

DIPLOMARBEIT

Einsatz von Hopfenprodukten bei der Gewinnung von Maisstärke

angestrebter akademischer Grad

Magister/Magistra der Naturwissenschaften (Mag. rer.nat.)

Verfasserin / Verfasser:	Silke Zinsberger
Matrikel-Nummer:	0106666
Studienrichtung (lt. Studienblatt):	Ernährungswissenschaften
Betreuerin / Betreuer:	Ao. Univ. Prof. DI Dr. Emmerich Berghofer

Wien, im November 2008

Ich danke Prof. DI Dr. Emmerich Berghofer für die Ermöglichung der Durchführung meiner Diplomarbeit an der Zuckerforschung Tulln GmbH.

Besonderen Dank gilt DI Dr. Walter Hein, dem Leiter der Abteilung Zuckertechnologie der Zuckerforschung Tulln, der mir die Gelegenheit gegeben hat meine Arbeit in Tulln durchzuführen. Ein großes Dankeschön für die ausgezeichnete Betreuung und die hervorragenden Arbeitsbedingungen.

Ganz besonderer Dank gilt DI Florian Emerstorfer für die zahlreichen, wissenschaftlichen Anregungen und die großartige, freundliche Unterstützung bei allen Abschnitten meiner Arbeit von der Planung über die Durchführung bis zur Auswertung.

Für die Beantwortung meiner Fragen zum Thema Stärketechnologie und für die Bereitstellung der Pilotanlage und Verwirklichung der Pilotversuche danke ich DI Robert Wittenberger.

Ein großes Dankeschön gilt allen Mitarbeitern der Zuckerforschung Tulln GmbH für die Hilfsbereitschaft, Kollegialität und freundschaftliche Arbeitsatmosphäre.

Einen Dank gilt allen meinen Studienkollegen und Freunden für eine wunderbare, interessante Studienzeit.

Herzlichen Dank an meine Eltern, meine Schwester und an meine Familie, durch deren Unterstützung mein Studium ermöglicht wurde.

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	V
Abbildungsverzeichnis	VII
Abkürzungsverzeichnis	IX
1 Einleitung	1
2 Wirkstoffe	3
2.1 Entwicklung von Wirkstoffen auf Basis von Hopfensäuren, Harzsäuren und Myristinsäure	3
2.2 Hopfen	6
2.2.1 <i>Humulus lupulus</i> und seine Bedeutung in der Brauerei	6
2.2.2 Hopfenprodukte	7
2.2.3 Humulone (α -Säuren) und Lupulone (β -Säuren)	8
2.2.4 THI- α -Säuren	10
2.2.5 Bakteriostatische Kraft des Hopfens	11
2.2.6 Einsatz und Funktion von Hopfenprodukten außerhalb der Biererzeugung	12
2.3 Harzsäuren	14
2.4 Myristinsäure	15
3 Mais (<i>Zea mays</i> L.)	16
3.1 Allgemeines	16
3.2 Das Maiskorn	18
3.3 Mais als Rohstoff für die Stärkeindustrie	20
3.4 Gewinnung von Maisstärke	23
3.4.1 Anlieferung, Lagerung und Reinigung	23
3.4.2 Maisquellung	25
3.4.3 Keimabtrennung	27
3.4.4 Faserabtrennung und Futtertrocknung	28
3.4.5 Glutenabtrennung, -entwässerung und -trocknung	28
3.4.6 Stärkeraffination, -entwässerung und -trocknung	29
4 Maislagerung	30
4.1 Ziele, Grundlagen und Methoden	30
4.2 Nassmaislagerung	34
4.2.1 Vorteile von Nassmais als Rohstoff für die Stärkeproduktion	34
4.2.2 Nachteile von Nassmais als Rohstoff für die Stärkeproduktion	34
5 Aufgabenstellung	37

6 Material und Analysenmethoden..... 38

6.1	Nassmais	38
6.2	Quellwasser	40
6.3	Wirkstoffe	40
6.3.1	Hopfensäuren.....	40
6.3.2	Harzsäuren und Myristinsäure	41
6.4	Geräte für die Lagerversuche im Labormaßstab	42
6.5	Geräte für die Versuche im Pilotmaßstab.....	42
6.5.1	Lagerung von Nassmais im Pilotmaßstab	42
6.5.2	Geräte der Pilotanlage	43
6.5.2.1	Quellung.....	43
6.5.2.2	Grobvermahlung	43
6.5.2.3	Feinvermahlung	43
6.5.2.4	Keimabtrennung.....	43
6.5.2.5	Extraktion	43
6.5.2.6	Feinfaserabtrennung.....	43
6.5.2.7	Kleberabtrennung, Konzentration, Raffination	43
6.5.2.8	Entwässerung	44
6.5.2.9	Trockner.....	44
6.5.2.10	Fördermedien und Zwischenbehälter.....	44
6.6	Analysenmethoden	45
6.6.1	Bestimmung des Feuchtigkeitsgehalts	45
6.6.2	Bestimmung des Feuchtigkeitsgehalts mittels Infrarottrocknung	46
6.6.3	Bestimmung des pH-Werts	47
6.6.4	Bestimmung des pH-Werts eines Kleisters	49
6.6.5	Bestimmung der Leitfähigkeit	51
6.6.6	Bestimmung von L-Lactat mittels Enzymsensor.....	52
6.6.7	Enzymatische Bestimmung von L-Lactat nach ICUMSA.....	54
6.6.8	Enzymatische Bestimmung von D-Lactat nach ICUMSA.....	60
6.6.9	Quantifizierung von Methanol, Ethanol, Formiat, Acetat und Butyrat mittels HPLC.....	64
6.6.10	Bestimmung der Dichte	68
6.6.11	Bestimmung der Dichte nach Baumé mit einer Senkspindel.....	69
6.6.12	Bestimmung des Rohproteingehalts	70
6.6.13	Viskositätsmessung nach Brookfield.....	75
6.6.14	Viskositätsmessung nach Brabender	76
6.6.15	Herstellung von Maisstärke mithilfe der Pilotanlage.....	77

7 Entwicklung eines Versuchsmodells zur Lagerung im Labormaßstab 78

7.1	Bestimmungen der Untersuchungsparameter	78
7.2	Lagersilos im Labormaßstab	79
7.3	Festlegung der Zeitspanne einer Lagerung.....	79

7.4	Ermittlung der Aufbringungsmenge an Wirkstofflösung	80
7.5	Bestimmung der Maisfüllmenge im Laborsilo	80
7.6	Bestimmung der Lagertemperatur	82
7.7	Konzentrationen der zugesetzten Wirkstoffe	84
8	Versuchsdurchführung.....	85
8.1	Versuche im Labormaßstab.....	85
8.2	Weiterführende Versuche mit verlängerter Lagerzeit im Labormaßstab.....	87
8.3	Versuche im Pilotmaßstab.....	88
8.3.1	Auftauen von Nassmais für die Pilotversuche.....	90
8.3.2	Behandlung des Nassmaises mit Hopfenprodukten	91
8.3.3	Lagerung von Nassmais im Pilotmaßstab.....	92
8.3.4	Quellung.....	92
8.3.5	Weitere Verarbeitung zu Stärke	94
8.3.6	Grobvermahlung	95
8.3.7	Keimabtrennung.....	95
8.3.8	Feinvermahlung	96
8.3.9	Extraktion	97
8.3.10	Feinfaserabtrennung.....	97
8.3.11	Kleberabtrennung	98
8.3.12	Aufkonzentrierung und Raffination.....	99
8.3.13	Entwässerung und Trocknung	100
9	Versuchsergebnisse und Diskussion	101
9.1	Nassmaislagerungen im Labormaßstab	101
9.1.1	Änderungen im pH-Wert	101
9.1.2	Änderungen in der Trockensubstanz	105
9.1.3	Veränderungen in der L- und D-Lactatkonzentration	109
9.1.3.1	THI- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C.....	112
9.1.3.2	THI- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C.....	114
9.1.3.3	Iso- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C.....	117
9.1.3.4	Iso- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C.....	119
9.1.3.5	Hopfen- β -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C	122
9.1.3.6	Hopfen- β -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C	124
9.1.3.7	Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei einer Lagertemperatur von 30 °C.....	127
9.1.3.8	Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei einer Lagertemperatur von 40 °C.....	131
9.1.4	Bestimmungen von Ethanol, Methanol, Lactat, Acetat, Formiat und Butyrat mittels HPLC.....	136
9.1.5	Weiterführende Versuche mit verlängerter Lagerzeit im Labormaßstab.....	137
9.2	Versuche im Pilotmaßstab.....	140
9.2.1	Nassmaislagerungen im Pilotmaßstab.....	140
9.2.2	Maisquellung.....	143

9.2.3	Stärkeuntersuchung	146
9.2.3.1	<i>Feuchtigkeitsgehaltsbestimmung</i>	146
9.2.3.2	<i>pH-Wert Bestimmung</i>	147
9.2.3.3	<i>Leitfähigkeitsbestimmung</i>	148
9.2.3.4	<i>Rohproteingehaltsbestimmung</i>	148
9.2.3.5	<i>Viskositätsmessung nach Brookfield</i>	149
9.2.3.6	<i>Viskositätsmessung nach Brabender</i>	150
10	Schlussfolgerungen	151
11	Zusammenfassung / Summary	152
12	Literatur	156

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Zusammensetzung von Mais [29].....	19
Tab. 2: Zusammensetzung der Vormischung für die L-Lactatbestimmung	57
Tab. 3: Zusammensetzung des Ansatzes in der Küvette für die L-Lactatbestimmung.....	57
Tab. 4: Bestimmungen von L-Lactat in Nassmais und Maisquellwasser	59
Tab. 5: Zusammensetzung der Vormischung für die D-Lactatbestimmung	63
Tab. 6: Zusammensetzung des Ansatzes in der Küvette für die D-Lactatbestimmung	63
Tab. 7: Zusammensetzung des Ansatzes in der Küvette für die D-Lactatbestimmung	67
Tab. 8: Versuchsplan der Nassmaislagerversuche im Labormaßstab	85
Tab. 9: Versuchsbedingungen der Pilotversuche	88
Tab. 10: Durchgeführte Analysen mit den Materialien aus den Pilotversuchen.....	90
Tab. 11: pH-Werte der Versuchsreihen mit THI- α -Säuren, Iso- α -Säuren und Hopfen- β -Säuren.....	103
Tab. 12: pH-Werte der Versuchsreihen mit Harzsäuren, Myristinsäure und RoMy8 : 2.....	104
Tab. 13: Trockensubstanzen der Versuchsreihen mit THI- α -Säuren, Iso- α -Säuren und Hopfen- β -Säuren.....	107
Tab. 14: Trockensubstanzen der Versuchsreihen mit Harzsäuren, Myristinsäure und RoMy8 : 2.....	108
Tab. 15: Kategorische Einteilung der Wirkstoffkonzentrationen nach ihrem Hemmeffekt auf die Lactatbildung.....	110
Tab. 16: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie THI- α -Säuren bei 30 °C	113
Tab. 17: Kategorische Einteilung der THI- α -Säuren nach ihrer Wirkung bei 30 °C	114
Tab. 18: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie THI- α -Säuren bei 40 °C	116
Tab. 19: Kategorische Einteilung der THI- α -Säuren nach ihrer Wirkung bei 40 °C	116
Tab. 20: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Iso- α -Säuren bei 30 °C	118
Tab. 21: Kategorische Einteilung der Iso- α -Säuren nach ihrer Wirkung bei 30 °C	119

Tab. 22: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Iso- α -Säuren bei 40 °C	121
Tab. 23: Kategorische Einteilung der Iso- α -Säuren nach ihrer Wirkung bei 40 °C	121
Tab. 24: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Hopfen- β -Säuren bei 30 °C.....	123
Tab. 25: Kategorische Einteilung der Hopfen- β -Säuren nach ihrer Wirkung bei 30 °C.....	124
Tab. 26: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Hopfen- β -Säuren bei 40 °C.....	126
Tab. 27: Kategorische Einteilung der Hopfen- β -Säuren nach ihrer Wirkung bei 40 °C.....	126
Tab. 28: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Myristinsäure bei 30 °C	129
Tab. 29: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Harzsäuren bei 30 °C	129
Tab. 30: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie RoMy8 : 2 bei 30 °C	130
Tab. 31: Kategorische Einteilung der Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 nach ihrer Wirkung bei 30 °C	130
Tab. 32: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Myristinsäure bei 40 °C	133
Tab. 33: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Harzsäuren bei 40 °C	133
Tab. 34: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie RoMy8 : 2 bei 40 °C	134
Tab. 35: Kategorische Einteilung der Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 nach ihrer Wirkung bei 40 °C.....	134
Tab. 36: Lactat, Acetat, Butyrat, Formiat, Ethanol und Methanol der Versuchsserie THI- α -Säuren bei 30 °C mittels HPLC.....	137
Tab. 37: Versuchsbedingungen und Untersuchungsergebnisse der Nassmaislagerungen im Pilotmaßstab.....	141
Tab. 38: Lactatbilanz des Pilotversuchs 1	143
Tab. 39: Lactatbilanz des Pilotversuchs 2	144
Tab. 40: Lactatbilanz des Pilotversuchs 3	144
Tab. 41: Lactatbilanz des Pilotversuchs 4	144
Tab. 42: Auswertung der Stärkeuntersuchungen	147
Tab. 44: Auswertungen der Brabender - Messungen.....	150

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Zusammenfassung der erhältlichen Hopfenprodukte [9]	7
Abb. 2: Chemische Strukturen von α -Säuren und β -Säuren [13]	8
Abb. 3: Isomerisierung der α -Säuren zu Iso- α -Säuren [13]	9
Abb. 4: Herstellung von THI- α -Säuren aus α -Säuren und β -Säuren [13]	10
Abb. 5: Abietinsäure [25]	15
Abb. 6: Myristinsäure (Tetradekansäure C14:0)	15
Abb. 7: Aufbau eines Maiskorns [27]	18
Abb. 8: Einflussfaktoren auf den Verarbeitungswert von Maiskörnern [34]	20
Abb. 9: Gewinnung von Maisstärke [27]	24
Abb. 10: Nassmais der ersten Charge	39
Abb. 11: Nassmais der zweiten Charge	39
Abb. 12: Auswirkung der Maisfüllmenge im Einweckglas auf die L-Lactatkonzentration	81
Abb. 13: Einfluss der Lagertemperatur auf den Lactatgehalt nach 64 h Lagerung	83
Abb. 14: Lagerung von Nassmais im Klimaschrank	86
Abb. 15: Besprühen des Nassmaises mit Hopfenprodukten	91
Abb. 16: Lagerung von Nassmais im Trockenschrank	92
Abb. 17: Blick in den Quellbottich	93
Abb. 18: Fließschema – Maisstärke Pilotanlage Zuckerforschung Tulln [27]	94
Abb. 19: Quellbottich mit Förderschnecke und Zahnscheibenmühle	95
Abb. 20: Keimfraktion	96
Abb. 21: Stiftmühle	96
Abb. 22: Centrisieb	97
Abb. 23: Bogensieb	98
Abb. 24: Hydrozyklonanlage	99
Abb. 25: Zentrifuge (links) und Spin Flash Dryer (rechts)	100
Abb. 26: pH-Wert Verlauf der Versuchsserie THI- α -Säuren bei 40 °C	102
Abb. 27: Trockensubstanzverlauf der Probenserie THI- α -Säuren bei 40 °C ...	106
Abb. 28: L- und D-Lactat Verlauf der Versuchsserie THI- α -Säuren bei 30 °C	113
Abb. 29: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserie THI- α -Säuren bei 40 °C	115
Abb. 30: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserie Iso- α -Säuren bei 30 °C	118

Abb. 31: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserie Iso- α -Säuren bei 40 °C.....	120
Abb. 32: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserie Hopfen- β -Säuren bei 30 °C	123
Abb. 33: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserie Hopfen- β -Säuren bei 40 °C	125
Abb. 34: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserien Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei 30 °C	128
Abb. 35: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserien Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei 40 °C	132
Abb. 36: Lactatkonzentration der Versuchsserie mit verlängerter Lagerzeit bei 30 °C.....	139
Abb. 37: Lactatkonzentration der Versuchsserie mit verlängerter Lagerzeit bei 40 °C.....	140

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BE	Brabendereinheiten
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CO ₂	Kohlendioxid
EG-Richtlinie	Rechtssetzung der europäischen Gemeinschaft
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
Gl.	Gleichung
h	Stunde
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ICUMSA	International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis
i. TS	in Trockensubstanz
Kap.	Kapitel
KOH	Kaliumhydroxid
min	Minute
Mio.	Million
N ₂	Stickstoff
NaOH	Natriumhydroxid
n. Chr.	nach Christus
Nr.	Nummer
n. u.	nicht untersucht
RoMy8 : 2	Mischung der Harz- und Myristinsäurelösung im Verhältnis 80 : 20
sec	Sekunde
Tab.	Tabelle

Temp.	Temperatur
THI- α -Säuren	Tetrahydroiso- α -Säuren
Visk.	Viskosität
ZFT	Zuckerforschung Tulln

1 Einleitung

Ausgehend von einer Beobachtung Mitte der 1990er Jahre, dass Hopfenprodukte im Zuge der Zuckerherstellung erfolgreich zur Bekämpfung von thermophilen Mikroorganismen eingesetzt werden können, kam es zur Entwicklung entsprechender Produkte auf Basis von Hopfen-, Harz- und Fettsäuren, die in der Zwischenzeit nicht nur im Bereich der Zuckertechnologie eingesetzt werden. Nach erfolgreichen Anwendungen bei der Ethanol- und Backhefeherstellung wird nun ein Einsatz bei der Gewinnung von Maisstärke erwogen. Dies könnte im Zuge der Stärkeherstellung bei der Lagerung von Nassmais bzw. zur Steuerung von Prozessströmen sinnvoll sein.

Der mögliche Einsatz von diesen Wirkstoffen bei der Lagerung, im speziellen von Nassmais, beruht auf der starken Vermehrung von Mikroorganismen und die Anreicherung deren Stoffwechselprodukte nach der Ernte des Maises. In Österreich wird Mais von September bis Anfang Dezember geerntet und während dieses Zeitraums aus finanziellen Gründen dem Stärkeherstellungsprozess frisch und ungetrocknet zugeführt. Durch den hohen Feuchtigkeitsgehalt von bis zu 40 % ist Nassmais nur wenige Tage lagerfähig. Aufgrund von beschränkten Verarbeitungskapazitäten und langen Transportstrecken zur Maisstärkefabrik sind demzufolge Lagerperioden von bis zu fünf Tagen denkbar, die abhängig von den vorherrschenden klimatischen Gegebenheiten erhebliche Qualitätsverluste des Maises mit sich bringen können. In diesem Zusammenhang könnte die Anwendung von Wirkstoffen auch zu beträchtlichen Einsparungen von Trocknungskosten und zur Erleichterung der Logistik bezüglich der Maisanlieferung führen.

Neben der ausgeprägten Vermehrung der Mikroorganismen im Mais kommt es während dieser Zeitspanne zu einem merklichen Abbau von Stärke im Mais, der durch Trockensubstanzverluste bemerkbar ist. Abgesehen von den geringeren Stärkeerträgen und den damit einhergehenden finanziellen Verlusten verursachen die hohen Keimzahlen, sowie die Anreicherung der Gärprodukte dieser Mikroorganismen, Probleme bei der späteren Verarbeitung des Maises.

Zudem wird in Maisstärkefabriken bei der Stärkeproduktion aus Nassmais immer wieder verstärkte Lactatbildung in den verschiedenen Stoffströmen beobachtet. Diese kann unter anderem zu einer Verminderung der Regenerations- und Leistungsfähigkeit der Ionenaustauscher führen, die für die Entsalzung und Entfärbung des Sirups bei der Stärkeverzuckerung eingesetzt werden. Darüberhinaus werden niedrigere Produktausbeuten erzielt als vergleichsweise bei der Maisstärkeherstellung aus Trockenmais.

Von der generellen Problematik des Einschleppens von Mikroorganismen in Produktionsstätten ist nicht nur die Stärkeherstellung selbst betroffen, sondern auch die Produktion von Stärkederivaten sowie die Verarbeitung und die Weiterverwendung von Produkten aus anderen Maisfraktionen, wie Proteinkomponenten, Fasern und Keimlinge. Die Anwendung der Wirkstoffe ist auch vor allem dann interessant, wenn die erhaltenen Nebenprodukte zur Herstellung von Bioethanol verwendet werden sollen. Lactat als bedeutendes Zellgift für Hefen kann im Rahmen der alkoholischen Gärung zu Ausbeuteverlusten und Fehlgärungen führen.

Aufgabe dieser Diplomarbeit war es, pflanzliche Wirkstoffe auf deren mögliche Verwendung zur Kontrolle bzw. Unterdrückung von mikrobiologischen Aktivitäten bei der Nassmaislagerung im Hinblick auf den Stärkeherstellungsprozess zu untersuchen.

2 Wirkstoffe

2.1 Entwicklung von Wirkstoffen auf Basis von Hopfensäuren, Harzsäuren und Myristinsäure

Um negativen Schlagzeilen in den Medien zuvorzukommen, verzichtete die AGRANA Zucker GmbH ab 1991, im Rahmen der Zuckerherstellung aus Zuckerrüben, freiwillig auf den Einsatz von Formalin als Desinfektionsmittel zur Bekämpfung von Bakterien bei der Rübenextraktion [1 - 6]. Als Formalin wird in der Regel eine 37%ige, wässrige Lösung von Formaldehyd verstanden, die mit Methanol stabilisiert wird. Formaldehyd wurde bereits im Jahre 1967 vom Rat der europäischen Wirtschaftsgemeinschaft in der EG-Richtlinie 67/548/EWG, Anhang I mit der Kategorie 3 als „möglicherweise Krebs erregend“ klassifiziert [7] und ist deshalb unerwünscht. Wenn aber in Zuckerfabriken keine Desinfektionsmittel gegen Bakterien eingesetzt werden oder Maßnahmen gegen Mikroorganismen nicht erfolgreich sind, können Verluste in der Zuckerausbeute entstehen und zusätzlich ernste technische Probleme auftreten [8]. Nach dem Verzicht auf Formalin wurde in den darauffolgenden drei Jahren ganz auf den Einsatz eines Desinfektionsmittels im Extraktionsbereich abgesehen und die Verluste in der Zuckerausbeute durch hohe Mikroorganismenaktivitäten mussten schlichtweg akzeptiert werden.

Die Zuckerforschung Tulln GmbH entwickelte alternativ zu Formalin Hopfenprodukte – im speziellen Hopfen- β -Säuren – um Bakterienkontaminationen in der Zuckerproduktion vorzubeugen und einzudämmen. Im Jahre 1994 wurden diese erstmals von der AGRANA Zucker GmbH zur Bekämpfung von Mikroorganismen in der Rübenextraktion erfolgreich eingesetzt. Damit wurde neben der traditionellen Anwendung von Hopfenprodukten in Brauereien ein völlig neues Einsatzgebiet erschlossen [5]. Ein entscheidendes Argument für die Verwendung von Hopfenprodukten ist die Tatsache, dass diese schon sehr lange im Lebensmittelsektor eingesetzt werden und somit konnte deren Einsatz im Bereich der Zuckerherstellung kaum zu einer Diskussion über schädliche Nebenwirkungen dieser Substanzen führen [4].

