmbH, D)
- Schottflaschen 500 mL (GL45, DURAN Group, D)

5.1.9 Geräte für die Versuche in der Pilotanlage

5.1.9.1 Quellung

- Transportcontainer 1000 L (TRbF 142, Schütz GmbH & Co. KGaA, D)
- Milchkühler (MKW 303, Alfa Laval AB, S)
- Quellbehälter aus Edelstahl 500 L (Spezialanfertigung, Kunstschmiede – Schlosserei Geiger Hannes, A)
- Plattenwärmetauscher (M3 Base 30103-21413, Alfa Laval AB, S)
- Salzsäure 33 % (440079, Brenntag CEE GmbH, A)
- Natriumbisulfit 40 % (zur Verfügung gestellt von der Maisstärkefabrik Aschach AGRANA Stärke GmbH, A)

5.1.9.2 Grobvermahlung

- Zahnscheibenmühle (CV/ZM 3 (abgeändert), Netzschpumpen GmbH, D)

5.1.9.3 Feinvermahlung

- Universalmühle (CUM 150/S-D N1, Netzschpumpen GmbH, D)

5.1.9.4 Keimabtrennung

- Zyklon (PU-50/10/4, Dorr-Oliver Eimco Germany GmbH, D)

5.1.9.5 Extraktion

- Centrisieb (HCC 500, Nivoba, NL)

5.1.9.6 Feinfaserabtrennung

- Bogensieb (S 15208/4, Alfa Laval AB, S)

5.1.9.7 Kleberabtrennung, Konzentration, Raffination

- Hydrozyklonanlage (HC-130-15/10, Nivoba, NL)

5.1.9.8 Entwässerung

- Zentrifuge (TZ4, Carl Padberg Zentrifugenbau GmbH, D)
- Handrührwerk (RW 28B, IKA®-Werke GmbH & Co. KG, D)

5.1.9.9 Trockner

- Spin Flash Dryer (015.47, Invensys APV, UK)

5.1.9.10 Fördermedien und Zwischenbehälter

- Schlauchpumpe (IP 200, Alfa Laval AB, S)
- Mohnopumpe (2 NL 20-A, Netzschpumpen GmbH, D)
- Mohnopumpe (2 NE 20-A, Netzschpumpen GmbH, D)
- Stahlbehälter 1 m³ und 2 m³ mit Strombrechern und Rührwerken (Spezialanfertigung, Hoffmann & Partner KG, A)

- Behälter 330 L (Rikutec Richter Kunststofftechnik GmbH & Co. KG, D)
- Förderschnecke (Spezialanfertigung, Daxner GmbH, A)

5.2 Analysenmethoden

5.2.1 Bestimmung des pH-Wertes

Anwendungsbereich

Diese Methode wird zur Bestimmung des pH-Wertes für Maisquellwasser verwendet.

Prinzip

Mit Hilfe einer Elektrode wird die Wasserstoffionenkonzentration gemessen und am Gerät als pH-Wert angezeigt.

Geräte

- pH- Messgerät (pH 330i/340i; WTW GmbH, D)
- Einstabmeßkette (SenTix 81, WTW GmbH, D)
- Magnetrührer (IKA[®] RET Basic C, IKA[®] -Werke GmbH & Co. KG, D)
- Becherglas 250mL
- Stativ

Reagenzien

- Pufferlösung pH 4 (Certipur, Merk KGaA, D)
- Pufferlösung pH 7 (Certipur, Merk KGaA, D)

Durchführung

Die Einstabmesskette wird mittels Pufferlösung im entsprechenden Messbereich der zu analysierenden Probelösungen kalibriert und anschließend mit entionisierten Wasser gespült. Die pH-Wert Messung erfolgt mittels Eintauchen der Elektrode in die durch Magnetrührer bewegte Probelösung. Die Ablesung des pH-Wertes vom Display erfolgt nach Stabilisierung des Anzeigewertes.

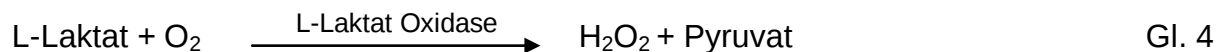
Probenvorbereitung Quellwasser

Die Quellwasserproben wurden unverändert verwendet. Die Messung des pH-Werts des Quellwassers erfolgt nach der Probenentnahme im Einweggebinde.

5.2.2 Bestimmung von L-Milchsäure mittels YSI Analysator

Prinzip

Bei der Bestimmung von L-Milchsäure mittels YSI Analysator erfolgt eine direkte Messung von gelöster L-Milchsäure am Enzymsensor, wobei das Enzym L-Lactatoxidase an der YSI L-Laktatmembran immobilisiert ist (ANONYMOUS, Bedienungsanleitung YSI Select 2700).



Das bei der Reaktion (Gl. 4) gebildete Wasserstoffperoxid wird an einer Platinelektrode elektrochemisch oxidiert. Durch die Erhöhung des elektrischen Signals ist eine Quantifizierung der oxidierten L-Lactats möglich.

Geräte

- Biochemischer Analysator (YSI 2700 SELECT, YSI Incorporated, USA)
- L-Lactat Membran (YSI 2329, YSI Incorporated, USA)
- Duran - Röhrchen 3 mL (Schott AG, D)
- Einwegpipette 1 mL (LW 4040 Pastette, Alpha Laboratories, UK)
- Reaktionsgefäß 2 mL (LW 72.695, Sarstedt AG &CO, D)
- Zentrifuge (MiniSpin, Eppendorf AG, D)



Abb. 12: YSI Analysator 2700 (ZFT, 2007)

Reagenzien

- Pufferlösung (YSI 2357, YSI Incorporated, USA)
- L (+)-Milchsäure-Lithiumsalz (22084.0100, Merck KGaA, D)

Durchführung

Mit dem L (+) – Milchsäure-Lithiumsalz wurde eine Kalibrationslösung von 0,5 g/L hergestellt und das Gerät anschließend kalibriert. Von der Probe wurden 2 mL in ein Duran- Röhrchen gefüllt, in den Autosampler gestellt und gemessen. Bei einem Messergebnis außerhalb des Kalibrationsbereichs wurde eine Verdünnung hergestellt.

Probenvorbereitung

Wegen des hohen Anteils an Trübstoffen im Quellwasser wurden die Proben vor der Messung zentrifugiert. Mittels Einwegpipette wurden 2 mL der Probe in ein Reaktionsgefäß überführt und für 15 Minuten bei 12.500 U/min zentrifugiert. Danach wurde der Überstand in ein Duran-Röhrchen überführt.

Auswertung und Berechnung

Die Messergebnisse wurden am Display in mg/L L-Milchsäure angezeigt. Bei durchgeführten Verdünnungsschritten wurden die Messergebnisse mit den jeweiligen Verdünnungsfaktor multipliziert.

Die Untersuchung wurde in Doppelbestimmung durchgeführt und der Mittelwert der beiden Ergebnisse verwendet.

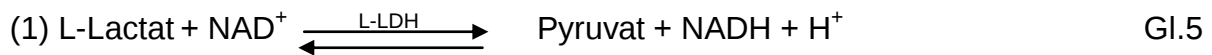
5.2.3 Bestimmung von L-Milchsäure mittels enzymatische Methode

Anwendungsbereich

Diese Methode (ICUMSA Nr. GS8/4/6-13) wird in der Zuckerindustrie speziell zur Bestimmung von L-Milchsäure (L-Laktat) in Melassen, Zuckerrüben und Rohsäften verwendet und wurde im Rahmen der Arbeit zur L-Milchsäure Bestimmung in Mais-quellwasser adaptiert.

Prinzip

Für die Quantifizierung von L-Milchsäure sind zwei Enzymreaktionen erforderlich. Bei der ersten, von L-Lactat Dehydrogenase (L-LDH) katalysierten Reaktion, wird L-Milchsäure (L-Lactat) durch Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD^+) zu Pyruvat oxidiert (NOLL, 1988). (Gl. 5)



Da jedoch das Gleichgewicht von Reaktion (1) stark zugunsten von L-Milchsäure und NAD^+ ausfällt, ist eine zweite Reaktion erforderlich. Dabei wird Pyruvat bei einem erheblichen Überschuss an D-Glutamat durch das Enzym D-Glutamat-Pyruvat Transaminase (D-GPT) in L-Alanin und 2-Oxoglutarat umgewandelt (NOLL, 1988). (Gl. 6)



Dadurch wird das Gleichgewicht auf die Seite von Pyruvat und NADH verschoben. Die, während dieser gekoppelten Reaktion gebildete NADH-Menge, ist der L-Milchsäure-Menge äquivalent. NADH ist die Messgröße und kann aufgrund seiner Absorption bei 340 nm bestimmt werden (ICUMSA, 1994).

Geräte

- Waage (Mettler PM400, Mettler GmbH, CH)
- Zentrifuge (Minispin, Eppendorf AG, D)
- UV/VIS Spectrophotometer (UV-1700PC, Shimadzu Scientific Instruments, USA)
- Elektronische Kolbenhubpipetten (Biohit GmbH, D)
- Pipettenspitzen (Proline, Biohit GmbH, D)
- Küvetten 10*4*45 mm (81.971, Sarstedt AG& Co, D)
- Rührspatel 64 mm (81.971, Sarstedt AG&Co, D)
- Reagiergefäß 2 mL (72.695, Sarstedt AG&Co, D)
- Messkolben
- Einwegröhrchen 21 mL (Sarstedt AG&Co, D)

Reagenzien

- L-Milchsäure-Set Boehringer (10139084035, Boehringer Mannheim GmbH, D)

Die Testkombination enthält:

- Flasche 1 mit 30 mL Lösung, zusammengesetzt aus:
 - Glycylglycinpuffer, pH 10 ; L-Glutaminsäure, 440 mg; Stabilisatoren
- Flasche 2 mit 210 mg NAD-Lyophilisat (vor Gebrauch mit 6 mL entionisierten Wasser lösen)
- Flasche 3 mit 0,7 mL Glutamat-Pyruvat-Transaminase, 1100 U
- Flasche 4 mit 0,7 mL L-Lactat-Dehydrogenase, 3800 U
- Glycylglycin (104233 Merck KGaA, D)
- L (+)-Glutaminsäure (10291 Merck KGaA, D)
- Kaliumhexacyanoferrat (II)-Trihydrat (104984, Merck KGaA, D)
- Zinksulfat-Heptahydrat (108883, Merck KGaA, D)
- Natriumhydroxid (106498, Merck KGaA, D)

Herstellung der Reagenzien

Carrez Lösung I

In einen 100 mL Messkolben werden $3,6 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}$ eingewogen mit entionisiertem Wasser bis zur 100 mL Marke aufgefüllt und gut geschüttelt.

Carrez Lösung II

In einen 100 mL Messkolben werden $7,2 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ eingewogen, mit entionisierten Wasser bis zur 100 mL Marke aufgefüllt und gut geschüttelt.

Carrez Lösung III

In einen 100 mL Messkolben werden $0,4 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ NaOH eingewogen mit entionisiertem Wasser bis zur 100 mL Marke aufgefüllt und gut geschüttelt.

L-Milchsäure Standard

Es wurde ein L-Milchsäurestandard mit einer Konzentration von 40 ppm hergestellt.

Glycylglycin/Glutamat-Puffer (pH 10,00)

7,93 g Glycylglycin und 1,47 g L-Glutaminsäure werden in einen 100 mL Messkolben eingewogen und in 85 g entionisiertem Wasser gelöst. Mittels 40 %-iger Natronlauge wird der pH-Wert auf pH 10 eingestellt und der Messkolben wird bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösung ist bei 4 °C für 3 Monate haltbar.

Probenvorbehandlung von Quellwasser

Die Quellwasserproben wurden gravimetrisch verdünnt, um nicht außerhalb des Messbereichs der Standards zu geraten. Es wurden 0,5 - 10 g $\pm$ 0,001 g der Quellwasserprobe, abhängig vom Messergebnis der vorhergehenden YSI Analysator Messung, in einen 100 mL Messkolben eingewogen und mit 10 g entionisiertem Wasser verdünnt. Anschließend wurden 1,25 mL Carrez Lösung I zugegeben und der Kolben leicht geschwenkt um eine Durchmischung der Lösung zu erreichen und 10 Minuten gewartet. Danach wurden 1,25 mL Carrez Lösung II und 2,5 mL Carrez Lösung III zugegeben und ebenfalls leicht geschwenkt. Nach 10 Minuten Wartezeit wurde der Kolben mit entionisiertem Wasser auf 100 g aufgefüllt und gut geschüttelt. Danach wurden aus dem Kolben 2 mL entnommen und in ein Regiergefäß übergeführt und bei 12.500 min⁻¹ für 15 min zentrifugiert. Der Überstand wurde für die darauf folgende enzymatische Messung verwendet.

Durchführung

Aus den Reagenzien des Milchsäure-Sets wurde eine Vormischung in einem 21 mL Röhrchen hergestellt und für die Bestimmung (Probe, Standard, Blindwert) verwendet. Die Zusammensetzung der Vormischung ist in Tab. 3 ersichtlich.

Tab. 3: Zusammensetzung der Vormischung für die enzymatische L-Lactatbestimmung

Reagenzien für Vormischung	pro Probe in mL
Glycylglycinpuffer	0,350
Entionisiertes Wasser	0,300
NAD-Lyophilisat	0,050
Glutamat-Pyruvat Transaminase	0,003
Gesamtvolumen	0,703

Danach erfolgte das Pipettieren der Volumina folgender Lösungen in Küvetten. In der Tab. 4 ist die Zusammensetzung der jeweiligen Ansätze veranschaulicht.

Tab. 4: Zusammensetzung des Ansatzes für die enzymatische L-Lactatbestimmung

Lösung [mL]	Probe	Blindwert	Standard
Vormischung	0,700	0,700	0,700
Probe	0,100	0	0
Entionisiertes Wasser	0	0,100	0
L-Lactat Standard	0	0	0,100
Gesamtvolumen	0,800	0,800	0,800

Anschließend wurde der Inhalt der Küvetten mittels Rührspatel gemischt und nach 5 Minuten Wartezeit die Extinktion 1 (E_1) gemessen. Nach erfolgter Messung wurden je 0,005 mL L-Lactat-Dehydrogenase (Flasche 4) zugegeben. Die zweite Extinktionsmessung (E_2) erfolgte nach einer Wartezeit von 30 min.

Auswertung

Der L-Lactatgehalt wurde mit anhand der Gleichungen 7, 8, 9, und 10 berechnet.

$$\Delta E = (E_2 - E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - E_1)_{\text{Blindwert}} \quad \text{GL.7}$$

E_1Extinktion vor der Enzymzugabe

E_2Extinktion nach der Enzymzugabe

$$c = \frac{(V \times MG)}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta E [g/l] \quad \text{Gl.8}$$

$$c = 0,1151 \times \Delta E [g/l] \quad \text{Gl.9}$$

V.....Testvolumen [0,805 mL]

v.....Probenvolumen [0,100 mL]

MG.....Molekulargewicht L-Lactat [90,08 g/mol]

d.....Schichtdicke [1 cm]

ϵ Extinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm [6,3 l * mmol⁻¹ * cm⁻¹]

$$L - \text{Lactat [mg / L]} = \frac{(c \times VVD \times GV)}{EW} \times 1000 \quad \text{Gl.10}$$

c.....Konzentration [g/L]

VVD.....Vorverdünnung des Quellwassers

GV.....Gesamtvolumen der Verdünnung in mL (25 mL; 50 mL; 100 mL)

EW.....Einwaage der Quellwasserprobe im Messkolben

Die Untersuchungen wurden in Doppelbestimmung durchgeführt und der Mittelwert verwendet.

Der in der Literatur angegebene Variationskoeffizient von max. 1 % bzw. 2 %, abhängig von den Probenmedien, zur Richtigkeit und Präzision der Methode wurde mittels fünf Bestimmungen der Probematerialien überprüft (siehe Tab.5).

Tab. 5: L-Lactatbestimmung von Maisquellwasser

Proben	Ergebnisse (mg/L)					MW	Sx	VK
	1.	2.	3.	4.	5.	(mg/L)	(mg/L)	(%)
Maisquellwasser	3689	3723	3700	3768	3712	3718,4	30,52	0,82

MW Mittelwert

Sx Standartabweichung

VK Variationskoeffizient

5.2.4 Bestimmung der D-Milchsäure mittels enzymatischer Methode

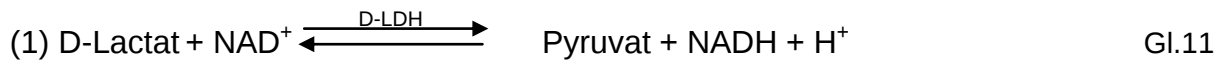
Anwendungsbereich

Diese Methode (ICUMSA Nr. GS8/4/6-13) wurde speziell zur Bestimmung von D-Milchsäure (D-Laktat) in Melassen, Zuckerrüben und Zuckerrohrsäften verwendet und wurde im Rahmen der Arbeit zur Bestimmung im Maisquellwasser verwendet.

Prinzip

Für die Quantifizierung von D-Milchsäure sind zwei Enzymreaktionen erforderlich. Bei der ersten, von D-Lactat Dehydrogenase (D-LDH) katalysierten Reaktion wird D-

Milchsäure (D-Lactat) durch Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD^+) zu Pyruvat oxidiert (NOLL, 1988). (Gl. 11)



Da jedoch das Gleichgewicht von Reaktion (1) stark zugunsten von D-Milchsäure und NAD^+ ausfällt, ist eine zweite Reaktion erforderlich. Dabei wird Pyruvat bei einem erheblichen Überschuss an D-Glutamat durch das Enzym D-Glutamat-Pyruvat Transaminase (D-GPT) in D-Alanin und Oxoglutarat umgewandelt (NOLL, 1988). (Gl. 12)



Dadurch wird das Gleichgewicht auf die Seite von Pyruvat und NADH verschoben. Die während dieser gekoppelten Reaktion gebildete NADH-Menge ist der D-Milchsäure-Menge äquivalent. NADH ist die Messgröße und aufgrund seiner Absorption bei 340nm zu bestimmen (ICUMSA, 1994).

Geräte

- Waage (Mettler PM400, Mettler GmbH, CH)
- Zentrifuge (Minispin, Eppendorf AG, D)
- UV/VIS Spectrophotometer (UV-1700PC, Shimadzu Scientific Instruments, USA)
- Elektronische Kolbenhubpipetten (Biohit GmbH, D)
- Pipettenspitzen (Proline, Biohit GmbH, D)
- Küvetten 10*4*45 mm (81.971, Sarstedt AG&Co, D)
- Rührspatel 64 mm (81.971, Sarstedt AG&Co, D)
- Reaktionsgefäß 2 mL (72.695, Sarstedt AG&Co, D)
- Messkolben
- Einwegröhrchen 21 mL (Sarstedt AG&Co,D)

Reagenzien

L-Milchsäure-Set Boehringer (10139084035, Boehringer Mannheim GmbH, D)

Die Testkombination enthält:

- Flasche 1 mit 30 mL Lösung, zusammengesetzt aus:
- Glycylglycinpuffer, pH 10,0; L-Glutaminsäure, 440 mg; Stabilisatoren
- Flasche 2 mit 210 mg NAD-Lyophilisat (vor Gebrauch mit 6 mL entionisierten Wasser lösen)
- Flasche 3 mit 0,7 mL Glutamat-Pyruvat-Transaminase, 1100U
- D-Lactat-Dehydrogenase (Roche Diagnostics GmbH, D)
- Lithium D-Lactat (62551 Fluka Chemie AG, CH)?
- Glycylglycin (104233 Merck KGaA, D)
- L (+)-Glutaminsäure (10291 Merck KGaA, D)
- Kaliumhexacyanoferrat (II)-Trihydrat (104984, Merck KGaA, D)
- Zinksulfat-Heptahydrat (108883, Merck KGaA, D)
- Natriumhydroxid (106498, Merck KGaA, D)

Herstellung der Reagenzien

Carrez Lösung I

In einen 100 ml Messkolben werden $3,6 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}$ eingewogen und mit entionisiertem Wasser bis zur 100 ml Marke aufgefüllt und gut geschüttelt.

Carrez Lösung II

In einen 100 mL Messkolben werden $7,2 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ eingewogen und mit ionisiertem Wasser bis zur 100 mL Marke aufgefüllt und geschüttelt.

Carrez Lösung III

In einen 100 mL Messkolben werden $0,4 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ NaOH eingewogen und mit entionisiertem Wasser bis zur 100 mL Marke aufgefüllt und geschüttelt.

D-Milchsäure Standard

Es wurde ein D-Milchsäurestandard mit einer Konzentration von 40 ppm hergestellt.

Glycylglycin /Glutamat-Puffer (pH = 10,00)

7,93 g Glycylglycin und 1,47 g L-Glutaminsäure werden in einen 100 mL Messkolben eingewogen und in 85 g entionisierten Wasser gelöst. Mittels 40%-iger Natronlauge wird der pH-Wert auf pH = 10,00 eingestellt und der Messkolben wird bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösung ist bei +4°C für 3 Monate haltbar.

Probenvorbehandlung von Quellwasser

Die Quellwasserproben wurden gravimetrisch so verdünnt, um nicht außerhalb des Messbereichs der Standards zu geraten. Es wurde 0,5 - 10 g $\pm$ 0,001 g der Quellwasserprobe abhängig vom Messergebnis der vorhergehenden YSI Analysator Messung in einen 100 mL Messkolben eingewogen und mit 10 g entionisierten Wasser verdünnt. Es wurde 1,25 mL Carrez Lösung I zugegeben, der Kolben leicht geschwenkt um eine Durchmischung der Lösung zu erreichen und 10 min gewartet. Danach wurden 1,25 mL Carrez Lösung II und 2,5 mL Carrez Lösung III dem Kolben zugegeben und ebenfalls leicht geschwenkt. Nach 10 min. Wartezeit wurde der Kolben mit ionisiertem Wasser auf 100 g aufgefüllt und gut geschüttelt. Danach wurden aus dem Kolben 2 mL entnommen und in ein Regiergefäß übergeführt und bei 12.500 min⁻¹ für 15 min zentrifugiert. Der Überstand wurde für die darauf folgende enzymatische Messung verwendet.

Durchführung

Aus den Reagenzien des Milchsäure-Sets wurde eine Vormischung in einem 21 mL Röhrchen hergestellt, die für die Proben, den Standard und den Blindwert verwendet wurde. Die Zusammensetzung der Vormischung ist in der folgenden Tabelle (Tab. 6) ersichtlich.

Tab. 6: Zusammensetzung der Vormischung für die enzymatische D-Lactatbestimmung

Reagenzien für Vormischung	pro Probe in mL
Glycylgcinpuffer	0,350
Entionisiertes Wasser	0,300
NAD-Lyophilisat	0,050
Glutamat-Pyruvat Transaminase	0,003
Gesamtvolumen	0,703

Danach erfolgte eine Pipettierung der Volumina folgender Lösungen in Küvetten gemäß Tab. 7.

Tab. 7: Zusammensetzung des Ansatzes für die enzymatischen D-Lactatbestimmung

Lösung [mL]	Probe	Blindwert	Standard
Vormischung	0,700	0,700	0,700
Probe	0,100	0	0
Entionisiertes Wasser	0	0,100	0
D-Lactat Standard	0	0	0,100
Gesamtvolumen	0,800	0,800	0,800

Anschließend wurde der Inhalt der Küvetten mittels Rührspatel gemischt und nach 5 Minuten Wartezeit wurde die Extinktion 1 (E_1) gemessen. Nach erfolgreicher Messung erfolgte die Zugabe von je 0,01 mL D-Lactat-Dehydrogenase. Die zweite Messung (E_2) erfolgte nach einer Wartezeit von 45 min.

Auswertung

Der L-Lactatgehalt wurde mit anhand der Gleichungen 13, 14, 15, und 16 berechnet.

$$\Delta E = (E_2 - E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - E_1)_{\text{Blindwert}} \quad \text{Gl.13}$$

E_1Extinktion vor der Enzymzugabe

E_2Extinktion nach der Enzymzugabe

$$c = \frac{(V \times MG)}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta E \text{ [g/l]} \quad \text{Gl.14}$$

$$c = 0,1158 \times \Delta E \text{ [g/l]} \quad \text{Gl.15}$$

V.....Testvolumen [0,810 mL]

MG.....Molekulargewicht D-Lactat [90,08 g/mol]

v.....Probenvolumen [0,100 mL]

d.....Schichtdicke [1cm]

ϵExtinktionskoeffizient von NADH bei 340nm [$6,3 \text{ l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$]

$$D - \text{Lactat} [\text{mg} / \text{L}] = \frac{(c \times \text{VVD} \times \text{GV})}{\text{EW}} \times 1000 \quad \text{Gl.16}$$

c.....Konzentration [g/L]

VVD.....Vorverdünung des Quellwassers

GV.....Gesamtvolumen der Verdünnung in mL (25 mL; 50 mL; 100 mL)

EW.....Einwaage der Quellwasserprobe im Messkolben

Die Untersuchungen wurden in Doppelbestimmung durchgeführt und der Mittelwert wurde verwendet.

Der in der Literatur angegebene Variationskoeffizient von max. 1% bzw. 2 % abhängig von den Probenmedien zur Richtigkeit und Präzision der Methode wurde mittels fünf Bestimmungen der Probematerialien überprüft (Tab.8).

Tab. 8: D-Lactatbestimmung von Maisquellwasser

Proben	Ergebnisse (mg/L)					MW	Sx	VK
	1.	2.	3.	4.	5.	(mg/L)	(mg/L)	(%)
Maisquellwasser	3526	3588	3595	3553	3512	3554,8	36,68	1,03

MW Mittelwert

Sx Standartabweichung

VK Variationskoeffizient

5.2.5 Bestimmung von Ethanol und Acetat mittels HPLC

Diese Methode wurde bei den Maisquellwasserproben angewendet.