Bei der kontinuierlichen Anwendung ein und desselben Desinfektionsmittels über einen längeren Zeitraum kann es jedoch zu einer nachlassenden Wirkung durch Adaption von Mikroorganismen kommen, wie auch bei der Verwendung von Hopfen- β -Säuren [4 - 5]. Eine gleichbleibend desinfizierende Wirkung ist nur durch Erhöhung der Dosis des Wirkstoffes oder durch Änderung der Einbringung zu erzielen. Abgesehen von der Optimierung der Anwendung der Hopfen- β -Säuren in Bezug auf Wirkstoffkonzentration, Art der Dosierung, Dosierstelle und Einspeisesystem wurde nach weiteren unbedenklichen Mitteln mit ähnlich guter Wirksamkeit gesucht, die alternativ zu Hopfen- β -Säuren eingesetzt werden konnten [2 - 3]. Nach der Entwicklung und Überprüfung von Harzsäuren und Myristinsäure durch die Zuckerforschung Tulln GmbH wurden diese in Folge erfolgreich zur Bekämpfung von thermophilen Mikroorganismen im Bereich der Zuckergewinnung eingesetzt [4 - 5]. Die Wirksamkeit von Hopfen- β -Säuren beispielsweise beruht auf einer Destabilisierung der bakteriellen Zellwände und dies führt zur Lyse der Bakterienzelle [3 - 4].

Die Produkte basierend auf Hopfen- β -Säuren, Harzsäuren und Myristinsäure sind Bestandteile von Lebensmitteln und deren Einsatz kann als ernährungsphysiologisch unbedenklich eingestuft werden [3]. So sind Hopfen- β -Säuren in Bier enthalten, Harzsäuren in speziellen Weinen zu finden und Myristinsäure ist Bestandteil von Milchfett und deshalb in Milchprodukten anzutreffen. Zusammenfassend für die drei Produkte mit diesen Wirkstoffen wurde von der Zuckerforschung Tulln GmbH die Bezeichnung „natürliche Biostabilisatoren“ gewählt, wobei der Begriff „natürlich“ für die Herstellung der Wirkstoffe steht. Hopfen- β -Säuren stammen aus der Hopfenpflanze, Harzsäuren aus Baumharzen und Myristinsäure aus Palmkernöl. Der Begriff Biostabilisatoren lässt sich auf die Stabilisierung von technischen Prozessen bezüglich biologischer Vorgänge zurückführen [3].

Parallel zur Anwendung der Biostabilisatoren im Extraktionsbereich konnten noch weitere Einsatzgebiete im Rahmen der Zuckergewinnung wie beispielsweise gegen Nitritbildung in Ionentauschern, Dextranbildung im Rohsaftbereich oder Buttersäure- und Wasserstoffbildung im Presswasserkreislauf gefunden werden [3].

Im Zuge der Entwicklung von natürlichen Biostabilisatoren durch die Zuckerforschung Tulln GmbH wurde im Jahr 1997 die Firma BetaTec Hopfenprodukte GmbH als Tochterunternehmen einer renommierten Firma der Hopfenbranche in Nürnberg gegründet. Die Zuckerforschung Tulln GmbH spezialisierte sich auf die Weiterentwicklung der Hopfen- β -Säuren im Bereich der Zuckerherstellung, sowie auf die Suche nach, in dieser Produktionssparte einsetzbaren, Alternativen wie Harzsäuren und Myristinsäure.

Die Firma BetaTec Hopfenprodukte GmbH ist für das weitere Vorantreiben der Suche nach weiteren Einsatzmöglichkeiten von Wirkstoffen auf Basis von Hopfensäuren verantwortlich. So finden chemisch veränderte Derivate von Hopfensäuren wie Iso- α -Säuren und Tetrahydroiso- α -Säuren (THI- α -Säuren) nun erfolgreich Anwendung in der Ethanolproduktion und Backhefeherstellung. Das Unternehmen BetaTec Hopfenprodukte GmbH ist für die Produktion, das Marketing und den Verkauf von natürlichen Biostabilisatoren sowie weiteren Wirkstoffen auf Basis von Hopfensäuren spezialisiert. In weiterer Folge erwog BetaTec Hopfenprodukte GmbH den möglichen Einsatz dieser Produkte im Bereich der Maisstärkeerzeugung und trat an die Zuckerforschung Tulln GmbH heran, damit diese das mögliche Anwendungsgebiet überprüft.

2.2 Hopfen

2.2.1 *Humulus lupulus* und seine Bedeutung in der Brauerei

Der Kulturhopfen mit dem wissenschaftlichen Namen *Humulus lupulus* L. gehört zur Familie der Hanfgewächse (*Cannabaceae*) und zur Ordnung der Nesselgewächse (*Urticales*). Die schnellwachsende Pflanze gedeiht sehr gut in Ländern mit mäßigem Klima wie Deutschland, USA, China, England, Tschechien, Slowenien, Australien und Frankreich.

Hopfen wurde in Deutschland und Tschechien mit spezieller Verwendung für die Brauerei erstmals vor 800 - 1000 Jahren angebaut. Zwar konnte der gezielte Anbau von Hopfen in Mitteleuropa in der Zeitrechnung schon früher nachgewiesen werden, jedoch ist unklar ob dieser abgesehen als Heilmittel und Kräuterextrakt im medizinischen Bereich auch bereits in der Bierbrauerei eingesetzt wurde [9]. Dort ist der Hopfen ein unentbehrliches Zusatzmittel zur Würze, da er für den bitteren Geschmack, ein bestimmtes Aroma und zur Förderung der Klärung durch Eiweißausfällung verantwortlich ist. Darüberhinaus führt der Zusatz von Hopfen zu schaumverbessernden Eigenschaften und gilt als natürliches Konservierungsmittel des Bieres [10].

Die Industrialisierung und Zentralisierung der Bierproduktion führte zu längeren Transportstrecken und damit einhergehend war eine Verlängerung der Haltbarkeit des Bieres gefordert. Die Pasteurisierung als Konservierungsverfahren war in der industriellen Produktion als Praxis noch nicht bekannt, deshalb war die Zugabe von Hopfen essentiell aufgrund des konservierenden Effekts. Dies führte zur Etablierung von Hopfen als einen der Rohstoffe in der Bierproduktion. Somit liegt der ursprüngliche Verwendungszweck des Hopfens in der Brauerei nicht in der Zugabe wegen des bitteren Geschmacks oder des breitgefächerten Aromas, sondern in der Konservierung durch die Hopfenbittersäuren [11].

Die als Hopfendolden bezeichneten weiblichen Blütenstände der zweihäusigen Pflanze enthalten auf der Innenseite der Vor- und Deckblätter glänzende, gelblich-grüne, klebrige Becherdrüsen. In denen als Lupulinkörner

bezeichneten Becherdrüsen befindet sich ein Sekret, welches unter anderem die Hopfenbitterstoffe enthält. Die Gesamtmenge ist löslich in Alkohol, Äther und anderen Harzlösungsmitteln. Die Aufteilung der Hopfenbitterstoffe erfolgt in α -Säuren (Humulone), β -Säuren (Lupulone) und Harze [10].

2.2.2 Hopfenprodukte

Mehr als 95 % des weltweit geernteten Hopfens wird zu verschiedenen Produkten wie Pellets und Extrakte weiterverarbeitet [12], wodurch die Verwendung von Hopfen bzw. deren Wirkstoffe erleichtert und eine gleichmäßige Dosierung durch die vorhandene Homogenität des Materials ermöglicht wird. Überdies werden durch eine Vorverarbeitung des Hopfens die Lager- und Transportkosten durch eine Verringerung des Volumens reduziert und zudem die Lagerfähigkeit verlängert. Die auf Hopfen basierenden Wirkstoffe sind in Form von Pulvern, Pellets, Extrakten und Ölen erhältlich. Abb. 1 gibt einen Überblick über die am Markt verfügbaren Hopfenprodukte.

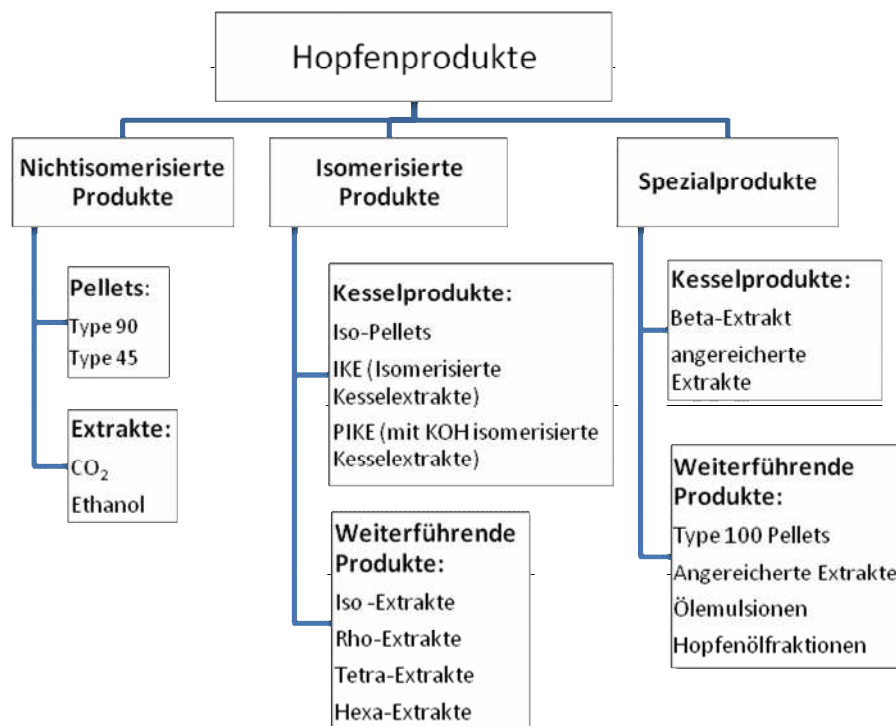
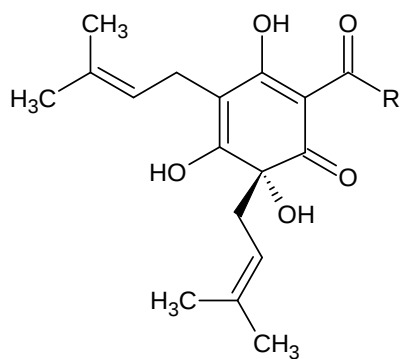


Abb. 1: Zusammenfassung der erhältlichen Hopfenprodukte [9]

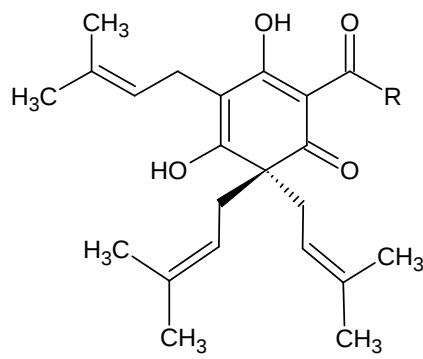
Als Lösungsmittel für die Herstellung von Hopfenextrakten wird Ethanol oder CO₂ verwendet. Ethanol löst ein weites Spektrum an Hopfenkomponenten, während CO₂ selektiver für die Gewinnung von Harzen und Aromen eingesetzt wird [12].

2.2.3 Humulone (α -Säuren) und Lupulone (β -Säuren)

Von den beiden hauptsächlich vorkommenden Hopfenbittersäuren Humulon und Lupulon wurden jeweils fünf Isomere und Homologe genau charakterisiert, die sich wie aus Abb. 2 ersichtlich in ihren Seitenketten am C-2 Atom unterscheiden.



α -Säuren



β -Säuren

"R"	α -Säuren / Humulone	β -Säuren / Lupulone
CH ₂ CH(CH ₃) ₂	Humulon	Lupulon
CH(CH ₃) ₂	Cohumulon	Colupulon
CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	Adhumulon	Adlupulon
(CH ₂) ₂ CH(CH ₃) ₂	Prehumulon	Prelupulon
CH ₂ CH ₃	Posthumulon	Postlupulon

Abb. 2: Chemische Strukturen von α -Säuren und β -Säuren [13]

Beim Brauvorgang während des Würzekochens werden die α -Säuren in ihre Isomerisierungsprodukte, die Iso- α -Säuren übergeführt. Iso- α -Säuren sind

eine stabilisierende Komponente, die die Bittere des Bieres zum überwiegenden Teil bestimmen [13 - 14]. Die Wasserlöslichkeit der Hopfenbittersäuren wird durch den Isomerisierungsvorgang, der in Abb. 3 dargestellt ist, wesentlich erhöht.

Eine Isomerisierung der α -Säuren in Iso- α -Säuren kann auch durch Bestrahlung mit UV-A Licht erreicht werden [13].

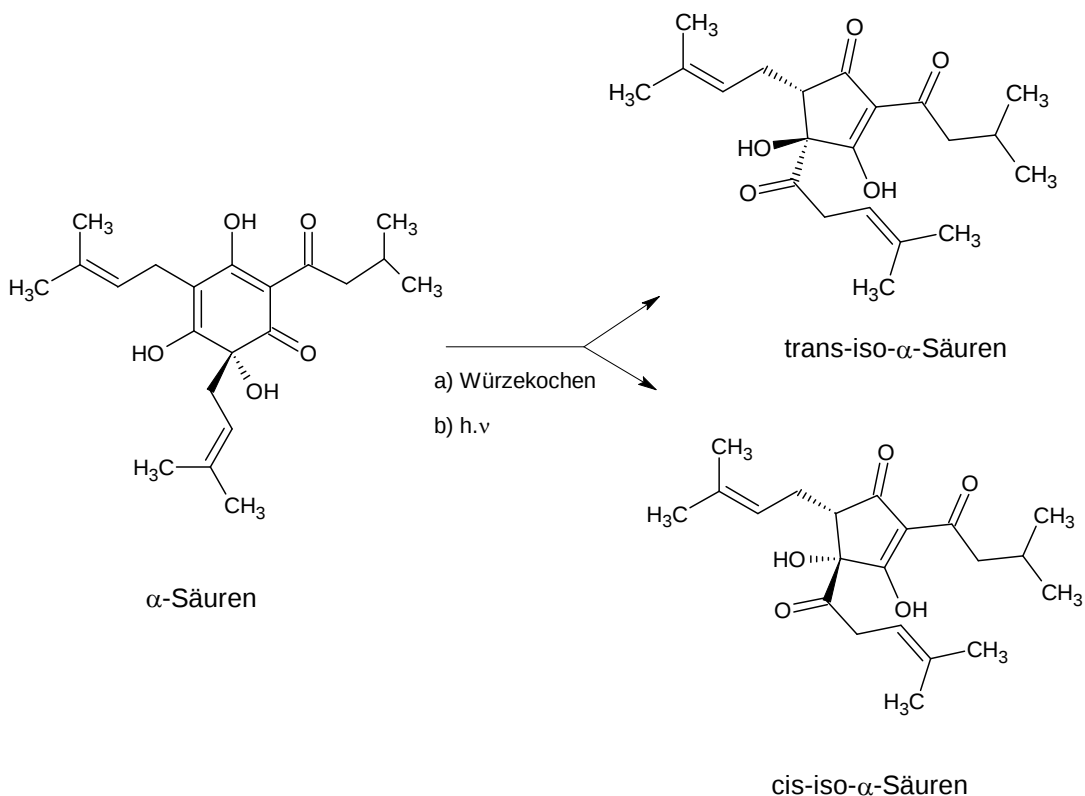


Abb. 3: Isomerisierung der α -Säuren zu Iso- α -Säuren [13]

Die β -Säuren erfahren durch den Brauvorgang zum Großteil keine Umwandlung und gehen ungenützt mit den Hopfentrebern verloren [15]. β -Säuren sind in sehr hoher Konzentration im Baseextrakt, einer hochviskosen, dunkelgrünen Paste, enthalten. Dabei handelt es sich um ein Nebenprodukt, welches bei der industriellen Herstellung von isomerisierten Hopfenextrakten anfällt. Es besteht aus einer Mischung von β -Säuren, Hopfenölen und nicht charakterisierten Weichharzen [9].

2.2.4 THI- α -Säuren

Für die Herstellung von THI- α -Säuren Extrakte werden als Ausgangsmaterialien sowohl α -Säuren als auch β -Säuren verwendet [9, 12 - 13], wobei der Gebrauch von β -Säuren als wirtschaftlicher erscheint, da diese als Nebenprodukte bei der industriellen Erzeugung von Iso- α -Säuren anfallen [9]. Da aber die Bedeutung an β -Säuren durch deren Verwendung in anderen Anwendungsbereichen wie der Zuckerproduktion zunimmt, liegt kaum mehr ein wirtschaftlicher Vorteil im Gebrauch von β -Säuren zur Erzeugung eines Tetra-Extrakts [12]. Die chemischen Abläufe während der Herstellung von THI- α -Säuren aus beiden Ausgangssubstanzen sind in Abb. 4 dargestellt.

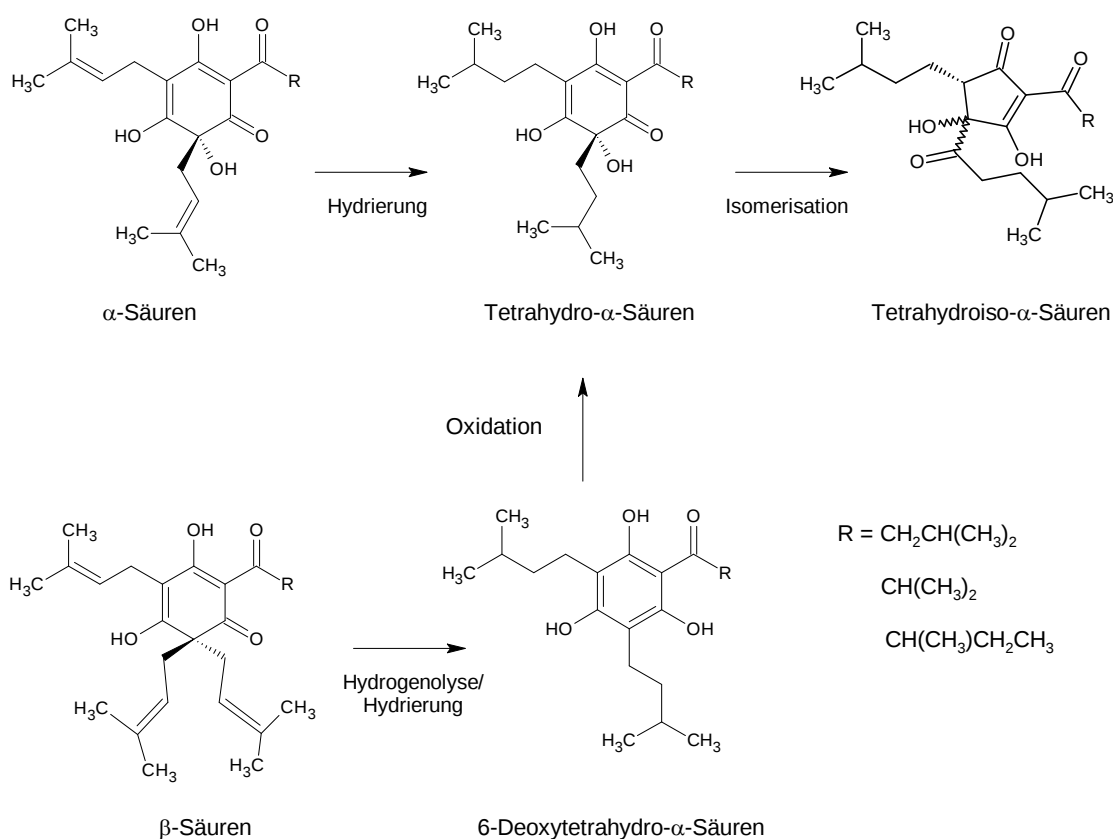


Abb. 4: Herstellung von THI- α -Säuren aus α -Säuren und β -Säuren [13]

2.2.5 Bakteriostatische Kraft des Hopfens

Hopfenbittersäuren haben eine ausgeprägte bakteriostatische Wirkung, da sie das Wachstum von grampositiven Bakterien inhibieren. Schon im Jahr 1937 wurde von SHIMWELL die bakteriostatische Kraft den Hopfen- β -Säuren zugeschrieben [16]. Im Allgemeinen wurden laut Literatur die meisten und genauesten Untersuchungen zum Thema der bakteriostatisch wirkenden Kraft des Hopfens mit Hopfen- β -Säuren durchgeführt.

TEUBER und SCHMALRECK erkannten 1973 den Zusammenhang zwischen den Hopfenbittersäuren sowie deren Isomeren und den hemmenden Effekt auf die Bakterienaktivität als eine Blockade der Bakterienmembran [17].

Die bakteriostatische Kraft der Hopfensäuren wurde auf die Interferenzeigenschaften der Prenylgruppen zurückgeführt. Je mehr Prenylgruppen mit Funktion einer biologischen Membran in Hopfensäuren enthalten sind, umso stärker ist ihre bakteriostatische Wirkung [13]. Die höchste Wirksamkeit würde dann Hopfen- β -Säuren zugeschrieben werden, da diese drei Prenylgruppen enthalten.

Von SIMPSON wurde im Jahr 1993 der antibakterielle Wirkmechanismus von Hopfen- β -Säuren am speziellen Fall von Milchsäurebakterien beschrieben [18]. Hopfen- β -Säuren fungieren als mobile Ionophore und sind so befähigt Ionen durch die Membran zu transportieren. Durch Hopfen- β -Säuren kommt es zu einer Veränderung des transmembranen pH Gradienten, wobei der intrazelluläre pH-Wert fällt und der extrazelluläre pH steigt. Daraus resultiert eine Hemmung der Nährstoffaufnahme wodurch die Zellen sozusagen „verhungern“ und auch die Exkretion von Metaboliten wie Milchsäure wird reduziert [18].

2.2.6 Einsatz und Funktion von Hopfenprodukten außerhalb der Biererzeugung

Die Einsatzbereiche von Hopfenprodukten im Rahmen der Zuckerherstellung wurden bereits zu Beginn unter Kap. 2.1 vorgestellt. Ergänzend ist hier hinzuzufügen, dass in den Zuckerfabriken Österreichs eine vollkommene Abwesenheit von Mikroorganismen wie Milchsäurebakterien im Extraktionsbereich nicht wünschenswert ist. Höhere Milchsäurewerte in den Rohsäften als Folge von verstärkter Mikroorganismenaktivität erhöht die Abpressbarkeit der extrahierten Schnitzel, wodurch Energie bei der Trocknung der Schnitzel eingespart werden kann [3, 8]. Somit kann mithilfe von natürlichen Biostabilisatoren eine Balance zwischen der durch Mikroorganismenaktivitäten stammenden Stoffwechselprodukte bedingten Energieeinsparung einerseits und den ebenfalls von Mikroorganismen hervorgerufenen Zuckerverlusten andererseits erreicht werden.

In der Zuckerindustrie konnte auch ein erfolgreicher Einsatz von Hopfen- β -Säuren und Harzsäuren im Bereich der Rübenlagerung dokumentiert werden. Die Verwendung von Frost geschädigten und wieder aufgetauten Rüben zur Zuckerherstellung führt immer wieder zu massiven Problemen, beispielsweise durch vermehrte Dextranbildung und der Ansammlung von bakteriellen Stoffwechselprodukten während der Lagerung in der Produktionsstätte. Durch eine Oberflächenbehandlung der alterierten Rüben mit Biostabilisatoren konnte die Vermehrung von Mikroorganismen deutlich verringert werden [3, 19].

Ein weiteres Einsatzgebiet von Hopfenbittersäuren liegt in der Bioethanolproduktion. Im Rahmen des Fermentationsverlaufs kommt es immer wieder zu Kontaminationen durch Bakterien und daraus resultierend zur Bildung von unerwünschten Nebenprodukten und einer verminderten Ethanol-ausbeute [20]. Bakterielle Stoffwechselprodukte wie beispielsweise Lactat sind Zellgifte für die Ethanol produzierenden Hefezellen und zudem konkurrieren diese Bakterien mit den Hefen um die zu umsetzenden Zucker. Durch den Zusatz von Antibiotika sollen diese unerwünschten Vorgänge eingedämmt

werden. Da aber immer wieder, unter anderem in den Medien, darüber diskutiert wird, dass die verbreitete Verwendung von Antibiotika in landwirtschaftlichen und technischen Bereichen zum Auftreten von Resistenzen bei Keimen beigetragen haben könnte, ist die Nachfrage nach unbedenklichen Alternativprodukten gestiegen [14]. Milchsäurebakterien sind in der Ethanolproduktion die Bakterien mit dem höchsten Störpotential, sie entwickeln sich sehr schnell in der CO₂-reichen Atmosphäre der fermentierenden Maische, bei Fermentationstemperaturen zwischen 30 - 40 °C und niedrigen pH-Werten. Die Zugabe von Hopfenprodukten, basierend auf THI- α -Säuren und Iso- α -Säuren, unterdrücken das Wachstum von ausgewählten Lactobacillus - Stämmen, sowie die Milchsäurebildung bereits in sehr geringen Konzentrationen [20]. Somit kann durch den Einsatz von Hopfenprodukten die Verwendung von Antibiotikapräparaten vermieden werden.

Auf THI- α -Säuren und Iso- α -Säuren basierende Hopfenprodukte werden auch zur industriellen Erzeugung von Hefe wie der Bäckerhefe eingesetzt [21]. Weitere Möglichkeiten bietet die Verwendung von Hopfenbestandteilen als Nutraceuticals. Es wurde dokumentiert, dass Hopfenbestandteile entzündungshemmende, blutzuckerregulierende, beruhigende, antivirale und antioxidative Eigenschaften besitzen, zudem Osteoporose entgegenwirken und Symptome der Menopause lindern können [21]. Weiters können Hopfenbestandteile auch als Functional Food Additive eingesetzt werden, aufgrund ihrer schaumbildenden und -stabilisierenden Eigenschaften einerseits, aber auch wegen des durch Hopfensäuren hervorgerufenen bitteren Geschmacks andererseits [21].

Abseits der Lebensmittelindustrie werden Hopfeninhaltsstoffe als sogenannte Biopestizide gehandelt. Einige Hopfeninhaltsstoffe sind wirksam gegen spezielle Arten von Spinnentieren wie Milben, Zecken und Spinnen. Zudem bieten sie Schutz vor zahlreichen Blattkrankheiten wie dem Mehltau und diversen Rostformen. Pflanzenschäden, die auf Gram-positive Bakterien oder Protozoen zurückzuführen sind, werden ebenfalls gehemmt [21].

2.3 Harzsäuren

Die als Harzsäuren bezeichneten, nichtflüchtigen, wasserunlöslichen Fraktionen von Kiefernharzen besitzen ähnliche bakteriostatische Eigenschaften wie Hopfen- β -Säuren [5]. Die Idee, Harzsäuren als natürlichen Biostabilisatoren einzusetzen, stammt von der bereits mehr als 2000 Jahren alten, traditionellen Herstellung des Retsina Weins [3, 5]. Der charakteristische Geschmack des Retsinas lässt sich auf die Zugabe von Aleppopiniennharz zum Most während oder vor der Gärung zurückführen. Dieses Verfahren wird in Teilen Griechenlands seit Urzeiten angewendet, um einem „oxidativen Ton“, gekennzeichnet durch Essigsäurebildung, des Weines entgegenzuwirken [22].

Bereits der römische Gelehrte und Schriftsteller Plinius der Ältere (23 - 79 n. Chr.) widmete sich in einem beachtlichen Teil seines naturwissenschaftlichen Buches „*Historia Naturalis*“ dem Schutz des Weines vorm Essigstich [23]. Als Essigstich bezeichnet man einen häufig auftretenden, nach Essig riechenden und schmeckenden Weinefehler, der durch die Stoffwechsellätigkeiten von Essigsäure- aber auch Milchsäurebakterien hervorgerufen wird. Nach Plinius war der beste Weg die Beimengung von Harz zum Wein, um diesen vor sogenannten „Krankheiten“ zu schützen. Als Beispiele wurden Kiefer-, Zedern-, Weihrauch- und Myrrharz angeführt [23].

Die bakteriostatische Wirkung der Harzsäuren beruht auf das Vorhandensein der Abietinsäure, deren Isomere bzw. der Dehydroabietinsäure [3]. Diese Harzsäuren sind im Kolophonium enthalten. In Abb. 5 ist die chemische Struktur der Abietinsäure dargestellt.

Das von Nadelbäumen ausgeschiedene Harz mit der Bezeichnung Terpentin findet sich unter den heimischen Koniferen bei Fichte, Tanne, Lärche, Kiefer sowie der Weymouthskiefer. Über Wasserdampfdestillation wird die Auftrennung des Terpentins in Terpentinöl und Kolophonium ermöglicht. Als Kolophonium wird der aus nichtflüchtigen Harzbestandteilen zusammengesetzte Destillationsrückstand bezeichnet [24].

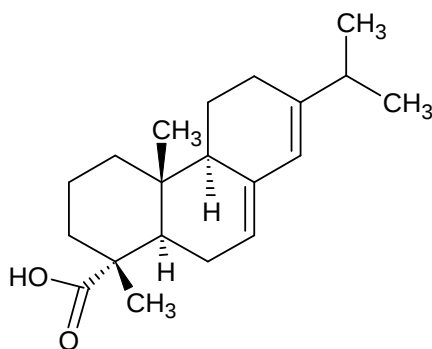


Abb. 5: Abietinsäure [25]

2.4 Myristinsäure

Es gibt zahlreiche Berichte über die antimikrobielle Wirksamkeit von Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlänge. Nach der systematischen Durchführung zahlreicher Versuche mit Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlänge aus Palmkernfett, wurde von der Zuckerforschung Tulln GmbH die Myristinsäure als die Fettsäure mit dem höchsten bakteriostatischen Effekt mit Langzeitwirkung für die Zuckerindustrie identifiziert [4]. So konnte durch eine Schockdosierung von Myristinsäure im Rahmen der Zuckerrübenkampagne 2002 ein Mikroorganismenstamm im Extraktionsturm eingedämmt werden, der auf Harzsäuren unempfindlich reagierte. Dieses Anwendungsbeispiel zeigte die Relevanz von alternativ einsetzbaren Produkten zur Bekämpfung adaptierter Mikroorganismenstämmen [4].

Die in Abb. 6 dargestellte Myristinsäure wird ernährungsphysiologisch als unbedenklich erachtet. Die in Glycerolestern gebundene, gesättigte Fettsäure, aber auch in Spuren als freie Fettsäure vorkommende Substanz, wird normalerweise mit Butter und Kokosnussöl konsumiert [4]. Die großtechnische Herstellung erfolgt in der Regel aus Palmkernfett.

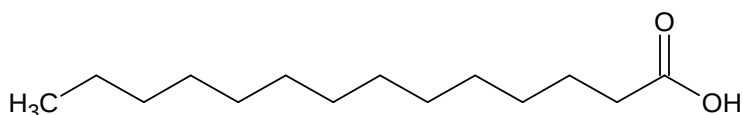


Abb. 6: Myristinsäure (Tetradekansäure C14:0)

3 Mais (*Zea mays* L.)

3.1 Allgemeines

Mais gehört zur Familie der Süßgräser (*Poaceae*), der wissenschaftliche Name lautet *Zea mays* L. In der einhäusigen Pflanze werden die weiblichen Blüten in Kolbenform in den Blattachseln ausgebildet, während die männlichen Blüten in Rispenform an der Spitze des Haupttriebes stehen. Die ursprünglich aus Mexiko stammende C4-Pflanze kommt in vielen Formen und Varietäten vor, die sich im wesentlichen in Pflanzenlänge, Wachstumszeit, Korntypen und Reifezahl unterscheiden.

Hauptsächlich sind die einzelnen Korntypen durch die Struktur des Endosperms aber auch in Korngröße und Kornform verschieden. Entsprechend nach Kornmerkmalen erfolgt eine Einteilung in Zahn-, Hart-, Puff-, Zucker-, Stärke-, Wachs- und Spelzmais [26].

Beim Zahnmais liegt zwischen den hornigen Teilen des Endosperms ein relativ weiches Nährgewebe. Während der Abreife trocknet diese mehligke Stärke rasch ein und führt zur charakteristischen Einbuchtung an der Kornspitze. Im Gegensatz dazu ist der Hartmais runder und härter, weil der weiche Mehlkörper rundum von einer hornigen Schicht umschlossen ist. Die meisten am europäischen Markt erhältlichen Sorten sind Kreuzungen zwischen Hart- und Zahnmaissorten, bei denen ein Anteil überwiegt.

Die Reifezahl ist ein empirisch ermittelter Richtwert für die Klimaansprüche einer Maissorte und gibt das Abreifeverhalten wieder. Je höher die Reifezahl, desto mehr frostfreie Tage sind nötig, damit der Mais ausreifen kann [27]. Ein Unterschied zweier Sorten beispielsweise um zehn Reifezahleinheiten, erklärt eine Differenz von einem Prozent im Trockensubstanzgehalt des Kornes. Dadurch ist eine verzögerte oder beschleunigte Abreife von ein bis drei Tagen gegeben [28].

Für die Bevölkerung vieler Entwicklungsländer stellen Maismahlprodukte die wichtigsten Grundnahrungsmitteln dar. Mais liefert gemeinsam mit Weizen und Reis rund 86 % der Weltgetreideproduktion und weit über die Hälfte der Nahrungsenergie wird von diesen drei Getreidearten gestellt [26]. In vielen weiteren Gegenden ist die Maisernte die Basis für die Fütterung der Nutztiere. Als Ausgangsmittel in der Silageerzeugung ermöglicht der Maisanbau eine Vorratshaltung von Futtermitteln im Viehbetrieb.

Die generelle Energieknappheit und allgemeine Forderung der Gesellschaft nach alternativen Energiequellen führte in jüngster Zeit zu einem enormen Wirtschaftswachstum dieser Alternativenenergiebranchen, im speziellen der Biogas- und Ethanolproduktion. In diesem Sektor finden Maispflanzen, Teile dessen, sowie Nebenprodukte der Maisstärkeerzeugung rege Verwendung als Rohstoffe.

Maisstärke findet mittlerweile in mehr als 500 Produkten des täglichen Lebens Anwendung, wobei knapp die Hälfte der produzierten Maisstärke in der Ernährungsindustrie verarbeitet wird [26]. Neben der Bereitstellung von Kohlenhydraten findet Stärke in diesem Bereich vor allem auf Grund ihrer rheologischen Eigenschaften Anwendung. Stärke wird als Gelier- und Verdickungsmittel, zur Suspendierung und Emulgierung sowie zur Verbesserung der Festigkeit von Saucen, Puddings und Cremen eingesetzt. Zudem wird Stärke in seiner verzuckerten Form als Sirup zum Süßen von Lebensmitteln verwendet.

Im Non-Food-Bereich sind die Hauptabnehmer für Stärke die Papier-, Wellpappen-, Klebstoff- und Textilindustrie. Weiters wird Stärke auch bei der Waschmittelherstellung, in Druckereien, bei Farben und Lacken, in der Wasseraufbereitung, am Bau, bei der Erzaufbereitung sowie in Kosmetik- und Pharmaprodukten eingesetzt.

3.2 Das Maiskorn

Das Maiskorn setzt sich aus dem Keimling (Scutellum und Embryo), dem Nährgewebe (Endosperm) und der äußeren Hülle (Pericarp und Aleuronschicht) zusammen. Abb. 7 zeigt den Aufbau eines Maiskorns und Tab.1 die Zusammensetzung nach Hauptbestandteilen und ausgewählten Stoffen.

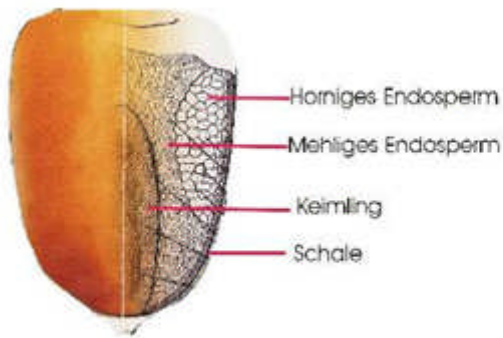


Abb. 7: Aufbau eines Maiskorns [27]

Das für die Stärkeindustrie bedeutende Endosperm ist durch das Scutellum vom Embryo getrennt. Das Scutellum fungiert als nutritives Organ durch die Versorgung des Embryos mit den im Endosperm befindlichen Nährstoffen. Nach der Keimung leitet es den enzymatischen Stärkeabbau ein. Im Keimling sind neben Fett, Proteinen und Mineralstoffen weitere Nährstoffe und hormonnahe Substanzen enthalten, die durch Enzyme während den anfänglichen Stadien der Keimung aktiviert werden können.

Das Endosperm besteht zu 86 - 89 % aus Stärke [29], die in Form von Stärkekörnern in einer Proteinmatrix eingelagert ist. Die Stärke ist ein Makromolekül das aus vielen Glucosemonomeren aufgebaut ist. Das Reservekohlenhydrat bestehend aus Amylose und Amylopektin. In der linear gebauten Amylose sind die α -D-Glucosebausteine α -1,4 glycosodisch verknüpft, während das Amylopektin zusätzlich über α -1,6 verknüpfte Seitenketten, ebenfalls bestehend aus α -D-Glucosebausteine, verfügt.

Die runden bis kantigen Stärkekörnern haben eine Größe zwischen 5 - 30 µm [29]. Das hornige Endosperm liegt dicht unterhalb der Hülle und ist geprägt durch relativ kleine Stärkekörner, die in einer kompakten Proteinmatrix eingebettet sind. Darunter befindet sich das aus großen Stärkekörnern bestehende mehliges Endosperm in vergleichsweise loser Packung. Im Zuge der industriellen Stärkeherstellung ist die im mehligem Endosperm befindliche Stärke leicht zu gewinnen, während die aus dem hornigen Endosperm schwerer zu isolieren ist. Umgeben ist das Endosperm von der einlagigen Aleuronschicht, die viele ernährungsphysiologisch hochwertige Bestandteile wie Vitamine, Lipide, Protein-, Mineral- und Ballaststoffe enthält. Die Abgrenzung zur Umwelt ist durch das mehrlagige, semipermeable Pericarp gegeben.

Tab. 1: Zusammensetzung von Mais [29]

Bestandteil	Bereich	Durchschnitt
Wasser (%)	7,0 - 23,0	16,0
Stärke (%; TS)	61,0 - 78,0	71,7
Protein (%; TS)	6,0 - 12,0	9,5
Fett (%; TS)	3,1 - 5,7	4,3
Asche (%; TS)	1,1 - 3,9	1,4
Pentosane (als Xylose in %, TS)	5,8 - 6,6	6,2
Fasern (%; TS)	8,3 - 11,9	9,5
Cellulose und Lignin (%; TS)	3,3 - 4,3	3,3
Zucker (gesamt als Glucose in %, TS)	1,0 - 3,0	2,6
Carotinoide (gesamt in mg/kg)	5,0 - 40,0	30,0

3.3 Mais als Rohstoff für die Stärkeindustrie

Global betrachtet wurden im Wirtschaftsjahr 2006/07 ungefähr 696 Mio. Tonnen Mais geerntet. Nach aktuellen Schätzungen liegt der jährliche weltweite Verbrauch bereits bei 723 Mio. Tonnen Mais [30]. 10 % der Maisernte werden in der Stärkeproduktion verarbeitet, in der EU und auch in Österreich liegt dieser Anteil bei etwa 17 % [31]. Die EU-Stärkeproduktion beträgt rund 8 Mio. Tonnen und stammt etwa zur Hälfte aus dem Rohstoff Mais [31]. In Österreich selbst wurden 2006 rund 1,5 Mio. Tonnen Körnermais geerntet [32]. Davon wurden 350.000 Tonnen Mais zu Stärke weiterverarbeitet. Der Anteil an Nassmais beträgt gut 80.000 Tonnen [33].

Bei einem Vergleich verschiedener Rohstoff - Träger zur Stärkegewinnung zeigte sich die Produktion über Körnermais am wettbewerbsfähigsten, gefolgt von Weizen und Kartoffeln. Die Vorteile von Körnermais zur Stärkegewinnung liegen in der ganzjährigen Produktion sowie in hohen Nebenprodukt - Erlösen, die zwischen 80 und 95 % der Herstellungskosten der Stärke abdecken können [26]. Die Anforderungen und gewünschten Eigenschaften der Stärkeindustrie an den Rohstoff Mais leiten sich vorrangig von der Verarbeitbarkeit des Maises, die Auftrennung in die einzelnen Bestandteile und den gewünschten Produktmerkmalen der daraus gewonnenen Stärken ab. Wichtige Einflussfaktoren auf den Verarbeitungswert sind in Abb. 8 dargestellt.

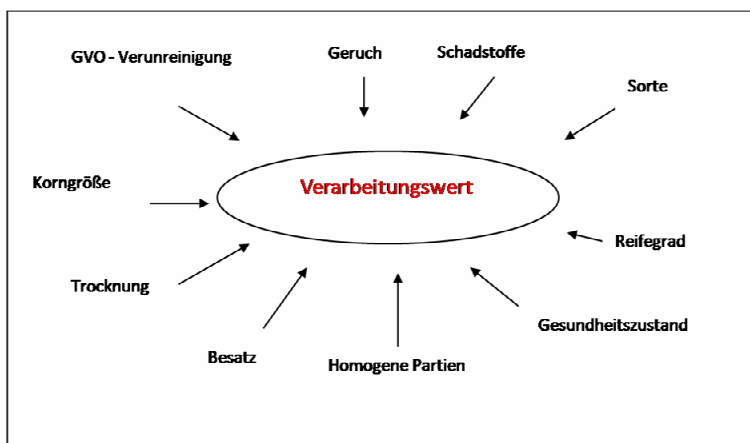


Abb. 8: Einflussfaktoren auf den Verarbeitungswert von Maiskörnern [34]

Die Stärkeindustrie fordert einheitliche, stärkereiche, gut ausgereifte, schonend getrocknete und gleichmäßig große Partien mit einem hohen Anteil an gewinnbarer Stärke [31, 34 - 35]. Die gewinnbare Stärke wird am Wirkungsgrad bemessen, der das Verhältnis von gewinnbarer zu theoretisch vorhandener Stärke beschreibt [31]. Grundsätzlich werden stärkereiche Zahnmaissorten den Hartmaissorten bevorzugt, weil sie einen geringeren Anteil an hornigem Endosperm enthalten, aus dem die Stärke schwerer isoliert werden kann. Zahnmaissorten liefern somit hohe Ausbeuten und Verarbeitungswirkungsgrade [31 - 32]. Es sollten möglichst große Körner sein, da mit steigender Korngröße der Endospermanteil überproportional zum Schalenanteil steigt [31, 35].

Das ausgereifte Maiskorn ermöglicht im Zuge der industriellen Stärkeerzeugung eine gute Trennbarkeit in die Bestandteile Keimling, Faser, Protein (Kleber) und Stärke [34]. Ausgereifte Maispartien sind durch große Stärkekörner geprägt. Eine gleichmäßige Abreife sowie der richtige Erntezeitpunkt sind bedeutend für die Druscheigenschaften. Das Korn lässt sich mit abnehmendem Feuchtegehalt leichter von der Spindel trennen wodurch der Bruchkornanteil sinkt [32]. Die Ernte sollte frühestens nach Erreichen der physiologischen Reife erfolgen, da ansonsten bei der Verarbeitung die Abtrennung des Proteins erschwert wird. Folglich sinkt die Stärkeausbeute und das nicht abgetrennte Restprotein im Produkt Stärke ist relativ hoch [36]. Eine erreichte physiologische Reife des Maiskorns ist durch das Vorhandensein eines schwarzen Punkts auf dem Korngrund erkennbar [32].

In der Regel wird in der europäischen, gemäßigten Klimazone Mais von September bis Anfang Dezember geerntet. In Österreich wird in diesem Zeitraum der Nassmais dem Stärkeherstellungsprozess frisch und ungetrocknet zugeführt. Der Nassmais ist gekennzeichnet durch einen sehr hohen Feuchtigkeitsgehalt von bis zu 40 % und ist dadurch nur wenige Tage lagerfähig. Die restliche Zeit des Jahres wird zuvor getrockneter und jahrelang lagerfähiger Mais mit einem maximalen Feuchtigkeitsgehalt von 15 % verarbeitet. Aufgrund des rasch fortschreitenden mikrobiellen Verderbs von Nassmais wird die

Lagerung auf einen Zeitraum von maximal drei Tagen beschränkt, jedoch ist eine zeitweilige Lagerdauer von bis zu fünf Tagen beispielsweise aufgrund von Wochenenden, Witterung, Sammelstellen und limitierten Verarbeitungskapazitäten kaum vermeidbar. Der Gehalt an wertmindernden Bestandteilen wie hitzegeschädigte Körner, Bruch und Besatz im Ausgangsmaterial zur Stärkegewinnung muss möglichst niedrig sein.

Der Proma-Wert, als chemisch zu bestimmender Parameter einer Maischarge, gibt indirekt eine Einschätzung bezüglich der Qualität der Nacherntebedingungen und beeinflusst maßgeblich die Trennbarkeit von Protein und Stärke [35]. Ein wünschenswerter, hoher Proma-Wert zeigt sich bei gleichmäßig abgereiften Partien und einer schonend erfolgten Trocknung bei weniger als 80 °C innerhalb von 24 h nach der Ernte [35]. Zu heiß getrockneter Mais leidet unter Keimfähigkeitsproblemen, eine Denaturierung bestimmter Proteine ist möglich, wodurch eine Auftrennung der Stärke- und Proteinkomponenten erschwert wird und der Ausbeutegrad der Stärke sinkt [32, 35]. Infolge von hitzebedingten Volumsveränderungen treten Endospermrisse oder sogenannte „Stress - Cracks“ auf. Diese hohen Temperaturen können zudem Farbveränderungen verursachen, sowie erhöht der gesamte Trocknungsprozesses durch die mechanische Beschädigungen wiederum den Bruchkornanteil [34].

HAROZ und SUAREZ untersuchten im Rahmen der Stärkeherstellung die Auswirkungen der Verwendung von erhöhten Temperaturen bei der Mais-trocknung sowie den Einsatz von Mais mit hohem Feuchtigkeitsgehalt auf die Stärkeausbeute. Die Verwendung von Hartkornmais unter diesen Voraussetzungen führt zu höheren Verlusten in der Stärkeausbeute im Vergleich zu Zahnmais [37].

Bei der Maisstärkegewinnung wird je nach verarbeiteter Maisqualität, aber insbesondere bei der Verwendung von Nassmais, in den Haupt- und Nebestoffströmen eine verstärkte Lactatkonzentration beobachtet. Beispielsweise kann eine erhöhte Lactatkonzentration in der Stärkemilch bei der Weiterverarbeitung zu Sirup zu erheblichen Problemen führen. Bei der Sirupherstellung werden Ionenaustauscher verwendet, die zur Entsalzung und

Entfärbung des produzierten Sirups dienen, wobei bei erhöhten Lactatwerten Ablagerungen auf den Ionentauschern auftreten und so die Leistung der Verzuckerungsanlage reduziert wird. Damit einhergehend sind Abstriche in der Sirupproduktion eine der Folgen. Zusätzlich sind bei der Nassmaiskampagne niedrigere Produktausbeuten beobachtbar im Vergleich zur Stärkeherstellung aus Trockenmais.

Der von dem Feuchtigkeitsgrad des Maises, Angebot und Börsenspekulationen abhängige Maispreis, die Produktionskosten, die Ausbeute an Stärke und vermarktbaren Nebenprodukten sowie der Stärkepreis bestimmen maßgeblich die Rentabilität der Stärkeproduktion [34].

3.4 Gewinnung von Maisstärke

Eine Reihe von Faktoren, wie eingesetzte Rohstoffe, verwendetes Verfahren, Verarbeitungsleistung, Automatisierungsgrad, ökonomisches sowie ökologisches Umfeld und den damit einhergehenden gesetzten Rahmenbedingungen bestimmen weitgehend die maschinelle und apparative Ausstattung einer Stärkefabrik. So können dieselben Operationen mit unterschiedlichen Maschinen bei nahezu gleichem Wirkungsgrad ausgeführt werden [38]. Abb. 9 zeigt ein Fließdiagramm mit einem möglichen Verlauf einer Stärkeherstellung in einer Maisstärkefabrik.