Prinzip

Die zu analysierenden Substanzen werden bei der Probenaufbereitung extrahiert und mittel Hochdruckflüssigkeitschromatographie aufgetrennt und analysiert. Die Proben werden von der mobilen Phase (Laufmittel) durch die Säule transportiert, wobei die einzelnen Bestandteile aufgrund von Wechselwirkungen mit der stationä-

ren Phase (Trennsäule) unterschiedlich stark zurück gehalten werden. Dadurch eluieren sie zu verschiedenen Retentionzeiten aus der Säule und werden mittels Detektor nachgewiesen.

Geräte

- Pumpe (HPG 580, Dionex, USA)
- Detektor UV/VIS (UVDAD, Dionex, USA)
- Detektor RI (SE71, Shodex® Ion Exclusion, Bio-Rad Laboratories, USA)
- Autosampler (Gina 50T, Dionex, USA)
- Säulenofen (STH 585, Dionex, USA)
- Vorsäule (Micro Guard Cation H, Bio-Rad Laboratories, USA)
- Software (Chromeleon 6.0, Dionex, USA)
- HPLC-Vials (548-0003, Chromacol, UK)
- Verschlusskappen (548-0411, Chromacol, UK)
- Messkolben 100 mL
- Laufmittelbehälter 2 L (Schott AG, D)
- Pipetten
- Reaktionsgefäß 2 mL (72.695, Sarstedt AG & Co, D)
- Zentrifuge (MiniSpin, Eppendorf AG, D)
- Einwegspritze 2 mL (Omnifix® 612F0111, B. Braun Melsungen AG, D)
- Einmalkanülen (Sterican Größe 2, 612F0142, B Braun Melsungen AG, D)
- Spritzenvorfilter 45 µm (PN4562, Pall Life Sciences, USA)

Reagenzien

- Schwefelsäure 1 N (1.09981, Merck KGaA, D)
- Natriumacetat (1.06268.0250, Merck KGaA, D)
- Ethanol (1.008983.2500, Merck KGaA, D)

Probenvorbereitung

Wegen des hohen Anteils an Trübstoffen im Quellwasser wurden die Proben vor der Messung zentrifugiert. Mittels Einwegpipette wurden 2 mL Probe in ein Reaktionsgefäß überführt und für 15 min bei 12.500 min^{-1} zentrifugiert.

Durchführung

Danach wurde der Überstand mit einer Einwegspritze mit aufgesetzter Einmalkannüle aus dem Reaktionsgefäß aufgezogen und über einen 45 µm Spritzenvorfilter in ein HPLC-Vial überführt. Das Vial wurde dann mit einer Verschlusskappe verschlossen und in den Autosampler zur Analyse gestellt.

Herstellung des Laufmittels (0,02 N Schwefelsäure)

Es wurden 20 mL einer 1 N Schwefelsäure auf 2000 mL mit Deionat verdünnt.

Herstellung der Standardlösung

Es wurde ein Mischstandard (Stammlösung) hergestellt, der alle zu untersuchenden Bestandteile (Acetat und Ethanol) in einer Konzentration von 10.000 mg/L enthielt. Danach wurden Verdünnungen aus dem Mischstandard (Stammlösung) nach dem in Tab. 9 ersichtlichen Schema hergestellt.

Tab. 9: Verdünnungskonzentrationen des Mischstandards

Stammlösung [mL]	Auffüllvolumen [mL]	Konzentration [mg/L]
10	100	1000
5	100	500
1	100	100
0,1	100	10

Es wurde pro Analyse 20 µL Probe injiziert bei einer Flussrate von 0,6 mL min⁻¹ und einer Säulentemperatur von 65 °C. Die Detektion erfolgte für die organischen Säuren (Acetat) durch den UV/VIS-Detektor bei 210 nm und für den Alkohol Ethanol durch den RI-Detektor bei 210 nm.

Auswertung

Die Auswertung erfolgte mittels Chromeleon 6.0 Software. Mit Hilfe der hergestellten Verdünnungsstandards konnten Kalibrationsgeraden im Konzentrationsbereich von 10-1000 mg/L erstellt werden. Es wurde die Peakfläche integriert und so die Konzentration ermittelt.

5.2.6 Bestimmung der Dichte

Diese Methode wurde beim Probenmaterial Quellwasser bei den Pilotversuchen angewendet.

Prinzip

Mittels Wägung kann das Verhältnis der Masse zum Volumen angegeben werden.

Geräte

- Messzylinder 100 mL
- Vollpipette 100 mL
- Waage (LE 4202S, Sartorius AG, D)

Durchführung

Die Dichte wurde mittels Wägung des Messzylinders vor und nach Zugabe von 100 mL Probe mittels Vollpipette nach Gl .17 berechnet.

Berechnung

$$\rho = (M_2 - M_1) / V \quad \text{Gl. 17}$$

ρDichte [g/cm³]

M1.... Masse des Messzylinders in g

M2.....Masse des Messzylinders mit Probe in g

V.....Volumen der Probe in cm³

5.2.7 Pilotversuche Maistärkeherstellung

Die einzelnen Verfahrensschritte bei der Maisstärkeherstellung auf der Pilotanlage sind im Kapitel 7.5.1 beschrieben. Die dabei verwendeten Geräte sind unter Kapitel 5.1.9 aufgelistet.

6 Entwicklung des Versuchsmodells

Da natürliche Biostabilisatoren bei der Maisquellung bis dato noch nicht eingesetzt wurden, war es notwendig ein Laborversuchsmodell zu entwickeln, welches den großtechnischen Prozess möglichst gut darstellt. Dabei stellte sich das Quellwassermanagement als besonders wichtig heraus. Quellwasser mit einer genügend aktiven Milchsäurekultur bildete die Grundvoraussetzung um eine, durch Zugabe der natürlichen Biostabilisatoren, erreichte Hemmung bzw. Unterdrückung des Wachstums erkennen zu können. Die Beurteilung der Mikroorganismenaktivität erfolgte durch Analyse der mikrobiologischen Stoffwechselprodukte.

6.1 Untersuchungen zur Erarbeitung des Versuchsmodells

- Um die großtechnisch im Edelstahlbehälter ablaufende Maisquellung im Labormaßstab zu simulieren wurden 500 mL Schottflaschen verwendet.
- Die Dauer der Maisquellung beträgt üblicherweise 48 bis 50 h. Bei allen Laborversuchen und Pilotversuchen mit Ausnahme der Vorversuche wurde eine Quellzeit von 48 h gewählt.
- Die durchschnittliche Quelltemperatur bei der Stärkeherstellung beträgt 48 bis 50 °C. Daraus folgend wurde bei allen Laborquellversuchen und Pilotversuchen eine Quelltemperatur von 50 °C festgelegt.
- Es wurde pro Laborquellansatz 125 g Trockenmais und 250 g Quellwasser für das Versuchsmodell festgelegt. Anlehnend an die großtechnische Maisquellung, bei der Mais im Quellbottich mit Quellwasser bedeckt ist.
- Um eine ausreichende Durchmischung des Quellgutes zu erreichen, wurden alle Ansätze in einem temperierbaren Wasserbadschüttler gequollen.
- Um eine aktive Kultur an Milchsäurebakterien für die Versuche zu gewährleisten, wurde in bestimmten Zeitabständen frisches Quellwasser von der Stärkefabrik Aschach abgeholt. Im Quellwasser kommt es beim Quellungsprozess zu einer Vermehrung der Milchsäurebakterien. Aufgrund der damit verbundenen Stoffwechselaktivität führt dies zu einer Erhöhung der Milchsäurekonzentration. Durch die Zugabe der Biostabilisatoren sollte die Hemmung der Milchsäurebakterien leicht erkennbar durch die fehlende Absenkung des pH-Wertes nachgewiesen werden können. Um optimale Wachstumsbedingungen für die Milchsäurebakteri-

en zu gewährleisten, wurden verschiedene Vorversuche die unter Punkt 6.2 und 6.3 beschrieben sind, durchgeführt.

- Im Quellwasser vorkommende Milchsäurebakterien nutzen vorhandenen Zucker als Substrat, wodurch es zur Bildung von Milchsäure kommt. Der dadurch verursachte Abfall des pH-Werts ist somit ein schnell messbarer Indikator für die Vermehrung von Milchsäurebakterien. Weiter wurde die Konzentration an L- und D-Milchsäure bestimmt um die tatsächliche Milchsäurekonzentrationen zu erhalten. Die Bestimmung von Ethanol und Essigsäure wurde durchgeführt um sich abzusichern, dass in erster Linie Milchsäure als Hauptprodukt gebildet wird, beziehungsweise eine homofermentative Milchsäuregärung stattfindet.

6.2 Vorversuche Quellwasser

Ziel dieser Vorversuche im Labormaßstab war es die optimalen Wachstumsbedingungen für die Milchsäurebakterien, bezogen auf die Quellwasserzusammensetzung, zu finden. Erst mit entsprechendem Milchsäurezuwachs während der Quellung, kann auch eine Hemmung durch Biostabilisatoren untersucht werden.

6.2.1 Vorversuchsbedingungen

Das Quellwasser wurde für die Versuche unverdünnt, sowie in 1:2, 1:5 und 1:10 Verdünnung verwendet. Zusätzlich wurden Ansätze mit 1:5 und 1:10 verdünntem Quellwasser auf einen pH-Wert von 6 gestellt. In weiteren Versuchskombinationen wurden Teile des Quellwassers durch MRS-Bouillon, CSL (Corn Steep Liquor) oder LSL (Light Steep Liquor) ersetzt. Für jeden Laborquellansatz wurden 125 g Trockenmais in 500 mL Schottflaschen eingewogen. Danach wurden je 250 g der jeweiligen Quellwasser-Verdünnungskombination hinzugegeben. Die Schottflaschen wurden verschlossen und in den Wasserbadschüttler gestellt. Die Ansätze wurden aus organisatorischen Gründen für 64 h anstatt wie bei der Maisquellung üblichen 48 h bei einer Quelltemperatur von 50 °C gequollen. Danach wurden der pH-Wert und die Milchsäurekonzentration bestimmt. Diese Untersuchungen wurden in Doppelbestimmung durchgeführt, angegeben in den Versuchsergebnissen ist jeweils der Mittelwert

der Einzelbestimmungen. Die unterschiedliche Zusammensetzung des Quellwassers für die Laborquellansätze I-IV ist in der Tab.10 zusammengefasst.

Tab. 10: Laborquellansätze I-IV

	Versuch I QW	Versuch II QW + MRS	Versuch III QW + CSL	Versuch IV QW + LSL
QW	250 g	187,5 g QW + 62,5 g MRS	187,5 g QW + 62,5 g CSL	187,5 g QW + 62,5 g LSL
QW 1:2	250 g	187,5 g QW + 62,5 g MRS	187,5 g QW + 62,5 g CSL	187,5 g QW + 62,5 g LSL
QW 1:5	250 g	187,5 g QW + 62,5 g MRS	187,5 g QW + 62,5 g CSL	187,5 g QW + 62,5 g LSL
QW 1:5 G	250 g	187,5 g QW + 62,5 g MRS	187,5 g QW + 62,5 g CSL	187,5 g QW + 62,5 g LSL
QW 1:10	250 g	187,5 g QW + 62,5 g MRS	187,5 g QW + 62,5 g CSL	187,5 g QW + 62,5 g LSL
QW 1:10 G	250 g	187,5 g QW + 62,5 g MRS	187,5 g QW + 62,5 g CSL	187,5 g QW + 62,5 g LSL

QW Quellwasser
CSL Corn Steep Liquor
LSL Light Steep Liquor
MRS MRS-Bouillon
G pH-Wert gestellt auf 6

6.2.2 Vorversuchsergebnisse

6.2.2.1 Versuch I

In den Abb. 13 und 14 sind die Ergebnisse dieser Versuchsreihe dargestellt. Es war ersichtlich, dass es nach 64 h Quellung zu einem deutlichen Absinken des pH-Werts im Quellwasser bei allen Ansätzen kommt. Daraus lässt sich Wachstum von Milchsäurebakterien und ein Anstieg der Milchsäurekonzentration schlussfolgern. Bei allen Ansätzen wurde eine Absenkung der pH-Werte auf einen Bereich von 3,6 - 3,8 festgestellt, unabhängig davon, ob der pH-Wert zu Beginn des Laborquellansatzes eingestellt wurde oder nicht. Beim Ansatz „QW“ wurde eine Verdoppelung der Milchsäurekonzentration festgestellt. Beim Laborquellansatz „QW 1:5“ wurde eine beinahe sechsfache Milchsäurekonzentration gemessen. Eine achtfach höhere Milchsäurekonzentration wurde beim Laborquellansatz „QW 1:10“ festgestellt.

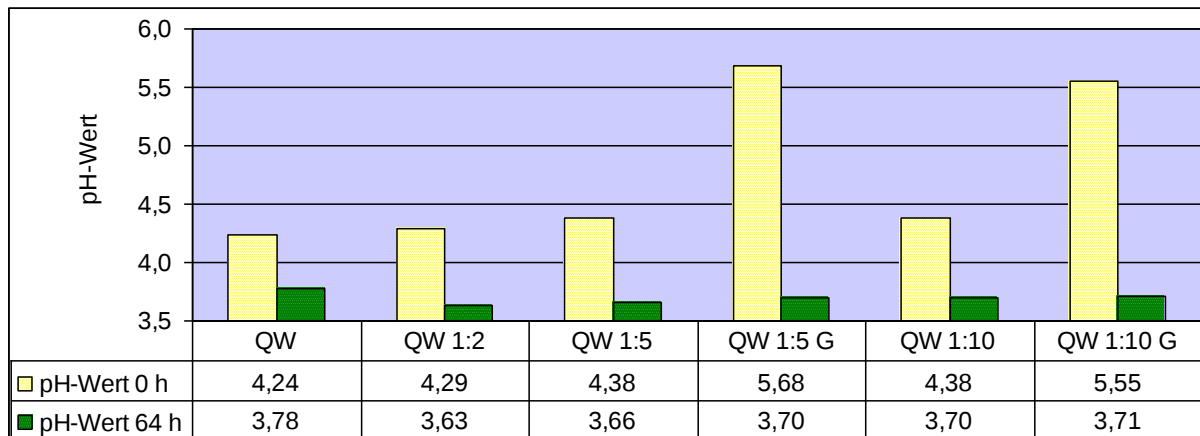


Abb. 13: pH-Werte Versuch I

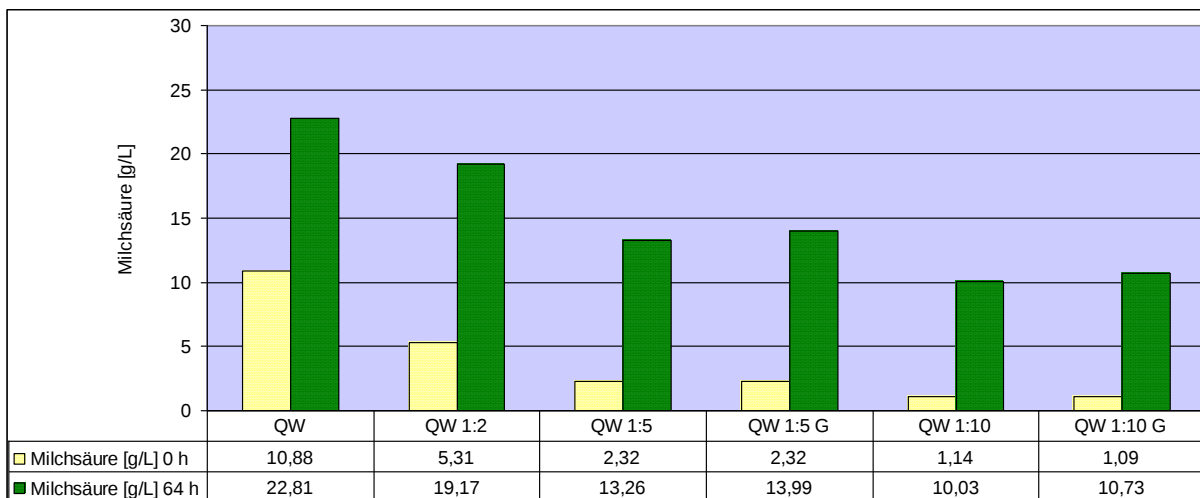


Abb. 14: Milchsäurekonzentrationen Versuch I

6.2.2.2 Versuch II

Die Ergebnisse der Versuchsansätze unter Verwendung von MRS-Bouillon sind in den Abbildungen 15 und 16 ersichtlich. Es lässt sich eine Absenkung des pH-Werts trotz unterschiedlicher Ausgangswerte während der Quellzeit von 64 h feststellen. Dies lässt auf eine gute Vermehrung von Milchsäurebakterien schließen. Der pH-Wert aller Laborquellansätze liegt zu Ende der Quellung im Bereich von 3,6 - 3,8. Die Laborquellansätze mit zugegebener MRS-Bouillon zeigten viel versprechende Steigerungsraten an Milchsäure. Eine Milchsäurekonzentrationserhöhung um etwa das Dreifache lag bei dem Ansatz mit unverdünnten Quellwasser und MRS- Medium nach Abschluss der Quellung vor. Bei dem Laborquellansatz „QW 1:5 MRS“, wurde eine etwa achtfache Steigerung der Milchsäurekonzentration beobachtet.

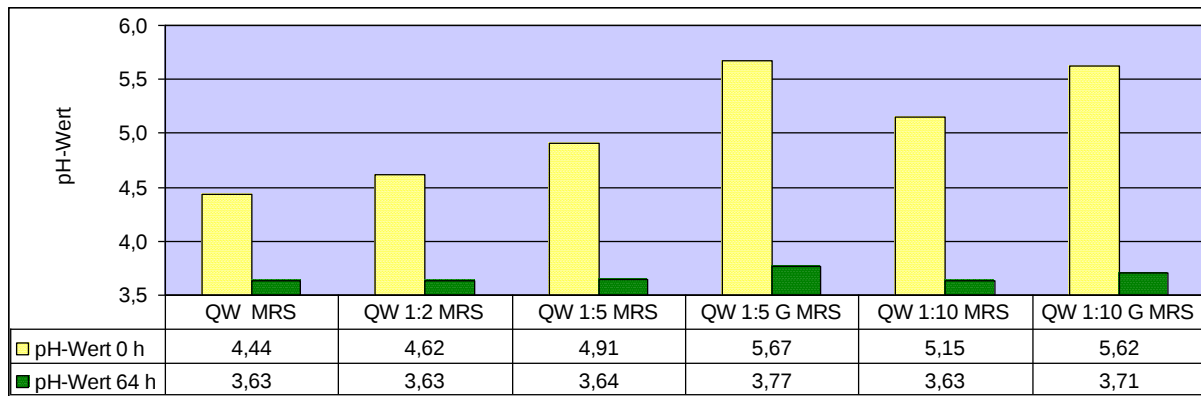


Abb. 15: pH-Werte Versuch II

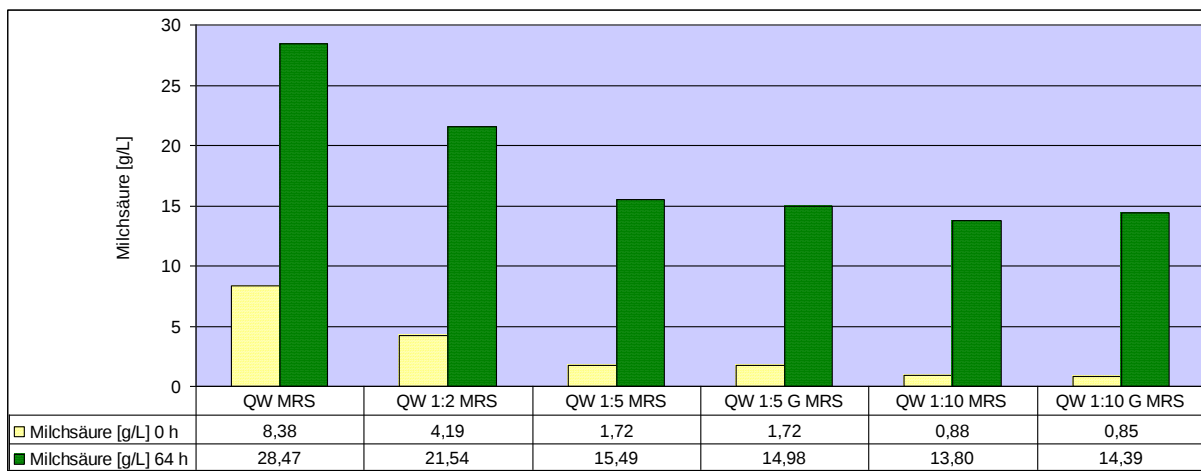


Abb. 16: Milchsäurekonzentrationen Versuch II

6.2.2.3 Versuch III

Die Ergebnisse der Laborquellansätze unter Verwendung von CSL sind in den Abbildungen 17 und 18 ersichtlich. Bei dem Ansatz „QW CSL“ wurde keine pH-Wert Absenkung beobachtet. Vermutlich hatte bei diesem Laborquellansatz keine oder eine nur sehr geringe Säurebildung stattgefunden. Bei den restlichen Ansätzen dieser Versuchsreihe war eine Absenkung des pH-Wertes deutlich ersichtlich. Bei diesen Laborquellansätzen lagen die pH-Werte zu Ende der Quellung im Bereich von 3,7 - 3,8. Die Milchsäurekonzentrationen bei der Testreihe mit CSL, ersichtlich in Abb. 16, waren generell niedriger als bei den anderen Versuchsreihen. Wie auch bei der Messung des pH-Wertes des Ansatzes „QW CSL“, zeigte die Messung der Milchsäurekonzentration nach 64 h keine Veränderung im Vergleich zum Beginn der Quellung. Weiters machte es keinen deutlich erkennbaren Unterschied hinsichtlich der Milchsäurekonzentration, ob das Quellwasser 1:5 oder 1:10 verdünnt war.

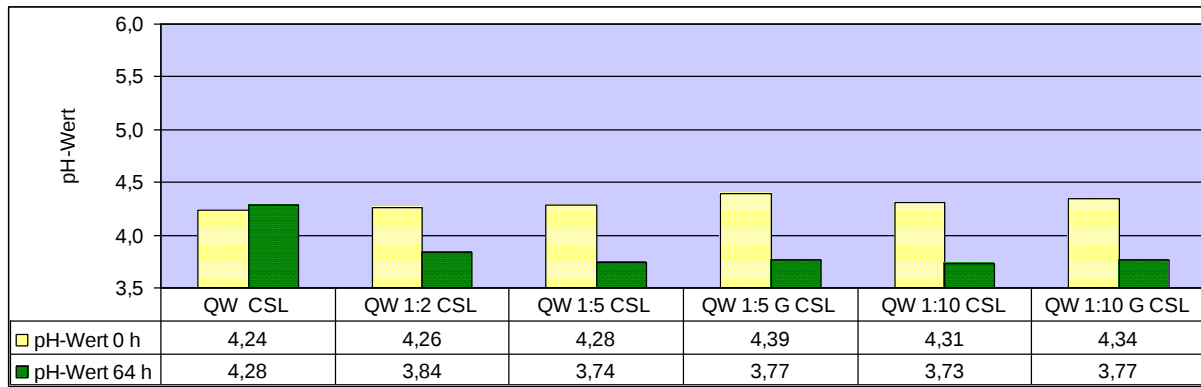


Abb. 17: pH-Werte Versuch III

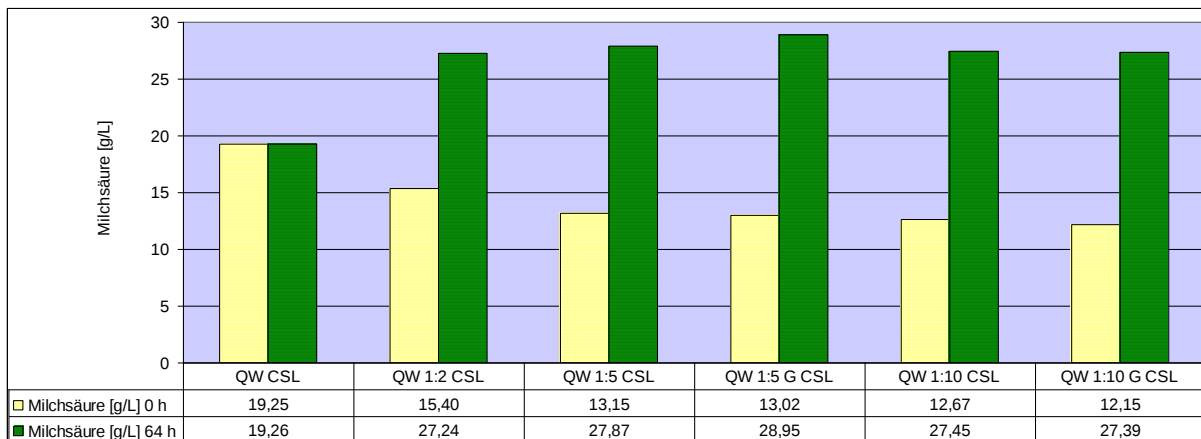


Abb. 18: Milchsäurekonzentrationen Versuch III

6.2.2.4 Versuch IV

Die Ergebnisse der Laborquellansätze unter Verwendung von LSL sind in den Abbildungen 19 und 20 dargestellt. Bei allen Laborquellansätzen mit Verwendung von LSL kam es zu einer pH-Wert Absenkung (siehe Abb.17). Der pH-Wert aller Laborquellansätze lag zu Ende der Quellung im Bereich von 3,6 - 3,7. Die Steigerung der Milchsäurekonzentration der Testreihe mit LSL-Zusatz, dargestellt in Abb. 18, zeigte höhere Werte als diejenigen mit CSL. Bei den Ansätzen mit unverdünntem Quellwasser kam es zu einer Steigung der Milchsäurekonzentration um mehr als das Doppelte. Die Laborquellansätze „QW 1:5 LSL“ und „QW 1:10 LSL“ zeigten sich in Bezug zur Konzentration der Milchsäure sehr ähnlich. Diese zeigten eine Steigerung der Milchsäurekonzentration ungefähr im Bereich des Fünffachen.