3.4.1 Anlieferung, Lagerung und Reinigung

Nach der Anlieferung des Rohstoffs mit verschiedensten Transportmitteln zur Stärkefabrik folgt eine unterschiedlich lang andauernde Lagerung in einer Maissiloanlage. Im Rahmen einer Vorreinigung vor der Einlagerung werden grobe und staubförmige Verunreinigungen wie Steine, Maisspindeln, Stroh, Sand, Metallteile und dergleichen abgetrennt. Vor der Zuführung in den Prozess erfolgt eine Nachreinigung mittels Sieb- und Aspirationsanlagen, wobei auch der sogenannte Bruch entfernt wird.

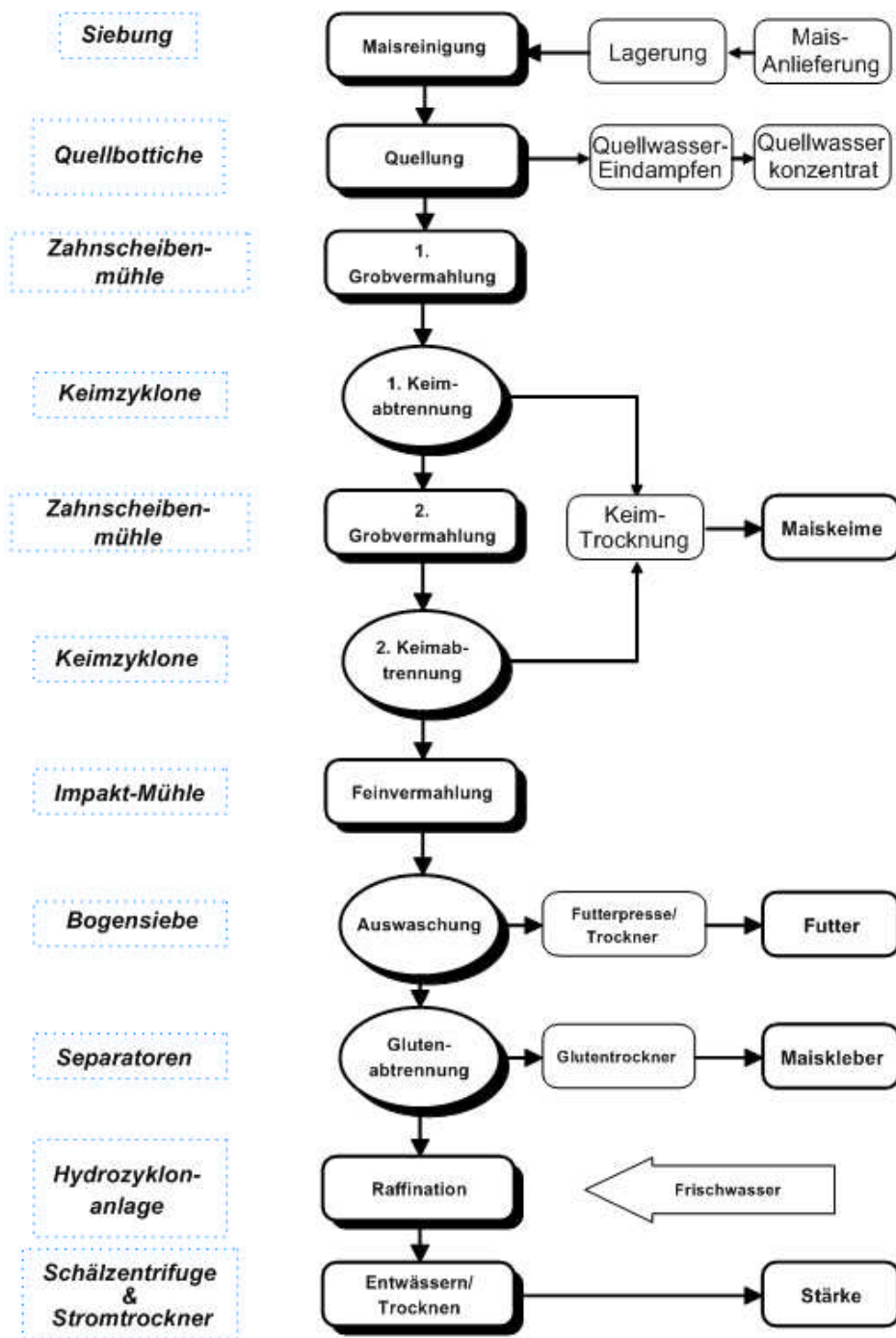


Abb. 9: Gewinnung von Maisstärke [27]

3.4.2 Maisquellung

Um die Auftrennung der lagerfähig getrockneten Maiskörner in ihre Bestandteile zu ermöglichen, müssen die Maiskörner einem Quellprozess unterzogen werden. Dieser Vorgang bestimmt maßgeblich die Effektivität der Auftrennung aller im Maiskorn vorliegenden Stoffe. Im Laufe der Maisquellung wird unter anderem durch die Wasseraufnahme das Maiskorn erweicht und Stoffkomplexe aufgelöst, wodurch sich die Bestandteile leichter voneinander trennen lassen. Zudem werden die löslichen und niedrigmolekularen Stoffe wie Kohlenhydrate, Aminosäuren, Phytate, Mineralstoffe und die entstehende Milchsäure aus dem Maiskorn extrahiert und gelangen so ins Quellwasser [38].

Die Quellung, mit als Quellwasser bezeichneten Prozesswasser aus späteren Abschnitten der Stärkegewinnung, erfolgt in runden, am Auslauf konischen Edelstahlbehältern, die mehrere hundert Tonnen Mais aufnehmen können.

Die Bedingungen und der Ablauf der Maisquellung variieren stark zwischen den einzelnen Stärkefabriken. Der Mais wird je nach Methode für eine Zeitspanne von 24 - 52 h mit Maisquellwasser einer Temperatur zwischen 45 - 55 °C behandelt [39]. Damit während der Quellung keine unkontrollierten Abbauvorgänge ablaufen und das Wachstum von diversen unerwünschten und fäulniserregenden Mikroorganismen überwacht werden kann, wird dem Quellwasser 0,1 - 0,3 % Schwefeldioxid zugegeben. Dieses lässt vorwiegend eine kontrollierte Milchsäuregärung zu. Weitere Gründe für die Selektion der Mikroorganismen liegen in der relativ hohen Quelltemperatur und dem vorherrschenden niedrigen pH-Wert von 3,8 - 4,5. Unter diesen Bedingungen können nur thermophile Milchsäurebakterien wachsen, die aus dem im Maiskorn enthaltenen Zuckern etwa 0,8 - 1,5 % Lactat bilden [38].

Die Präsenz von Lactat und eine gewisse Konzentration von diesem im Quellwasser sind unabdingbar, da Lactat gemeinsam mit Schwefeldioxid die ablaufenden Reaktionen während des Quellprozesses steuern. Lactat erweicht die Schale sowie die gesamte Kornstruktur, wodurch die Auftrennung des

Maiskorns in die einzelnen Bestandteile verbessert wird [40 - 41]. Die Höhe der Wasserabsorption des Maiskorns im Laufe der Quellung wird auch zu einem Teil der Anwesenheit von Lactat zugeschrieben [40, 42]. So wurde 1944 von COX et al. publiziert, dass Lactat die Wasseraufnahme des Maiskorns beschleunigt [42]. Auch die vorherrschenden Temperaturen während des Quellvorganges beeinflussen die Wasseraufnahme und die damit einhergehende direkt proportionale Lactatabsorption [41]. Bereits acht bis zwölf h nach Beginn der Quellung hat der Mais seinen höchsten Wassergehalt von 42 - 45 % erreicht [38]. Weiters erniedrigt die durch Milchsäurebakterien verursachte Lactatproduktion den pH-Wert im Quellwasser und wirkt so auf unerwünschte Mikroorganismen [43]. Nach Untersuchungen von SHANDERA et al. wird die Schwefeldioxidabsorption im Maiskorn durch die Lactatkonzentration, die Quelltemperatur sowie durch die Morphologie des Maiskorns gesteuert. Lactat begünstigt die Absorption von Schwefeldioxid im Maiskorn und außerdem interagiert es mit diesem [41]. Es kommt zu Abbauvorgängen im Maisprotein wobei eine weitgehende Auflockerung und Dispergierung der Proteinmatrix im hornigen Endosperm eine Voraussetzung für die Trennung von Protein und Stärke darstellt. Diese lässt sich zum Teil auf die reduzierende Spaltung von Disulfidbindungen unter Bildung von Sulfhydrylgruppen zurückführen [38].

In der Literatur sind zahlreiche Untersuchungen zu finden, bei denen die Lactat- oder Schwefeldioxidkonzentrationen während der Stärkeherstellung variiert oder durch andere Stoffe ersetzt wurden [39 - 41, 44 - 48].

So wurden von DU et al. alternativ zu Lactat organische und anorganische Säuren wie Phosphorsäure, Essigsäure, Zitronensäure, Schwefelsäure und Chlorwasserstoff im Rahmen von Quellversuchen diskutiert und getestet [42]. Bei den Untersuchungen wurde die jeweilige Säure dem Quellwasser in einer Konzentration von 0,55 % gemeinsam mit 0,2 % Schwefeldioxid zugesetzt. Die Resultate in der Stärkeausbeute waren aber nicht signifikant verschieden als bei der Verwendung von Lactat. Jedoch war die Stärkeausbeute signifikant höher mit der Zugabe von 0,55 % Lactat als

ohne dessen Zugabe. Eine Steigerung von 59,1 auf 63,8 % wurde erzielt [44]. ECKHOFF und TSO dokumentierten bei einer Abwesenheit von Lactat während der Quellung ebenfalls sinkende Stärkeausbeuten in Bereichen um 4 - 6 % [45].

In der Regel wird eine semikontinuierliche Quellung im Gegenstrom betrieben, wobei mehrere Quellbehälter eingesetzt werden. Das frische Schwefeldioxid haltige Prozesswasser gelangt von oben auf den im Quellbehälter befindlichen Mais. So trifft der bereits am längsten gequollene Mais auf das jüngste Quellwasser. Durch ein im konischen Teil des Quellbehälters befindlichen Siebrohrs fließt das Quellwasser wieder ab und wird zum nächsten Behälter gepumpt. Nach dem Passieren des letzten mit zuvor frischem Mais beschickten Quellbottichs wird das Quellwasser meist in einer Eindampfanlage konzentriert. Interne Quellwasserzirkulationen mit integrierten Wärmetauschern sorgen für eine konstante Quelltemperatur [38]. Bei einer kontinuierlich durchgeführten Quellung werden sowohl der Mais als auch das Quellwasser im Gegenstrom bewegt.

3.4.3 Keimabtrennung

Aufgrund der unterschiedlichen Größen der Maiskörner und um eine möglichst vollständige Abtrennung zu erreichen wird meist eine zweistufige Vermahlung und Keimabtrennung durchgeführt. Zuerst werden die durch die Quellung elastisch gewordenen Keime durch Vermahlung in einer Zahnscheibenmühle möglichst unversehrt freigelegt. Die Abtrennung der Keime erfolgt nach dem Flotationsprinzip in oft mehreren hintereinander geschalteten Hydrozyklonen. Die spezifisch leichteren Keime schwimmen auf und gelangen mit Stärkemilch in den Oberlauf, das Mahlgut in den Unterlauf. Nach der Abtrennung der Stärkemilch auf Bogensieben werden die Maiskeime gewaschen und in Schneckenpressen entwässert, vorwiegend in Röhrenbündeltrocknern getrocknet und der Ölgewinnung zugeführt [38].

3.4.4 Faserabtrennung und Futtertrocknung

Um die noch in Zellen eingeschlossene Stärke freizulegen wird die Maissuspension mittels Impact - Mühlen oder Stiftmühlen fein vermahlen. Durch diesen Vorgang platzen die Zellen auf, wobei die Fasern nicht zerrissen werden und durch Siebung und Auswaschung abgetrennt werden können. Über mehrstufigen Bogensiebstationen werden die gröberen Schalen und die Feinfaser von der Stärkemilch abgetrennt, die als Mühlenstärke zur Separation gelangt. Der Schalen- und Feinfaserteil wird anschließend im Gegenstrom mit Prozesswasser auf einen möglichst geringen Gehalt an auswaschbarer Stärke ausgewaschen. Die Fasern werden mittels Schneckenpressen auf einen Trockensubstanzgehalt von ungefähr 45 % und im Anschluss mit Röhrenbündel- oder Trommeltrocknern auf einen Wassergehalt von 10 - 12 % entwässert [38]. Durch Antrocknung von konzentriertem Maisquellwasser an die Maisfasern kann Maisfutter erzeugt werden. Als Futter werden die aus gewaschenen Schalenbestandteilen und Zellfragmente des Maiskorns bezeichnet, sie sind von sehr fester Struktur und bestehen aus Cellulosen und Pentosanen.

3.4.5 Glutenabtrennung, -entwässerung und -trocknung

Die Auftrennung in Stärke, Gluten und Löslichen unter Ausnutzung der unterschiedlichen spezifischen Gewichte erfolgt mit Hilfe von Düsenseparatoren und Multizyklogen. Die Maisgluten enthalten im Wesentlichen den Proteinanteil des Maiskorns. Bei der Primär - Separation wird der Großteil des Glutens durch Düsenseparatoren von der Stärke getrennt, die als spezifisch schwerere konzentrierte Stärkemilch durch die Düsen nach außen, während der Gluten und das Lösliche mit dem Prozesswasser den Separator als Oberlauf verlassen. Im nachfolgenden Schritt wird der Gluten mittels Düsenseparator konzentriert und mittels Vakuum - Drehfilter oder Dekanter entwässert. Die Trocknung erfolgt in Strom- oder Röhrenbündeltrocknern [38].

3.4.6 Stärkeraffination, -entwässerung und -trocknung

Die noch etwas Protein, Feinfasern und Lösliches enthaltende Stärkemilch wird in mehrstufigen Multizyklonanlagen einer intensiven Waschung im Gegenstromverfahren und einer Konzentrierung unterworfen. Die spezifisch leichtere Phase bestehend aus Gluten, Fett, Löslichem und noch etwas Feinfasern wird zur Glutenabtrennung zurückgeführt. Bei der meist aus neun bis zwölf Stufen bestehenden Multizyklonanlage wird der letzten Stufe Frischwasser zugeführt und der aus Waschwasser bestehende Oberlauf in den vorhergehenden Multizyklon geleitet. Die raffinierte Stärkemilch besitzt eine Konzentration von 22 °Bé, dies entspricht einer Trockensubstanz von 40 - 42 %. Die Stärkesuspension wird zunächst auf mechanischem Weg meist mittels Siphonschälzentrifugen entwässert und die Stärke mit pneumatischen Trocknern zur Erreichung der Lagerfähigkeit auf maximal 14 % Wassergehalt getrocknet [38].

4 Maislagerung

4.1 Ziele, Grundlagen und Methoden

Das Ziel einer Maislagerung liegt im Schutz des Maiskorns vor äußeren und inneren Einflüssen, welche sich qualitativ negativ auf das Maiskorn und dessen weitere Verarbeitung auswirken können. Während der Lagerperiode sollen die metabolischen Aktivitäten auf ein derart minimales Level reduziert werden, dass der geerntete Mais in Menge und Qualität praktisch konstant bleibt [49].

Gesundheitliche Risiken durch Fremdstoffeinträge in das Lagergut oder unerwünschte mikrobielle Vorgänge im Kornstapel sind durch eine fundierte Basishygiene, geeignete Lagerbehälter sowie einer gezielten Kontrolle und Lagerüberwachung auszuschließen bzw. zu minimieren [50]. Das Lagergut muss für Nagetiere, Vögel und andere Tiere unzugänglich sein, auch eine Kontamination durch Bauteile, Lagerstoffe im Umgebungsbereich und Maschinen muss verhindert werden.

Aus lebensmittelhygienischen Aspekten sind, unabhängig von der Form der Lagerzellen, Körner nur in sauberen, baulich einwandfreien Lagerzellen aufzubewahren. Aufgrund des niedrigen Kapitalbedarfs, wurden in der Vergangenheit bei großen Erntemengen häufig Flachlager gewählt. Diese ebenerdigen Behälterzellen sind gegen Feuchtedurchtritt isoliert und in der Regel mit Belüftungskanälen ausgestattet. Bei Hochbehältern dominieren viereckige oder runde Formen mit planebenem Boden oder Trichterauslauf. Bei Außensilos kann immer wieder das Problem der Kondenswasserbildung in den Randzonen auftreten [50].

Das Getreidekorn lebt und atmet auch nach der Ernte weiter, erkennbar am chemischen Prozess der Kornatmung wobei unter Sauerstoffaufnahme Kohlenhydrate abgebaut und CO_2 , Wasser und Wärme an die Umwelt abgegeben werden. Durch den Abbau entstehen Trockensubstanzverluste und damit auch Gewichtsverluste. Die auf die Atmungsintensität basierende Wärmeentwicklung ist abhängig von der Produktfeuchtigkeit und der Lager-

temperatur [51]. Von diesen beiden Faktoren ebenfalls stark beeinflusst wird die oftmals unterschätzte, von Schimmelpilzen und Mikroorganismen ausgehende Gefahr [50]. Ausreichend Wasser im Erntegut und hohe vorherrschende Temperaturen fördern deren Vermehrung. Ist das Getreide noch zusätzlich durch einen hohen Anteil an Besatz verunreinigt sind die Folgen in Form von frühzeitigem Verderb vorprogrammiert. Der Besatz ist meist feuchter und weist eine zehnfach bis hundertfach höhere Konzentration an Mikroorganismen auf als die restlichen Getreidekörner [52]. Die Wärmeentwicklung kann regelmäßig, insbesondere zu Lagerungsbeginn durch Temperaturmessungen mittels eingebauten Temperaturlühlern, kontrolliert werden. Durch die Möglichkeit einer Lagerbelüftung kann die Temperatur der Körner auf ein unkritisches Niveau im Bereich von 8 - 10 °C gesenkt werden [50].

SAUL und STEEL etablierten 1966 eine zeitlich unabhängige Angabe, um die Qualitätsminderung von Mais während der Lagerung zu kategorisieren. Nach ihren Untersuchungen führt ein Trockensubstanzverlust von 0,5 % noch zu einer akzeptablen Verminderung der Qualität [53].

Da Mais saisonal produziert wird, während der Konsum sowie die Verwendung von Mais als Rohstoff für die Stärkeindustrie kontinuierlich das ganze Jahr über erfolgt, muss ein sicherer Lagerplatz für den größten Teil des Getreides vorbereitet sein. Das Getreide muss vor der Einlagerung gründlich gereinigt sowie die Haltbarkeit verlängert werden. Oftmals wird die klassische Methode des thermischen Trocknens angewendet um den Wasseranteil zu reduzieren und so die Haltbarkeit zu verlängern. Während sich beispielsweise bei einem Wassergehalt von 16 % noch einige Vorratsschädlinge ausbreiten können, ist deren Vermehrung bei 14 % schon stark eingeschränkt [54].

Die Aufbereitungsschritte vor der Einlagerung werden durch die zum Erntezeitpunkt vorliegende Produktfeuchtigkeit, Korntemperatur und die relativ schwierig zu bestimmende Wasserabgabewilligkeit des Getreides, sowie den Kosten für Aufbereitung und Lagerung im Verhältnis zur Lagermenge bestimmt.

Die Wasserabgabewilligkeit zeigt sich während der Trocknung durch den Quotient von Wasserentzug pro Zeiteinheit, der bei biologisch abgereiften Getreide maximal 4 - 5 % je Stunde betragen kann. Eine höhere Wasserabgabe über die Kornoberfläche ist nicht möglich [55]. Verschiedenste Aufbereitungsverfahren wie beispielsweise Konservierung durch Trocknung, Lagerbelüftungstrocknung, Kühlung oder reiner Belüftung können nach Möglichkeit kombiniert werden, um Energiekosten zu senken.

Der Einfluss der Lagertemperatur auf Qualität und nutritive Bestandteile zeigte der Lagerversuch von REHMAN et al. 2002 [56]. Hierzu wurde frisch geernteter Mais mit einem sehr niedrigen Feuchtigkeitsgehalt von 12 % für eine Periode von sechs Monaten bei 10, 25 und 45 °C gelagert. Ein merklicher pH Abfall und Anstieg der titrierbaren Säure zeigte sich bei Lagertemperaturen von 25 und 45 °C bereits nach einem Monat, während bei einer Lagertemperatur von 10 °C auch nach sechs Monaten keine signifikanten Veränderungen bei diesen beiden Parametern festgestellt werden konnte. Die Feuchtigkeitsgehalte der Proben zeigten signifikante Verluste ($P < 0.05$) nach dreimonatiger Lagerung bei einer Temperatur von 25 °C und bereits nach einem Monat bei Temperaturen von 45 °C, während es bei einer Temperatur von 10 °C zu keinem signifikanten Verlust von Wasser kam. Nach sechs Monaten zeigte sich ein um 39,5 % geringerer Gehalt an löslichen Zuckern bei einer Lagerung von 45 °C. Dieser Effekt kann durch die Teilnahme der löslichen Zucker an Maillard Reaktionen erklärt werden, während die Erhöhung um 10,7 - 17,3 % bei 10 und 25 °C als Resultat der enzymatischen Aktivität der Amylasen gedeutet werden kann. Zudem konnten Verluste von Thiamin und verfügbaren Lysin bei den höheren Lagertemperaturen nachgewiesen werden. Somit zeigte sich ein direkt proportionales Verhältnis der Höhe der Lagertemperatur zum Verlust an nutritiven Bestandteilen von Mais. Einer Lagerung von Mais bei höheren Temperaturen als 25 °C wurde generell abgeraten [56]. Zu ähnlichen Ergebnissen bezüglich des Verlusts von nutritiven Bestandteilen in Weizen, abhängig von der Lagerdauer und Temperatur kamen REHMAN und SHAH 1999. Auch hier wurde von einer längerfristigen Lagerung von Weizen über 25 °C abgeraten [57].

Im Rahmen einer gezielten Lagerüberwachung und Insektenkontrolle, wurden bei der Lagerung von landwirtschaftlichen Rohwaren seit den 1960ern weltweit verschiedenste Pestizide eingesetzt. So kann beispielsweise im Zuge einer Leerraumbehandlung mit speziell für diese Anwendung zugelassenen Pestizide und Insektizide relativ billig ein guter Schutz vor verschiedensten Vorratsschädlingen erzielt werden. Vor allem in Gegenden, wo alternative Kontrollstrategien aus Kostengründen und oder umweltbedingt nicht möglich sind, werden gehäuft konventionelle Pflanzenschutzmittel auf chemischer Basis eingesetzt. Alternativen, wie verschiedenste biologische Kontrollmaßnahmen, diverse Kühltechniken und andere Formen der Temperaturmanipulation, mikrobiellen Angreifern, Insektenwachstumsregulatoren, Pflanzenextrakte und inerte Stäube wurden in jüngster Vergangenheit in zahlreichen Untersuchungen diskutiert [58].

Neue Technologien, wie die Lagerung unter verschiedensten modifizierten Atmosphären (Schutzgasatmosphäre) erzielen ebenfalls insektizide Effekte und stoßen auf reges Interesse. Meist werden sehr hohe Konzentrationen an N_2 oder CO_2 eingesetzt, um einen praktisch sauerstofffreien Lagerraum zu erhalten [58]. Durch die Vermeidung von toxischen Chemikalien können Risiken durch mögliche Rückstände an der Lagerware ausgeschlossen werden [59].

4.2 Nassmaislagerung

Die Verwendung von Nassmais zur Stärkeproduktion, im Erntezeitraum von Mais, ist eine typisch österreichische Vorgangsweise. Die meisten europäischen Stärkeproduzenten verwenden das ganze Jahr über Trockenmais als Rohstoff.

4.2.1 Vorteile von Nassmais als Rohstoff für die Stärkeproduktion

- Nassmais kann dem Stärkeherstellungsprozess ungetrocknet mit einem Feuchtigkeitsgehalt von bis zu 40 % zugeführt werden. Somit ist kein kostenverursachender Trocknungsprozess notwendig.
- Nassmais ist aufgrund der nicht durchgeführten Konservierungsmaßnahmen im Einkauf günstiger zu beziehen als Trockenmais und wird deshalb im Zeitrahmen der saisonalen Ernte in dieser Form in die Produktion integriert.
- Die Kapazitäten der Trocknungsvorrichtungen sind beschränkt bzw. nicht jeder Maisproduzent verfügt über Trocknungsvorrichtungen.

4.2.2 Nachteile von Nassmais als Rohstoff für die Stärkeproduktion

- Aufgrund des hohen Feuchtigkeitsgehalts des Nassmaises im Vergleich zu Trockenmais ist der bereits zuvor erwähnte Effekt der Wärmeentwicklung bei der Lagerung wesentlich stärker ausgeprägt und somit bedeutender im Hinblick auf Qualitätseinbußen. Ab einer Lagerdauer von zwei bis drei Tagen startet, abhängig vom Feuchtigkeitsgehalt des Maiskorns bei der Ernte, der Fermentierungsvorgang und die Wärmeentwicklung [36]. Die Spontanerhitzung zeigt sich durch die hohe Konzentration von kurzkettigen Kohlenhydraten, hervorgerufen durch vermehrte Enzymaktivitäten im Maiskorn und Mikroorganismen [60]. Erkennbar ist dieser Vorgang über den chemisch nachweisbaren Anstieg

von löslichen Kohlenhydraten wie Glukose. Ebenso steigt die α -Amylase Aktivität von spontan erhitztem Mais, welche für den Abbau von Stärke zu kurzkettigen Kohlenhydraten zuständig ist [61]. Einfache Kohlenhydrate werden von Mikroorganismen abgebaut und die damit einhergehende CO_2 -Produktion wird durch den Verlust an Trockensubstanz deutlich [62]. Von LASSERAN wurde 1973 ein Stärkeverlust von 4,5 % beschrieben sowie eine Verminderung der Ausbeute um 3 % nach einer Nassmaislagerung von sechs Tagen [36, 60].

- Der limitierende Faktor mit größter Bedeutung für die Verwendung von Nassmais ist die Verarbeitungsleistung der Fabrik. Nassmais wird deshalb kurzfristig am Fabrikgelände in Silos eingelagert. Durch den Schüttvorgang beim Einlagern von Nassmais in Lagersilos herrschen im Inneren der Lagersilos praktisch anaerobe Bedingungen, wodurch die Vermehrung von Anaerobiern oder mikroaerophilen Mikroorganismen, wie beispielsweise Milchsäurebakterien, gefördert wird.
- Der Feuchtigkeitsgehalt und die bei der Ernte vorherrschenden Temperaturen stellen förderliche Voraussetzungen für die Steigerung der Aktivität von Milchsäurebakterien dar. Sowohl eine heterofermentative als auch eine homofermentative Milchsäuregärung führen zur Freisetzung großer Mengen Reaktionswärme [63]. Diese Wärmemengen tragen zur zuvor erwähnten Spontanerhitzung in erheblichem Umfang bei.
- Die kontinuierliche Verarbeitung von Mais in der Fabrik muss sicher gestellt, somit also die Verarbeitungsmenge von mehreren Tagen in der Fabrik bereitgehalten werden, um Zeiträume (Lieferausfälle, Feiertage, Wochenenden), an denen keine Zulieferung stattfindet, überbrücken zu können. Somit wird der Mais mehrere Tage gelagert, wodurch Qualitätsverluste entstehen.
- Die Maisproduzenten sind von der Stärkefabrik meist weit entfernt. Hierbei erfolgt die Lieferung über Zwischenhändler, die den frisch geernteten Mais zuvor für maximal ein bis zwei Tage auf ihrem Gelände einlagern. In Stärkefabriken wird der Mais in Silos gelagert, während bei

Zwischenhändlern die Lagerung meist in Flachlagerzellen erfolgt. Die länger andauernde Lagerung ist wieder durch Qualitätseinbußen gekennzeichnet.

Eine Kühlung würde dem gesamten Stärkeabbau und Qualitätsverlusten generell entgegenwirken [51, 60], jedoch auf Grund der kurzfristigen Lagerperiode von Nassmais stehen die Energiekosten in keiner vernünftigen Relation zum Nutzen. Kühlsysteme sind auch bei Lagerung von Trockenmais oder anderen Getreidesorten über mehrere Monate von Vorteil.

5 Aufgabenstellung

Im Rahmen dieser Diplomarbeit sollte der mögliche Einsatz von Hopfenprodukten sowie Wirkstoffen basierend auf Harzsäuren und Myristinsäure bei der Nassmaislagerung überprüft werden.

Im ersten Teil sollte ein Versuchsmodell entwickelt werden, welches eine Nassmaislagerung im Labormaßstab simuliert. Mit diesem sollte untersucht werden, inwieweit die Lactatbildung bei der Lagerung durch den Einsatz der Wirkstoffe unterdrückt werden kann. Es sollte auch eine möglichst effiziente Aufbringung der Wirkstoffe gesucht werden. Im Anschluss sollte mit diesem Modell unter den zur Verfügung gestellten Wirkstoffen derjenige identifiziert werden, der am besten geeignet ist, um das Bakterienwachstum von Lactatbildnern über den Zeitraum der Nassmaislagerung zu hemmen. Weiters sollte die optimale Konzentration dieses Wirkstoffs ermittelt werden.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte dann, mit den Erkenntnissen aus den Laborversuchen, Mais im Pilotmaßstab mit Zusatz eines Wirkstoffs gelagert werden. Mit Hilfe der Pilotanlage und erfahrener Mitarbeiter der Zuckerforschung Tulln GmbH sollte danach Maisstärke gewonnen werden. Dadurch sollten einerseits Hinweise über den Einfluss der Wirkstoffe auf den Quellprozess erhalten werden und andererseits die Auswirkungen eines Zusatzes auf die Verarbeitbarkeit bzw. mögliche Veränderungen in der Qualität der gewonnenen Stärken beobachtet werden.

6 Material und Analysenmethoden

6.1 Nassmais

Bei den Versuchen wurde Nassmais verwendet, welcher von der Firma Johann Fischer GmbH & Co KG (Großrust, Niederösterreich) bezogen wurde. Es handelt sich um Mischmais, das heißt nicht sortenreiner Mais, aus der Ernte 2006.

In Großrust wird der Nassmais, nach der Anlieferung vom Bauern bis zur Weiterlieferung in die Maisstärkefabrik AGRANA Stärke GmbH in Aschach, zwischengelagert. Die Lagerung bei der Firma Johann Fischer GmbH & Co KG findet auf befestigten, nicht überdachten Betonplätzen statt und kann bis zum Weitertransport in die Stärkefabrik nach Aschach an der Donau, eineinhalb Tagen andauern.

Für die Untersuchungen wurde Nassmais ausgewählt, der direkt nach der Ernte angeliefert und nicht länger als zwei Stunden bei der Firma Johann Fischer GmbH & Co KG gelagert wurde. Eine starke Entwicklung von Mikroorganismen am Mais, aufgrund beginnender Abbauprozesse noch vor den eigentlichen Untersuchungen, wurde somit vermieden. Der Nassmais wurde in Großrust in Kunststoffsäcken zu je ca. 45 kg abgepackt und bis zu dessen Verwendung in einem Gefrierraum im Rübenlager der Zuckerfabrik Tulln (AGRANA Zucker GmbH) bei -18 °C gelagert. Aufgrund der jahreszeitlich beschränkten Verfügbarkeit und geringen Haltbarkeit von Nassmais wurde beschlossen das Material tiefzugefrieren. Auf diese Weise war auch gewährleistet, dass für die Versuche relativ einheitliches Material verwendet werden konnte.

Der Nassmais wurde an zwei Terminen abgeholt, wobei die erste Charge Mitte Oktober und die Zweite Ende November aus Großrust bezogen wurde. Wie aus Abb. 10 und 11 erkennbar, unterscheiden sich die beiden Chargen wesentlich in ihrer Maissortenzusammensetzung. Der Nassmais der ersten Charge wies einen hohen Hartmaisanteil auf, die zweite Charge bestand hauptsächlich aus Zahnmaiskörnern. In der ersten Charge wurde ein wesentlich

höherer Anteil an Bruchkorn, Staub, Kolbenteilen und anderen Verunreinigungen gefunden, als im Nassmais der zweiten Charge.



Abb. 10: Nassmais der ersten Charge



Abb. 11: Nassmais der zweiten Charge

6.2 Quellwasser

Für die Herstellung von Maisstärke im Pilotmaßstab wurde für den Quellprozess Quellwasser benötigt, welches von der Maisstärkefabrik AGRANA Stärke GmbH in Aschach bezogen wurde. Das Quellwasser wurde vom Quellprozess direkt abgezweigt und in einen 1000 L Transportcontainer geleitet. Nach dem Transport in die Zuckerforschung Tulln GmbH wurde dieses mithilfe eines Milchkühlers bis zu dessen Verwendung auf eine Temperatur von + 4 °C gekühlt. Das Quellwasser wurde in zwei Chargen bezogen, wobei das Quellwasser der ersten Charge aus der Nassmaiskampagne und das Quellwasser der zweiten Charge aus der Trockenmaiskampagne stammten.

6.3 Wirkstoffe

Unter Wirkstoffe werden in dieser Arbeit antibakterielle Lösungen zusammengefasst, deren antibakterielle Inhaltsstoffe aus Hopfen-, Harz- und/oder Myristinsäure bestehen. Alle Wirkstoffe wurden verschlossen aufbewahrt und keiner direkten Sonneneinstrahlung ausgesetzt.

6.3.1 Hopfensäuren

Die auf Hopfensäuren basierenden Produkte wurden von der Firma BetaTec Hopfenprodukte GmbH zur Verfügung gestellt. Bei den Versuchen wurden die Hopfenbittersäuren THI- α -Säuren, Iso- α -Säuren und β -Säuren eingesetzt.

THI- α -Säuren sind in einer Konzentration von $9 \pm 0,5$ % in einer basisch, wässrigen Lösung enthalten [64]. Im Handel sind THI- α -Säuren in dieser Form unter dem Namen LactoStabTM bei der Firma BetaTec Hopfenprodukte GmbH erhältlich. Das Produkt wurde bei + 22 °C gelagert.

Iso- α -Säuren sind in einer Konzentration von $30 \pm 0,5$ % in einer basisch, wässrigen Lösung enthalten [65]. Im Handel sind Iso- α -Säuren in dieser Form

unter dem Namen IsoStab™ bei der Firma BetaTec Hopfenprodukte GmbH erhältlich. Das Produkt wurde im Kühlraum bei + 6 °C gelagert.

Hopfen- β -Säuren sind in einer Konzentration von $10 \pm 1\%$ in einer basisch, wässrigen Lösung enthalten [66]. Im Handel sind Hopfen- β -Säuren in dieser Form unter dem Namen BetaStab®10A bei der Firma BetaTec Hopfenprodukte GmbH erhältlich. Das Produkt wurde im Kühlraum bei + 6 °C gelagert.

6.3.2 Harzsäuren und Myristinsäure

Die Produkte, basierend auf Harzsäuren und/oder Myristinsäure, wurden von der Zuckerfabrik Tulln (AGRANA Zucker GmbH) erzeugt und von der Zuckerforschung Tulln GmbH zur Verfügung gestellt. Bei den Versuchen wurden Harzsäuren, Myristinsäure und eine Mischung dieser beiden Lösungen eingesetzt.

Harzsäuren in einer Mischung aus Isomeren der Abietinsäure und Dehydroabietinsäure von Kiefern sind in einer Konzentration von $20 \pm 1\%$ in einer basisch, wässrigen Lösung enthalten [67]. Das Produkt wurde im Kühlraum bei + 6 °C gelagert. Im Rahmen dieser Arbeit wird dieses Produkt als „Harzsäurelösung bzw. Harzsäuren“ bezeichnet.

Myristinsäure und Spuren anderer gesättigter Fettsäuren aus Palmkernen sind in einer Konzentration von $20 \pm 1\%$ in einer basisch, wässrigen Lösung enthalten [68]. Das Produkt wurde im Kühlraum bei + 6 °C gelagert. Im Rahmen dieser Arbeit wird dieses Produkt als „Myristinsäurelösung bzw. Myristinsäure“ bezeichnet.

Schließlich wurde noch eine Mischung aus den beiden zuvor genannten Produkten der Harzsäure- und der Myristinsäurelösung in einem Verhältnis von 80 : 20 in die Untersuchungen einbezogen. Die Wirkstoffe der basisch, wässrigen Lösung sind in einer Konzentration von $20 \pm 1\%$ im Produkt

enthalten. Das Produkt wurde im Kühlraum bei + 6 °C gelagert. Im Rahmen dieser Arbeit wird dieses Mischprodukt als „RoMy8 : 2“ bezeichnet.

6.4 Geräte für die Lagerversuche im Labormaßstab

- Trockenschrank (UL 80, Memmert GmbH und Co. KG, D)
- Einweckgläser (1 L) mit Dichtungsringen (FidoVaso ERM 1000, Bormioli Rocco, I)
- Zerstäuberfläschchen 10 mL
- Rundeimer 10 L (Wolf Plastics Verpackungen GmbH, A)
- Klimaschrank (KBW 240, Binder GmbH, D)
- Waage (3862001, Sartorius AG, D)
- Waage (LE 4202S, Sartorius AG, D)
- Einwegpipette 1 mL (LW 4040 Pastette[®], Alpha Laboratories, UK)
- Bechergläser

6.5 Geräte für die Versuche im Pilotmaßstab

6.5.1 Lagerung von Nassmais im Pilotmaßstab

- Waage (DE150K50NXL, Kern und Sohn GmbH, D)
- Pestizidspritze 5 L (Herbi 3235U, MESTO Spritzenfabrik Ernst Stockburger GmbH, D)
- Rundeimer 33 L (Wolf Plastics Verpackungen GmbH, A)
- Trockenschrank (UL 80, Memmert GmbH & Co. KG, D)
- Mischmaschine (Top 1402 HR / 112100, Al-ko-Geräte GmbH, D)
- Waage (LE 4202S, Sartorius AG, D)
- Einwegpipette 1 mL (LW 4040 Pastette[®], Alpha Laboratories, UK)

6.5.2 Geräte der Pilotanlage

6.5.2.1 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 Maisstärkefabrik AGRANA Stärke GmbH, A)

6.5.2.2 Grobvermahlung

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

6.5.2.3 Feinvermahlung

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

6.5.2.4 Keimabtrennung

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

6.5.2.5 Extraktion

- Centrisieb (HCC 500, Nivoba, NL)

6.5.2.6 Feinfaserabtrennung

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

6.5.2.7 Kleberabtrennung, Konzentration, Raffination

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

6.5.2.8 Entwässerung

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

6.5.2.9 Trockner

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

6.5.2.10 Fördermedien und Zwischenbehälter

- Schlauchpumpe (IP 200, Alfa Laval AB, S)
- Mohnpumpe (2 NL 20-A, Netzsch Mohnopumpen GmbH, D)
- Mohnpumpe (2 NE 20-A, Netzsch Mohnopumpen 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)

6.6 Analysenmethoden

6.6.1 Bestimmung des Feuchtigkeitsgehalts

Diese Methode wurde bei Probenmaterial Stärke eingesetzt.

Prinzip

Die Probe wird unter festgelegten Bedingungen in einem Trockenschrank getrocknet und der Massenverlust durch Wägung vor und nach der Trocknung bestimmt.

Geräte

- Aluminiumschale
- Waage (770/ AGB 120-4, Kern und Sohn GmbH, D)
- Trockenschrank (III 30, Memmert GmbH & Co. KG, D)
- Tiegelzange
- Exsikkator

Durchführung

Es wurden $10 \pm 0,001$ g Probe in eine Aluminiumschale eingewogen. Das Leergewicht der Aluminiumschale wurde zuvor notiert. Die Probe wurde bis zur Gewichtskonstanz im Trockenschrank bei $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ getrocknet. Nach dem vollständigen Abkühlen im Exsikkator wurde die Schale mit der Probe erneut gewogen. Die Trockensubstanz wurde nach Gl. 1 berechnet.

Berechnung

$$TS = \frac{(m_2 - m_1)}{(m_2 - m_0)} \times 100 \quad \text{Gl. 1}$$

m_0Masse der Schale ohne Probe in g

m_1Masse der Schale mit der Probe nach der Trocknung in g

m_2Masse der Schale mit der Probe vor der Trocknung in g

TS....Trockensubstanz in %

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

6.6.2 Bestimmung des Feuchtigkeitsgehalts mittels Infrarot-trocknung

Diese Methode wurde bei den Probenmaterialien Mais und Quellwasser angewendet, wobei bei Mais eine spezielle Probenvorbereitung erfolgte.

Prinzip

Zeitsparende Bestimmung des Masseverlustes einer Probe durch Strahlungsadsorption.

Geräte

- Feuchtebestimmer (MA 45C 000230V1, Sartorius AG, D)
- Aluminiumschale

Durchführung

In eine tarierte Aluminiumschale wurden ca. $3 \pm 0,001$ g Probe eingewogen und die vollautomatische Messung durch Schließen des Deckels gestartet. Die Trocknung wurde bei 120 °C durchgeführt. Das Ende der Messung wurde durch einen Signalton erkennbar und das Ergebnis am Display in % Trockensubstanz abgelesen.

Probenvorbereitung bei Mais

Beim Probenmaterial Mais, in Form von Nassmais oder gequollenen Mais, wurde das Material vor der Einwaage in die Aluminiumschale mithilfe einer Kaffeemühle zerkleinert.

Geräte

- Kaffeemühle (Tefal 8100, Groupe SEB GmbH, D)

Durchführung

Hierfür wurden ca. 15 g Mais in den Mixbehälter der Kaffeemühle gegeben und für 10 sec zerkleinert.

6.6.3 Bestimmung des pH-Werts

Diese Methode wurde bei den Probenmaterialien Maisquellwasser, Nassmais und Stärkeslurry angewendet, wobei beim Nassmais und beim Slurry eine spezielle Probenvorbereitung erfolgte.

Prinzip

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

Geräte

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

Reagenzien

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

Durchführung

Die pH-Messkette wurde mithilfe der beiden Pufferlösungen kalibriert und mit entionisiertem Wasser gespült. Das Messmedium wurde am Magnetrührer gerührt, die Elektrode eingetaucht und nach Stabilisierung der Anzeige wurde der pH-Wert abgelesen.

Probenvorbereitung für Nassmais

Für die Bestimmung des pH-Werts von Nassmais wurde eine wässrige Lösung hergestellt mit einem Maisanteil von 20 % (w/w). Falls nicht anders angegeben sind in dieser Arbeit alle weiteren Prozentangaben als Gewichtsprozent (w/w) zu verstehen.

Geräte

- Mixer (AB, Ingenieursfirma N. Weibull, S)
- Mixbecher (Ingenieursfirma N. Weibull, S)
- Becherglas
- Waage (3862001, Sartorius AG, D)

Durchführung

Hierzu wurden $40 \pm 0,1$ g Mais in einen Mixbecher eingewogen und mit entionisiertem Wasser auf $200 \pm 0,1$ g ergänzt. Anschließend wurde die Probe für 3 min gemixt und in ein Becherglas übergeführt, in dem anschließend die pH-Wert Messung erfolgte.

Probenvorbereitung für den Stärkeslurry

Für die Bestimmung des pH-Werts eines Stärkeslurries wurde eine wässrige Suspension mit einem Stärkeanteil von 5 % i. TS hergestellt.

Geräte

- Waage (LE 4202S, Sartorius AG, D)
- Becherglas 250 mL

Durchführung

Die nach Gl. 2 berechnete Menge an Stärke $\pm 0,01$ g wurde in ein 250 mL Becherglas eingewogen und mit entionisiertem Wasser auf eine Gesamtmenge von $200 \pm 0,01$ g ergänzt. Vor der pH-Messung wurde die Probe wurde am Magnetrührer solange gerührt, bis kein Bodensatz mehr festgestellt wurde.

Berechnung

$$EW = \frac{100}{TS} \times 5 \times 2 \quad \text{Gl. 2}$$

EW...Einwaage der Stärke in g

TS....Trockensubstanz der Stärke in %

6.6.4 Bestimmung des pH-Werts eines Kleisters

Prinzip

Nach Herstellung eines Kleisters mit einem Stärkeanteil von 5 % i. TS wird mittels einer Elektrode die Wasserstoffionenkonzentration gemessen und am pH-Meter als pH-Wert angezeigt.

Geräte

- pH-Messgerät (pH 330i/340i, WTW GmbH, D)
- pH-Einstabmesskette (SenTix 81, WTW GmbH, D)
- Magnetrührer (IKA[®] RET Basic C, IKA[®] - Werke GmbH & Co. KG, D)
- Magnetrührstäbchen
- Waage (LE 4202S, Sartorius AG, D)
- Becherglas 250 mL
- Stativ
- Uhrglas

- Keramiknetz
- Stoppuhr
- Wasserbad
- Thermometer

Reagenzien

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

Durchführung

Die Durchführung erfolgt nach ZFT - Methode [69]. Dem unter Kap. 6.6.3 hergestellten Stärkeslurry mit einem Stärkeanteil von 5 % i. TS wurde ein Magnetrührstäbchen sowie ein Thermometer zugegeben. Die Waage wurde tariert und das Gesamtgewicht von Becherglas, Stärkesuspension, Magnetrührkern und Thermometer $\pm 0,01$ g notiert. Nach dem Aufrühren des Slurries wurde das Becherglas mit einem Uhrglas abgedeckt und auf den heizbaren Magnetrührer gestellt. Der Slurry wurde bei einer Heizplattentemperatur von ca. 200 - 250 °C auf eine Temperatur von $95 \pm 2^\circ\text{C}$ aufgeheizt. Bei ca. 92 °C wurde die Temperatur des Magnetrührers auf 150 °C gesenkt und zwischen Becherglasboden und Heizplatte wurde ein Keramiknetz geschoben. Wenn der gesamte Kleister eine Temperatur von $95 \pm 2^\circ\text{C}$ erreicht hatte wurde diese Temperatur für 15 min gehalten. Das verdampfte Wasser wurde wieder ergänzt, indem mit entionisiertem Wasser auf das zuvor notierte Gewicht aufgefüllt wurde. Anschließend wurde der Kleister im Wasserbad unter leichtem Rühren abgekühlt. Die pH-Messkette wurde mithilfe der beiden Pufferlösungen kalibriert und mit entionisiertem Wasser gespült. Nach dem Eintauchen der Elektrode in den Kleister und Stabilisierung der Anzeige wurde der pH-Wert abgelesen.

6.6.5 Bestimmung der Leitfähigkeit

Diese Bestimmung wurde bei den Probenmaterialien Quellwasser und Stärkeslurry durchgeführt, wobei beim Slurry eine spezielle Probenvorbereitung erfolgte.

Prinzip

Die elektrische Leitfähigkeit ist ein Maß für die Ionenkonzentration einer Messlösung und über die Stromstärke bei konstanter Spannung messbar. Sie bezeichnet den reziproken Wert des elektrischen Widerstandes.

Geräte

- Leitfähigkeitsmessgerät (Cond 330i/340i, WTW GmbH, D)
- Magnetrührer (IKA[®] RET Basic C, IKA[®] - Werke GmbH & Co. KG, D)
- Magnetrührstäbchen
- Becherglas

Durchführung

Das Messmedium wurde am Magnetrührer gerührt und nach Eintauchen der Elektrode in die Probe und Stabilisierung der Anzeige wurde die Leitfähigkeit in $\mu\text{S}/\text{cm}$ abgelesen.