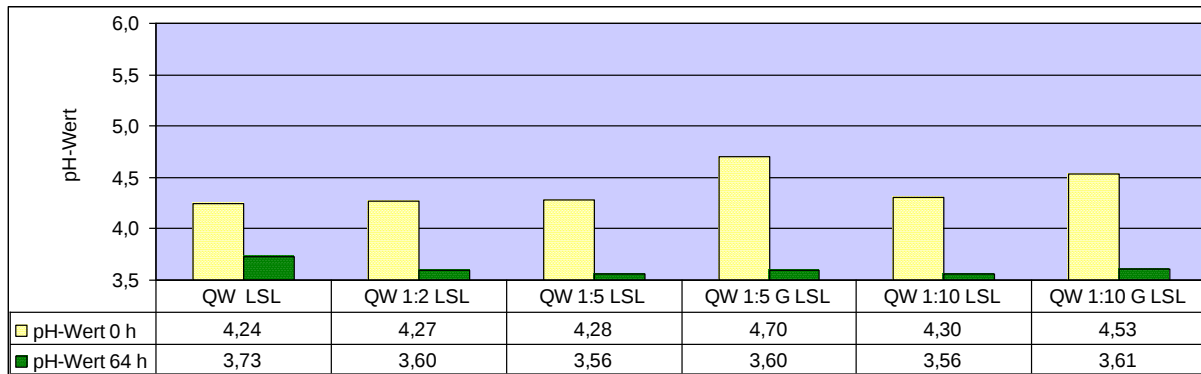


Abb. 19: pH-Werte Versuch IV

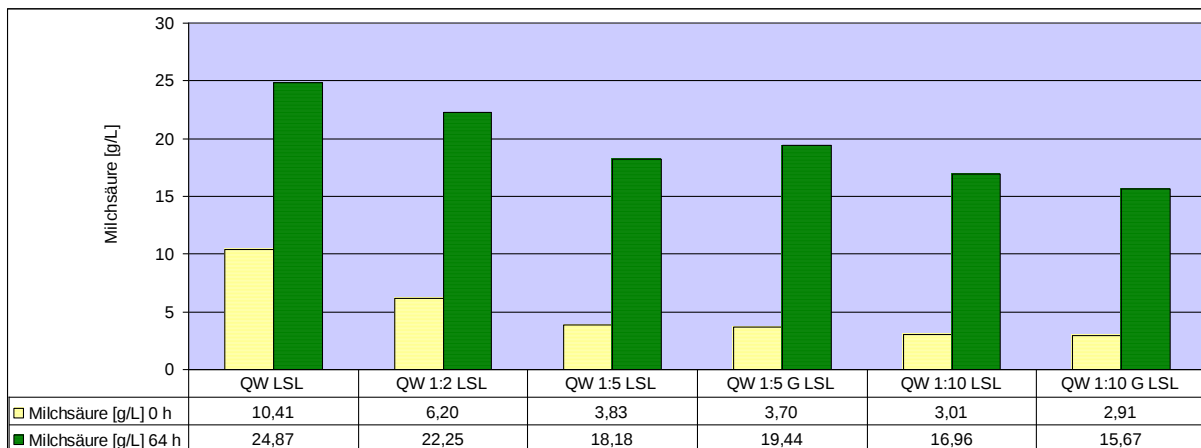


Abb. 20: Milchsäurekonzentrationen Versuch IV

6.3 Vorversuch Vorkultur

Eine weitere Idee zu den unter den Punkten 6.2. beschriebenen Vorversuchen war es eine Vorkultur von Milchsäurebakterien herzustellen. Die Vorkultur an sollte eingefroren und mittels MRS-Medium wieder aktiviert werden. Anschließend sollte sie zum zuvor eingefrorenen Quellwasser zugegeben werden. Ziel dieses Versuchs war es den Zeitpunkt herauszufinden, bei dem sich die Milchsäurebakterien in der exponentiellen Wachstumsphase befinden, um so eine aktive Milchsäurekultur zu erhalten. Der Laborquellansatz, mittels dieser Vorkultur ein Versuchsmodell mit gleichen Ausgangsbedingungen zu erhalten, wurde nach den ersten Versuchen wieder verworfen, da sich zusätzliche unüberbrückbare Probleme bezüglich des Zeitmanagements bei der Versuchsdurchführung ergaben. Auf eine detaillierte Beschreibung dieses Versuchsmodells wird deshalb verzichtet.

6.4 Zusammenfassung - Vorversuche

Für die Durchführung der Systematischen Hauptversuche wurden zwei verschiedene Versuchsmodelle in Erwägung gezogen, wobei das unter 6.3 erklärte Versuchsmodell mit einer Vorkultur verworfen wurde. Mit Hilfe der Vorversuchstestreihen I-IV wurde untersucht, welche Verdünnungen von Quellwasser und welche Zusätze empfehlenswert sind, um eine ausreichende Milchsäurebildung zu erreichen. Die Versuchsreihe mit CSL und LSL zeigten dabei die geringsten Milchsäurezunahmen. Die höchsten Milchsäuresteigerungsraten die Testreihen mit Quellwasser ohne Zusatz und Quellwasser mit Zusatz von MRS-Bouillon. Obwohl bei den Testreihen mit Zusatz von MRS-Bouillon die höchsten Zuwachsraten beobachtet wurden, wurde von dieser Variante für die Durchführung der „Systematischen Hauptversuche“ Abstand genommen, da diese die großtechnischen Bedingungen des Quellprozesses möglichst ähnlich darstellen sollten. Bei der Auswahl des Versuchsmodells wurde auf die Problematik der Haltbarkeit des von der Maisstärkefabrik Aschach bezogenes Quellwasser Rücksicht genommen, da im Zuge der Versuche mit der Pilotanlage zur Maisstärkeherstellung im Sommer 2006 verringerte Haltbarkeit beobachtet wurde. Aufgrund der begrenzten Haltbarkeit des Quellwassers ist es daher schwer möglich für alle Versuche über einen bestimmten Zeitraum die gleichen Bedingungen zu schaffen. Entscheidend ist, dass sich im Quellwasser aktive Milchsäurebakterien befinden. Daher wurde frisches Quellwasser in bestimmten Zeitabständen von der Stärkefabrik Aschach bezogen. Wie schon zuvor beschrieben, wurde schlussendlich auf die Verwendung von Zusätzen verzichtet.

Bei den Voruntersuchungen mit unterschiedlichen Quellwasserverdünnungen wurden mit der Variante „QW 1:10“ hohe Milchsäuresteigerungsraten erzielt. Um sich jedoch von den großtechnischen Bedingungen in der Stärkefabrik nicht zu weit zu entfernen wurde die Variante „QW 1:5“ für das Versuchsmodell ausgewählt.

6.5 Gewähltes Versuchsmodell und abgeleitete Versuche

Für die Hauptversuche wurde nun folgendermassen vorgegangen.

Versuchsmodell „QW 1:5“

- 500 mL Schottflaschen
- 48 h Quellzeit
- 50°C Quelltemperatur

- 250 g Quellwasser (QW 1:5)
- 125 g Trockenmais
- Wasserbadschüttler
- Zwei Schottflaschen pro Laborquellansatz für die Probenahme nach 24 h und nach 48 h
- Kontrollansatz
- Untersuchungsparameter pH-Wert und Milchsäure- Ethanol- und Essigsäurekonzentration nach 0 h, 24 h und 48 h

Die gewählten Wirkstoffkonzentrationen an Biostabilisatoren für die systematischen Hauptversuche – Biostabilisatoren, beschrieben unter Punkt 7.1, wurden aufgrund von Versuchen, welche im Rahmen einer Forschungsarbeit in der Zuckerforschung Tulln im Jahre 2006 durchgeführt wurden, gewählt (ZINSBERGER, 2008).

Bei der Maisquellung ist der Zusatz von Sulfit für die Proteinauflockerung verantwortlich. Sie beruht auf der reduzierenden Spaltung von Disulfid-Bindungen unter Bildung von Sulfhydrylgruppen. Ein gewisser Anteil der Sulfitzugabe hat mikrobiologische Effekte. Ziel dieser Versuchsreihe die im Kapitel systematische Hauptversuche – Sulfit beschrieben ist, war es diesen chemischen und mikrobiologischen Effekt zu entkoppeln. Sulfit sollte im Zuge der nachfolgenden systematischen Hauptversuche vorwiegend für die Auflockerung des Endosperms verantwortlich sein. Den mikrobiologischen Effekt sollten die hinzugefügten Biostabilisatoren übernehmen. In dieser Versuchsreihe, beschrieben unter Punkt 7.2, sollte herausgefunden werden bei welcher Konzentration an Sulfit bereits eine Hemmwirkung auf Milchsäurebakterien zu sehen ist.

Bei der nächsten Versuchsreihe wurde bei konstantem Sulfitgehalt die Biostabilisatorkonzentrationen variiert, um jene Biostabilisatorkonzentration herauszufinden, die eine Hemmwirkung auf Milchsäurebildner ausübt, um damit überschüssige Zugaben von Sulfit ersetzen zu können. Basierend auf den Ergebnissen der Versuchsreihe Hauptversuche - Biostabilisatoren und der Versuchsreihe Hauptversuche - Sulfit wurde diese Versuchsreihe Hauptversuche – Sulfit und Biostabilisatoren durchgeführt, beschrieben unter Punkt 7.3.

Darauffolgend wurden die Auswirkungen der Biostabilisatorenzugabe bei konstantem Sulfitgehalt bei Quellungsbeginn und nach 24 h Quelldauer auf die Milchsäurebildung in einer weiteren Versuchsreihe untersucht. Jene Versuchsreihe Hauptversuche – Sulfit und Biostabilisatoren – Variation des Zugabezeitpunkts, ist unter Punkt 7.4 beschrieben.

Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden die Versuchsbedingungen und Parameter für die nachfolgenden Versuche auf der Pilotanlage der ZFT bestimmt (siehe Punkt 7.5).

7 Versuchsdurchführung

Bei allen Hauptversuchen wurde das Versuchsmodell „QW 1:5“ angewendet (siehe Punkt 6.5). Für jeden Laborquellansatz wurden 125 g Mais und 250 g Quellwasser (QW 1:5) in 500 mL Schottflaschen gefüllt. Danach erfolgte die Zugabe der Wirkstoffe. Die jeweilige Zugabe an Sulfid sowie an Biostabilisatoren bei den durchgeführten Hauptversuchen ist mittels Tabellen veranschaulicht. Die Angabe der Zugabemenge der Wirkstoffe bezieht sich auf die Gesamtmenge des Ansatzes (Mais und Quellwasser). Anschließend wurden die Schottflaschen verschlossen und bei 50 °C in den Wasserbadschüttler gestellt. Bis zum Zeitpunkt der Beprobung nach 24 h bzw. nach 48 h wurden die einzelnen Laborquellansätze nicht geöffnet. Mit Ausnahme der Laborquellansätze der Hauptversuche – Sulfid und Biostabilisatoren – Variation des Zugabezeitpunkts, wo nach 24 h Quelldauer die Schottflasche geöffnet und der jeweilige Wirkstoff hinzugegeben wurde. In den Versuchen wurden der pH-Wert, die Milchsäurekonzentrationen (D- und L-Milchsäure) sowie die Konzentration an Essigsäure und Ethanol bestimmt. Die Angabe der Ergebnisse der Konzentrationsbestimmung der Stoffwechselprodukte (Milchsäure, Essigsäure, Ethanol) bezieht sich auf die Quellwassermenge. Es wurde mittels Yellow Springs Test der L-Milchsäurewert gemessen um Richtwerte für die Konzentrationsbestimmung an L-Milchsäure nach ICUMSA zu erhalten. Es wurde auf die Angabe dieser Ergebnisse verzichtet. Zur besseren Übersichtlichkeit wurde die Summe aus D- und L-Milchsäure angegeben. Bei den Pilotversuchen wurden die Milchsäurekonzentration und die Dichte bestimmt. Abb. 21 zeigt die mit Mais und Quellwasser abgefüllten Schottflaschen. Die Laborquellansätze im Wasserbadschüttler sind in Abb. 22 dargestellt.



Abb. 21: Laborquellansätze



Abb. 22: Wasserbadschüttler

7.1 Hauptversuche - Biostabilisatoren

Tab. 11 gibt einen Überblick über die verwendeten Wirkstoffkonzentrationen der Versuchsreihen A, B und C.

Tab. 11: Wirkstoffkonzentrationen Versuche A, B und C

Wirkstoffkonzentrationen					
Versuch A		Versuch B		Versuch C	
	Kontrolle*		Kontrolle*		Kontrolle*
10	ppm THI	5	ppm THI	15	ppm THI
20	ppm THI	10	ppm THI	90	ppm Beta
30	ppm THI	15	ppm THI	100	ppm Beta
20	ppm ISO	50	ppm Beta	120	ppm Beta
30	ppm ISO	75	ppm Beta	40	ppm ISO
20	ppm Beta	100	ppm Beta	50	ppm ISO
30	ppm Beta	10	ppm ISO	60	ppm ISO
		20	ppm ISO	80	ppm ISO
		30	ppm ISO		

THI Tetrahydroiso- α -Säuren

ISO Iso- α -Säuren

Beta Hopfen- β -Säuren

* keine Wirkstoffzugabe

7.2 Hauptversuche - Sulfit

Tab. 12 gibt einen Überblick über die untersuchten Konzentrationen an Sulfit.

Tab. 12: Sulfitkonzentrationen Versuch D

Wirkstoffkonzentrationen	
Versuch D	
Kontrolle	
500	ppm Sulfit
750	ppm Sulfit
1.000	ppm Sulfit
1.500	ppm Sulfit
2.000	ppm Sulfit

7.3 Hauptversuche - Sulfit und Biostabilisatoren

Die folgende Tabelle (Tab. 13) gibt einen Überblick über die verwendeten Wirkstoffkonzentrationen der Versuchsreihe, E und F. Zwecks Übersichtlichkeit der Versuchsergebnisse wurde der Versuch E und F hinsichtlich der eingesetzten Wirkstoffkonzentrationen in je zwei Teile aufgeteilt.

Tab. 13: Wirkstoffkonzentrationen Versuche E und F

Wirkstoffkonzentrationen							
Versuch E/1		Versuch E/2		Versuch F/1		Versuch F/2	
Kontrolle 1.000 ppm Sulfit				Kontrolle 1.000 ppm Sulfit			
je Ansatz 1.000 ppm Sulfit + Biostabilisatoren							
5	ppm THI	50	ppm Beta	100	ppm Beta	15	ppm ISO
10	ppm THI	60	ppm Beta	120	ppm Beta	20	ppm ISO
12,5	ppm THI	70	ppm Beta	15	ppm THI	25	ppm ISO
15	ppm THI	80	ppm Beta	20	ppm THI	30	ppm ISO
17,5	ppm THI	90	ppm Beta			35	ppm ISO
20	ppm THI	100	ppm Beta			40	ppm ISO

7.4 Hauptversuche - Sulfit und Biostabilisatoren - Variation des Zugabezeitpunkts

Tab. 14 gibt einen Überblick über die verwendeten Wirkstoffkonzentrationen dieser Versuchsreihe, genannt Versuch G. Zwecks Übersichtlichkeit der Versuchsergebnisse wurde der Versuch G in zwei Teile hinsichtlich des Zugabezeitpunkts der Wirkstoffkonzentrationen aufgeteilt.

Tab. 14: Wirkstoffkonzentrationen Versuch G/1-2

Wirkstoffkonzentrationen	
Versuch G/1	Versuch G/2
Kontrolle*	
1.000 ppm Sulfit	
Kontrolle*	
2.000 ppm Sulfit	
je Ansatz 1.000 ppm Sulfit + Biostabilisatoren	
10 ppm THI	60 ppm THI Zugabe nach 24 h
20 ppm THI	80 ppm THI Zugabe nach 24 h
50 ppm Beta	
100 ppm Beta	
150 ppm Beta	
20 ppm ISO	
40 ppm ISO	

* keine Zugabe von Biostabilisatoren

7.5 Pilotversuche

In Tab. 15 sind die Versuchsbedingungen und verwendeten Wirkstoffkonzentrationen der Pilotversuche veranschaulicht.

Tab. 15: Pilotversuche 1-6

	Pilot 1	Pilot 2	Pilot 3	Pilot 4	Pilot 5	Pilot 6
Sulfit [ppm]	1.000	2.000	1.000	1.000	1.000	1.000
THI- α -Säuren [ppm]	-	-	5	20	10	-
Hopfen- β -Säuren [ppm]	-	-	-	-	-	100
Zugabezeitpunkt Biostabilisatoren	-	-	0h	0h	24 h	0 h

Der erste Pilotversuch wurde mit einer Sulfitzugabe von 1.000 ppm ohne Zusatz von Wirkstoffen durchgeführt. Beim Pilotversuch 2 wurde die großtechnisch übliche Sulfitkonzentration von 2.000 ppm zugegeben. Im Pilotversuch 3 wurden 1.000 ppm Sulfit und 5 ppm THI- α -Säuren eingesetzt. Im Pilotversuch 4 wurde eine Kombination aus einer Sulfitkonzentration von 1.000 ppm und einer Konzentration von 20 ppm THI- α -Säuren verwendet. Der Pilotversuch 5 wurde mit einer Sulfitzugabe von 1.000 ppm sowie 10 ppm THI- α -Säuren nach 24 h Quelldauer durchgeführt. Der letzte Pilotversuch wurde mit 1.000 ppm Sulfit und 100 ppm Hopfen- β -Säuren bei sofortiger Zugabe festgelegt. Es wurden die Milchsäurekonzentration und die Dichte nach 0 h und 48 h bestimmt sowie die Milchsäurebilanzen der durchgeführten Pilotversuche berechnet.

7.5.1 Pilotanlage

In Abb. 23 ist die Pilotanlage zur Maisstärkeherstellung in der ZFT schematisch dargestellt. Sie erstreckt sich im Technikum über zwei Stockwerke. Der Verlauf der Verarbeitung ist in der folgenden Abbildung von links nach rechts zu verstehen. Es beginnt mit der Quellung der Maiskörner im Quellbottich. Die Kapazität der Pilotanlage pro Charge beträgt 100 - 600 kg Mais.

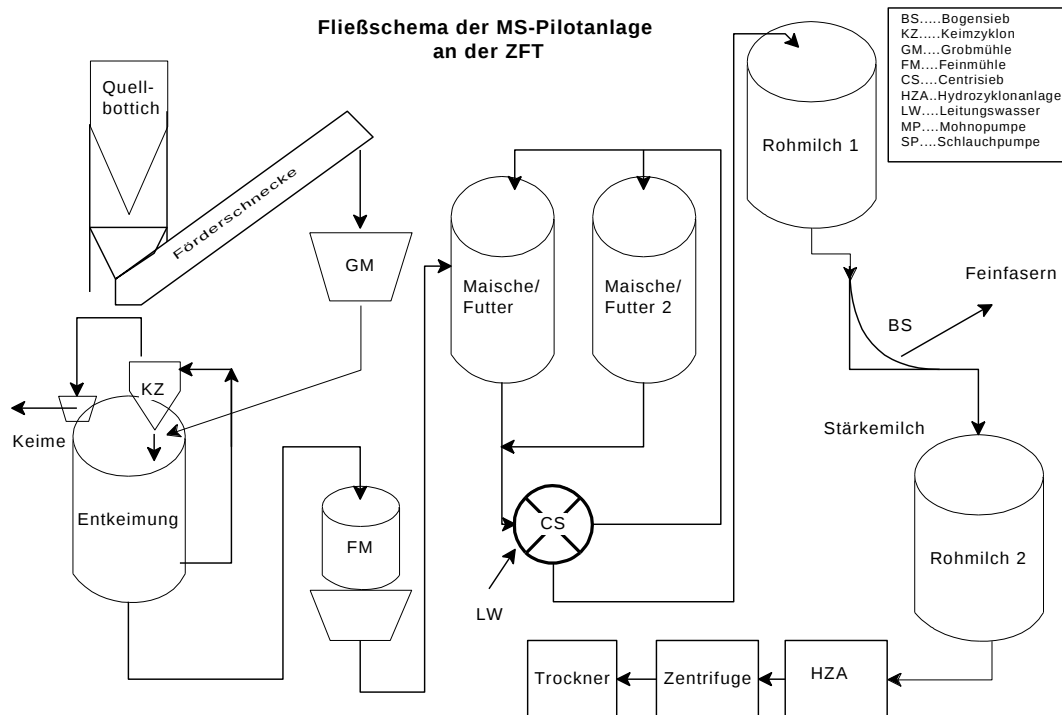


Abb. 23: Pilotanlage zur Maisstärkeherstellung (www.zuckerforschung.at, 2007)

7.5.1.1 Zugabe von Biostabilisatoren zum Quellwasser

Die Biostabilisatorzugabe erfolgte je nach Versuchsschema entweder zu Beginn oder nach 24 h des Quellprozesses.

7.5.1.2 Quellung

Pro Laborquellansatz wurden $100 \pm 0,05$ kg Trockenmais mit 100 L Quellwasser und 1.000 oder 2.000 ppm Natriumbisulfidlösung (40 %) im Quellbottich angesetzt. Zuvor wurde noch der Trockensubstanzgehalt des Quellwassers mittels Leitungswasser auf ca. 8 % gestellt und dann auf 50 °C temperiert. Falls nötig, wurde der pH-Wert des Quellwassers mit Salzsäure (33 %) auf pH 4 gestellt. Die Maisquellung erfolgt in der Stärkefabrik Aschach im Gegenstromprinzip, wobei der frische Mais auf das älteste Quellwasser trifft. Da eine Quellung im Gegenstromverfahren in der Pilotanlage der ZFT nicht möglich ist und um möglichst praxisnah zu bleiben, wurde bei der Quellung im Pilotmaßstab diese simuliert. Dazu wurde Quellwasser nahe dem zeitlichen Endpunkt der Maisquellung aus der Stärkefabrik verwendet, wobei in den ersten 24 h eine Zudosierung von 100 L Leitungswasser mittels Laborschlauchpumpe und in den nächsten 24 h weitere 50 L Leitungswasser dem Quellprozess zugeführt werden. Die Temperatur von 50 °C wurde mittels Plattenwärmetauscher konstant gehalten. Nach

48 h ist die Quellung beendet, das Quellwasser wird abgelassen und die nachfolgenden Schritte der Stärkeherstellung werden durchgeführt (www.zuckerforschung.at, 2007).

7.5.1.3 Grobvermahlung

Die gequollenen Maiskörner werden mittels Förderschnecke in die Zahnscheibemühle eingebracht und grob vermahlen (www.zuckerforschung.at, 2007).

7.5.1.4 Keimlingabtrennung

Nach dem Mahlvorgang werden die grob verriebenen Maiskörner mittels Trichter und Schlauch aus dem ersten Stock des Technikums in einen Stahlbehälter ins Erdgeschoss geführt. Mittels warmen Leitungswassers wurde die Dichte der Suspension unter Rühren auf 4,5°Bé eingestellt. Danach wurde die Suspension mittels Kreiselpumpe über einen Zyklon geleitet. Der Unterlauf wurde in den Stahlbehälter zurückgeleitet und der Oberlauf wurde in einen Siebkorb gepumpt. Dort wurden die Maiskeime von der Stärkemilch abgetrennt (www.zuckerforschung.at, 2007).

7.5.1.5 Feinvermahlung

Nach der vollständigen Entfernung der Keimling wurde die Maische in einer Stiftmühle bei einer Drehzahl von 1500 min^{-1} fein vermahlen. Diese fein vermahlene Suspension wurde dann über das Centrisieb geführt, wobei die Stärkemilch mit der Proteinfraction, dem so genannten Kleber, durch die Siebe durchtritt. Der grobe Faseranteil, bestehend aus Schalen und Zellen, verbleibt auf dem Sieb. Um eine gute Auswaschung zu erreichen wurde der Vorgang dreimal durchlaufen. Anschließend wurde die Rohmilch über ein Bogensieb geführt, um die Feinfasern abzutrennen (www.zuckerforschung.at, 2007).

7.5.1.6 Kleberabtrennung

Aufgrund des Dichteunterschieds erfolgte die Trennung von Kleber und Stärke mittels Hydrozyklonanlage, dabei wurde die Stärkemilch von 1,5°Bé auf zirka 8°Bé aufkonzentriert (www.zuckerforschung.at, 2007).

7.5.1.7 Aufkonzentrierung und Raffination

Um eine optimale Reinigungsleistung der Hydrozyklonanlage erreicht zu können ist eine Stärkemilchkonzentration von 16° Bé nötig. Dies geschieht durch einen Waschschrift, bei dem entionisiertes Wasser in den Prozess eingeleitet wird. Bei Erreichen der gewünschten Konzentration der Stärkemilch, erfolgte die Raffination der Stärke in der Hydrozyklonanlage. Nach Beendigung wurde die Stärkemilch in einem Behälter über Nacht stehen gelassen (www.zuckerforschung.at, 2007).

7.5.1.8 Entwässerung und Trocknung

Die Flüssigkeit die sich über der abgesetzten Stärke befand, wurde abdekantiert. Danach wurde mittels Handrührwerk unter Zugabe von entionisiertem Wasser die Suspension zu einem Slurry aufgerührt. Danach erfolgte eine Zentrifugierung des Slurrys bei einer Drehzahl von 1400 min^{-1} für 15 min. Der dabei entstehende Stärkekuchen wurde anschließend im Trockner getrocknet (www.zuckerforschung.at, 2007).

8 Ergebnisse und Diskussion

8.1 Ergebnisse der Hauptversuche - Biostabilisatoren

In dieser Versuchsreihe sollte herausgefunden werden, welche Konzentrationen an Biostabilisatoren eine Hemmung bzw. Unterdrückung der Milchsäurebakterien bewirken.

8.1.1 pH-Wert-Verlauf

Der Verlauf der pH-Werte bei den drei Versuchsreihen A, B und C ergab einen ersten Hinweis auf mikrobiologische Stoffwechselaktivitäten in den Laborquellansätzen. Auf diese Weise war rasch ersichtlich, ob die gewählte Wirkstoffkonzentration eine hemmende Wirkung auf das mikrobiologische Wachstum hatte.

Die Ergebnisse der Versuchsreihe A sind in der Abb. 24 dargestellt. Im Kontrollansatz dieser Versuchsreihe nahm der pH-Wert von 4,53 zu Quellungsbeginn auf 4,04 nach 24 h Quelldauer auf schließlich 3,78 zu Quellungsende nach 48 h ab, was auf starke Mikroorganismenaktivität hinweist.

Ansätze, denen THI- α -Säuren in einer Konzentration von 10, 20 bzw. 30 ppm zugesetzt worden waren, zeigten demgegenüber keine Absenkung des pH-Werts. Auch bei den Ansätzen mit 20 und 30 ppm Iso- α -Säuren konnte kein Absinken des pH-Werts festgestellt werden, was darauf schließen lässt, dass die gewählten Wirkstoffkonzentrationen die Aktivität der Milchsäurebakterien gehemmt haben. Bei den Ansätzen mit 20 und 30 ppm Hopfen- β -Säuren wurde ein Absinken des pH-Werts am Ende der Quellung auf ein vergleichbares Niveau wie in den Kontrollansätzen beobachtet. Allerdings konnte die Aktivität der Mikroorganismen bei der höheren der beiden Konzentrationen zumindest verzögert werden.

Abb. 25 gibt einen Überblick über den Verlauf der pH-Werte der Versuchsreihe B. Beim Kontrollansatz dieser Versuchsreihe zeigt sich wiederum eine rasche pH-Absenkung von 4,36 zu Quellungsbeginn auf 3,67 nach 24 h Quelldauer und auf 3,68 bei Quellungsende nach 48 h. Somit konnte davon ausgegangen werden dass es zu einer raschen Vermehrung der Mikroorganismen gekommen ist.

In dieser Versuchsreihe war bei den Ansätzen mit THI- α -Säuren eine deutliche Tendenz zu erkennen, dass es mit steigender Wirkstoffkonzentration zu einer geringeren Absenkung des pH-Werts kommt. Die Konzentrationen an Hopfen- β -Säuren wurden diesmal höher gewählt als bei der Versuchsreihe A, um eine bessere Hemmwirkung zu erzielen. Hier konnte ein Absinken des pH-Werts bereits ab einer Wirkstoffkonzentration von 50 ppm Hopfen- β -Säuren verhindert werden. Dies konnte auch bei den beiden höher gewählten Wirkstoffkonzentrationen festgestellt werden. In diesem Versuch wurden auch Iso- α -Säuren in den Konzentrationen 10, 20 und 30 ppm untersucht. Bei der niedrigsten Konzentration konnte allerdings keine Verzögerung des pH-Abfalls erzielt werden. Der pH-Wert sank nach 24 h Quellung auf 3,86 und nach 48 h Quelldauer auf 3,53. Die Laborquellansätze mit 20 und 30 ppm Iso- α -Säuren verzeichneten nach 24 h Quelldauer zwar keinen tieferen pH-Wert, jedoch konnte diese Tendenz nicht bis zum Ende der Quellung beibehalten werden. Daher konnten die Ergebnisse hinsichtlich der hemmenden Wirkung der gewählten Konzentrationen an Iso- α -Säuren aus der Versuchsreihe A nicht bestätigt werden.

Die Ergebnisse der Versuchsreihe C sind in der Abb. 26 dargestellt. Auch hier zeigt der Kontrollansatz eine rasche Abnahme des pH-Werts von 4,37 zu Quellungsbeginn auf 3,65 nach 24 h und auf 3,72 nach 48 h Quelldauer, was wiederum auf eine rege Stoffwechselaktivität hindeutet.

In dieser Versuchsreihe bestätigte sich zwar erneut die gute Hemmwirkung von 15 ppm THI- α -Säuren, allerdings konnte der pH-Wert – im Gegensatz zu den vorangegangenen Versuchen – nicht bis zum Quellungsende stabilisiert werden. Bei den Ansätzen mit Hopfen- β -Säuren in einer Konzentration von 90, 100 und 120 ppm konnte über die gesamte Quelldauer von 48 h ein Absinken des pH-Werts verhindert werden. Auch bei den diesmal höher gewählten Konzentrationen an Iso- α -Säuren wurde bei den Ansätzen mit 40, 60 und 80 ppm Iso- α -Säuren kein Absinken des pH-Wert festgestellt. Eine Ausnahme bildet der Ansatz mit 50 ppm Iso- α -Säuren. Hier sank der pH-Wert bis zum Ende der Quellung auf 4,04 ab.

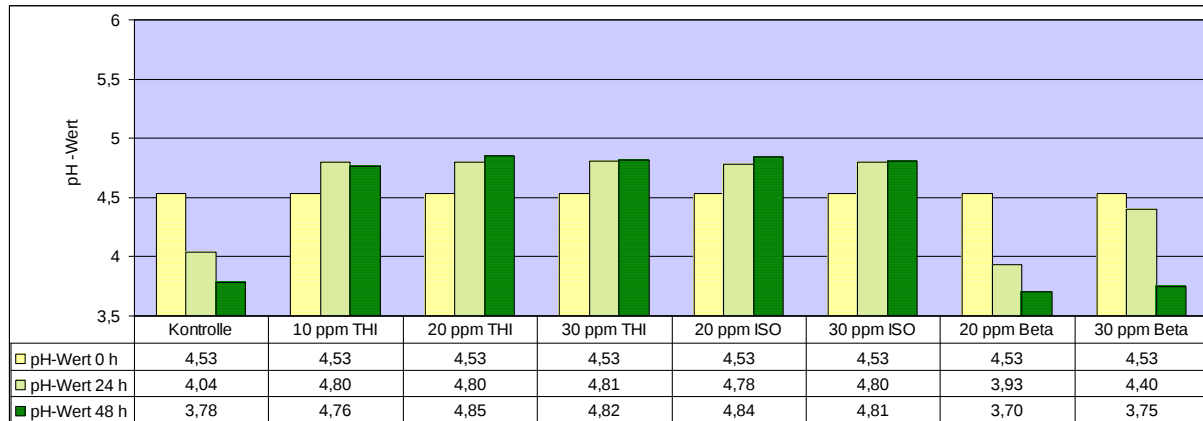


Abb. 24: pH-Werte Versuch A

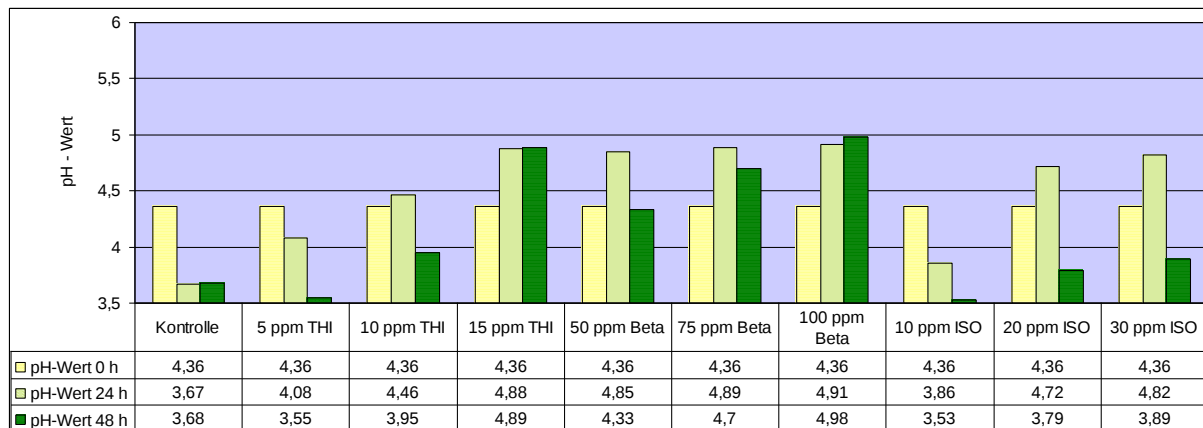


Abb. 25: pH-Werte Versuch B

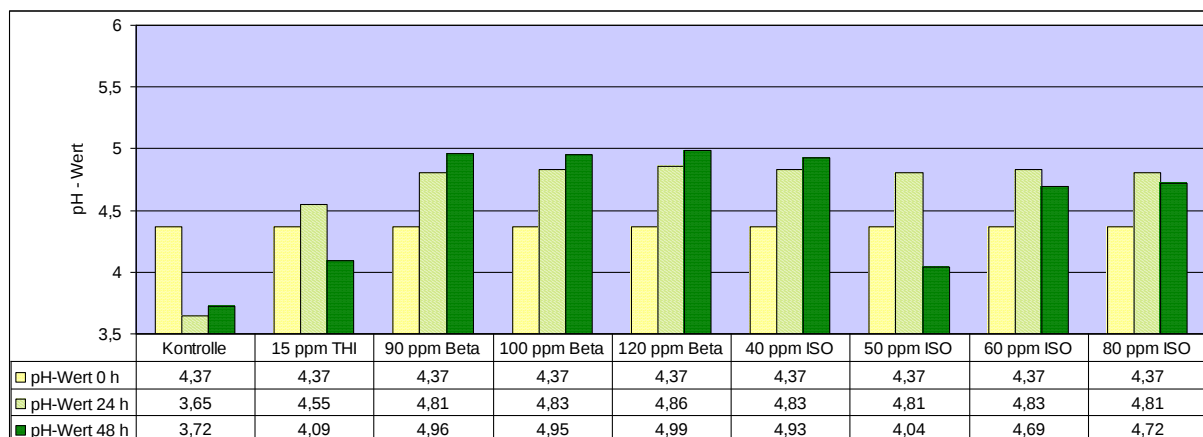


Abb. 26: pH-Werte Versuch C

8.1.2 Milchsäurekonzentrationsverlauf

Die Bestimmung der Milchsäurekonzentrationen wurde für den Nachweis der Hemmwirkung der Biostabilisatoren auf die Milchsäurebildung vorgenommen. In den nachfolgenden Abbildungen ist die D- und L-Milchsäure als Gesamtmilchsäure angeführt. Die Ergebnisse der Milchsäurekonzentrationsbestimmung der Versuchsreihen A, B und C sind in den Abb. 27 - 29 abgebildet.

In Abb. 27 sind die Milchsäurekonzentrationen der Versuchsreihe A über den Quellungsverlauf dargestellt. Die Milchsäurekonzentration des Kontrollansatzes der Versuchsreihe A lag zu Beginn der Quellung bei 5,95 g/L nach 24 h Quelldauer bei 9,60 g/L und erhöhte sich zu Quellungsende auf 17,39 g/L. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass sich die Milchsäurebakterien gut vermehren konnten. Bei den Laborquellansätzen mit 10, 20 und 30 ppm THI- α -Säuren stiegen die Milchsäurekonzentration über den Quellungsverlauf kaum an und lag am Ende der Quellung im Bereich von 5,4 - 6,0 g/L. Dies zeigt, dass eine Hemmung der Milchsäurebakterien stattfand. Auch die Laborquellansätze mit 20 und 30 ppm Iso- α -Säuren zeigten über den Quellungsverlauf eine Unterdrückung der Milchsäurebildung. Wie aus der Beurteilung der pH-Werte bereits zu erwarten war, konnte bei den Ansätzen mit 20 bzw. 30 ppm Hopfen- β -Säuren keine Unterdrückung der Milchsäurebildung erreicht werden. Am Ende der Quellung lagen die Milchsäurekonzentrationen im Bereich von 17,3 - 20,0 g/L und waren damit in etwa vergleichbar mit dem Wert des Kontrollansatzes.

In Abb. 28 sind die Milchsäurekonzentrationen der Versuchsreihe B über den Quellungsverlauf dargestellt. Die Milchsäurekonzentration des Kontrollansatzes der Versuchsreihe B lag zu Beginn der Quellung bei 2,57 g/L nach 24 h Quelldauer bei 11,80 g/L und erhöhte sich zu Quellungsende auf 12,49 g/L. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass sich die Milchsäurebakterien gut vermehren konnten. Beim Laborquellansatz mit 15 ppm THI- α -Säuren stieg die Milchsäurekonzentration über dem Quellungsverlauf kaum an und lag am Ende bei 2,58 g/L. Dies zeigt dass eine Unterdrückung der Milchsäurebakterien stattgefunden hat. Auch der Ansatz mit 100 ppm Hopfen- β -Säuren zeigte über den Quellungsverlauf gesehen eine Unterdrückung der Milchsäurebakterien. Bei den beiden niedriger gewählten Wirkstoffkonzentrationen an Hopfen- β -Säuren konnte über den Quellungsverlauf eine Konzentrationszunahme an Milchsäure verzeichnet werden. Wie aus der Beurteilung der pH-Werte zu erwarten war, konnte bei den Ansätzen mit 10, 20 und 30 ppm Iso- α -Säuren keine Unterdrückung der Milchsäurebildung nach Ablauf der Quellung erreicht werden. Jedoch konnte bei den Ansätzen mit 20 und 30 ppm Iso- α -Säuren eine Unterdrückung der Milchsäurebakterien in den ersten 24 h des Quellungsverlaufes festgestellt werden.

In Abb. 29 sind die Milchsäurekonzentrationen der Versuchsreihe C über den Quellungsverlauf dargestellt. Die Milchsäurekonzentration des Kontrollansatzes der Versuchsreihe C lag zu Beginn der Quellung bei 2,75 g/L nach 24 h Quelldauer bei 11,56 g/L und erhöhte sich zu Quellungsende auf 14,53 g/L. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass sich die Milchsäurebakterien gut vermehren konnten. Wie bereits aus der Beurteilung der pH-Werte zu erwarten war, ist die gute Wirkung von 15 ppm THI- α -Säuren über einen Quellungsverlauf von 24 h ersichtlich, konnte jedoch nicht bis zum Quellungsende beibehalten werden. Die Ansätze mit 90, 100 und 120 ppm Hopfen- β -Säuren zeigten über die gesamte Quelldauer niedrige Milchsäurekonzentrationswerte im Bereich von 2,1 - 2,7 g/L, dies zeigt, dass eine Hemmung der Milchsäurebakterien stattfand. Auch bei den diesmal höher gewählten Konzentrationen an Iso- α -Säuren, konnten über den gesamten Quellungsverlauf eine Unterdrückung der Milchsäurebakterien festgestellt werden. Mit Ausnahme des Ansatzes mit 50 ppm Iso- α -Säuren hier wurde nach Ablauf der Quellung eine Zunahme an Milchsäure festgestellt.

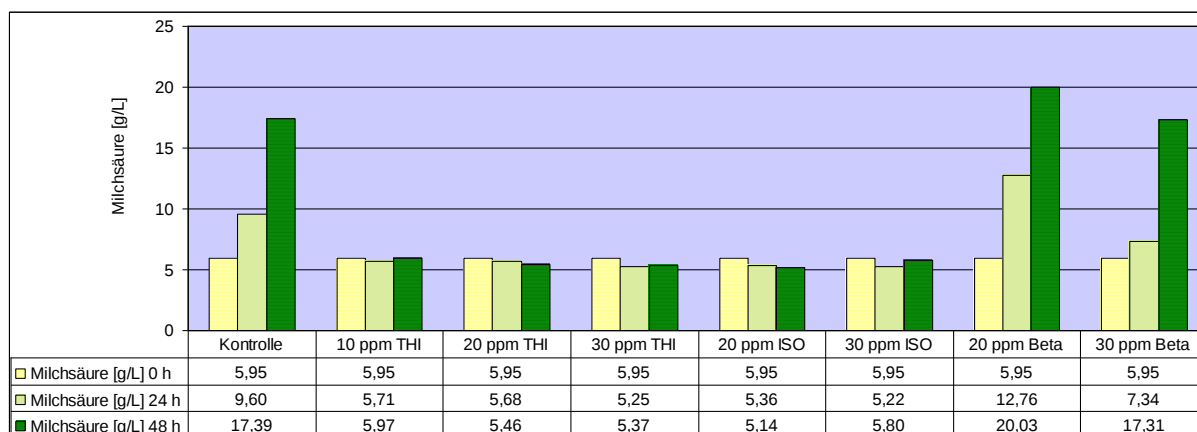


Abb. 27: Milchsäurekonzentrationen Versuch A

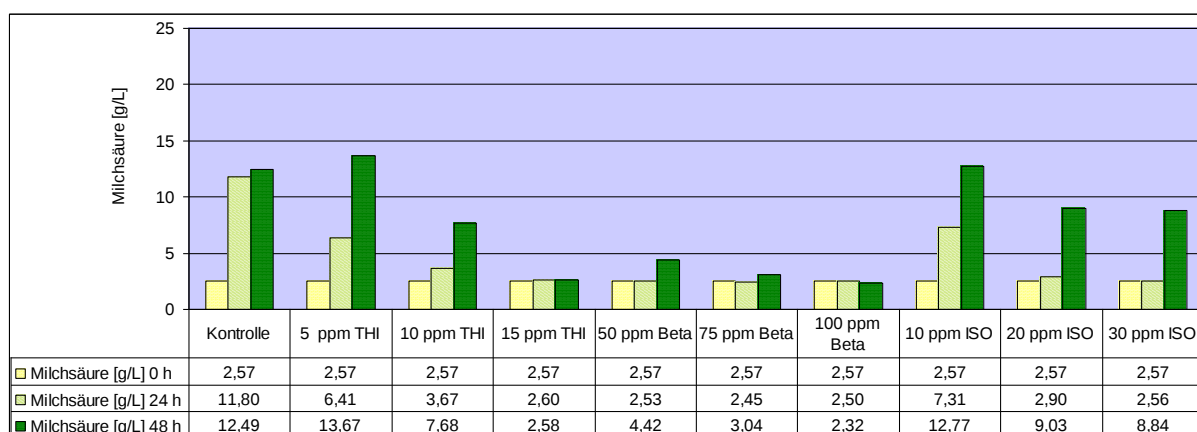


Abb. 28: Milchsäurekonzentrationen Versuch B

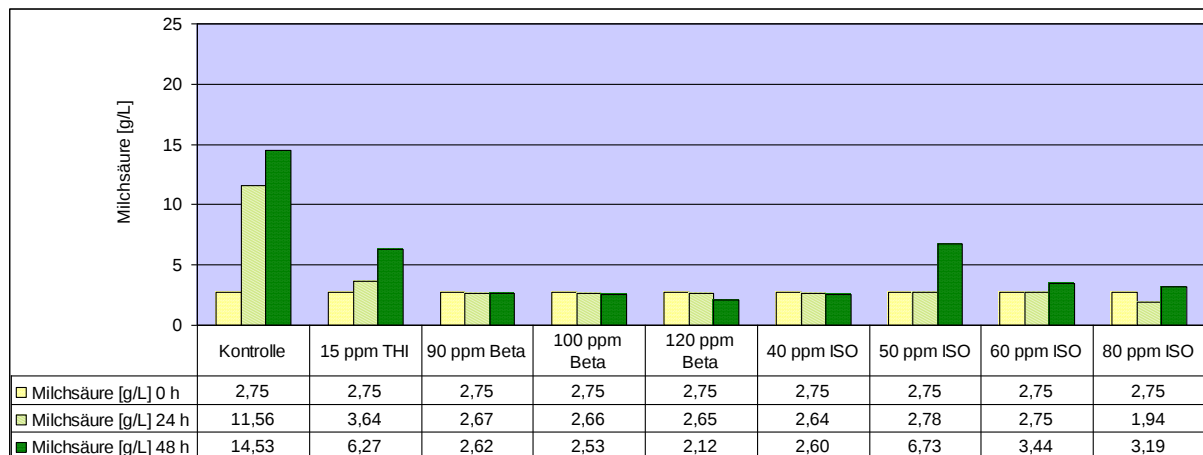


Abb. 29: Milchsäurekonzentrationen Versuch C

Es wurde eine Bewertung der einzelnen Wirkstoffe nach ihrer Hemmwirkung auf die Milchsäurebildung vorgenommen (Tab. 16). Zur besseren Übersichtlichkeit wurde eine Plus und Minus-Bewertung für den jeweiligen prozentuellen Milchsäurezuwachs auf den Milchsäurekonzentrationswert des 0 h Kontrollansatzes gewählt. In den folgenden Tab. 17-18 werden die verwendeten Biostabilisatorenkonzentrationen bezüglich ihrer Hemmwirkung nach 24 h bzw. 48 h bewertet.

Tab. 16: Bewertungssystem der Hemmwirkung

Hemmwirkung	Bewertung	Streubereich
Sehr gut	++	+/- 10%
Gut	+	+/- 10-25%
Mässig	+/-	+/- 25-50%
Gering	-	> +/- 50%

Bei der Versuchsreihe A kommt gut zum Ausdruck, dass die Wirkstoffkonzentrationen von 20 bzw. 30 ppm THI- α -Säuren gut gewählt wurden, um eine sehr gute Hemmwirkung auf die Aktivität der Milchsäurebakterien zu erzielen. Dies wurde in der Versuchsreihe B beim Laborquellansatz mit 15 ppm THI- α -Säuren bestätigt. Leider konnte in der Versuchsreihe C der Ansatz mit 15 ppm THI- α -Säuren nur eine mässige Hemmwirkung nach 48 h Quellzeit aufweisen. Somit kann man sagen dass bei einer Wirkstoffkonzentration von etwa 20 ppm THI- α -Säuren eine sehr gute Hemmwirkung auf die Stoffwechselaktivität der Milchsäurebakterien zu erkennen ist.

Die Wirkstoffkonzentrationen der Laborquellansätze mit 20 und 30 ppm Hopfen- β -Säuren wurden in der Versuchsreihe A zu niedrig gewählt und führten daher zu kei-

ner merklichen Hemmung der Aktivität der Milchsäurebakterien. In den weiteren Versuchsreihen wurden die Wirkstoffkonzentrationen der Laborquellansätze mit Hopfen- β -Säuren höher gewählt. Die Ansätze mit 50, 75 und 100 ppm Hopfen- β -Säuren in der Versuchsreihe B zeigten alle nach 24 h Quelldauer eine sehr gute Hemmwirkung. Letztendlich erwies sich nach 48 h Quellzeit der Ansatz mit 75 ppm Hopfen- β -Säuren als gut hemmend und der Ansatz mit 100 ppm Hopfen- β -Säuren als sehr gut hemmend. Je höher die Konzentration desto eher gelingt es die Milchsäurebakterien für 48 h zu unterdrücken. Dies wurde in der Versuchsreihe C noch bestätigt. Die gewählten Wirkstoffkonzentrationen von 90, 100 und 120 ppm Hopfen- β -Säuren verzeichneten alle nach 24 h Quellzeit sowie nach 48 h Quelldauer eine sehr gute Hemmwirkung. Somit kann man die Wirkstoffkonzentration von 100 ppm Hopfen- β -Säuren als sehr gut hemmend auf die Stoffwechselaktivität der Milchsäurebakterien festlegen.

In der Versuchsreihe A verzeichneten die Laborquellansätze mit 20 bzw. 30 ppm Iso- α -Säuren eine sehr gute Hemmwirkung nach 24 h sowie nach 48 h Quelldauer. Diese konnte in der Versuchsreihe B nur teilweise bestätigt werden. Die Hemmwirkung nach 24 h Quelldauer beim Ansatz von 20 ppm Iso- α -Säuren wurde als gut bewertet und die beim Ansatz von 30 ppm Iso- α -Säuren als sehr gut. Jedoch konnten nach 48 h Quelldauer diese Hemmwirkungen nicht beibehalten werden und fielen nur gering aus. In der Versuchsreihe C wurden gezielt höhere Wirkstoffkonzentrationen an Iso- α -Säuren gewählt (40 ppm, 50 ppm, 60 ppm und 80 ppm). Zunächst wurde bei allen Laborquellansätzen eine sehr gute Hemmwirkung nach 24 h Quellzeit festgestellt, jedoch nach 48 h Quelldauer kam es teilweise zu widersprüchlichen Ergebnissen. Der Ansatz mit 40 ppm Iso- α -Säuren wurde als sehr gut hemmend, der Ansatz mit 50 ppm Iso- α -Säuren jedoch nur als gering hemmend bewertet. Der Ansatz mit 80 ppm wurde als gut hemmend eingestuft. Daher kann man sagen, dass die Wirkstoffkonzentration von 80 ppm Iso- α -Säuren als gut hemmend festgelegt werden kann.