Probenvorbereitung für den Stärkeslurry

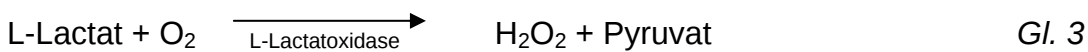
Für die Leitfähigkeitsmessung des Slurries wurde der unter Kap. 6.6.3 hergestellte Slurry mit einem Stärkeanteil von 5 % i. TS als Probenmaterial verwendet.

6.6.6 Bestimmung von L-Lactat mittels Enzymsensor

Diese Methode wurde bei den Probenmaterialien Maisquellwasser und Nassmais angewendet, wobei jeweils eine spezielle Probenvorbereitung erfolgte. Die Bestimmung erfolgte mittels Yellow Springs Analyser (2700 Select).

Prinzip

Vollautomatisierte Messung von gelöstem L-Lactat am Enzymsensor, wobei das Enzym L-Lactatoxidase an der YSI L-Lactatmembran immobilisiert ist [70].



Das bei der Reaktion nach Gl. 3 gebildete Wasserstoffperoxid wird an einer Elektrode oxidiert. Der Stromfluss ist proportional zur L-Lactatkonzentration.

Geräte

- Biochemistry Analyser (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)
- Regiergefäß 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

- Systempufferflüssigkeit (YSI 2357, YSI Incorporated, USA)
- L(+)-Milchsäure Lithiumsalz (8.22084.0100, Merck KGaA, D)

Durchführung

Mit dem L(+)-Milchsäure Lithiumsalz wurde eine Kalibrationslösung von 0,5 g/kg hergestellt und das Gerät anschließend kalibriert (Messbereich: 0 - 2,67 g). Von der zu analysierenden Probe wurden 2 mL in ein Duran - Röhrchen gefüllt, dieses wurde in den Autosampler gestellt und die automatisierte Messung gestartet. Für den Fall, dass das Messergebnis außerhalb des Kalibrationsbereiches lag, wurde eine Verdünnung hergestellt.

Probenvorbereitung für Quellwasser

Aufgrund der starken Trübung des Quellwassers wurde dieses vor der Analyse zentrifugiert. Mit einer Einwegpipette wurden 2 mL Probe in ein Reagiergefäß überführt und für 15 min bei 12.500 min^{-1} zentrifugiert. Danach wurde der Überstand mithilfe einer Einwegpipette abgezogen und in ein Duran - Röhrchen überführt. Falls nötig wurde die zentrifugierte Probe zuvor mit entionisiertem Wasser verdünnt.

Probenvorbereitung für Nassmais

Von der in Kap. 6.6.3 hergestellten Suspension mit einem Maisanteil von 20 % wurden 2 mL in ein Reagiergefäß überführt und für 15 min bei 12.500 min^{-1} zentrifugiert. Der Überstand der zentrifugierten Probe wurde mittels 2 mL Einwegspritze mit aufgesetzter Einmalkanüle abgezogen und über einen $45 \mu\text{m}$ Filter in ein Duran - Röhrchen filtriert.

Auswertung und Berechnung

Das Ergebnis wurde am Display des Geräts in mg/kg L-Lactat abgelesen.

Erfolgt während der Probenvorbereitung ein Verdünnungsschritt, wurde das Ergebnis der Anzeige mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert. Falls es sich um Probenmaterial Nassmais handelte wurde zusätzlich der Verdünnungsfaktor fünf in der Berechnung berücksichtigt.

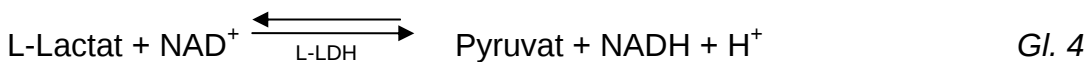
Die Untersuchung wurde in Doppelbestimmung durchgeführt und der Mittelwert der beiden Ergebnisse verwendet.

6.6.7 Enzymatische Bestimmung von L-Lactat nach ICUMSA

Diese Methode (Nr. GS8/4/6-13) wird speziell zur Bestimmung von L-Lactat in Melassen, Zuckerrüben und Zuckerrohsäften angewendet und wurde im Rahmen dieser Arbeit zur Bestimmung in Maisquellwasser und Nassmais adaptiert.

Prinzip

L-Lactat wird durch Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) in Gegenwart von L-Lactat-Dehydrogenase (L-LDH) zu Pyruvat oxidiert (Gl. 4) [71].



Das Gleichgewicht der Reaktion liegt weitgehend auf der Seite von L-Lactat. Es kann jedoch durch Abfangen des Pyruvats durch die nachgeschaltete Reaktion (Gl. 5) mit dem Enzym Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) in Gegenwart von L-Glutamat auf die Seite von Pyruvat und NADH verschoben werden [71].



Die während der Reaktion gebildete Menge an NADH ist äquivalent zur L-Lactatmenge und kann photometrisch aufgrund der charakteristischen Absorption bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt werden [72].

Geräte

- Waage (Mettler PM400, Mettler GmbH, CH)
- Zentrifuge (MiniSpin, Eppendorf AG, D)
- UV/VIS Spectrophotometer (UV-1700PC, Shimadzu Scientific Instruments, USA)
- Elektronische Kolbenhubpipetten (710030, 710020, 710500, Biohit GmbH, D)
- Pipettenspitzen (Proline, Biohit GmbH, D)
- Küvetten 10*4*45 mm (67.742, Sarstedt AG & Co, D)
- Rührspatel 64 mm (81.971, Sarstedt AG & Co, D)
- Reagiergefäße 2 mL (72.695, Sarstedt AG & Co, D)
- Messkolben
- Einwegröhrchen 21 mL

Reagenzien

- L-Milchsäure UV-Test (10139084035, Beohringer Mannheim GmbH, D)
- Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat (104984, Merck KGaA, D)
- Zinksulfat-Heptahydrat (108883, Merck KGaA, D)
- Natriumhydroxid (106498, Merck KGaA, D)

Herstellung der Reagenzien

Carrez Reagenz I

Es wurden $3,6 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$ $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}$ in einen 100 mL Messkolben eingewogen und mit entionisiertem Wasser bis zur 100 mL Markierung aufgefüllt.

Carrez Reagenz II

Es wurden $7,2 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$ in einen 100 mL Messkolben eingewogen und mit entionisiertem Wasser bis zur 100 mL Markierung aufgefüllt.

Carrez Reagenz III

Es wurden $0,4 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$ NaOH in einen 100 mL Messkolben eingewogen und mit entionisiertem Wasser bis zur 100 mL Markierung aufgefüllt.

L-Lactat Standard

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

Probenvorbehandlung bei Quellwasser

Je nach zu erwartendem Gehalt an L-Lactat wurden $0,5 - 10 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$ Quellwasser in einen 100 mL Messkolben eingewogen und mit 10 mL entionisiertem Wasser verdünnt. Der zu erwartende Gehalt an L-Lactat wurde aufgrund der zuvor durchgeführten Bestimmung mittels Yellow Springs Test abgeschätzt. Die Lösung wurde mit 1,25 mL Carrez I versetzt und nach einer Wartezeit von 10 min wurden 1,25 mL Carrez II und 2,5 mL Carrez III zugegeben. Nach weiteren 10 min wurde mit entionisiertem Wasser bis zur 100 mL Markierung aufgefüllt, gut geschüttelt, 2 mL der Lösung entnommen und in einem Reagiergefäß für 15 min bei 12.500 min^{-1} zentrifugiert. Der Überstand wurde für den Ansatz in der Küvette verwendet.

Probenvorbehandlung bei Nassmais

Von der in Kap. 6.6.3 hergestellten Maissuspension (20 %) wurden 2 mL in ein Reagiergefäß überführt und für 15 min bei 12.500 min^{-1} zentrifugiert. Aufgrund der niedrigen Konzentration an L-Lactat im Nassmais war eine Verdünnung im Messkolben nicht notwendig. Vom Überstand der zentrifugierten Probe wurde 1 g abgezogen und in einem Reagiergefäß mit 0,1 mL Carrez I versetzt. Nach einer Wartezeit von 10 min wurden 0,1 mL Carrez II und

0,2 mL Carrez III zugegeben. Nach weiteren 10 min wurde die Probe für 15 min bei 12.500 min^{-1} zentrifugiert. Der Überstand wurde für den Ansatz in der Küvette verwendet.

Durchführung

Für jede Probe sowie Standard und Blindwert wurde eine Vormischung aus dem L-Milchsäureset hergestellt. Diese wurde für alle zu messenden Proben gemeinsam in einem 21 mL Röhrchen bereitet. Tab. 2 zeigt die Zusammensetzung der einzelnen Reagenzien in der Vormischung.

Tab. 2: Zusammensetzung der Vormischung für die L-Lactatbestimmung

Lösung in mL	Probe/Blindwert/Standard
Flasche 1 Glycylglycinpuffer	0,350
Entionisiertes Wasser	0,300
Flasche 2 NAD-Lyophilisat	0,050
Flasche 3 GPT-Suspension	0,003
Gesamtvolumen	0,703

Anschließend wurden die in Tab. 3 angegebenen Volumina der jeweiligen Reagenzien in einer Küvette vereinigt.

Tab. 3: Zusammensetzung des Ansatzes in der Küvette für die L-Lactatbestimmung

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

Nach Herstellung des Ansatzes und einer Wartezeit von 5 min erfolgte die Messung der Extinktion (E_1) im Spectrophotometer bei 340 nm. Nach Zugabe von 0,005 mL L-LDH und einer Wartezeit von 30 min wurde die Extinktion erneut gemessen (E_2).

Berechnung

Der Gehalt an L-Lactat in mg/kg Probe wurde nach den Gleichungen 6, 7, 8 und 9 berechnet.

$$\Delta E = (E_2 - E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - E_1)_{\text{Leerwert}} \quad \text{Gl. 6}$$

E_1Extinktion vor Zugabe des Enzyms

E_2Extinktion nach Zugabe des Enzyms

$$c[g/L] = \frac{V \times MG}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta E \quad \text{Gl. 7}$$

$$c[g/L] = 0,1151 \times \Delta E \quad \text{Gl. 8}$$

cKonzentration

VTestvolumen (0,805 mL)

vProbenvolumen (0,100 mL)

dSchichtdicke (1,00 cm)

ϵExtinktionskoeffizient von NADH bei 340 nm (6,3 [L*mmol⁻¹*cm⁻¹])

MGMolekulargewicht von L-Lactat (90,08 [g/mol])

Berücksichtigung der Verdünnungsschritte:

$$L - \text{Lactat [mg/kg]} = \frac{VVD \times c \times GV}{EW} \times 1000 \quad \text{Gl. 9}$$

c....Konzentration [g/L]

VVD....Vorverdünnungsfaktor (Nassmais: 5; Quellwasser: 1)

GV....Gesamtvolumen der Verdünnung in mL (Nassmais: 1,4; Quellwasser: 100)

EW....Einwaage der Probe im Reagiergefäß bzw. im Messkolben in g

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

Der in der Literatur angegebene Variationskoeffizient von 1 bzw. 2 % [71], abhängig von den Probenmedien zur Richtigkeit und Präzision der Methode, wurde mittels mehreren Bestimmungen in den Untersuchungsmaterialien überprüft.

Die Ergebnisse der Überprüfung sind in Tab. 4 angeführt.

Tab. 4: Bestimmungen von L-Lactat in Nassmais und Maisquellwasser

Probenmaterial	Ergebnisse (mg/kg)					MW	Sx	VK
	1.	2.	3.	4.	5.	(mg/kg)	(mg/kg)	(%)
Nassmais	308	312	317	309	320	313,20	5,17	1,65
Quellwasser	9857	9968	9918	9829	9932	9900,80	56,70	0,57

MW....Mittelwert

Sx....Standartabweichung

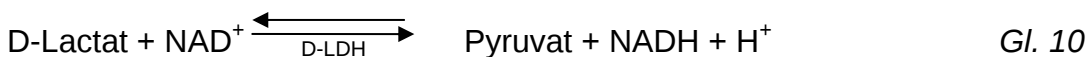
VK....Variationskoeffizient

6.6.8 Enzymatische Bestimmung von D-Lactat nach ICUMSA

Diese Methode (Nr. GS8/4/6-13) wird speziell zur Bestimmung von D-Lactat in Melassen, Zuckerrüben und Zuckerrohrsäften angewendet und wurde im Rahmen dieser Arbeit zur Bestimmung in Maisquellwasser und Nassmais adaptiert.

Prinzip

D-Lactat wird durch Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NAD) in Gegenwart von D-Lactat-Dehydrogenase (D-LDH) zu Pyruvat oxidiert (Gl. 10).



Das Gleichgewicht der Reaktion liegt weitgehend auf der Seite von D-Lactat. Es kann jedoch durch Abfangen des Pyruvats durch die nachgeschalteten Reaktion (Gl. 11) mit dem Enzym Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) in Gegenwart von L-Glutamat auf die Seite von Pyruvat und NADH verschoben werden [72].



Die während der Reaktion gebildete Menge an NADH ist äquivalent zur D-Lactatmenge und kann photometrisch aufgrund der charakteristischen Absorption bei einer Wellenlänge von 340 nm bestimmt werden [72].

Geräte

- Waage (Mettler PM400, Mettler GmbH, CH)
- Zentrifuge (MiniSpin, Eppendorf AG, D)
- UV/VIS Spectrophotometer (UV-1700PC, Shimadzu Scientific Instruments, USA)
- Elektronische Kolbenhubpipetten (710030, 710020, 710500, Biohit GmbH, D)
- Pipettenspitzen (Proline, Biohit GmbH, D)

- Küvetten 10*4*45 mm (67.742, Sarstedt AG & Co, D)
- Rührspatel 64 mm (81.971, Sarstedt AG & Co, D)
- Reagiergefäße 2 mL (72.695, Sarstedt AG & Co, D)
- Messkolben
- Einwegröhrchen 21 mL

Reagenzien

- L-Milchsäure UV-Test (10139084035, Beohringer Mannheim GmbH, D)
- D-Lactat-Dehydrogenase (12882220, Roche Diagnostics GmbH, D)
- Lithium D-Lactate (62551, Fluka Chemie AG, CH)
- Kaliumhexacyanoferrat(II)-Trihydrat (104984, Merck KGaA, D)
- Zinksulfat-Heptahydrat (108883, Merck KGaA, D)
- Natriumhydroxid (106498, Merck KGaA, D)

Herstellung der Reagenzien

Carrez Reagenz I, II und III

Die Reagenzien wurden wie unter Kap. 6.6.7 beschrieben hergestellt.

D-Lactat Standard

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

Probenvorbehandlung bei Quellwasser

Je nach zu erwartenden Gehalt an D-Lactat wurden 0,5 - 10 g $\pm$ 1 mg Quellwasser in einen 100 mL Messkolben eingewogen und mit 10 mL entionisiertem Wasser verdünnt. Der zu erwartende Gehalt an D-Lactat konnte aufgrund der zuvor durchgeführten Bestimmung von L-Lactat mittels Yellow Springs Test abgeschätzt werden. Erfahrungsgemäß wurden L- und D-Lactat in einem Verhältnis von 1,5 - 2 : 1 im Quellwasser gefunden.

Die Lösung wurde mit 1,25 mL Carrez I versetzt und nach einer Wartezeit von 10 min wurden 1,25 mL Carrez II und 2,5 mL Carrez III zugegeben. Nach weiteren 10 min wurde mit entionisiertem Wasser bis zur 100 mL Markierung aufgefüllt, gut geschüttelt, 2 mL der Lösung entnommen und in einem Reagiergefäß für 15 min bei 12.500 min⁻¹ zentrifugiert. Der Überstand wurde für den Ansatz in der Küvette verwendet.

Probenvorbehandlung bei Nassmais

Von der in Kap. 6.6.3 hergestellten Maissuspension (20 %) wurden 2 mL in ein Reagiergefäß überführt und für 15 min bei 12.500 min⁻¹ zentrifugiert. Aufgrund der niedrigen Konzentration an D-Lactat im Nassmais war eine Verdünnung im Messkolben nicht notwendig. Vom Überstand der zentrifugierten Probe wurde 1 g abgezogen und in einem Reagiergefäß mit 0,1 mL Carrez I versetzt. Nach einer Wartezeit von 10 min wurden 0,1 mL Carrez II und 0,2 mL Carrez III zugegeben. Nach weiteren 10 min wurde die Probe für 15 min bei 12.500 min⁻¹ zentrifugiert. Der Überstand wurde für den Ansatz in der Küvette verwendet.

Durchführung

Für jede Probe sowie Standard und Blindwert wurde eine Vormischung aus dem L-Milchsäureset hergestellt. Diese wurde für alle zu messenden Proben in einem 21 mL Einwegröhrchen bereitet. Tab. 5 zeigt die Zusammensetzung der einzelnen Reagenzien in der Vormischung.

Tab. 5: Zusammensetzung der Vormischung für die D-Lactatbestimmung

Lösung in mL	Probe/Blindwert/Standard
Flasche 1 Glycylglycinpuffer	0,350
Entionisiertes Wasser	0,300
Flasche 2 NAD-Lyophilisat	0,050
Flasche 3 GPT-Suspension	0,003
Gesamtvolumen	0,703

Anschließend wurden die in Tab. 6 angegebenen Volumina der jeweiligen Reagenzien in einer Küvette vereinigt.

Tab. 6: Zusammensetzung des Ansatzes in der Küvette für die D-Lactatbestimmung

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

Nach Herstellung des Ansatzes und einer Wartezeit von 5 min erfolgte die Messung der Extinktion (E_1) im Spectrophotometer bei 340 nm. Nach Zugabe von 0,01 mL D-LDH und einer Wartezeit von 45 min wurde die Extinktion erneut gemessen (E_2).

Berechnung

Der Gehalt an D-Lactat in mg/kg Probe wurde nach den Gleichungen 6, 7, 8 und 12 berechnet. Bei der D-Lactatbestimmung wurde jedoch ein anderes Testvolumen ($V = 0,810 \text{ mL}$) eingesetzt als bei der Bestimmung von L-Lactat (Gl. 7).

Berücksichtigung der Verdünnungsschritte:

$$D - \text{Lactat [mg/kg]} = \frac{VVD \times c \times GV}{EW} \times 1000 \quad \text{Gl. 12}$$

c....Konzentration [g/L]

VVD....Vorverdünnungsfaktor (Nassmais: 5; Quellwasser: 1)

GV....Gesamtvolumen der Verdünnung in mL (Nassmais: 1,4; Quellwasser: 100)

EW....Einwaage der Probe im Reagiergefäß bzw. im Messkolben in g

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

6.6.9 Quantifizierung von Methanol, Ethanol, Formiat, Acetat und Butyrat mittels HPLC

Diese Methode wurde beim Probenmaterial Nassmais eingesetzt.

Prinzip

Die einzelnen zu analysierenden Substanzen werden im Zuge der Probenvorbereitung extrahiert und mittels HPLC aufgetrennt und analysiert. Das Probenextrakt wird von der mobilen Phase (Laufmittel) durch die Säule transportiert, wobei die einzelnen Bestandteile der Probe aufgrund von Wechselwirkungen mit der stationären Phase (Trennsäule) unterschiedlich zurückgehalten werden. Die einzelnen Komponenten erscheinen zu verschiedenen Retentionszeiten am Ende der Säule, wo sie mit einem Detektor nachgewiesen werden.

Geräte

- Pumpe (HPG 580, Dionex, USA)
- Autosampler (Gina 50T, Dionex, USA)
- Detektor UV/VIS (UVDAD, Dionex, USA)
- Detektor RI (SE71, Shodex[®], Japan)
- Säulenofen (STH 585, Dionex, USA)
- Säule (HPX-87H AMINEX[®] Ion Exclusion, Bio-Rad Laboratories, 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
- Regiergefäß 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)
- Natriumformiat (1.06443.0500, Merck KGaA, D)
- Methanol (1.06007.2500, Merck KGaA, D)
- Ethanol (1.008983.2500, Merck KGaA, D)
- Buttersäure (19210, Fluka Chemie AG, CH)

Durchführung

Es folgte dieselbe Probenvorbereitung wie unter Kap. 6.6.3 „Probenvorbereitung für Nassmais“ mit dem Unterschied, dass der Überstand mit einer Einwegspritze mit aufgesetzter Einmalkanüle aus dem Reagiergefäß aufgezogen und über den 45 µm Spritzenvorfilter in ein HPLC-Vial überführt wurde. Das Vial wurde mit einer Verschlusskappe versiegelt und in den Autosampler gestellt.

Herstellung des Laufmittels (0,02 N Schwefelsäure)

20 mL der Schwefelsäure (1 N) wurden auf 2 L verdünnt.

Herstellung der Standardlösungen

Es wurde ein Mischstandard (Stammlösung) hergestellt, der alle zu analysierenden Komponenten (Acetat, Formiat, Methanol, Ethanol und Butyrat) in einer Konzentration von 10.000 mg/L enthielt. Nach dem in Tab. 7 angeführten Schema wurden weitere Verdünnungen hergestellt.

Tab. 7: Zusammensetzung des Ansatzes in der Küvette für die D-Lactatbestimmung

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

Das Injektionsvolumen betrug 20 μL und die Flussrate 0,6 mL min^{-1} bei einer Säulentemperatur von 65 °C. Als Laufmittel wurde Schwefelsäure (0,02 N) verwendet.

Die Detektion durch den UV/VIS-Detektor erfolgte für die organischen Verbindungen Acetat, Formiat und Butyrat bei 210 nm. Die Alkohole Ethanol und Methanol wurden durch den RI-Detektor bei 210 nm detektiert.

Auswertung

Die Auswertung wurde mithilfe der Software Chromeleon 6.0 durchgeführt, wobei für jede zu bestimmende Substanz eine Kalibrationsgerade mit einem Konzentrationsbereich von 10 - 1000 mg/L erstellt wurde. Es wurde die Fläche unter der Kurve integriert und die Konzentration ermittelt.

6.6.10 Bestimmung der Dichte

Diese Methode wurde beim Probenmaterial Quellwasser 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

Der Messzylinder wurde vor und nach Zugabe von 100 mL Probe mittels Vollpipette gewogen. Die Dichte wurde nach Gl. 13 berechnet.

Berechnung

$$\rho = \frac{(M_2 - M_1)}{V} \quad \text{Gl. 13}$$

ρDichte [g/cm³]

M_1 Masse des Messzylinders in g

M_2Masse des Messzylinders mit Probe in g

VVolumen der Probe in cm³

6.6.11 Bestimmung der Dichte nach Baumé mit einer Senkspindel

Diese Methode wurde im Zuge der Stärkeherstellung mit der Pilotanlage mit verschiedenen Suspensionen durchgeführt.

Prinzip

Eine nach Grad Baumé (°Bé) geeichte Senkspindel wird in die zu untersuchende Flüssigkeit eingetaucht. Nach dem archimedischen Prinzip taucht die Spindel tiefer in Flüssigkeiten mit geringerer Dichte als in Flüssigkeiten mit höherer Dichte.

Die Gradeinteilung des Baumé - Aräometers bezeichnet eine willkürliche Einteilung nach dem französischen Apotheker Antoine Baumé, die aber in der Industrie für Säuren, Alkalien, Salzlösungen und für die Charakterisierung von Stärkesirupen noch immer in Gebrauch ist, da die Baumé - Grade den Konzentrationen der Flüssigkeiten ungefähr proportional sind. Die Baumé - Skala ist in 67 Grade eingeteilt, wobei 67 °Bé einer Dichte von 1,867 g/mL entsprechen [73].