Tab. 17: Hemmwirkung nach 24 h Quellzeit

Versuch A		Versuch B		Versuch C	
Wirkstoff-Konzentration	Hemmung	Wirkstoff-konzentration	Hemmung	Wirkstoff-Konzentration	Hemmung
10 ppm THI	++	5 ppm THI	-	15 ppm THI	+/-
20 ppm THI	++	10 ppm THI	+/-	90 ppm Beta	++
30 ppm THI	++	15 ppm THI	++	100 ppm Beta	++
20 ppm ISO	++	50 ppm Beta	++	120 ppm Beta	++
30 ppm ISO	++	75 ppm Beta	++	40 ppm ISO	++
20 ppm Beta	-	100 ppm Beta	++	50 ppm ISO	++
30 ppm Beta	+	10 ppm ISO	-	60 ppm ISO	++
		20 ppm ISO	+	80 ppm ISO	++
		30 ppm ISO	++		

Tab. 18: Hemmwirkung nach 48 h Quellzeit

Versuch A		Versuch B		Versuch C	
Wirkstoff-Konzentration	Hemmung	Wirkstoff-konzentration	Hemmung	Wirkstoff-Konzentration	Hemmung
10 ppm THI	++	5 ppm THI	-	15 ppm THI	-
20 ppm THI	++	10 ppm THI	-	90 ppm Beta	++
30 ppm THI	++	15 ppm THI	++	100 ppm Beta	++
20 ppm ISO	++	50 ppm Beta	-	120 ppm Beta	++
30 ppm ISO	++	75 ppm Beta	+	40 ppm ISO	++
20 ppm Beta	-	100 ppm Beta	++	50 ppm ISO	-
30 ppm Beta	-	10 ppm ISO	-	60 ppm ISO	+/-
		20 ppm ISO	-	80 ppm ISO	+
		30 ppm ISO	-		

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass eine Konzentration von 20 ppm THI- α -Säuren, 100 ppm Hopfen- β -Säuren und 80 ppm Iso- α -Säuren sehr gut bzw. gut hemmend auf die Milchsäurebildung wirken.

8.1.3 Essigsäure- und Ethanolkonzentrationsverlauf

Die Bestimmung von Ethanol und Essigsäure wurde durchgeführt, um sich abzusichern, dass in erster Linie Milchsäure als Hauptprodukt gebildet wird, beziehungs-

weise in erster Linie eine homofermentative Milchsäuregärung auftritt. Verglichen mit der Konzentration an Essigsäure und Ethanol zu Beginn des Versuchs konnte am Ende keine substantielle Konzentrationsänderung festgestellt werden. Die Laborquellansätze zeigten wie die Kontrolle nur minimale Konzentrationszunahmen an Essigsäure und Ethanol. Die Ergebnisse der Essigsäure- und Ethanolbestimmung der Versuchsreihen A, B und C, sind in den Abb. 30 - 32 veranschaulicht.

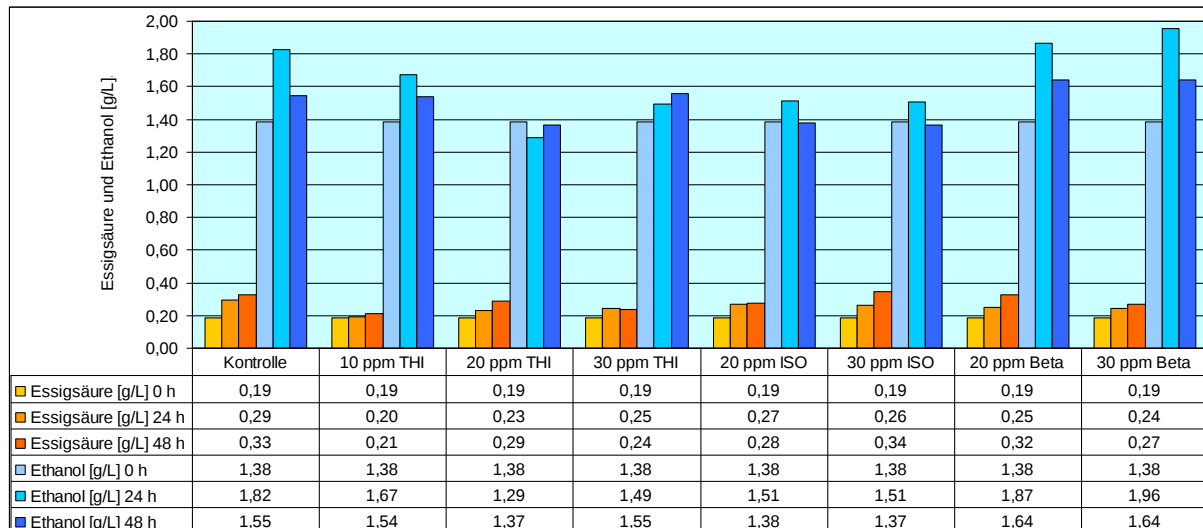
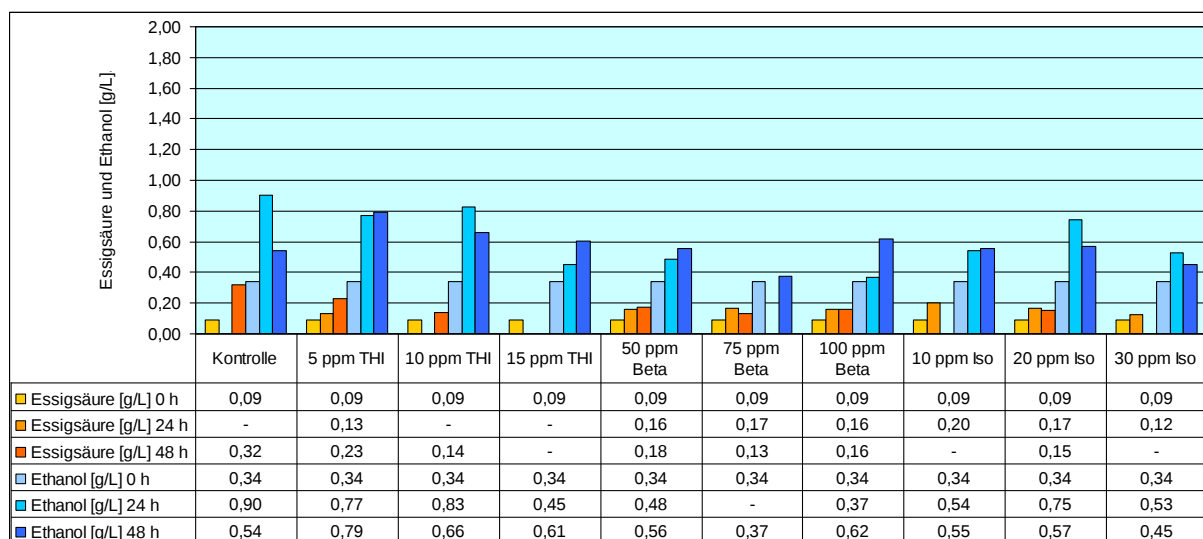
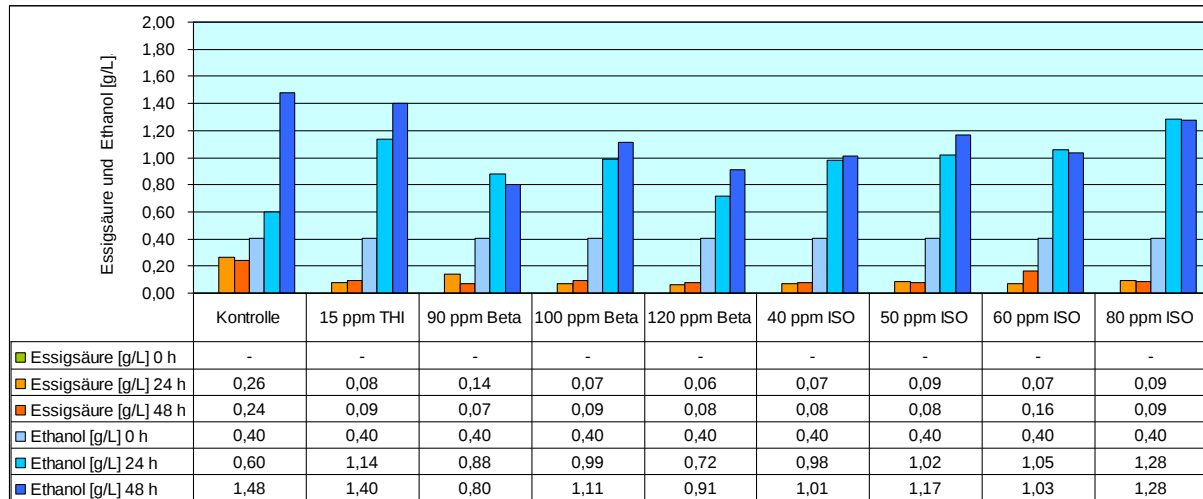


Abb. 30: Essigsäure und Ethanolkonzentration Versuch A



“-“ bedeutet nicht nachweisbar

Abb. 31: Essigsäure und Ethanolkonzentration Versuch B



“-“ bedeutet nicht nachweisbar

Abb. 32: Essigsäure und Ethanolkonzentration Versuch C

8.2 Ergebnisse Hauptversuche - Sulfit

Ziel dieser Versuchsreihe war es, den chemischen und mikrobiologischen Effekt des Sulfits zu entkoppeln, um überschüssige Gaben an Sulfit zu ersetzen. Es sollte herausgefunden werden, bei welcher Konzentration an Sulfit bereits eine Hemmwirkung auf Milchsäurebildner zu sehen ist.

8.2.1 pH-Wert-Verlauf

Der Verlauf der pH-Werte in den Laborquellansätzen mit steigender Sulfitkonzentration der Versuchsreihe D, dargestellt in Abb. 33, gab erste Hinweise, ab welcher Konzentration das Sulfit einen hemmenden Effekt auf das Wachstum der Milchsäurebakterien hat.

Im Kontrollansatz dieser Versuchsreihe nahm der pH-Wert von 4,41 zu Quellungsbeginn auf 4,14 nach 24 h Quelldauer auf schließlich 3,83 zu Quellungsende nach 48 h ab, was auf rasches Wachstum der Milchsäurebakterien hinweist. Jene Ansätze, denen eine Konzentration von 500 bzw. 750 ppm Sulfit zugesetzt worden war, zeigten analog zur Kontrolle eine rasche pH-Wert Absenkung, was darauf schließen lässt, dass die zugesetzten Sulfitkonzentrationen noch keinen entscheidenden Einfluss auf die Aktivität der Milchsäurebakterien hatte. Im Gegensatz dazu war beim Laborquellansatz mit einer Sulfitkonzentration von 1.000 ppm, keine pH-Wert Absenkung zu verzeichnen. Dies zeigt, dass eine Unterdrückung des Milchsäurebakterienwachstums stattgefunden hat. Bei den beiden höher gewählten Konzentrationen an Sulfit konnte dies bestätigt werden, es kam zu keinem Absinken des pH-Werts.

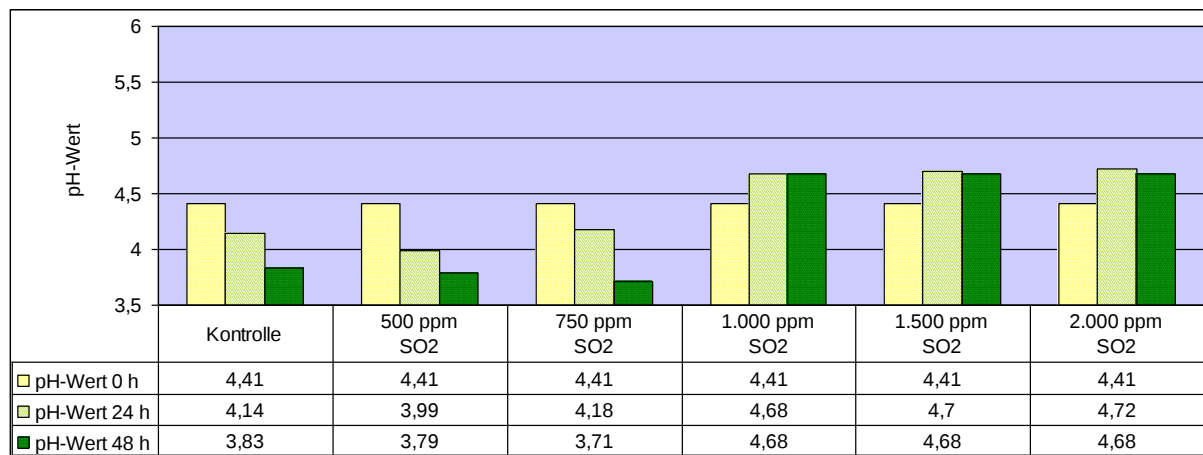


Abb.33: pH-Werte Versuch D

8.2.2 Milchsäurekonzentrationsverlauf

Neben dem pH-Wert wurde die Hemmwirkung des Sulfits auch anhand der gebildeten Milchsäure vorgenommen.

In Abb. 34 sind die Milchsäurekonzentrationen der Versuchsreihe D über den Quellungsverlauf dargestellt. Die Milchsäurekonzentration des Kontrollansatzes lag zu Quellungsbeginn bei 6,20 g/L nach 24 h Quelldauer bei 10,74 g/L und am Ende der Quellung bei 7,70 g/L. Eine Erklärung für den im Gegensatz zu Versuchsbeginn niedrigeren Wert nach 48 h könnte sein, dass ein Teil der Milchsäure weiter abgebaut wurde. Ähnliche Konzentrationsverläufe wurden im Laborquellansatz mit 500 ppm Sulfid beobachtet. Der Laborquellansatz mit einer Konzentration von 750 ppm Sulfid zeigte eine deutliche Milchsäurekonzentrationserhöhung von 6,20 g/L Milchsäure zu Quellungsbeginn auf 10,19 g/L nach einer Quelldauer von 24 h und auf 14,04 g/L nach Beendigung der Quellung. Hier konnte das Wachstum der Milchsäurebakterien also noch nicht unterdrückt werden. Wie aus der Beurteilung der pH-Werte bereits zu erwarten war, konnte beim Laborquellansatz mit 1.000 ppm Sulfid eine Unterdrückung der Milchsäurebakterien festgestellt werden. Bei den Ansätzen mit höher gewählten Konzentrationen an Sulfid wurde ebenfalls eine Hemmung der Milchsäurebildung beobachtet.

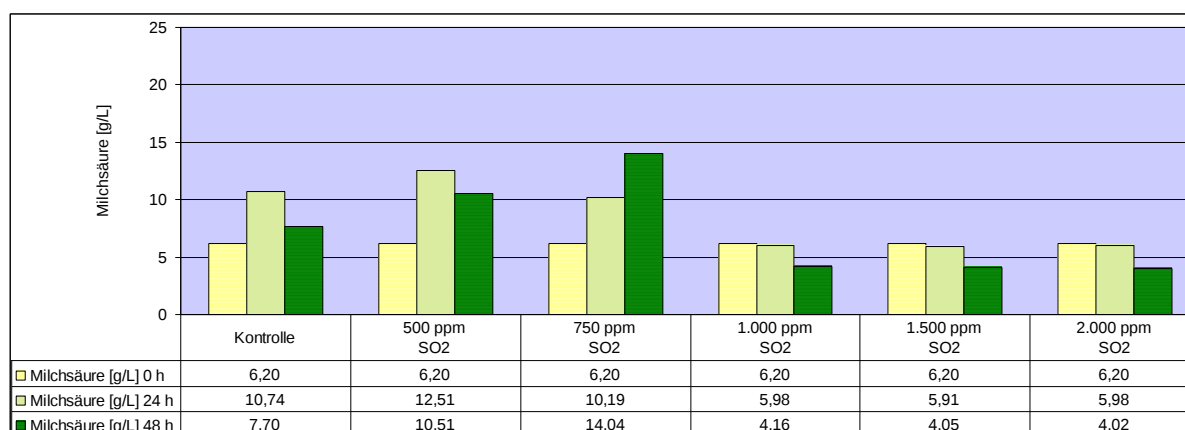


Abb. 34: Milchsäurekonzentrationen Versuch D

8.2.3 Essigsäure- und Ethanolkonzentrationsverlauf

Die Bestimmung von Ethanol und Essigsäure wurde durchgeführt, um sich abzusichern dass in erster Linie Milchsäure als Hauptprodukt gebildet wird beziehungsweise in erster Linie eine homofermentative Milchsäuregärung auftritt. Die Ergebnisse der Essigsäure- und Ethanolbestimmung der Versuchsreihe D ist in der Abb. 35 dargestellt. Verglichen mit der Konzentration der beiden Substanzen zu Beginn des Versuchs wurde zwar eine leichte Konzentrationsänderung festgestellt, allerdings erscheint das Ausmaß im Vergleich zur gebildeten Milchsäure als eher vernachlässigbar.

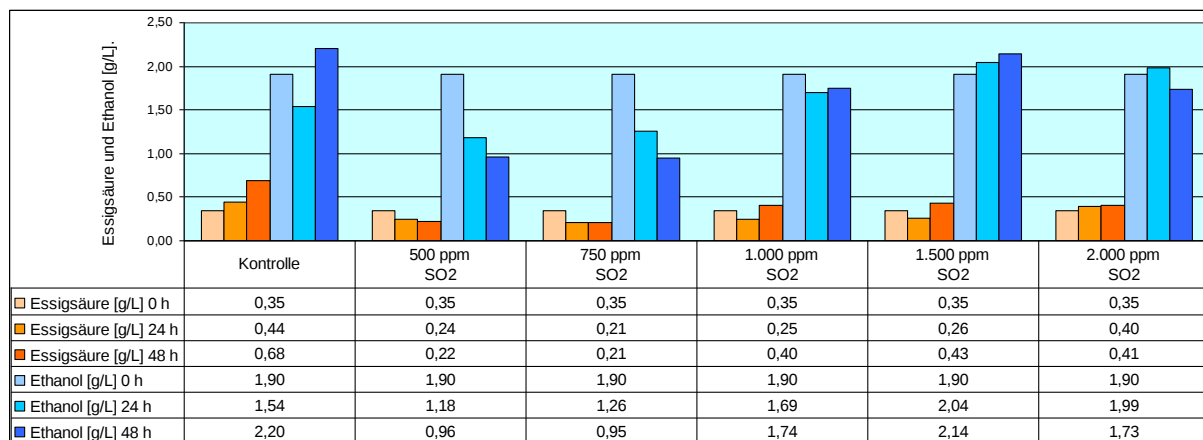


Abb. 35: Essigsäure- und Ethanolkonzentration Versuch D

8.3 Ergebnisse Hauptversuche – Sulfit und Biostabilisatoren

In diesen beiden Versuchsreihen, sollte bei konstantem Sulfitgehalt (1.000 ppm), jene Konzentration an Biostabilisatoren herausgefunden werden, bei der eine Unterdrückung der Milchsäurebildner zu erkennen ist.

8.3.1 pH-Wert-Verlauf

Der Verlauf der pH-Werte bei den Versuchsreihen E und F gab erste Hinweise auf Stoffwechselaktivitäten in den Laborquellansätzen. Auf diese Weise war rasch ersichtlich ob die gewählten Wirkstoffkonzentrationen in Kombination mit 1.000 ppm Sulfit eine hemmende Wirkung auf das mikrobiologische Wachstum hatten. Zur besseren Übersicht sind die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen E bzw. F auf je zwei Diagramme aufgeteilt und sind in den Abb. 36 und 37, bzw. 38 und 39 dargestellt.

Der pH-Verlauf des Kontrollansatzes (1.000 ppm Sulfit) des Versuchs E zeigte ein Absinken des pH-Werts ausgehend von 4,40 auf 3,73 nach 24 h Quelldauer und auf 3,64 bei Quellungsende und somit keinen hemmenden Einfluss dieser Sulfitkonzentration. Bei den Laborquellansätzen mit der Kombination aus 1.000 ppm Sulfit und 5, 10, 12,5 und 15 ppm THI- α -Säuren kam es nach 24 h Quellzeit zu einer Erhöhung des pH-Werts, jedoch wurden am Ende der Quellung pH-Werte im Bereich von 3,7-4,0 gemessen. Die angewendete Konzentration an THI- α -Säuren konnte also die Stoffwechselaktivität der Milchsäurebakterien nicht unterdrücken. Im Gegensatz dazu tritt bei den Laborquellansätzen mit der kombinierten Anwendung von 1.000 ppm Sulfit und 17,5 bzw. 20 ppm THI- α -Säuren kein pH-Wertabfall auf und es kann daher davon ausgegangen werden, dass es zu einer Hemmung der Stoffwechselaktivität der Milchsäurebakterien gekommen war. Bei den Ansätzen mit 1.000 ppm Sulfit und Hopfen- β -Säuren der Versuchsreihe E (siehe Abb. 37) konnte selbst mit der höchsten Konzentration von 100 ppm Hopfen- β -Säuren keine Hemmung des Milchsäurebakterienwachstums erzielt werden.

Beim Kontrollansatz mit 1.000 ppm Sulfit der Versuchsreihe F kam es zu einem pH-Wertabfall ausgehend von 4,84 zu Quellungsbeginn auf 3,96 nach 24 h Quelldauer und auf 4,03 bei Quellungsende, dargestellt in Abb. 38. Die Ansätze mit 1.000

ppm Sulfit und 100 bzw. 120 ppm Hopfen- β -Säuren verzeichneten zwar nach 24 h Quellzeit keinen pH-Wertabfall, jedoch sank der pH-Wert nach 48 h Quelldauer auf 3,78 bzw. 3,77. Im Gegensatz zu den Ergebnissen der Versuchsreihe E konnte in diesem Fall die Absenkung des pH-Werts zumindest hinausgezögert werden. Bei der kombinierten Anwendung von 1.000 ppm Sulfit und 15 ppm THI- α -Säuren ist gut zu erkennen, dass die Wirkstoffkonzentration zu niedrig ist, um eine Hemmung der Stoffwechselaktivität der Milchsäurebakterien zu bewirken und damit einen pH-Abfall zu verhindern. Beim Laborquellansatz mit 20 ppm THI- α -Säuren wurde hingegen eine Hemmung der Aktivität der Milchsäurebakterien festgestellt. Die Laborquellansätze mit der Kombination aus 1.000 ppm Sulfit und Iso- α -Säuren zeigten etwas widersprüchliche Ergebnisse (siehe Abb. 39). So trat zwar bei allen Wirkstoffkonzentrationen in der ersten Phase der Quellung eine Stabilisierung oder zumindest Verzögerung des pH-Wert-Abfalls auf, ein weiteres Absinken des pH-Werts konnte allerdings nur mit 20 bzw. 40 ppm Iso- α -Säuren verhindert werden. Die Hemmwirkung mit 20 ppm Iso- α -Säuren ist dabei allerdings nicht erklärbar.