Geräte

- Baumé - Aräometer
 - 0 - 10 °Bé (H842 472, Greiner Glasinstrumente GmbH, D)
 - 10 - 20 °Bé (H842 474, Greiner Glasinstrumente GmbH, D)
 - 20 - 30 °Bé (H842 476, Greiner Glasinstrumente GmbH, D)
- Messzylinder 500 mL
- Thermometer
- Klimaschrank (KBW 240, Binder GmbH, D)

Durchführung

Die Probe wurde auf 15 °C temperiert, in den Messzylinder gelehrt und die Spindel eingetaucht. Es wurde darauf geachtet, dass diese den Rand des Gefäßes nicht berührt. Falls die Spindel bis auf den Boden abgesunken war, wurde eine Spindel mit einer niedrigeren Skalierung gewählt. Tauchte die Spindel nicht bis zur Skala ein, wurde auf die Spindel mit der nächsthöheren Skalierung gewechselt. Nachdem das Aräometer zum Stillstand gekommen war, wurde jener Wert abgelesen, bei welchem die Spindel die Flüssigkeitsoberfläche durchdringt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen dienten zur Einstellung des Produktionsverfahrens bei der Stärkeherstellung der einzelnen Pilotversuche und werden daher nicht separat aufgelistet. Die genauen Anwendungen und die daraus resultierenden Maßnahmen sind in der Versuchsdurchführung unter Kap. 8.3 angeführt.

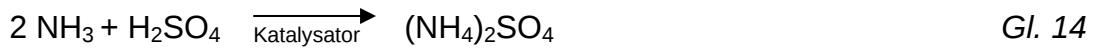
6.6.12 Bestimmung des Rohproteingehalts

Diese Bestimmung des Proteingehalts nach ZFT - Methode wurde beim Probenmaterial Stärke angewendet [74].

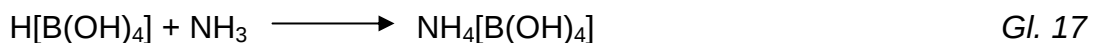
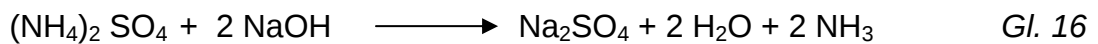
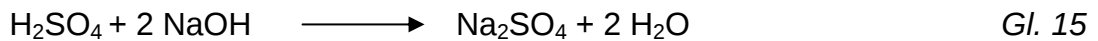
Prinzip

Der Kjeldahl - Aufschluss überführt Stickstoffverbindungen (Proteine, Amine, organische Verbindungen) in Ammoniumverbindungen. Aus diesen wird durch Zugabe von Lauge Ammoniak freigesetzt, mittels Destillation ausgetrieben und titriert.

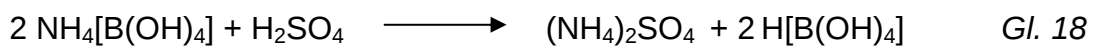
Durch Aufschluss in konzentrierter Schwefelsäure wird der Stickstoff unter Anwesenheit eines Katalysators in Ammoniak überführt. Ammoniak bildet mit der im Überschuss vorhandenen Schwefelsäure Ammoniumsulfat (Gl. 14).



Nach Zugabe von Natronlauge wird das Ammonium als Ammoniak ausgetrieben und in eine Borsäurevorlage eingeleitet wodurch Ammoniumborat entsteht nach Gl. 15, 16 und 17 [75].



Durch Titration mit Schwefelsäure erfolgt eine Verdrängung der schwächeren Borsäure wodurch die Umwandlung von Ammoniumborat in Ammoniumsulfat erfolgt (Gl. 18) [75]. Die überschüssige Säure führt zum Farbumschlag des Indikators.



Geräte

- Aufschlusskolben 250 mL
- Aufschlussapparatur (Digestion System 20, 1015 Digester, Foss Analytical A/S, DK)
- Destillationsapparatur (2300 Kjeltac Analyzer Unit, Foss Analytical A/S, DK)
- Schüttelapparatur
- Messkolben 100 mL, 5 L, 10 L
- Waage (Mettler PM400, Mettler GmbH, CH)
- Zange
- Vollpipetten 1mL, 5 mL, 10 mL, 50 mL
- Ultraschallbad (Bandelin Sonorex Longlife RK 255 CH, Bandelin electronic GmbH & Co. KG, D)

Reagenzien

- Aufschlusstablette aus Kaliumsulfat und Selen (Foss Tecator 15270003, Foss Analytical A/S, DK)
- Schwefelsäure 95 - 97 % (1.00731.2511, Merck KGaA, D)
- Natronlauge 37 % (Donau Chemie AG, A)
- Mischindikator 5 (1.06130.0250, Merck KGaA, D)
- Schwefelsäure 0,1 N Ampulle (1.09984.0001, Merck KGaA, D)
- Natriumsulfat (1.06649.1000, Merck KGaA, D)
- Borsäure (1.00165.1000, Merck KGaA, D)
- NaOH Plätzchen (1.06498.5000, Merck KGaA, D)
- Acetanilid (1.00011.0005, Merck KGaA, D)

Herstellung der Reagenzien

Standardlösung für die Wiederfindung

Es wurden $0,3 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$ Acetanilid in einen 100 mL Messkolben eingewogen, durch Zugabe von entionisiertem Wasser im Ultraschallbad gelöst und der Messkolben bis zur Markierung aufgefüllt.

Indikatorlösung

1 mL des Mischindikators wurde mit entionisiertem Wasser auf 500 mL verdünnt.

Receiver Solution

In einem 10 L Messkolben wurden $100 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$ Borsäure, 80 mL Mischindikatorlösung und $0,2 \text{ g} \pm 1 \text{ mg}$ NaOH Plätzchen in entionisiertem Wasser gelöst und anschließend bis zur Markierung aufgefüllt.

Schwefelsäure (0,02 N) für die Titration

Der Inhalt einer Ampulle wurde in einem Messkolben (5 L) geleert und dieser mit entionisiertem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt.

Natriumsulfatlösung

Es wurde eine Natriumsulfatlösung von 15 % hergestellt. 20 mL der Lösung wurden in einem 10 L Messkolben gegeben und dieser durch Zugabe von entionisiertem Wasser bis zur Markierung aufgefüllt. Die so hergestellte Lösung wurde in den Vorlagekanister für entionisiertes Wasser, welches zur Speisung des Dampfgenerators verwendet wird, gefüllt. Das Natriumsulfat dient zur Erhöhung der Leitfähigkeit.

Durchführung

Aufschluss

Es wurden 1 - 1,5 g $\pm$ 1 mg Probe in den Kjeldahlkolben eingewogen und jeweils zwei Aufschlusstabletten zugegeben. Als Standard wurden 10 mL Acetanilidlösung verwendet. Die Kolben wurden mit 20 mL konzentrierter Schwefelsäure versetzt und in den Heizblock der Aufschlussapparatur gestellt. Nach dem Aufsetzen der Absaugvorrichtung wurden die Kolben bis zum Klarwerden des Inhalts erhitzt, wobei diese für eine Mindestzeitspanne von 90 min gekocht wurde. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur wurden 50 mL Indikatorlösung zugesetzt und mittels Schüttelapparatur gut durchmischt.

Destillation und Titration

An der Destillationsapparatur wurden die Einstellungen 40 mL entionisiertes Wasser und 80 mL Natronlauge vorgenommen. Der Kjeldahlkolben wurde in die Destillationsapparatur eingeklemmt und die Messprogramme gestartet. Zusätzlich wurde die Einwaage der Probe in g (bezogen auf Trockensubstanz) ins Programm eingegeben. Diese wurde nach Gl. 19 berechnet. Die Destillation und Titration liefen kontinuierlich und vollautomatisch

ab. Es flossen jeweils 30 mL Receiver Lösung als Vorlage ins Titrationsgefäß. Die Titration erfolgte mittels 0,02 N Schwefelsäure bis zum Farbumschlag.

Berechnung

Der Proteingehalt wurde automatisch durch den Kjeltec berechnet. Falls andere Maßeinheiten oder Umrechnungsfaktoren erforderlich waren, wurden diese am Display eingestellt. Der Proteingehalt wurde nach den Gl. 20 und 21 berechnet.

$$EW(TS) = \frac{EW \times TS}{100} \quad \text{Gl. 19}$$

$$N(\%) \text{ i.T.} = \frac{(V_P - V_{BW}) \times N \times 14,007}{EW(TS) \times 1000} \times 100 \quad \text{Gl. 20}$$

$$\text{Protein}(\%) \text{ i.T.} = N(\%) \text{ i.T.} \times 6,25 \quad \text{Gl. 21}$$

$EW(TS)$Einwaage in g bezogen auf TS

EWEinwaage in g

TSTrockensubstanz in %

$N(\%) \text{ i. T.}$ Stickstoffgehalt in % bezogen auf TS

V_PTitrationsvolumen der Probe in mL

V_{BW}Titrationsvolumen des Blindwertes in mL

NNormalität der Säure

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

6.6.13 Viskositätsmessung nach Brookfield

Diese Bestimmung wurde beim Probenmaterial Stärke angewendet.

Prinzip

Die Brookfield Viskosität gibt die Viskositätsentwicklung beim Abkühlen eines aufgekochten Kleisters wieder. Die Viskosität wird charakterisiert durch den Widerstand der Flüssigkeit gegen die Kraft, die sie zum Fließen bzw. Rotieren bringt. In einer Probe dreht sich eine Spindel mit genau definierter Fläche mit einer bestimmten Drehzahl. Es wird das Drehmoment gemessen, das notwendig ist, um den Widerstand gegen diese eingeleitete Bewegung zu überwinden.

Geräte

- Brookfield Viskosimeter (DV-II+, Brookfield Engineering Laboratories, USA)
- Spindeln Nr. 1 - 5 (RV-Spindel Set, Brookfield Engineering Laboratories, USA)
- Becherglas 250 mL

Durchführung

Für die Viskositätsmessung nach Brookfield wurde der unter Kap. 6.6.4 hergestellte Kleister verwendet mit einem Stärkeanteil von 5 %. Abhängig von der Viskosität wurde die jeweilige Spindel am Brookfield montiert und deren Nummer am Display eingegeben. Nach Eingabe der Drehzahl von 100 min^{-1} wurde die Messung gestartet. Wenn am Brookfield eine Auslastung unter 10 % oder über 90 % festgestellt wurde, waren die Werte nicht mehr reproduzierbar und die Spindel wurde dementsprechend ausgetauscht. Die Viskosität des Kleisters wurde bei 80 °C und 50 °C bestimmt. Das Ergebnis wurde am Display in der Einheit Centripose [cP] abgelesen, welche der Einheit [mPa.s] entspricht.

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

6.6.14 Viskositätsmessung nach Brabender

Diese Bestimmung wurde beim Probenmaterial Stärke angewendet.

Prinzip

Das Verkleisterungsverhalten einer Stärkesuspension wird kontinuierlich während des Ablaufs eines standardisierten Temperaturprogramms gemessen. Der Slurry wird in einem rotierenden Messtopf mit Stiften kontrolliert aufgeheizt und wieder abgekühlt. Ein in die Probe ragender Messfühler wird entsprechend der Viskosität der Probe im Messtopf ausgelenkt. Diese Auslenkung wird als Drehmoment gemessen und in Brabendereinheiten ausgedrückt.

Geräte

- Brabender® Viskograph-E (802525010, Brabender® OHG, D)
- Umlaufkühler (FC600S, Julabo Labortechnik GesmbH, D)
- Auswertesoftware (Viskograph V 2.4.7 und Data correlation V 2.1.4, Brabender® OHG, D)
- Waage (LE 4202S, Sartorius AG, D)
- Becherglas 600 mL

Durchführung

Folgende Einstellungen wurden am Display des Messprogramms eingegeben:

- Heiz-/Kühlrate: $1,5\text{ °C min}^{-1}$
- Obere Haltezeit: 30 min
- Starttemperatur: 30 °C
- Maximaltemperatur: 95 °C
- Endtemperatur: 30 °C
- Endhaltezeit: 5 min

Es wurden $480 \pm 0,01$ g Slurry mit einem Stärkeanteil von $30 \pm 0,01$ g, bezogen auf die Trockensubstanz, hergestellt. Die nach Gl. 22 berechnete Probenmenge wurde in ein Becherglas eingewogen und mit entionisiertem Wasser auf $480 \pm 0,01$ g ergänzt. Der Slurry wurde gut durchmischt sowie aufgerührt, vollständig in den Brabendermesstopf geleert und die vollautomatische Messung gestartet. Die Messung wurde bei einem Drehmoment von 250 cmg durchgeführt.

Berechnung

$$EW = \frac{100 \times 30}{TS} \quad \text{Gl. 22}$$

EW....Einwaage der Stärke in g

TS....Trockensubstanz der Probe in %

Es folgte eine automatische Auswertung und graphische Darstellung durch das Messprogramm.

6.6.15 Herstellung von Maisstärke mithilfe der Pilotanlage

Die einzelnen Verfahrensschritte und die Durchführung sind im Kap. 8.3 zusammengefasst.

Die in der Pilotanlage verwendeten Geräte sowie deren Hersteller sind unter Kap. 6.5 angegeben.

7 Entwicklung eines Versuchsmodells zur Lagerung im Labormaßstab

Für die Versuche im Labormaßstab wurde ein Modell entwickelt, welches eine Anwendung von Wirkstoffen im Rahmen einer Lagerung von Nassmais ermöglicht. Es wurden verschiedene, die Lagerung beeinflussende, Faktoren variiert und deren Auswirkungen beobachtet. Zur besseren Nachvollziehbarkeit der resultierenden Maßnahmen sind die Ergebnisse dieser Vorversuche hier angeführt.

7.1 Bestimmungen der Untersuchungsparameter

Grundsätzlich ist ein unkontrollierter Eintrag von Mikroorganismen jeglicher Art in die Produktionsstätte von Lebensmittelbetrieben unerwünscht und führt längerfristig zu Komplikationen, die Maßnahmen im Hygienebereich erfordern. In Maisstärkefabriken wird bei der Verwendung von Nassmais als Rohstoff immer wieder verstärkte Lactatkonzentrationen in den Haupt- und Nebestoffströmen beobachtet. Durch die Produktrückführungen und Prozesswasserkreisläufe während der Produktion werden Milchsäurebakterien im Betrieb verteilt und der frisch in die Verarbeitung gelangte Rohstoff wird angeimpft.

Da die Wirksamkeit dieser Wirkstoffe auf Basis von Hopfensäuren, Harzsäuren und Myristinsäure in der Zuckertechnologie und Ethanolproduktion, im speziellen gegen Milchsäurebakterien, bestätigt werden konnten, wurde die Bestimmung ihrer primäre Gärprodukte (L- und D-Lactat) als Indikatoren für mikrobielle Aktivitäten in Nassmais gewählt. Zusätzlich wurde zur Kontrolle der pH-Wert beobachtet, um Hinweise auf eine Absenkung durch die gebildeten Gärprodukte zu erhalten. Milchsäurebakterien vergären Zucker sehr rasch und säuern das Medium dabei an. Dieser saure pH-Wert verhindert das Wachstum von um den Zucker konkurrierenden Bakterien [63].

Als weiterer Untersuchungsparameter wurde die Trockensubstanz festgelegt, um Anhaltspunkte bezüglich Trockensubstanzverluste durch CO₂-Produktion zu erhalten.

7.2 Lagersilos im Labormaßstab

Da Maislagersilos weitgehend abgeschlossene, anaerobe Systeme darstellen, wurden zur Simulation im Labor Einweckgläser mit einer maximalen Füllmenge von 1 L verwendet. Diese Gläser sind mittels Spannverschluss und Dichtungsring luftdicht verschließbar.

7.3 Festlegung der Zeitspanne einer Lagerung

Nassmais sollte rasch nach der Ernte verarbeitet werden, um mikrobielle Aktivitäten und Trockensubstanzverluste zu limitieren.

Zum einen muss im großtechnischen Maßstab eine kontinuierliche Versorgung mit Nassmais sichergestellt werden, um den Produktionsablauf nicht zu unterbrechen und daraus resultierend, wirtschaftliche Nachteile erzielt werden. Darum wird während der Nassmaiskampagne eine Vermahlungsmenge von mehreren Tagen in Maissiloanlagen am Fabrikgelände gelagert [76]. Zum anderen sind die Verarbeitungskapazitäten der Fabriken beschränkt, wodurch die Lagerdauer mehrere Tage betragen kann.

Die Lagerung der Probenansätze wurde mit drei Tagen festgelegt, wobei nach einem, zwei und drei Tagen eine Untersuchung der Ansätze erfolgte.

7.4 Ermittlung der Aufbringungsmenge an Wirkstofflösung

Es musste ein optimales Verhältnis zwischen der Maismenge und der aufzutragenden Menge an Wirkstofflösung gefunden werden, welches einerseits eine möglichst effiziente Aufbringung der Wirkstoffe und andererseits eine nicht zu hohe Feuchtigkeitsbelastung des Nassmaises gewährleistet. Eine zusätzlich zur Feuchtigkeit des Nassmaises bedeutende Flüssigkeitsmenge würde den a_w -Wert im System erhöhen wodurch Stoffwechselaktivitäten von Mikroorganismen gefördert würden.

Hierzu wurden Sprühversuche mittels Zerstäuberfläschchen durchgeführt. Es wurde jeweils dieselbe Menge Mais in einen Rundeimer eingewogen und mit Hilfe des Zerstäuberfläschchens wurden unterschiedliche Mengen an Wirkstofflösung auf den Mais aufgesprüht. Zwischendurch wurde der Mais immer wieder durch Schüttelbewegungen vermischt, um eine gleichmäßige Verteilung der Verdünnung sicherzustellen. Eine Aufbringungsmenge von 10 g Verdünnung pro kg Nassmais wurde festgelegt.

7.5 Bestimmung der Maisfüllmenge im Laborsilo

Aufgrund der hohen Nährstoffansprüche von Milchsäurebakterien und der Energiegewinnung über die Gärung findet man diese aerotoleranten Bakterien bevorzugt an Standorten mit reichem Substratangebot bei gleichzeitigem Mangel an Sauerstoff [63].

Um die Wachstumsbedingungen von Milchsäurebakterien im Einweckglas zu untersuchen, wurde der Einfluss des aeroben Kopfraumvolumens auf die Milchsäureproduktion beobachtet.

Hierzu wurden drei Einweckgläser mit Maismengen von 300, 500 und 600 g befüllt und für 44 h bei 40 °C im Klimaschrank gelagert. Zusätzlich wurden drei weitere Einweckgläser mit denselben Maismengen befüllt und mit jeweils 500 ppm THI- α -Säuren mit der unter Kap. 7.4 ermittelten

Aufbringungsmenge besprüht. Die Behandlung mit THI- α -Säuren im Rahmen dieses Versuchs wurde durchgeführt, um die prinzipielle Wirksamkeit von Wirkstoffen gegen Milchsäurebakterien bei der Maislagerung zu überprüfen. Eine sehr hohe Konzentration von 500 ppm THI- α -Säuren müsste einen deutlich merkbaren, hemmenden Effekt auf die Lactatproduktion im Nassmais ausüben. In Abb. 12 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Diese Untersuchung wurde in Doppelbestimmung durchgeführt, angegeben ist jeweils der Mittelwert aus diesen Einzelbestimmungen.

Die Bestimmung des L-Lactats im gelagerten Nassmais mittels Yellow Springs Test zeigte nach einer Lagerung von 44 h ein direkt proportionales Verhältnis der Maisfüllmenge zur nachgewiesenen L-Lactatkonzentration. Bei den mit THI- α -Säuren behandelten Proben konnte durch die hohe Konzentration des Wirkstoffs kaum ein Unterschied der L-Lactatkonzentration zwischen den jeweiligen Füllmengen festgestellt werden. Somit konnte die prinzipielle Wirksamkeit von THI- α -Säuren gegen die Produktion von L-Lactat im Bereich der Nassmaislagerung bestätigt werden.

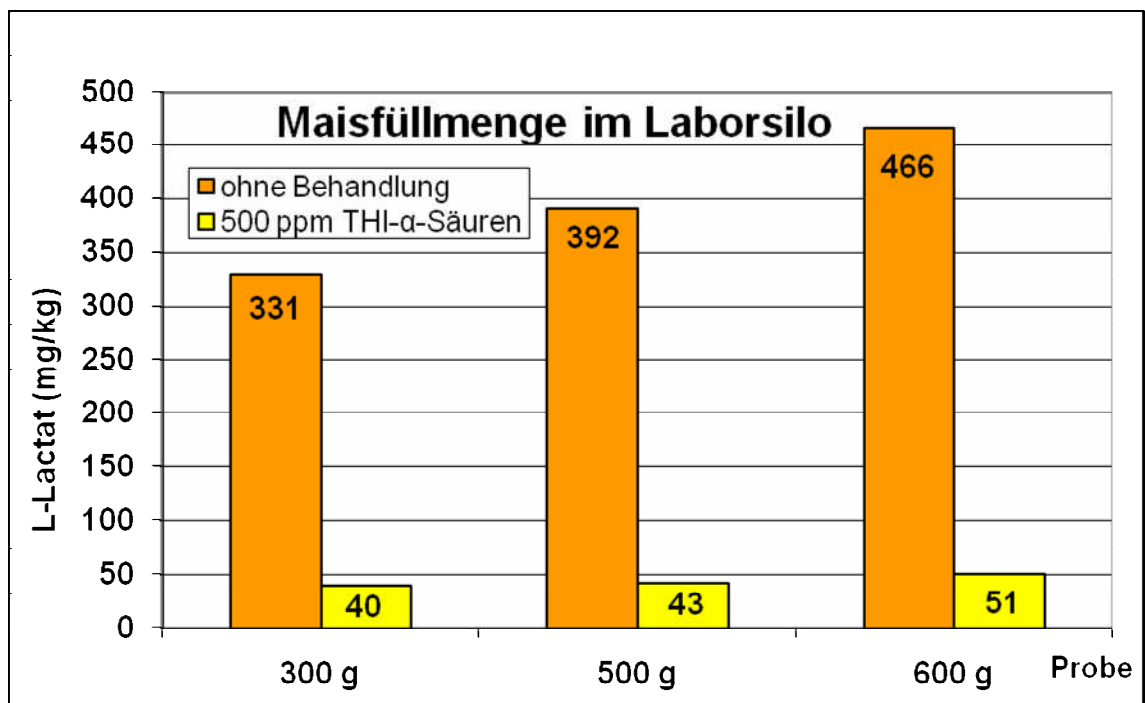


Abb. 12: Auswirkung der Maisfüllmenge im Einweckglas auf die L-Lactatkonzentration

Alle nachfolgenden Versuche wurden mit Maisfüllmengen von 600 g durchgeführt, um das Kopfraumvolumen des Einweckglases so klein wie möglich zu halten. Ein kleines Kopfraumvolumen bedeutet eine geringe Ausgangskonzentration an Sauerstoff im Laborsilo, wodurch der Stoffwechsel von Milchsäurebakterien begünstigt wird.

7.6 Bestimmung der Lagertemperatur

Über die tatsächlichen klimatischen Gegebenheiten im Innenraum eines Maislagersilos gibt es kaum genaue Aufzeichnungen. Die Temperatur dürfte sich im mitteleuropäischen Raum in Bereichen, je nach Witterung, zwischen 20 - 40 °C bewegen. Abhängig vom Feuchtigkeitsgehalt des Maiskorns bei der Ernte folgt nach kurzer Lagerzeit eine Spontanerhitzung auf Grund von mikrobiellen Aktivitäten [36]. Durch die freiwerdende Reaktionswärme im Maissilo wären durchaus auch höhere Temperaturen vorstellbar.

Generell wird von einer Lagerung über 25 °C abgeraten, da dies zu einem Verlust von nutritiven Bestandteilen führt [56 - 57].

Zur Festlegung der Temperatur der nachfolgenden Testserien im Labormaßstab wurde ein Temperaturstufenversuch durchgeführt. Einweckgläser wurden mit 600 g Mais befüllt und für 64 h bei 30, 40 oder 50 °C bebrütet.

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

In Abb. 13 sind die Ergebnisse graphisch dargestellt. Als Gesamtlactat wird die Summe aus L- und D-Lactat bezeichnet.