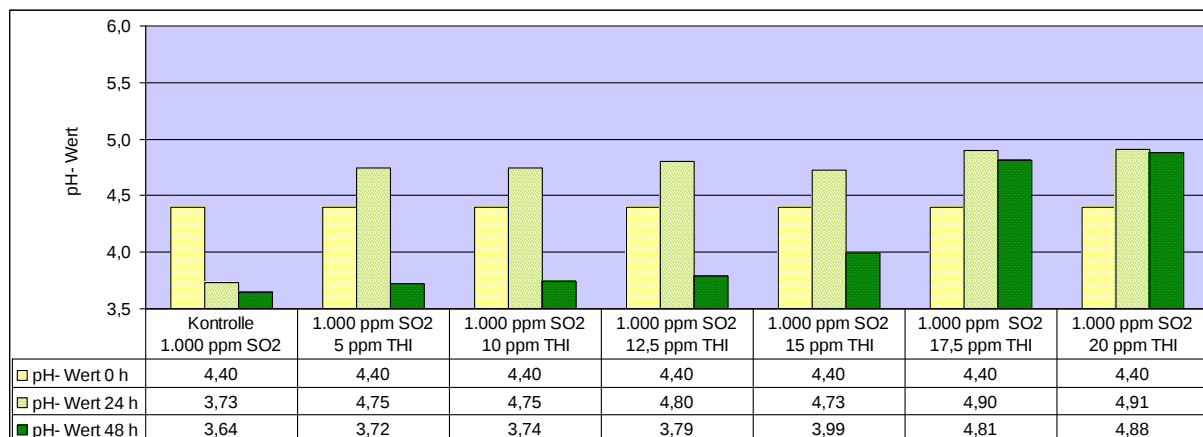


Abb. 36: pH-Werte Versuch E/1

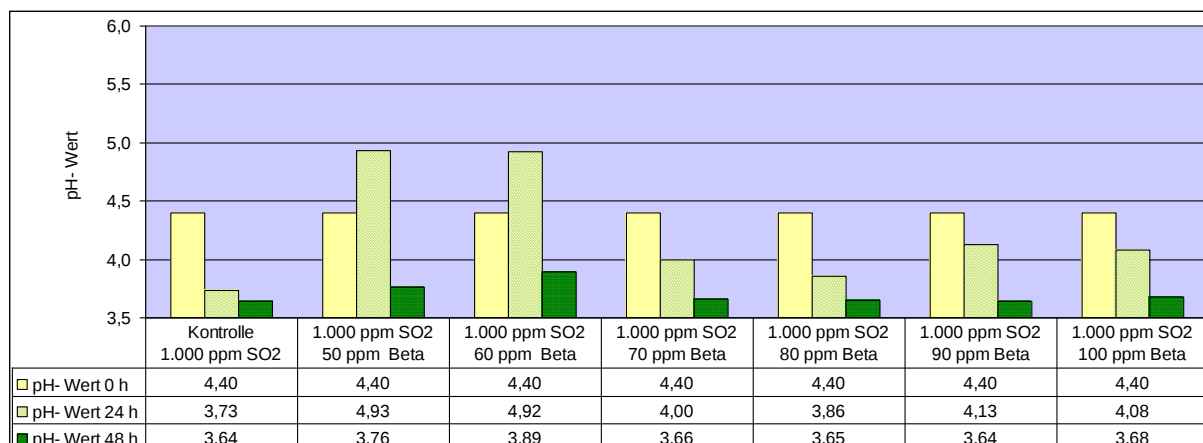


Abb. 37: pH-Werte Versuch E/2

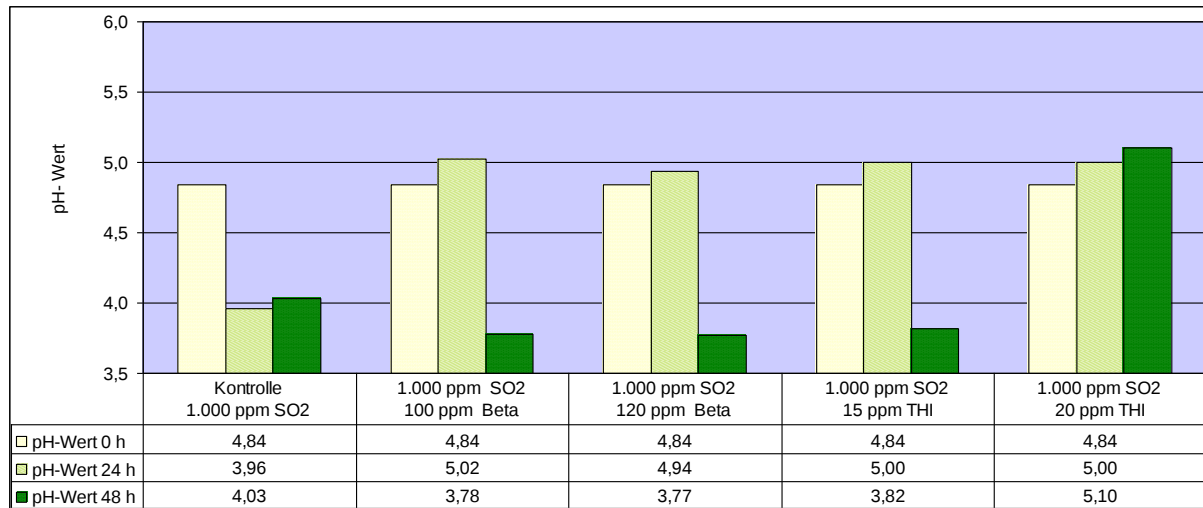


Abb. 38: pH-Werte Versuch F/1

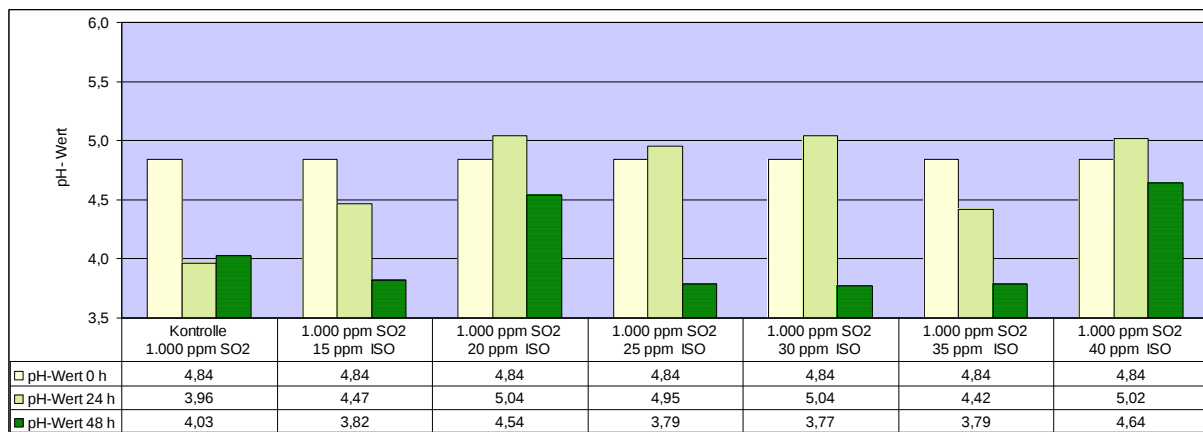


Abb. 39: pH-Werte Versuch F/2

8.3.2 Milchsäurekonzentrationsverlauf

Die Bestimmung der Milchsäurekonzentration wurde für den Nachweis der Hemmwirkung der Biostabilisatoren auf die Milchsäurebildung durchgeführt.

In den Abb. 40 bis 43 sind die Milchsäurekonzentrationen der Versuchsreihen E und F über den Quellungsverlauf dargestellt. Beim Kontrollansatz mit 1.000 ppm Sulfid der Versuchsreihe E, dargestellt in Abb. 40, konnte eine Erhöhung der Milchsäurekonzentration von 2,74 g/L zu Beginn der Quellung, nach auf 8,36 g/L nach 24 h Quelldauer und auf 15,03 g/L zu Quellungsende festgestellt werden. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass sich die Milchsäurebakterien gut vermehrt haben. Beim Laborquellansatz mit 1.000 ppm Sulfid und 5 ppm THI- α -Säuren, konnte zwar nach 24 h Quelldauer eine Unterdrückung der Milchsäurebildner - angezeigt durch eine geringe Zunahme der Milchsäurekonzentration - festgestellt werden, jedoch war die Hemmwirkung im weiteren Verlauf der Quellung nicht mehr gegeben, da nach 48 h ein Wert von 11,59 g/L gemessen wurde. Ähnlich verhielt es sich bei den Laborquellansätzen mit 10, 12,5 und 15 ppm THI- α -Säuren. Auch hier konnte keine nachhaltige Hemmwirkung beobachtet werden. Wie anhand des Verlaufs der pH-Werte in dieser Versuchsreihe zu erwarten, waren die beiden höheren Wirkstoffkonzentrationen von 17,5 bzw. 20 ppm THI- α -Säuren ausreichend, um das Wachstum der Milchsäurebakterien zu unterdrücken. Wie aus der Beurteilung der pH-Werte bereits zu erwarten war, konnte bei den Laborquellansätzen mit der kombinierten Anwendung von Sulfid und Hopfen- β -Säuren keine Unterdrückung der Milchsäurebakterien erzielt werden (siehe Abb. 41). Interessanterweise zeigten die Laborquellansätze mit 50 und 60 ppm Hopfen- β -Säuren nach 24 h Quelldauer eine gewisse Hemmwirkung auf die Aktivität der Milchsäurebildner, die jedoch nicht bis zum Quellungsende anhielt. Bei den höher gewählten Wirkstoffkonzentrationen konnte während des gesamten Quellungsverlaufs keine Hemmwirkung festgestellt werden. Diese Ergebnisse sind etwas widersprüchlich, werden aber durch die Beobachtungen in der Versuchsreihe F bestätigt.

Beim Kontrollansatz mit 1.000 ppm Sulfid der Versuchsreihe F (siehe Abb. 42) konnte eine Erhöhung der Milchsäurekonzentration von 5,82 g/L zu Beginn der Quellung, nach 24 h Quelldauer auf 14,67 g/L und auf 14,56 g/L am Quellungsende festgestellt werden. Bei den Laborquellansätzen mit 100 bzw. 120 ppm Hopfen- β -Säuren

der Versuchsreihe F konnte nach 24 h Quelldauer eine Unterdrückung der Milchsäurebakterien festgestellt werden. Diese Hemmwirkung blieb allerdings nicht bis zum Ende der Quellung erhalten, was durch den Anstieg der Milchsäurekonzentration auf Werte von mehr als 20 g/L dokumentiert wird. Im Laborquellansatz mit 15 ppm THI- α -Säuren konnte wie bereits anhand des pH-Wert-Verlaufs zu erwarten war, keine Hemmwirkung auf die Aktivität der Milchsäurebakterien während des gesamten Quellungsverlaufs aufrecht erhalten werden. Beim Laborquellansatz mit 20 ppm THI- α -Säuren konnte jedoch eine Unterdrückung der Milchsäurebakterien nach 24 h sowie nach 48 h festgestellt werden. In den Laborquellansätzen mit der Kombination aus Sulfit und Iso- α -Säuren konnte, dargestellt in Abb. 43, - mit der Ausnahme der Laborquellansätze mit 20 bzw. 40 ppm Iso- α -Säuren - keine Unterdrückung der Milchsäurebildner erzielt werden. Somit wurden die etwas widersprüchlichen Ergebnisse auch bei der Beurteilung der Milchsäurebildung bestätigt.

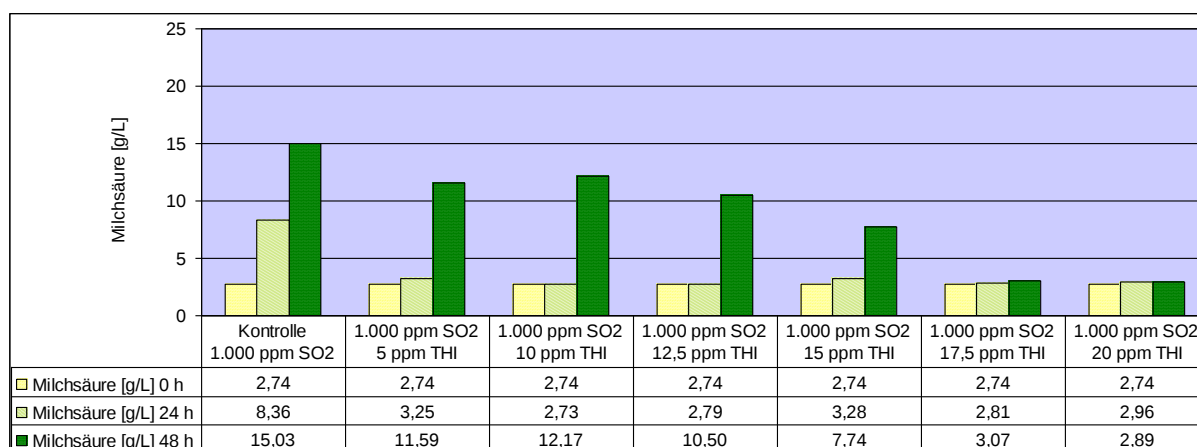


Abb. 40: Milchsäurekonzentrationen Versuch E/1

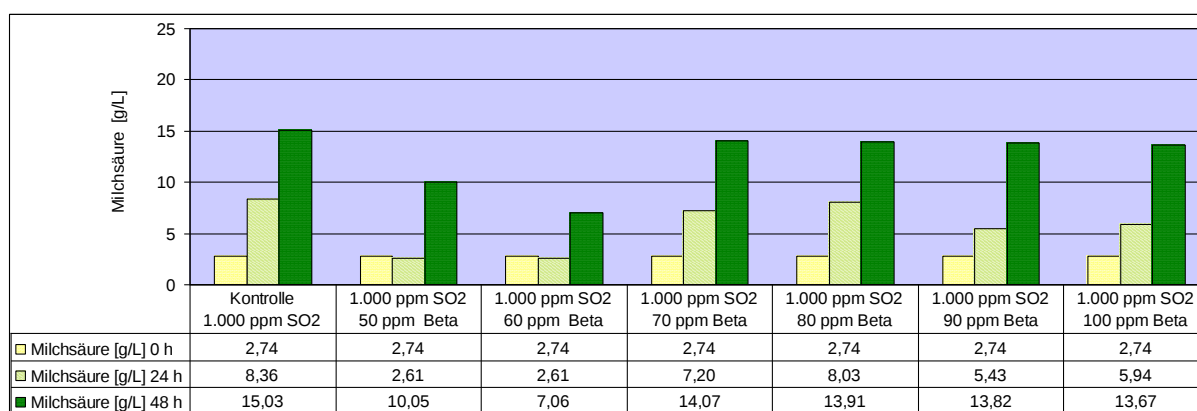


Abb. 41: Milchsäurekonzentrationen Versuch E/2

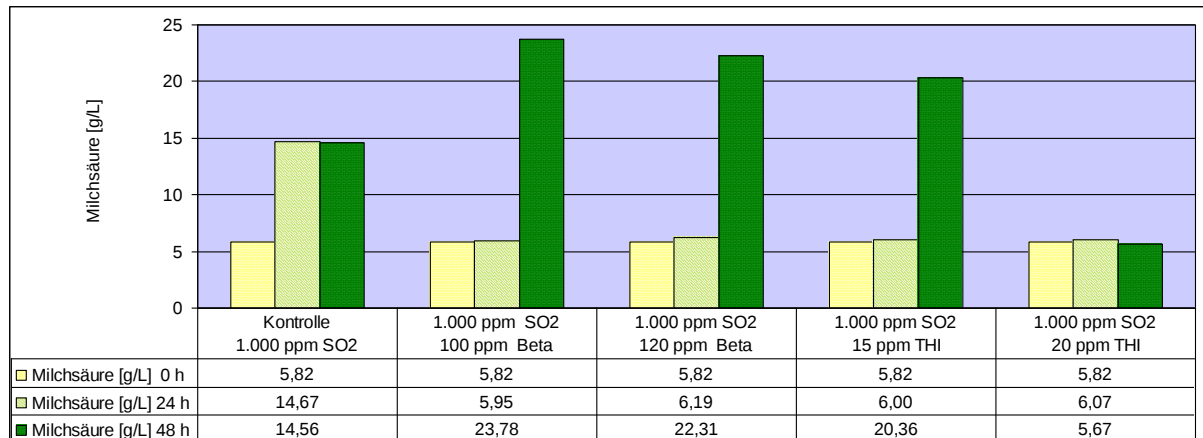


Abb. 42: Milchsäurekonzentrationen Versuch F/1

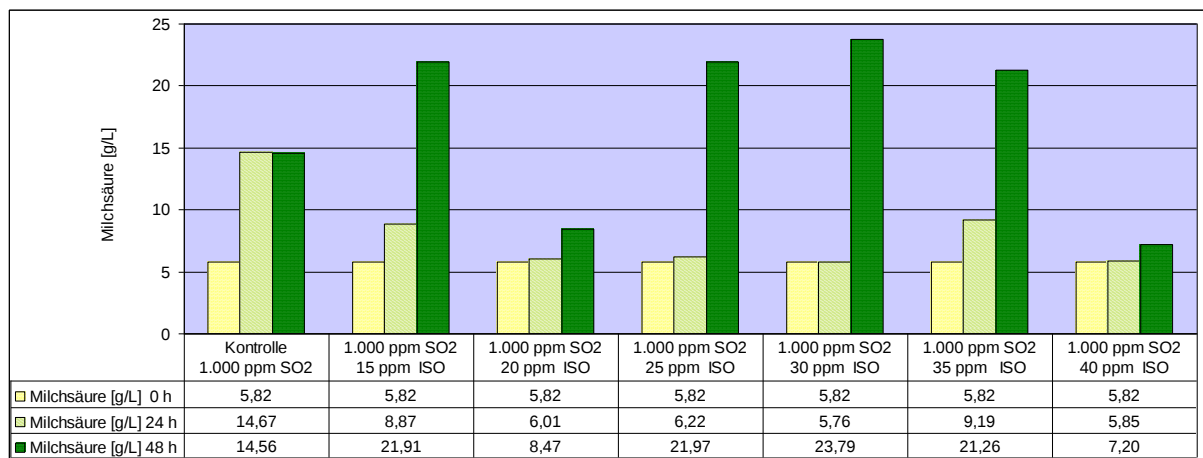


Abb. 43: Milchsäurekonzentrationen Versuch F/2

Auch bei dieser Versuchsreihe, in der die Biostabilisatoren mit 1.000 ppm Sulfid kombiniert wurden, erfolgte eine zusammenfassende Bewertung der einzelnen Wirkstoffe nach ihrer Hemmwirkung auf die Milchsäurebildung nach 24 h bzw. 48 h (siehe Bewertungsschema Tab. 16). Die Ergebnisse sind in den Tab. 19 und 20 dargestellt.

Bei der Versuchsreihe E ist gut ersichtlich, dass eine Kombination aus Sulfid und 20 ppm THI- α -Säuren eine sehr gute Hemmwirkung über den gesamten Quellungsverlauf von 48 h aufweist. Dieses Ergebnis wird in der Versuchsreihe F bestätigt. Die in den Versuchsreihen E und F untersuchten Konzentrationen an Hopfen- β -Säuren waren hingegen zu gering, um eine nachhaltige Hemmwirkung über die gesamte Dauer des Quellversuchs zu gewährleisten. Laborquellansätze, denen Iso- α -Säuren zugesetzt worden waren zeigten etwas widersprüchliche Ergebnisse, die untersuchten Konzentrationen waren aber offensichtlich zu gering um eine vollständige Unterdrückung der Milchsäurebakterien zu bewirken. Bei den Untersuchungen mit der Kombination aus 1.000 ppm Sulfid und den drei Hopfenwirkstoffen konnte somit nur

für THI- α -Säuren eine Konzentration ermittelt werden, welche das Wachstum der Milchsäurebakterien über den gesamten Quellungsverlauf verhindert.

Tab. 19 Hemmwirkung nach 24 h Quellzeit

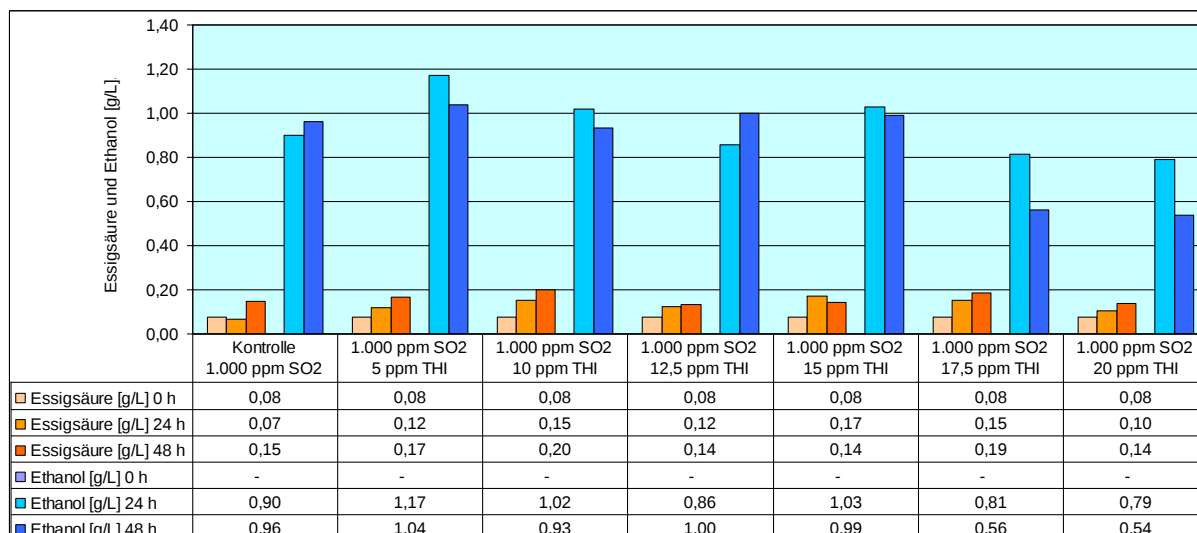
Versuch E		Versuch F	
Wirkstoff-Konzentration	Hemmung	Wirkstoff-konzentration	Hemmung
5 ppm THI	+	100 ppm Beta	++
10 ppm THI	++	120 ppm Beta	++
12,5 ppm THI	++	15 ppm THI	++
15 ppm THI	+	20 ppm THI	++
17,5 ppm THI	++	15 ppm ISO	-
20 ppm THI	++	20 ppm ISO	++
50 ppm Beta	++	25 ppm ISO	++
60 ppm Beta	++	30 ppm ISO	++
70 ppm Beta	-	35 ppm ISO	-
80 ppm Beta	-	40 ppm ISO	++
90 ppm Beta	-		
100 ppm Beta	-		

Tab. 20: Hemmwirkung nach 48 h Quellzeit

Versuch E		Versuch F	
Wirkstoff-Konzentration	Hemmung	Wirkstoff-Konzentration	Hemmung
5 ppm THI	-	100 ppm Beta	-
10 ppm THI	-	120 ppm Beta	-
12,5 ppm THI	-	15 ppm THI	-
15 ppm THI	-	20 ppm THI	++
17,5 ppm THI	+	15 ppm ISO	-
20 ppm THI	++	20 ppm ISO	+/-
50 ppm Beta	-	25 ppm ISO	-
60 ppm Beta	-	30 ppm ISO	-
70 ppm Beta	-	35 ppm ISO	-
80 ppm Beta	-	40 ppm ISO	+
90 ppm Beta	-		
100 ppm Beta	-		

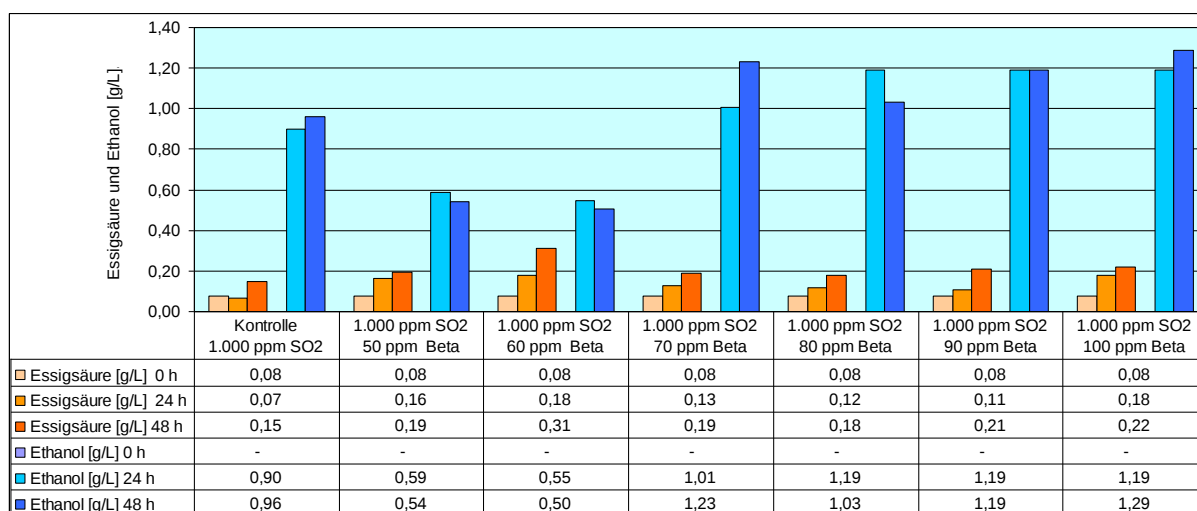
8.3.3 Essigsäure- und Ethanolkonzentrationsverlauf

Die Bestimmung von Ethanol und Essigsäure wurde durchgeführt, um sich abzusichern dass in erster Linie Milchsäure als Hauptprodukt gebildet wird beziehungsweise eine homofermentative Milchsäuregärung auftritt. Die Ergebnisse der Essigsäure- und Ethanolbestimmung der Versuchsreihen E und F sind in den Abb. 44 bis 47 dargestellt. Verglichen mit der Konzentration der beiden Substanzen zu Beginn des Versuchs wurde zwar eine leichte Konzentrationsänderung festgestellt, allerdings ist das Ausmaß im Vergleich zur gebildeten Milchsäure vernachlässigbar.



“-“ bedeutet nicht nachweisbar

Abb. 44: Essigsäure- und Ethanolkonzentrationen Versuch E/1



“-“ bedeutet nicht nachweisbar

Abb. 45: Essigsäure- und Ethanolkonzentrationen Versuch E/2

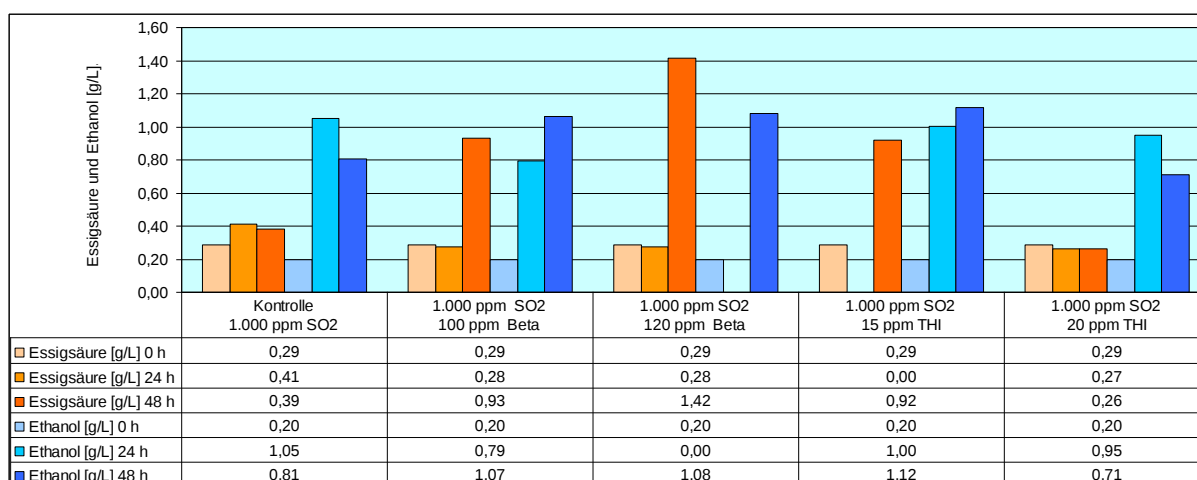


Abb. 46: Essigsäure- und Ethanolkonzentrationen Versuch F/1

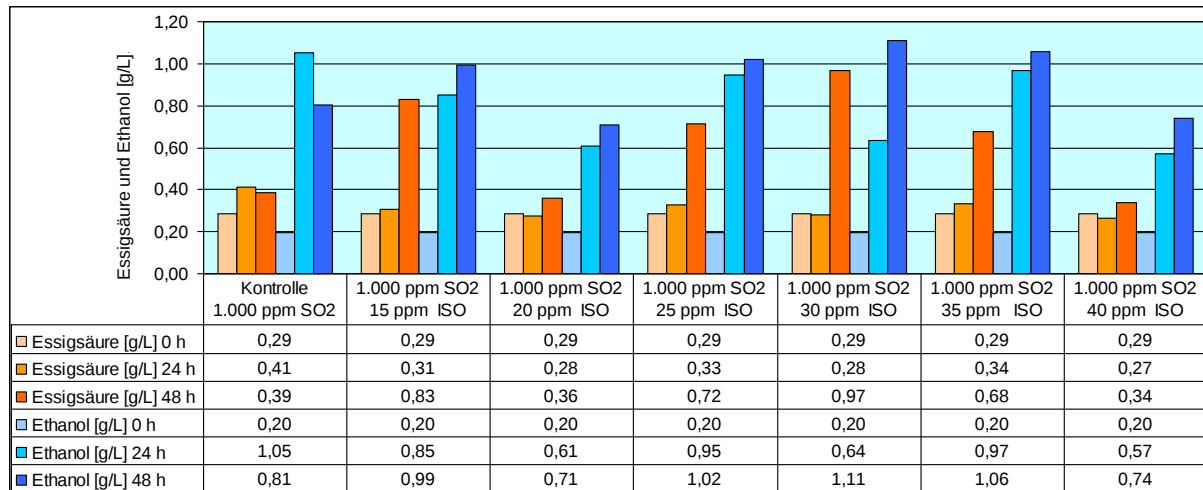


Abb. 47: Essigsäure- und Ethanolkonzentrationen Versuch F/2

8.4 Ergebnisse Hauptversuche – Sulfit und Biostabilisatoren – Variation des Zugabezeitpunkts

In dieser Versuchsreihe wurde einerseits die Hemmwirkung auf die Milchsäurebildung durch Zugabe unterschiedlicher Biostabilisatorkonzentrationen zu Quellungsbeginn (0h) untersucht. Andererseits wurde die Hemmwirkung auf die Milchsäurebakterien bei Wirkstoffzugabe nach 24 h Quelldauer anhand von THI- α -Säuren untersucht, da sie in den vorangegangenen Versuchen die beste Wirksamkeit gezeigt hatten und daher am ehesten davon auszugehen war, dass sie auch gegen bereits adaptierte und im Wachstum befindliche Milchsäurebakterien wirksam sind. In dieser Versuchsreihe wurde neben dem Kontrollansatz mit 1.000 ppm Sulfit auch ein Kontrollansatz mit 2.000 ppm Sulfit mitgeführt, da dies in etwa der Sulfitkonzentration bei der großtechnische Maisquellung entspricht.

8.4.1 pH-Wert-Verlauf

Der Verlauf der pH-Werte in der Versuchsreihe G gab erste Hinweise, ob es zu Stoffwechselaktivitäten in den Laborquellansätzen gekommen war. Auf diese Weise war rasch ersichtlich ob die gewählten Wirkstoffkonzentrationen in Kombination mit 1.000 ppm Sulfit und Variation des Zugabezeitpunkts - entweder zu Quellungsbeginn oder nach 24 h Quellung - eine hemmende Wirkung auf das mikrobiologische Wachstum hatten. Die Ergebnisse der Versuchsreihe G wurden auf zwei Diagramme aufgeteilt und sind in den Abb. 48 und 49 dargestellt.

Der pH-Verlauf des Kontrollansatzes mit 1.000 ppm Sulfit dieser Versuchsreihe zeigte ein Absinken des pH-Werts ausgehend von 5,00 auf 4,79 nach 24 h Quelldauer und auf 3,83 zu Quellungsende. Ebenfalls nahm der pH-Wert des Kontrollansatzes mit 2.000 ppm Sulfit von 5,00 zu Quellungsbeginn auf 4,54 nach 24 h Quelldauer auf 3,69 nach 48 h Quelldauer ab. Interessanterweise konnte hier, im Gegensatz zu den Versuchsergebnissen der in Kapitel 8.2 beschriebenen Sulfitkonzentrationsreihe keine Hemmwirkung festgestellt werden. Bei den Laborquellansätzen mit der Kombination aus 1.000 ppm Sulfit und 10 bzw. 20 ppm THI- α -Säuren wurde folgendes beobachtet. Beim Ansatz mit 10 ppm THI- α -Säuren kam es während des Quellungsverlaufs zu einer pH-Absenkung auf einen pH-Wert von 3,91. Die angewendete Konzentration von 20 ppm THI- α -Säuren konnte die Stoffwechselaktivi-

tät der Milchsäurebakterien unterdrücken, es wurde kein Absinken des pH-Werts während des Quellungsverlaufs festgestellt. Die Kombination aus 1.000 ppm Sulfid und Hopfen- β -Säuren ist zwar wiederum ausreichend, bis zu 24 h der Quellungsdauer die Milchsäurebakterienaktivität zu hemmen, jedoch hält dieser Effekt, wie durch die pH-Absenkung nach 48 h Quelldauer ersichtlich, nicht für die ganze Dauer der Quellung an. Auch mit der Kombination aus 1.000 ppm Sulfid und Iso- α -Säuren konnte kein hemmender Effekt auf die Stoffwechselaktivitäten in diesen Laborquellansätzen erzielt werden.

Bei den Laborquellansätzen mit Zugabe der Wirkstoffe nach 24 h Quellzeit, dargestellt in Abb. 49, wurden Wirkstoffkonzentrationen von 60 und 80 ppm THI- α -Säuren in Kombinationen mit 1.000 ppm Sulfid auf eine hemmende Wirkung auf die Milchsäurebildung untersucht. Bei den Kontrollansätzen mit 1.000 ppm und 2.000 ppm Sulfid zeigt sich, dass in den ersten 24 h der Quellung das Absinken des pH-Werts relativ langsam abläuft. Hingegen kommt es zu einem raschen Absinken des pH-Werts in der zweiten Phase des Quellungsverlaufs. In den Laborquellansätzen mit der Kombination aus Sulfid und THI- α -Säuren wirken die nah 24 h Quelldauer zugesetzten Konzentrationen auf Milchsäurebakterien wachstumshemmend und verhinderten ein weiteres Absinken des pH-Werts. Dieses Ergebnis zeigt, dass eine Konzentration von 60 bzw. 80 ppm THI- α -Säuren, selbst nach Zusatz in dieser relativ späten Phase der Quellung, auf die Stoffwechselaktivitäten in den Versuchsansätzen hemmend wirkt.

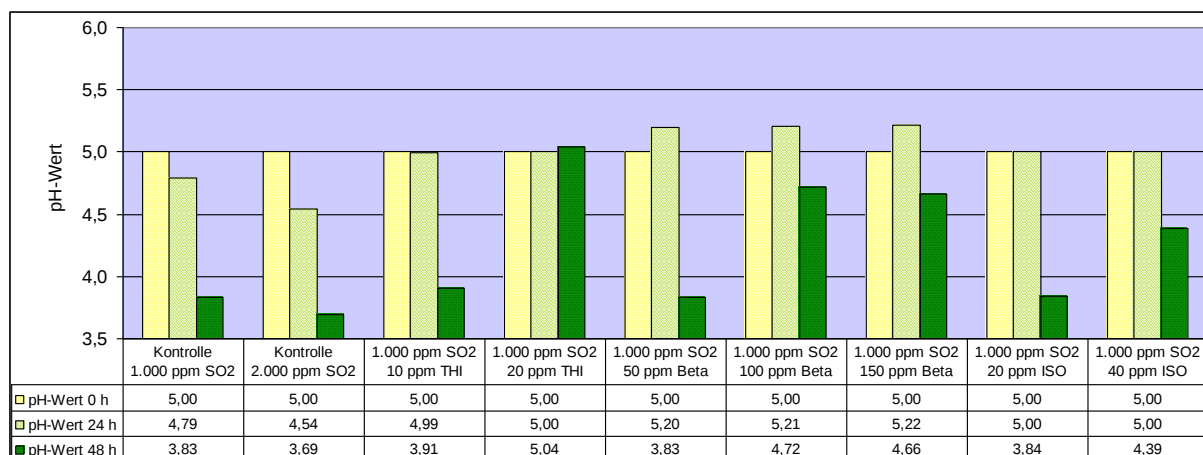


Abb. 48: pH-Werte Versuch G/1

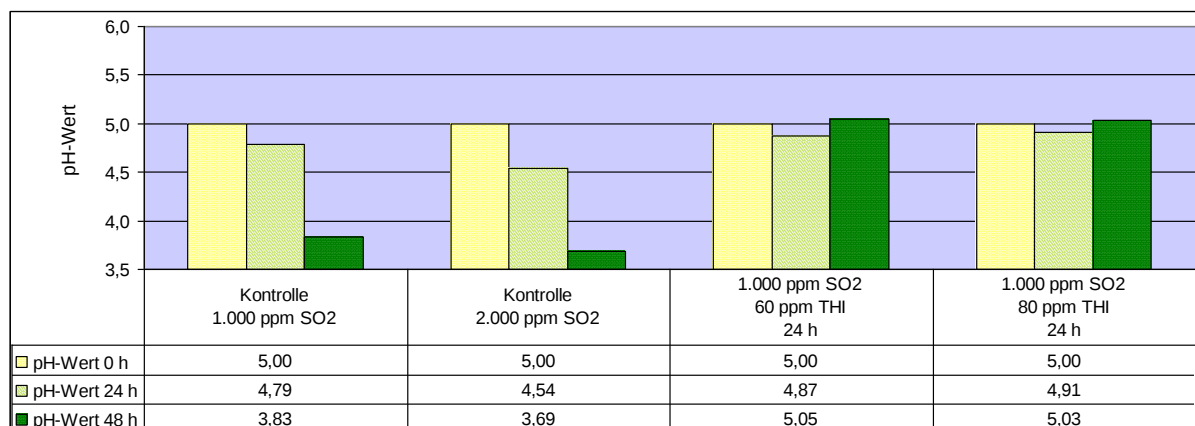


Abb. 49: pH-Werte Versuch G/2

8.4.2 Milchsäurekonzentrationsverlauf

Die Bestimmung der Milchsäurekonzentration wurde für den Nachweis der Hemmwirkung der Biostabilisatoren auf die Milchsäurebildung vorgenommen. In den Abb. 50 und 51 sind die Milchsäurekonzentrationen der Versuchsreihe G über den Quellungsverlauf dargestellt.

Die Milchsäurekonzentration des Kontrollansatzes mit 1.000 ppm Sulfite lag zu Beginn der Quellung bei 3,17 g/L nach 24 h Quelldauer bei 7,37 g/L und erhöhte sich zu Quellungsende auf 21,89 g/L. Beim Kontrollansatz mit 2.000 ppm Sulfite konnte eine Erhöhung der Milchsäurekonzentration von 3,17 g/L zu Beginn der Quellung, auf 5,53 g/L nach 24 h Quelldauer auf 15,20 g/L zu Quellungsende festgestellt werden. Dies deutet auf eine rege Stoffwechselaktivität der Milchsäurebakterien hin. Im Gegensatz zu den Versuchsergebnissen der in Kapitel 8.2 beschriebenen Sulfitekonzentrationsreihe konnte hier keine Hemmwirkung auf die Milchsäurebakterien festgestellt werden. Die Zugabe von 2.000 ppm Sulfite konnte das Wachstum der Milchsäurebakterien nur gering unterdrücken. Bei dem Laborquellansatz mit 1000 ppm Sulfite und 10 ppm THI- α -Säuren konnte keine Hemmwirkung nach Quellungsablauf beobachtet werden. Die Hinweise auf eine Unterdrückung der Milchsäurebildung beim Laborquellansatz mit der höher gewählte Wirkstoffkonzentration von 20 ppm THI- α -Säuren die anhand des Verlaufs der pH-Werte zu erwarten war, konnten hier wiederum bestätigt werden. Die Konzentration an THI- α -Säuren war allerdings nicht ausreichend um das Wachstum der Milchsäurebakterien während des gesamten Quellungsverlaufs zu unterdrücken. Die Laborquellansätze mit kombinierter Anwendung von 1.000 ppm Sulfite und Hopfen- β -Säuren zeigten alle nach 24 h Quell-

dauer nur einen geringen Zuwachs an Milchsäure. Diese Hemmwirkung blieb allerdings nicht bis zum Ende der Quellung erhalten. In den Laborquellansätzen mit der Kombination aus Sulfit und ISO- α -Säuren konnte keine Unterdrückung der Milchsäurebakterien festgestellt werden. Es erwies sich, dass eine Zugabe von 2.000 ppm Sulfit die Milchsäurebakterien nicht unterdrücken können, jedoch eine Kombination aus 1.000 ppm Sulfit und Biostabilisatoren eine hemmende Wirkung zeigen.

Bei den Laborquellansätzen mit Zugabe der Wirkstoffe nach 24 h Quellzeit, dargestellt in Abb. 51, wurden Wirkstoffkonzentrationen von 60 bzw. 80 ppm THI- α -Säuren in Kombinationen mit 1.000 ppm Sulfit untersucht. Bei den Kontrollansätzen mit 1.000 und 2.000 ppm Sulfit ist gut ersichtlich, dass in den ersten 24 h der Quellung die Zunahme an Milchsäure relativ langsam geschieht. Hingegen kommt es in der zweiten Phase des Quellungsverlaufs zu einer raschen Zunahme an Milchsäure. Bei beiden Laborquellansätzen mit der kombinierten Anwendung von 1.000 ppm Sulfit und 60 bzw. 80 ppm THI- α -Säuren wirken die nach 24 h Quelldauer zugesetzten Biostabilisatoren auf die Milchsäurebakterien wachstumshemmend und es kam zu keinem Zuwachs an Milchsäure. Dieses Ergebnis zeigt, dass eine Konzentration von 60 bzw. 80 ppm THI- α -Säuren, selbst nach Zugabe in dieser relativ späten Phase der Quellung auf das weitere Wachstum der Milchsäurebakterien hemmend wirkt.

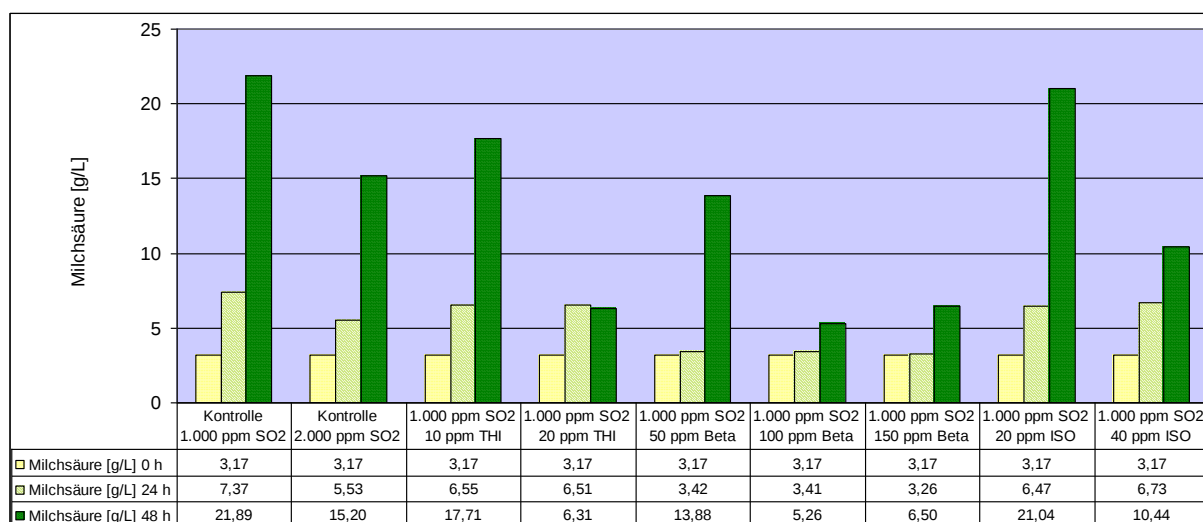


Abb. 50: Milchsäurekonzentrationen Versuch G/1

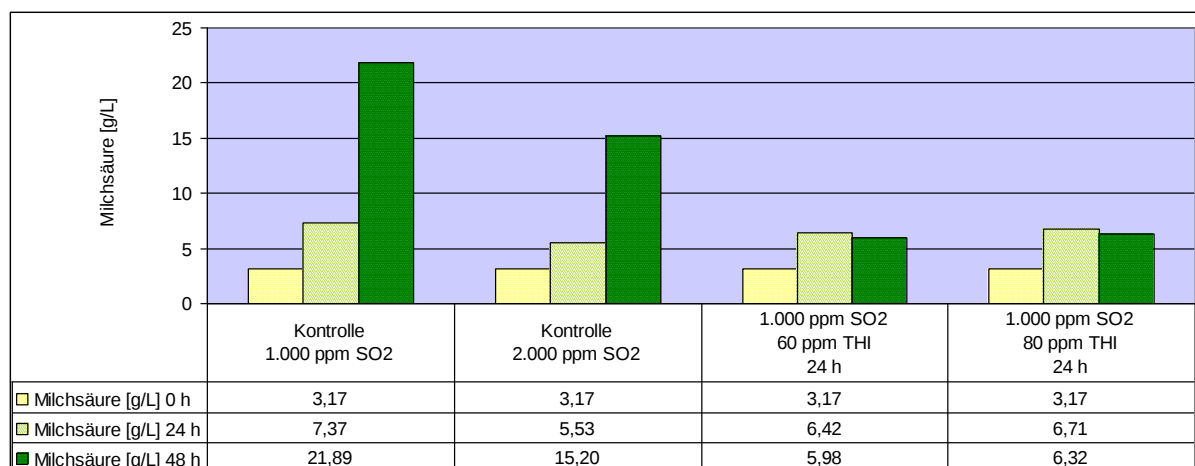


Abb. 51: Milchsäurekonzentrationen Versuch G/2

Auch bei dieser Versuchsreihe, in der Biostabilisatoren mit 1.000 ppm Sulfid kombiniert und der Zugabezeitpunkt variiert wurde, erfolgte eine zusammenfassende Bewertung der einzelnen Wirkstoffe nach ihrer Hemmwirkung auf die Milchsäurebildung nach 24 h bzw. 48 h (Bewertungsschema siehe Tab. 16). In diesem Fall wurde für die Bewertung der Laborquellansätze mit Zugabezeitpunkt der Wirkstoffe nach 24 h Quelldauer der prozentuelle Milchsäurezuwachs auf den Milchsäurekonzentrationswert des 24 h Kontrollansatzes (1000 ppm Sulfid) herangezogen. Die Ergebnisse sind in den Tab. 21 und 22 dargestellt.

Bei allen Laborquellansätzen mit Kombination aus Sulfid und Hopfen- β -Säuren konnte nach einer Quelldauer von 24 h eine sehr gute Hemmwirkung festgestellt werden. Diese Hemmwirkung konnte jedoch nicht über den gesamten Quellungsverlauf erhalten bleiben. Es konnte bei den Laborquellansätzen in Kombination mit 1.000 ppm Sulfid und Iso- α -Säuren keine Hemmwirkung auf das Wachstum der Milchsäurebakterien über den gesamten Quellungsverlauf festgestellt werden. Bei den Laborquellansätzen mit Wirkstoffzugabe nach 24 h Quelldauer konnten die Ansätze mit Kombination aus Sulfid und 60 bzw. 80 ppm THI- α -Säuren eine sehr gute Hemmwirkung aufweisen (siehe Tab. 22). Am besten von allen untersuchten Biostabilisatoren haben in diesen Laborquellversuchen die THI- α -Säuren gewirkt.

Tab. 21: Hemmwirkung nach 24 h Quellzeit

Versuch G/1		
Wirkstoffzugabe 0 h		
Wirkstoff-Konzentration		Hemmung
10	ppm THI	-
20	ppm THI	-
50	ppm Beta	++
100	ppm Beta	++
150	ppm Beta	++
20	ppm ISO	-
40	ppm ISO	-

Tab. 22: Hemmwirkung nach 48 h Quellzeit

Versuch G/1		Versuch G/2	
Wirkstoffzugabe 0 h		Wirkstoffzugabe 24 h	
Wirkstoff-konzentration	Hemmung	Wirkstoff-konzentration	Hemmung
10 ppm THI	-	60 ppm THI	++
20 ppm THI	-	80 ppm THI	++
50 ppm Beta	-		
100 ppm Beta	-		
150 ppm Beta	-		
20 ppm ISO	-		
40 ppm ISO	-		

8.4.3 Essigsäure- und Ethanolkonzentrationsverlauf

Die Bestimmung von Ethanol und Essigsäure wurde durchgeführt, um sich abzusichern dass in erster Linie Milchsäure als Hauptprodukt gebildet wird beziehungsweise in erster Linie eine homofermentative Milchsäuregärung auftritt. Die Ergebnisse der Essigsäure- und Ethanolbestimmung der Versuchsreihe G sind in den Abb. 52 und 53 dargestellt. Verglichen mit der Konzentration der beiden Substanzen zu Ver-

suchsbeginn wurde eine leichte Konzentrationsänderung festgestellt, allerdings erscheint das Ausmaß im Vergleich zur gebildeten Milchsäure als vernachlässigbar.

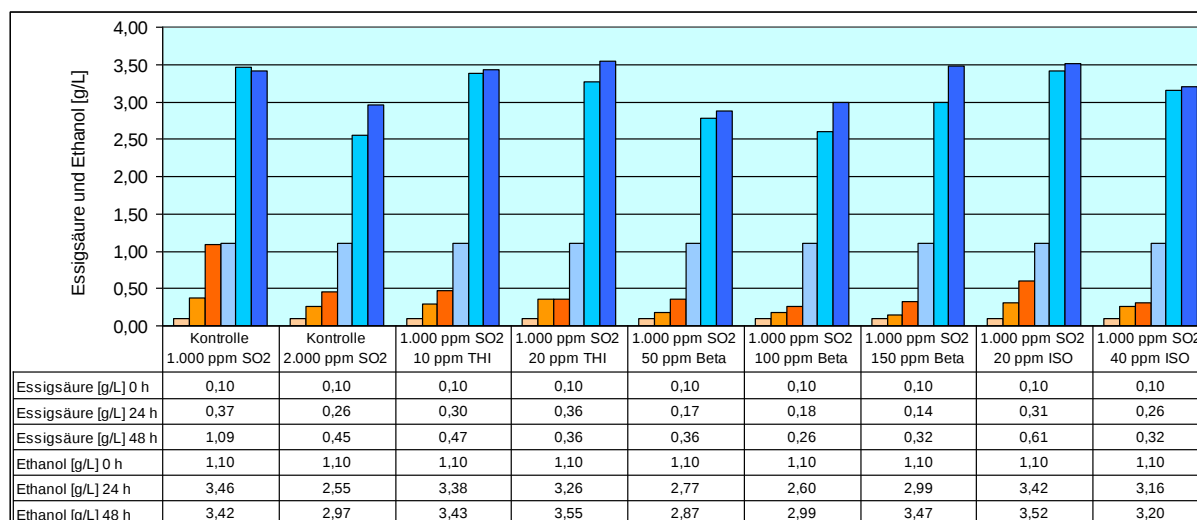


Abb. 52: Essigsäure- und Ethanolkonzentrationen Versuch G/1

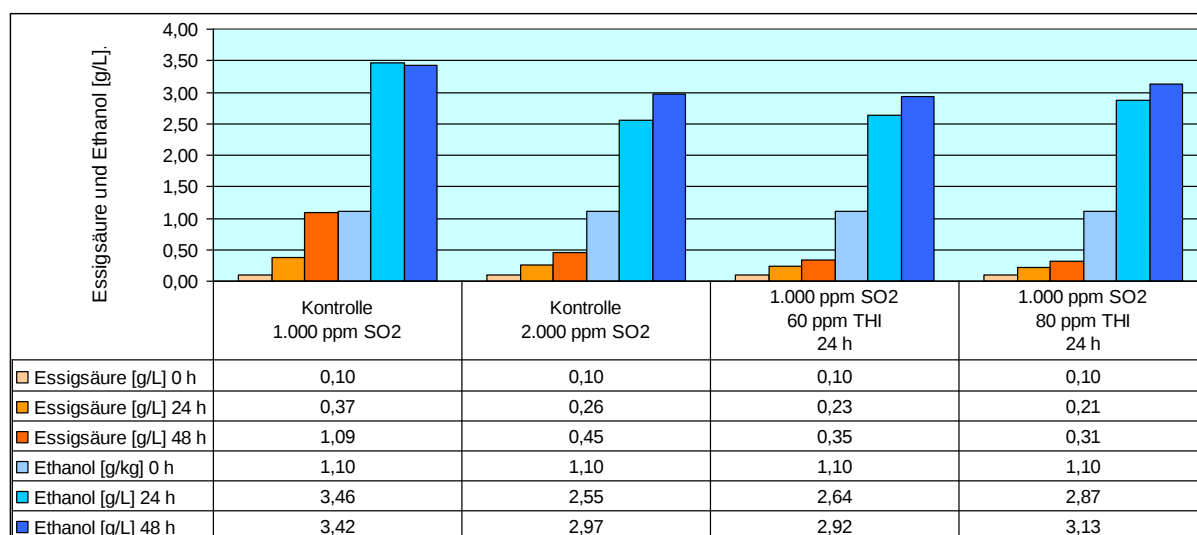


Abb. 53: Essigsäure- und Ethanolkonzentrationen Versuch G/2

8.5 Ergebnisse Pilotversuche

Es wurden sechs Quellversuche im Pilotmaßstab im Technikum der ZFT durchgeführt. Zwei davon wurden ohne Biostabilisatoren aber mit Zugabe von 1.000 bzw. 2.000 ppm Sulfit angesetzt. Diese Pilotversuche sollten zur Kontrolle dienen. Darüber hinaus wurde ein Pilotversuch mit Zusatz 20 ppm THI- α -Säuren und 1.000 ppm Sulfit, jener Konzentration mit der die besten Ergebnisse in den Laborquellversuchen erzielt wurden, durchgeführt. Weitere Pilotversuche in Kombination mit 1.000 ppm Sulfit wurden mit 5 ppm THI- α -Säuren bzw. 100 ppm Hopfen- β -Säuren wurden ebenfalls gestartet. Um die Hemmwirkung bei einer Zugabe nach 24 h Quelldauer bewerten zu können wurde darüber hinaus ein Pilotversuch mit einer Konzentration von 10 ppm THI- α -Säuren in Kombination mit 1.000 ppm Sulfit untersucht.

8.5.1 Milchsäurebilanzen der Pilotversuche 1-6

Mit Hilfe der Berechnung der Milchsäurebilanzen der durchgeführten Pilotversuche wurde festgestellt, ob nach Beendigung des Quellungsprozesses im Pilotmaßstab ein Milchsäurezuwachs stattgefunden hat. Hierfür wurde die Milchsäurekonzentration, vor und nach Ablauf der Quellung sowie die Dichte des Quellwassers bestimmt. Die Milchsäurebilanzen der Pilotversuche sind in den Tab. 25 bis 30 dargestellt. Eine Zusammenfassung der Pilotversuchsergebnisse ist in Tab. 31 ersichtlich.

Beim Pilotversuch 1, der mit einer Sulfitzugabe von 1.000 ppm durchgeführt wurde, wurde eine Gesamtmenge von 1.068,20 g an Milchsäure in den Maisquellungsprozess eingebracht. Nach Ablauf der Maisquellung konnte eine Menge an 1.946,28 g Milchsäure berechnet werden. Daraus ergab sich ein Milchsäurezuwachs um 82,2 %. Dieser Pilotversuch diente als Kontrollansatz und Vergleichsbasis, um eine Unterdrückung der Milchsäurebakterien bei den weiteren Pilotversuchen feststellen zu können. Es kam bei diesem Pilotversuch zu einer regen Stoffwechselaktivität. Pilotversuch 2, wurde mit 2.000 ppm Sulfit, jener Konzentration die üblicherweise bei der großtechnischen Stärkegewinnung verwendet wird, durchgeführt. Es wurden 670,59 g an Milchsäure in den Quellungsprozess eingebracht und am Ende der Quellung 770,45 g an Milchsäure ermittelt. In diesem Versuch wurde ein Milchsäurezuwachs von lediglich 14,9 % festgestellt. Der im Vergleich zum Versuch mit 1.000 ppm Sulfit eher geringere Zuwachs an Milchsäure deutet darauf hin, dass die Milchsäurebakte-

rien bei dieser Konzentration gehemmt wurden. Beim Pilotversuch 3, der mit einer Sulfitzugabe von 1.000 ppm in Kombination mit 5 ppm THI- α -Säuren durchgeführt wurde, gab sich ein Zuwachs an Milchsäure von 8,1 %. Offensichtlich reichte in diesem Versuch schon die relativ geringe Konzentration von 5 ppm THI- α -Säuren aus um die Stoffwechselaktivitäten der Milchsäurebakterien zu unterdrücken. Beim Pilotversuch 4, der mit 1.000 ppm Sulfit und 20 ppm THI- α -Säuren durchgeführt wurde, war der Zuwachs an Milchsäure mit 6,2 % noch geringer. Pilotversuch 5 wurde mit 1.000 ppm Sulfit und mit 10 ppm THI- α -Säuren Zugabe nach 24 h Quelldauer durchgeführt. Es wurden 656,90 g an Milchsäure in den Prozess eingebracht jedoch nur 348,53 g an Milchsäure nach Ablauf der Quellung ermittelt. Daraus ergab sich in der Bilanz eine Abnahme an Milchsäure um 46,9%. Dieser Abnahme an Milchsäure ist nicht nachvollziehbar und erklärbar. Beim Pilotversuch 6 wurden 1.000 ppm Sulfit kombiniert mit 100 ppm Hopfen- β -Säuren verwendet. Es wurde eine Gesamtmenge von 812,70 g Milchsäure in den Prozess eingebracht und 848,26 g an Milchsäure wurden nach Ablauf der Quellung gemessen. Daraus ergab sich ein Zuwachs an Milchsäure von nur 4,4 %. Hier konnte ebenfalls das Wachstum der Milchsäurebakterien verhindert werden.

Tab. 23: Milchsäurebilanz Pilotversuch 1: 1000 ppm Sulfit

	Quellwasser 0 h		Quellwasser 48 h
Menge (L)	100 (104,5 kg)	Menge (kg)	190,55
Dichte [kg/dm ³]	1,045	Dichte [kg/dm ³]	1,030
Milchsäure (mg/L)	10.222	Milchsäure (mg/L)	10.214
Milchsäuremenge (g)	1.068,20	Milchsäuremenge (g)	1.946,28
Milchsäurezuwachs (g)	878,08 g		
Milchsäurezuwachs (%)	82.2%		

Tab. 24: Milchsäurebilanz Pilotversuch 2: 2.000 ppm Sulfit

	Quellwasser 0 h		Quellwasser 48 h
Menge (L)	100 (102,7 kg)	Menge (kg)	189,44
Dichte [kg/dm ³]	1,032	Dichte [kg/dm ³]	1,024
Milchsäure (mg/L)	6.498	Milchsäure (mg/L)	4.067
Milchsäuremenge (g)	670,59	Milchsäuremenge (g)	770,45
Milchsäurezuwachs (g)	99,86 g		
Milchsäurezuwachs (%)	14,9%		

Tab. 25: Milchsäurebilanz Pilotversuch 3: 1.000 ppm Sulfit und 5 ppm THI

	Quellwasser 0 h		Quellwasser 48 h
Menge (L)	100 (105,1 kg)	Menge (kg)	190,365
Dichte [kg/dm ³]	1,051	Dichte [kg/dm ³]	1,029
Milchsäure (mg/L)	19.947	Milchsäure (mg/L)	11.908
Milchsäuremenge (g)	2.096,43	Milchsäuremenge (g)	2.267,87
Milchsäurezuwachs (g)	170,44 g		
Milchsäurezuwachs (%)	8,1%		

Tab. 26: Milchsäurebilanz Pilotversuch 4: 1.000 ppm Sulfit und 20 ppm THI

	Quellwasser 0 h		Quellwasser 48 h
Menge (L)	100 (102,7 kg)	Menge (kg)	188,33
Dichte [kg/dm ³]	1,027	Dichte [kg/dm ³]	1,018
Milchsäure (mg/L)	4.577	Milchsäure (mg/L)	2.604
Milchsäuremenge (g)	470,06	Milchsäuremenge (g)	499,24
Milchsäurezuwachs (g)	29,18 g		
Milchsäurezuwachs (%)	6,2%		

Tab. 27: Milchsäurebilanz Pilotversuch 5: 1.000 ppm Sulfit und 10 THI nach 24 h

	Quellwasser 0 h		Quellwasser 48 h
Menge (L)	100 (103,4 kg)	Menge (kg)	189,625
Dichte [kg/dm ³]	1,034	Dichte [kg/dm ³]	1,025
Milchsäure (mg/L)	6.353	Milchsäure (mg/L)	1.838
Milchsäuremenge (g)	656,90	Milchsäuremenge (g)	348,53
Milchsäurezuwachs (g)	308,37g		
Milchsäurezuwachs (%)	-46,9%		

Tab. 28: Milchsäurebilanz Pilotversuch 6: 1.000 ppm Sulfit und 100 ppm Beta

	Quellwasser 0 h		Quellwasser 48 h
Menge (L)	100 (102,9 kg)	Menge (kg)	189,81
Dichte [kg/dm ³]	1,029	Dichte [kg/dm ³]	1,026
Milchsäure (mg/L)	7.898	Milchsäure (mg/L)	4.469
Milchsäuremenge (g)	812,70	Milchsäuremenge (g)	848,26
Milchsäurezuwachs (g)	35,56 g		
Milchsäurezuwachs (%)	4,4%		

Tab. 29: Milchsäurezuwachs Pilotversuche 1-6

Pilotversuche		Milchsäure- zuwachs in %
Pilot 1:	1.000 ppm Sulfit	82,2
Pilot 2:	2.000 ppm Sulfit	14,9
Pilot 3:	1.000 ppm Sulfit + 5 ppm THI	8,1
Pilot 4:	1.000 ppm Sulfit + 20 ppm THI	6,2
Pilot 5:	1.000 ppm-Sulfit + 10 ppm THI Zugabe nach 24 h	-46,9
Pilot 6:	1.000 ppm Sulfit + 100 ppm Beta	4,4

9 Schlussfolgerungen

Auf der Suche nach Alternativprodukten zu Formalin zur Anwendung im Extraktionsbereich der Zuckerproduktion kam man in Österreich zu Beginn der 1990er Jahre zu der Beobachtung dass Hopfenprodukte erfolgreich zur Bekämpfung von thermophilen Mikroorganismen eingesetzt werden können. Basierend auf diesen Erkenntnissen wurden Untersuchungen zum Einsatz von Hopfenprodukten zur Begrenzung der Milchsäurebildung während des Quellprozesses bei der Maisstärkeherstellung gestartet. Die Maisquellung ist einer der wichtigsten Prozessschritte bei der Stärkegewinnung. Es laufen viele physikalische und chemische Vorgänge parallel ab, die eine enorme Auswirkung auf die Ausbeute und Qualität der Stärke haben. Die Wasseraufnahme und die damit verbundenen Auflockerung des Kornstrukturkomplexes in einzelne Kornbestandteile, um eine bessere Trennung zu erreichen, ist neben der Extraktion von löslichen Bestandteilen aus dem Maiskorn eine der Hauptaufgaben der Maisquellung. Es wird Sulfit dem Quellwasser zugegeben um die genannten chemischen Prozesse ablaufen zu lassen und unkontrollierten mikrobiologischen Abbauprozessen entgegenzuwirken.

In einer ersten Arbeit, die sich mit dem Thema der Nassmaislagerung beschäftigte, stellte sich heraus, dass Hopfenprodukte auch im Quellprozess hemmend auf die Milchsäurebildung wirken (ZINSBERGER, 2008)

In dieser Arbeit wurde der Einfluss von Hopfensäuren auf die Milchsäurebildung während des Quellungsprozesses untersucht. Es wurden einerseits Versuche im Labormaßstab durchgeführt und auf der Basis der daraus gewonnenen Erkenntnisse in weiterer Folge auch Versuche im Technikumsmaßstab.

Die erste Aufgabe war es ein geeignetes Versuchsmodell zu entwickeln, welches mit Hilfe von Vorversuchen erreicht wurde. Als wichtigstes Kriterium stellte sich das Quellwassermanagement heraus. Quellwasser mit einer genügend aktiven Milchsäurekultur bildete die Grundvoraussetzung um eine durch Zugabe der natürlichen Biostabilisatoren, erreichte Unterdrückung des Wachstums erkennen zu können. Letztendlich wurde ein Versuchsmodell entwickelt, welches möglichst praxisnah war.

Bei allen systematischen Laborquellversuchen konnte den THI- α -Säuren die beste Hemmwirkung zugesprochen werden. Bei den Versuchen im Pilotmaßstab konnte ebenfalls mit THI- α -Säuren die besten Ergebnisse erzielt werden.

Zusammenfassend kann der Einsatz der THI- α -Säuren bei der Maisquellung als sehr gut hemmend auf die Milchsäurebildung betrachtet werden. Dieser Tatsache könnte eventuell für die Bioquellung von Maisstärke in der Zukunft von großer Bedeutung sein.

10 Zusammenfassung

Mit Hilfe von Vorversuchen konnte ein geeignetes Versuchsmodell für Laborquellversuche entwickelt werden. Dabei musste dem Quellwassermanagement besonderes Augenmerk geschenkt werden, da es bereits zu Problemen mit der Haltbarkeit des Quellwassers im Zuge der Versuche mit der Pilotanlage der ZFT gekommen war. Quellwasser mit einer aktiven Milchsäurekultur bildete die Grundvoraussetzung, um in weiterer Folge eine durch Zugabe der natürlichen Biostabilisatoren, erreichte Unterdrückung des Wachstums von Milchsäurebakterien erkennen zu können. Um diesen Hemmeffekt der Wirkstoffe zu beurteilen, wurden der pH-Wert, die Milchsäurekonzentration sowie die Konzentration an Ethanol und Essigsäure bestimmt.

Folgende Biostabilisatoren wurden in den Untersuchungen verwendet: THI- α -Säuren, Hopfen- β -Säuren und Iso- α -Säuren. In den ersten Versuchen, in denen noch ohne Sulfitzugabe gearbeitet wurde, konnten mit einem Zusatz von 20 ppm THI- α -Säuren, 100 ppm Hopfen- β -Säuren und 80 ppm Iso- α -Säuren die besten Ergebnisse erzielt werden. Danach wurde versucht einen Teil des Sulfits zu substituieren, um die chemischen und mikrobiologischen Effekte des Sulfits zu entkoppeln um überschüssige Gaben von Sulfit durch die Wirkstoffe zu ersetzen. Dabei stellte sich eine Sulfitkonzentration oberhalb von 1.000 ppm als wachstumshemmend auf die Milchsäurebakterien heraus. Mit dieser Erkenntnis wurde die nächste Versuchsreihe durchgeführt, in der mit einer Kombination aus 1.000 ppm Sulfit und mit 20 ppm THI- α -Säuren ein sehr guter Hemmeffekt erzielt werden konnte. In weiteren Versuchen mit dieser Kombination stellte sich heraus, dass auch ein Zusatz von THI- α -Säuren in einer Konzentration von 60 ppm bzw. 80 ppm 24 h nach Quellungsbeginn eine gute Hemmung auf die Milchsäurebildung hat. In den systematischen Laborquellversuchen zeigten THI- α -Säuren bei allen Versuchsreihen die beste Hemmwirkung.

Die in den Laborquellversuchen erzielten Ergebnisse konnten auch in Versuchen im Pilotmaßstab bestätigt werden. Dabei wurden mit THI- α -Säuren und Hopfen- β -Säuren die besten Versuchsergebnisse erzielt. Bei einer Wirkstoffkonzentration von 20 ppm THI- α -Säuren bzw. 100 ppm Hopfen- β -Säuren konnte die Milchsäurebildung im Quellwasser nahezu vollständig gehemmt und ein Milchsäurezuwachs von nur 6,2 bzw. 4,4% bei Quellungsende festgestellt werden.

11 Summary

With the help of pre-trials it has been possible to establish a suitable model for systematic laboratory steeping trials. In these trials the steep water management was very important, because problems with the stability of the steepwater were reported during other trials with the ZFT pilot plant. Steepwater containing active lactic acid bacteria are a prerequisite to test the effectiveness of the hop products to suppress the growth of lactic acid bacteria. In order to detect the inhibitory effects of the hop products the pH-value as well as the content of lactic acid, ethanol and acetic acids was determined.

The following hop products were used for the investigations: THI- α -acids, hop- β -acids, and Iso- α -acids. In the first trials, which were carried out without addition of SO₂, the best results were achieved by adding 20 ppm THI- α -acids, 100 ppm hop- β -acids and 80 ppm Iso- α -acids, respectively. Subsequently, trials were carried out to evaluate if the chemical and microbial effects of SO₂ can be uncoupled in order to substitute the surplus of SO₂, which is responsible for the antimicrobial effect, by addition of the hop products.

With this knowledge the next trials were undertaken using a combination of 1.000 ppm SO₂ with 20 ppm THI- α -acids which resulted in very good inhibitory effects. During further trials it was also demonstrated that an addition of least 60 ppm THI- α -acids after 24 hours of maize steeping process inhibits the formation of lactic acid. In the systematic maize steeping trials THI- α -acids indicated the best inhibitory effects. The results of the laboratory maize steeping trials could be also confirmed in the pilot plant trials. Here, the best results were achieved by using THI- α -acids and hop- β -acids.

Addition of 20 ppm THI- α -acids and 100 ppm hop- β -acids inhibited the growth of lactic acid bacteria in steepwater was almost totally inhibited and the further growth of lactic acids bacteria throughout the maize steeping process, which was demonstrated by very low increase of lactic acid of 6.2 % and 4.4 %, respectively.

12 Literaturverzeichnis

- ANONYMOUS1 (2005). Produkt - Sicherheitsdatenblatt LactoStab™ Firmenschrift der BetaTec Hopfenprodukte GmbH, Nürnberg.
- ANONYMOUS L-Milchsäurebestimmung Bedienungsanleitung YSI Analysator 2700 Kreienbaum Wissenschaftliche Meßsysteme.
- ANONYMOUS (2004). Produkt- Sicherheitsdatenblatt IsoStab™ Firmenschrift der BetaTec Hopfenprodukte GmbH, Nürnberg.
- ANONYMOUS (2005). Produkt- Sicherheitsdatenblatt BetaStab® 10A™ Firmenschrift der BetaTec Hopfenprodukte GmbH, Nürnberg
- BISS, R., & COGAN, U. (1988). The Significance of Insoluble Protein in Corn Steeping. *Cereal Chem.*, 65(4), 281-284.
- BISS, R. and U. COGAN (1996): Sulfur dioxide in acid environment facilitates corn steeping. *Cereal Chem.* 73; 40-44
- BLACKLOW, M. W. (1972). Influence of Temperature on germination and elongation of the radicle and shoot of corn. *Crop. Sci.*, 12, 647-650.
- BLANCHARD, P. H. (1992). Technology of Corn Wet Milling and Associated Process. *Elsevier, New York*.
- COX, M. J., MACMASTERS, M. M., & HILBERT, G. E. (1944). Effect of sulfurous acid steep in corn wet milling. *Cereal Chem.*, 21, 447-465.
- DAILEY, O. D. (2002). Effect of lactic acid on protein solubilization and starch yield in corn wet-mill steeping: A study of hybrid effects. *Cereal Chemistry*, 79(2), 257-260.
- DU, L.; B. LI; J. F. LOPES-FILHO; C. R. DANIELS and S. R. Eckhoff (1996): Effect of selected organic and inorganic acids on corn wet-milling yields. *Cereal Chem.* 73; 96-98.
- ECKHOFF, S. R. and C. C. TSO (1991): Wet milling of corn using gaseous SO₂ addition before steeping and the effect of lactic acid on steeping. *Cereal Chem.* 68; 248-251.
- EGARTNER, C.: Studies on the fate of hop components in maize starch production. Diploma thesis, University of Vienna (2008).
- EUROPEAN BREWERY CONVENTION (1997) Manual of good practice, Hops and Hop Products, Getränke-Fachverlag Hans Carl, Nürnberg
- FRITSCH, W. (1999). *Mikrobiologie* (Vol. 2). Berlin: Spektrum Akad. Verlag.
- HAROS, M., PEREZ, O. E., & ROSELL, C. M. (2004). Effect of steeping corn with lactic acid on starch properties. *Cereal Chemistry*, 81(1), 10-14.
- HEIN, W., POLLACH, G., & EMERSTORFER, F. (2006). 10 years' experience with natural antibacterials within Agrana. *Zuckerindustrie*, 131(7), 477-491.
- HEYSE, K.-U. (1994). *Handbuch der Brauerei- Praxis*: Getränke Fachverlag.
- HOSENEY, R. C. & Faubion, J. M. (1992) Physical Properties of Cereal Grains, 14-18. In: Storage of Cereal Grains and their Products. Ed by: D. B. SAUER, American Association of Cereal Chemists, USA
- HOLLAUS, F., & POLLACH, G. (1993). Untersuchungen über den Monosaccharidabbau während der Rübenextraktion. *Zuckerindustrie*, 118, 169-179.
- HULL, S. R., YANG, B. Y., VENZKE, D., KULHAVY, K., & MONTGOMERY, R. (1996). Composition of corn steep water during steeping. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 44(7), 1857-1863.
- ICUMSA (1994). The Determination of Lactic Acid (L- and D-) in Juice and Processing Sugar Products by an Enzymatic Method. Method GS8/4/6-4 (1994).

- JACKSON, D. S., & SHANDERA, D. L., Jr. (1995). Corn wet milling: separation chemistry and technology. [Review]. *Advances in Food & Nutrition Research*, 38, 271-300.
- JASKULA, B. K. G. G. D. R. G. A., L. DE COOMAN (2007). Enhanced Quantitative Extraction and HPLC Determination of Hop and Beer Bitter Acids. *Journal Inst. Brew.* 113, 381-390.
- KNIGHT, J. W. (1969). *The starch industry*. Oxford: Pergamon Press.
- MÜLLER, R. (1994). *Naturwissenschaftsgeschichte der Stärke*. München.
- NOLL, F. (1988). *L-(+)- Lactose In Methods of Enzymatic Analysis* (3 ed. Vol. VI). Cambridge/GB.
- POLLACH, G., HEIN, W., & HOLLAUS, F. (1996). Einsatz von Hopfenprodukten als Bacteriostaticum in der Zuckerindustrie. *Zuckerindustrie*, 121(12), 919-926.
- ROUSHDI, M., FAHMY, A. A., & MOSTAFA, M. (1981). Role of Lactic Acid in Corn Steeping and Its Relation with Starch Isolation. *Starch - Stärke*, 33(12), 426-428.
- SHANDERA, D. L., PARKHURST, A. M., & JACKSON, D. S. (1995). Interactions of sulfur dioxide, lactic acid, and temperature during simulated corn wet milling. *Cereal Chemistry*, 72(4), 371-378.
- SHIMWELL, J. L. (1937). On the relation between the staining properties of Bacteria and their reaction towards hop antiseptic. *J. Inst. Brew.*, 43, 111-118.
- STICK, R. V. (2001). *Carbohydrates: The sweet Molecules of Life*. London: Academic Press.
- STÄRKEFABRIK ASCHACH (2007) Übernahmekriterien des Mais
- TEGGE, G. (2004). *Stärke und Stärkederivate*. Hamburg: Behr's Verlag.
- TEUBER, M., & SCHMALRECK, A. F. (1973). Membran Leakage in *Bacillus subtilis* 168, Induced by the Hop Constituents Lupulone, Humulone, Isohumulone, and Humulinic Acid. *Arch. Mikrobiol.*, 94, 159-171.
- VANHOENACKER, G., D. DE KEULELEIRE and P. SANDRA (2004). Analysis of Iso-alpha- Acids and reduced Iso-alpha-Acids in Beer by Direct Injection and Liquid Chromatography with Ultraviolet Absorbance Detection or with Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography*, 53-61.
- VERZELE, M., & DE KEULELEIRE, D. (1991). *Chemistry and analysis of hop and beer bitter acids*: Elsevier.
- WAHL, G. (1969). Biochemisch-technologische Studien über die Naßverarbeitung von Mais. 1. Mitteilung. Zum Stand der Kenntnisse über den Maisquellprozeß. *Starch - Stärke*, 21(3), 68-73.
- WATSON, S. A.; C. B. WILLIAMS and R. B. WAKELY: Laboratory steeping procedures used in a wet milling research program. *Cereal Chem.* 28 (1951) 105- 119.
- WATSON, S. A., HIRATA, Y., & WILLIAMS, C. B. (1955). A Study of the Lactic Acid Fermentation in Commercial Corn Steeping. *Cereal Chem.*, 32, 382-394.
- WHISTLER, R., BE MILLER, J., & PASCHALL, E. F. (1984). *Starch: Chemistry and Technology*. Orlando, FL: Academic Press.
- WHITE, P. J., & JOHNSON, L. A. (2003). *Corn: Chemistry and Technology*. St. Paul: American Association of Cereal Chemists, Inc.
- ZINSBERGER, S. (2008). Einsatz von Hopfenprodukten bei der Gewinnung von Maisstärke Diplomarbeit
www.chemie-schule.de. (2008)
www.newenergyandfuel.com (2008)

www.zuckerforschung.at. (2007).

Lebenslauf – Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Staudigl Christine

Lannerstrasse 3

A-2284 Untersiebenbrunn

geboren in Mistelbach am 16.05.1981

Staatsangehörigkeit: Österreich

Familienstand: verheiratet

Ehemann: Staudigl Benedikt

Kind: Tochter Nina Staudigl geb. 10.09.2010

Schul Ausbildung

Volksschule Lassee	1987-1990
Bundesrealgymnasium Gänserndorf	1991-1996
Gymnasium der Neulandschulen	1996-1999
Matura	1999

Ausbildung zur staatlich geprüften Heilmasseurin und Heilbademeisterin 1999-2000

Hochschulausbildung

Studium der Ernährungswissenschaften an der Universität Wien	1999-2012
--	-----------

Fachpraktika

Agrana Zuckerfabrik, Leopoldsdorf, Kampagnechemikerin	Okt. 2003 bis Dez. 2003
Agrana Zuckerfabrik, Leopoldsdorf, Kampagnechemikerin	Okt. 2004 bis Dez. 2004
Dr. Schmid Labor	Juli 2005 bis Aug. 2005

Lebenslauf – Curriculum Vitae

Agrana Zuckerfabrik Leopoldsdorf	Sept. 2005
Agrana Zuckerfabrik, Leopoldsdorf, Kampagnechemikerin	Okt. 2005 bis Jän. 2006
Agrana Zuckerfabrik Leopoldsdorf	Aug. 2006
Agrana Zuckerfabrik, Leopoldsdorf, Kampagnechemikerin	Sept. 2006 bis Febr. 2007
Agrana Zuckerfabrik Leopoldsdorf	Juni 2007 bis Juli 2007
Agrana Zuckerfabrik, Leopoldsdorf, Kampagnechemikerin	Sept. 2007 bis Febr. 2008
Agrana Zuckerfabrik Leopoldsdorf	Juli, August 2008
Agrana Zuckerfabrik, Leopoldsdorf, Kampagnechemikerin	Sept. 2008 bis Febr. 2009
Agrana Zuckerfabrik Leopoldsdorf	August 2009

Sonstige Kenntnisse

Englisch

Französisch