Die Ergebnisse der enzymatischen Bestimmungen von L- und D-Lactat nach ICUMSA zeigten, dass die höchste Milchsäurekonzentration bei der niedrigsten Lagertemperatur zu finden war. Die Arten der Milchsäurebakterien, die sich durchsetzen sind unter anderem von der Ausgangsflora im Mais und der Umgebungstemperatur abhängig.

Die höchste Milchsäurekonzentration wurde in der 30 °C Probe mit 905 mg/kg Nassmais nachgewiesen, gefolgt von der 40 °C Probe mit 420 mg/kg. Bei einer Temperatur von 30°C konnte sich ein weites Spektrum an mesophilen Milchsäurebildnern etablieren, während bei höheren Temperaturen eine stärkere Selektion erfolgt.

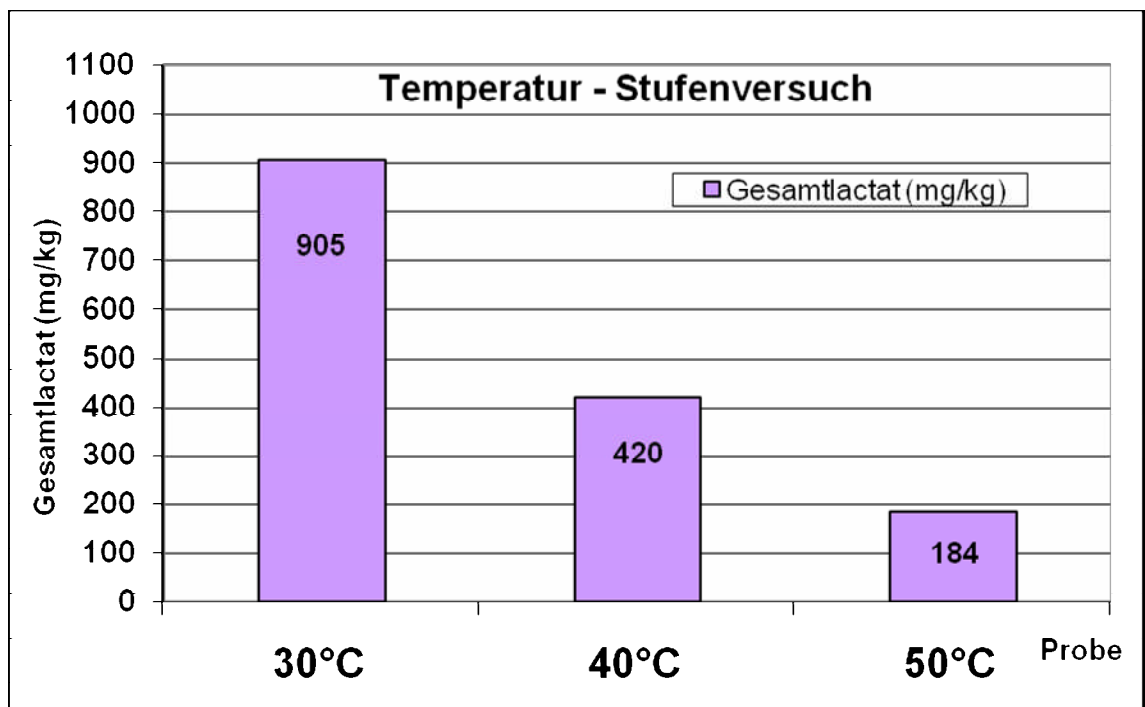


Abb. 13: Einfluss der Lagertemperatur auf den Lactatgehalt nach 64 h Lagerung

Aufgrund der hohen Milchsäurekonzentrationen bei den 30 und 40 °C Serien wurden alle Versuchsserien der nachfolgenden Hauptversuche bei diesen beiden Temperaturen durchgeführt.

7.7 Konzentrationen der zugesetzten Wirkstoffe

Die Einschätzung der benötigten Konzentrationen an Wirkstoffen, um eine Hemmung der Milchsäurebildung bei der Maislagerung zu erzielen, erfolgte anhand von Erfahrungswerten aus der Ethanol- und Zuckerindustrie. In Gärmaischen unterdrücken die Hopfenbitterstoffe THI- α -Säuren und Iso- α -Säuren das Wachstum von ausgewählten Lactobacillus Stämmen und die Milchsäurebildung bereits in ppm - Bereichen [20]. Auch aus der Zuckerindustrie ist bekannt, dass bereits geringe Konzentrationen an Wirkstoffen hemmende Wirkung auf Milchsäurebakterien aufweisen [3]. Die Wirkung von 500 ppm THI- α -Säuren auf Milchsäurebildner bei der Nassmaislagerung, konnte bereits unter Kap. 7.5 aufgezeigt werden.

Die Wirkstoffe THI- α -Säuren, Hopfen- β -Säuren, Iso- α -Säuren, Harzsäuren, Myristinsäure und RoMy8 : 2 wurden in verschiedenen Wirkstoffkonzentrationen von 5 - 100 ppm in den jeweiligen Versuchsserien von 30 und 40 °C eingesetzt. Der Versuchsplan in Kap. 8.1 gibt eine genaue Übersicht über die einzelnen bei den Versuchen eingesetzten Konzentrationen an Wirkstoffen.

8 Versuchsdurchführung

8.1 Versuche im Labormaßstab

Tab. 8 gibt eine Übersicht über die eingesetzten Konzentrationen der Wirkstoffe, die Lagerbedingungen und durchgeführten Methoden der Nassmaislagerversuche im Labormaßstab. Eine mit „x“ gekennzeichnete Spalte bedeutet, dass die jeweilige Bestimmung in der Versuchsserie durchgeführt wurde. Alle im Versuchsplan aufgelisteten Versuche wurden mit Nassmais aus der ersten Charge durchgeführt. Die Zusammensetzung bzw. Kennzeichen der beiden Nassmaischargen wurden unter Kap. 6.1 beschrieben.

Tab. 8: Versuchsplan der Nassmaislagerversuche im Labormaßstab

Untersuchung	THI- α -Säuren		Iso- α -Säuren		Hopfen- β -Säuren		Harz-säuren		Myristin-säure		RoMy 8 : 2	
Lagertemperatur (°C)	30	40	30	40	30	40	30	40	30	40	30	40
Lagerdauer (h)	21 44 66	21 44 66	21 44 66	21 44 66	21 44 66	21 44 66	21 44 66	21 44 66	21 44 66	21 44 66	21 44 66	21 44 66
Wirkstoff-konzentration (ppm)	5 10 25 50 100	5 10 25 50 100	5 10 25 50 100	5 10 25 50 100	5 10 25 50 100	5 10 25 50 100	10 100	10 100	10 100	10 100	10 100	10 100
L-Lactat (Yellow Springs Test)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
L-Lactat (ICUMSA)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
D-Lactat (ICUMSA)	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Methanol, Ethanol, Acetat, Formiat, Butyrat (HPLC)	x											
pH-Wert	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Trockensubstanz	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

Der in gefrorenen Zustand aufbewahrte Nassmais wurde im Trockenschrank bei 33 °C für fünf Stunden in verschlossenen Rundeimern aufgetaut. Durch regelmäßige Schüttelbewegungen wurde die gesamte Maismasse bewegt und es wurde darauf geachtet, dass die Temperatur des Maises Raumtemperatur nicht überschritten hat. Anschließend wurden 600 ± 0.01 g Mais in einen Rundeimer eingewogen und mit $6 \pm 0,001$ g der Wirkstofflösung in der zuvor hergestellten Verdünnung mittels Zerstäuberfläschchen besprüht. Zwischendurch wurde der Mais immer wieder durch Rührbewegungen vermischt, um eine effiziente und gleichmäßige Aufbringung der Wirkstofflösung zu gewährleisten. Danach wurde der Mais in ein Einweckglas übergeführt, dieses luftdicht verschlossen und in den Klimaschrank bei der jeweiligen Temperatur für eine zuvor definierte Zeitdauer gestellt. Abb. 14 zeigt die Lagerung von Nassmais in Laborsilos im Klimaschrank.



Abb. 14: Lagerung von Nassmais im Klimaschrank

Die einzelnen Laborsilos wurden bis Ablauf der Zeitdauer nicht geöffnet. Somit wurde für jede einzelne Wirkstoffkonzentration und Zeitdauer ein eigener Ansatz hergestellt. Für eine Probenentnahme wäre das Öffnen des Einweckglases nötig gewesen und damit verbunden ein Einbringen von Sauerstoff in das weitgehend anaerobe System. Zudem wurden alle Ansätze einer Versuchsserie am selben Tag mit auf einmal aufgetauten Nassmais bereitet, um gleiche Ausgangsbedingungen für die Entwicklung der Mikroorganismen in allen Laborsilos einer Versuchsserie zu schaffen.

8.2 Weiterführende Versuche mit verlängerter Lagerzeit im Labormaßstab

Nach Auswertung der Untersuchungsergebnisse der mit Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 durchgeführten Versuchsserien wurden weiterführende Versuche mit diesen Wirkstoffen vorbereitet. Für die Durchführung der geplanten Versuche reichte jedoch die Menge an vorhandenem Nassmais aus der ersten Charge nicht aus und es wurde Nassmais aus der zweiten Charge verwendet.

Aufgrund von uneinheitlichen Untersuchungsergebnissen nach der Auswertung erster Versuchsserien mit Nassmais der zweiten Charge wurden weitere Versuchsserien mit längerer Lagerzeit mit diesem Nassmais durchgeführt. Hierzu wurde der Nassmais unbehandelt in Laborsilos gefüllt und die Lactatkonzentrationen nach ICUMSA über zwei Wochen in regelmäßigen Abständen bestimmt, jeweils in einer Versuchsserie bei 30 und 40 °C.

Die einzelnen Laborsilos wurden bis zum Ablauf der Zeitdauer nicht geöffnet. Es wurde für jede einzelne Produktkonzentration und Zeitdauer eine eigener Ansatz hergestellt.

8.3 Versuche im Pilotmaßstab

Tab. 9 gibt eine Übersicht über die durchgeführten Pilotversuche, die verwendeten Materialien sowie die Versuchsbedingungen und Behandlungen.

Tab. 9: Versuchsbedingungen der Pilotversuche

Pilotversuch	1	1a		2		3	4
Nassmais	Frish	Frish		Frish		Gefroren	Gefroren
	2. Charge	2. Charge		2. Charge		2. Charge	2. Charge
Quellwasser	Nassmais-kampagne	Kein Bedarf		Nassmais-kampagne		Trockenmais-kampagne	Trockenmais-kampagne
	1. Charge			1. Charge		2. Charge	2. Charge
THI- α -Säuren (ppm)	0	0		100		25	0
Besprühen mit Wasser bzw. THI- α -Säuren	Nein	Ja		Ja		Ja	Ja
Lagerdauer (h)	18	18	48	18	48	48	48
Lagertemperatur (°C)	20	4	40	4	40	40	40
Herstellung von Stärke	Ja	Nein		Ja		Ja	Ja

Für die Durchführung einer Nassmaisaufarbeitung zu Maisstärke mit Hilfe der Pilotanlage wurde eine Mindestmenge von 100 kg Nassmais benötigt.

Insgesamt wurden fünf Pilotversuche durchgeführt, wobei bei vier der Mais zu Stärke aufgearbeitet wurde. Alle Pilotversuche wurden mit Nassmais aus der zweiten Charge durchgeführt. Für die Pilotversuche 1, 1a und 2 wurde frischer, das heißt nicht zuvor gefrorener Nassmais verwendet. Die Pilotversuche 3 und 4 wurden mit gefroren gelagerten Nassmais durchgeführt.

Da sich THI- α -Säuren in den vorhergehenden Laborversuchen von allen getesteten Wirkstoffen am besten bewährt haben, wurde nur diese in zwei unterschiedlichen Konzentrationen (Pilotversuche 2 und 3) eingesetzt.

Da es nicht möglich war, zwei verschiedene Versuchsansätze parallel zur Quellung anzusetzen, wurde der unbehandelte Nassmais des Pilotversuchs 1 direkt am nächsten Tag nach Abholung von der Firma Johann Fischer GmbH & Co KG zur Quellung angesetzt. Über Nacht wurde dieser Nassmais für 18 h bei 20 °C gelagert.

Der Nassmais für den Pilotversuch 2 wurde nach 18 h Aufbewahrung bei 4 °C im Kühlraum mit THI- α -Säuren behandelt und für 48 h bei 40 °C gelagert.

Um eine Lagerung des Nassmaises auch beim Pilotversuch 1 zu simulieren, wurde zusätzlich Pilotversuch 1a angesetzt. Dieser Nassmais wurde mit entionisiertem Wasser (entsprechend der Menge der Wirkstofflösung) behandelt und anschließend für 48 h bei 40 °C gelagert. Ziel dieses Versuches war es generell den Milchsäurezuwachs von unbehandeltem frischem Nassmais zu beobachten. Bei Pilotversuch 1a wurde jedoch keine Stärkeaufarbeitung durchgeführt.

Für die Quellung der Maiskörner wurde bei den Pilotversuchen 1 und 2 dasselbe Quellwasser aus der ersten Charge eingesetzt, während bei den Versuchen 3 und 4 Quellwasser aus der zweiten Charge und somit aus der Trockenmaiskampagne verwendet wurde.

Tab. 10 gibt eine Übersicht über die durchgeführten Methoden mit den verwendeten Rohstoffen bzw. erhaltenen Materialien aus den Pilotversuchen. Eine mit „x“ gekennzeichnete Spalte bedeutet, dass die jeweilige Bestimmung in der Versuchsserie durchgeführt wurde.

Vorweg wird darauf hingewiesen, dass das Einfrieren von Nassmais über einen längere Zeitspanne einen Verlust an Milchsäurebildnern mit sich bringt. Aus diesem Grund ist ein direkter Vergleich zwischen den Pilotversuchen nur sehr bedingt möglich.

Tab. 10: Durchgeführte Analysen mit den Materialien aus den Pilotversuchen

Untersuchung	Nassmais/ gequollener Mais	Quell- wasser	Stärke	Slurry	Kleister
Feuchtigkeitsgehalt			x		
Feuchtigkeitsgehalt (Infrarottrocknung)	x	x			
pH-Wert	x	x		x	x
Leitfähigkeit		x		x	
L-Lactat (Yellow Springs Test)	x	x			
L-Lactat (ICUMSA)	x	x			
D-Lactat (ICUMSA)	x	x			
Dichte		x			
Rohproteingehalt			x		
Viskositätsmessung (Brookfield)					x
Viskositätsmessung (Brabender)				x	

8.3.1 Auftauen von Nassmais für die Pilotversuche

Der für Pilotversuche 3 und 4 benötigte Nassmais wurde bis zu seiner Verwendung in einem Gefrierraum in Kunststoffsäcken bei - 18 °C gelagert. Um ein schonendes Auftauen herbeizuführen, wurde der Mais in Rundeimern (33 L) umgefüllt und diese anschließend für 24 h verschlossen, in einen Kühlraum bei 4 °C aufbewahrt. Danach wurde der Mais für weitere zwölf Stunden bei Raumtemperatur gelagert, wodurch ein vollständiges Auftauen erreicht wurde. Die Maiskörner wurden in regelmäßigen Abständen durch Umrühren durchmischt.

8.3.2 Behandlung des Nassmaises mit Hopfenprodukten

Wie bei den Versuchen im Labormaßstab (Kap. 7.4) wurde eine Aufbringungsmenge von 10 g Wirkstofflösung oder entionisiertem Wasser pro kg Nassmais eingesetzt.

Die Gesamtmenge an Nassmais eines Pilotversuchs wurde auf mehrere Etappen aufgeteilt, in eine Mischmaschine eingefüllt und mittels einer Pestizidspritze mit der jeweiligen Menge an Lösung besprüht. Die aufzubringende Wirkstofflösung wurde zuvor gravimetrisch im 2 L Becherglas hergestellt und die Menge nach dem Gewicht der jeweiligen Chargenaufteilung in die Pestizidspritze eingefüllt. Durch die Rührbewegung der Mischmaschine wurde eine gleichmäßige Verteilung der Verdünnung auf den Maiskörnern erreicht. Abb. 15 zeigt die Behandlung des Nassmaises mit Hopfenprodukten.



Abb. 15: Besprühen des Nassmaises mit Hopfenprodukten

8.3.3 Lagerung von Nassmais im Pilotmaßstab

Der Nassmais wurde in Rundeimern (33 L) verschlossen im Trockenschrank bei einer Temperatur von 40 °C gelagert. Die Lagerung bei 4 °C und 20 °C wurde bereits unter Kap. 8.3 besprochen. Abb. 16 zeigt die Lagerung von Nassmais im Pilotmaßstab im Trockenschrank.



Abb. 16: Lagerung von Nassmais im Trockenschrank

8.3.4 Quellung

Die für die Quellung benötigten Anlagen sowie die Bestandteile der Pilotanlage zur Maisstärkeherstellung befinden sich im Technikum der Zuckerforschung Tulln GmbH über zwei Stockwerke aufgeteilt. Die Versuche im Pilotmaßstab wurden unter Mithilfe erfahrener Mitarbeiter der Zuckerforschung Tulln GmbH durchgeführt.

Für einen Versuchsansatz wurden $100 \pm 0,05$ kg Nassmais mit 100 L Quellwasser und $208 \pm 0,01$ g Natriumbisulfitlösung (40 %) im Quellbottich vereinigt. Der Trockensubstanzgehalt des Quellwassers wurde zuvor auf ca. 8 % mit Leitungswasser eingestellt und dieses auf 50 °C temperiert. Der pH

des Quellwassers wurde gegebenenfalls mit Salzsäure (33 %) auf pH 4 gestellt. Abb. 17 zeigt den Mais und das Quellwasser vereint im Quellbottich.



Abb. 17: Blick in den Quellbottich

In der Regel erfolgt die Quellung in einer Maisstärkefabrik im Gegenstrom, wobei zuerst frischer Mais auf das älteste Quellwasser trifft. Der Quellprozess bei der Pilotanlage wurde batchweise betrieben. Um aber die Verhältnisse einer Gegenstromanlage zu simulieren, wurde zu Beginn der Quellung Quellwasser aus der Endphase dieses Prozesses von der Maisstärkefabrik AGRANA Stärke GmbH in Aschach eingesetzt, welches im Laufe der Quellung mit der wässrigen Natriumbisulfitlösung versetzt wurde.

In den ersten 24 h der Quellung wurden 100 L Leitungswasser und $1,8 \text{ kg} \pm 0,01 \text{ g}$ Natriumbisulfitlösung mit der Laborschlauchpumpe dem Quellbottich zu dosiert. In den nachfolgenden 24 h wurden weitere 50 L Leitungswasser mit $0,8 \text{ kg} \pm 0,01 \text{ g}$ Natriumbisulfitlösung dem Quellprozess zugeführt. Der pH-Wert des Quellwassers wurde im Verlauf der Quellung immer wieder kontrolliert und gegeben falls mit Salzsäure auf pH 4 korrigiert. Die konstante Temperierung des Quellwassers auf 50°C wurde durch Zirkulation des Quellwassers über einen Plattenwärmeaustauscher

erreicht. Die Quellung wurde nach 48 h durch Abschalten der Zirkulationspumpe des Wärmetauschers und Ablassen des Quellwassers abgebrochen.

8.3.5 Weitere Verarbeitung zu Stärke

Die Durchführung eines Versuchs vom Ansetzen der Quellung bis zum Erhalt der getrockneten Stärke wurde nach Methode der ZFT durchgeführt [77], wobei jeweils ein Zeitrahmen von fünf Tagen benötigt wurde. Die einzelnen Verarbeitungsschritte von der Maisquellung bis zur Stärketrocknung sind im Fließschema in Abb. 18 dargestellt.

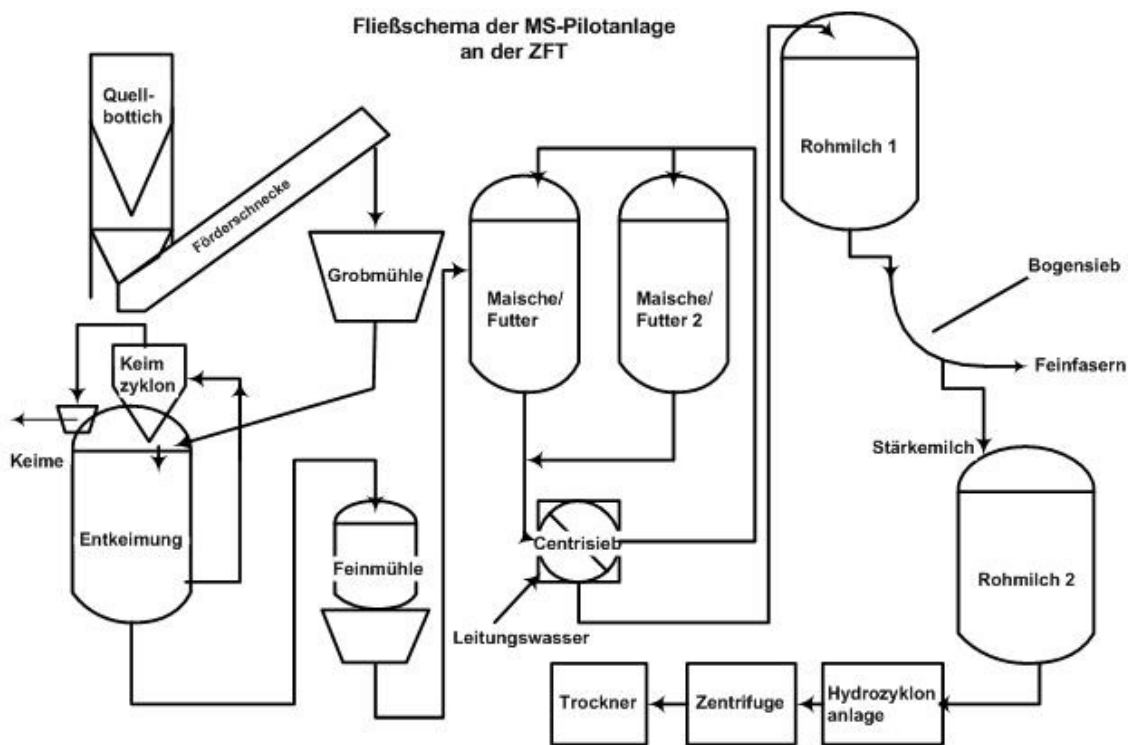


Abb. 18: Fließschema – Maisstärke Pilotanlage Zuckerforschung Tulln [27]

8.3.6 Grobvermahlung

Mit der Förderschnecke wurden die gequollenen Maiskörner in die Zahnscheibenmühle eingebracht und bei 380 min^{-1} grob vermahlen. In Abb. 19 sind diese Installationen mit dem Quellbottich im Hintergrund dargestellt. Um einen kontinuierlichen Durchfluss der Maiskörner durch die Mühle sicherzustellen wurde das zuvor abgezogene Quellwasser diesem Prozess zu dosiert.



Abb. 19: Quellbottich mit Förderschnecke und Zahnscheibenmühle

8.3.7 Keimabtrennung

Die grob verriebenen Maiskörner wurden nach dem Mahlvorgang über einen Trichter mit befestigtem Schlauch aus dem ersten Stock des Technikums in einen Stahlbehälter (1 m^3) im Erdgeschoss geleitet. In diesem wurde die Dichte der Suspension unter Rühren mit warmem Leitungswasser auf $4,5^\circ \text{Bé}$ eingestellt. Anschließend wurde die Suspension mittels einer Kreispumpe über einen, an der Behälteroberseite, befestigten Zyklon geführt. Der Unterlauf wurde aus dem Zyklon direkt in den Stahlbehälter zurück geleitet. Der Oberlauf wurde in einem am Behälter befestigten Siebkorb gepumpt, wobei die Keime abgetrennt wurden und die Stärkemilch in den Behälter abfließen konnte. Abb. 20 zeigt die abgetrennten Keimlinge.



Abb. 20: Keimfraktion

8.3.8 Feinvermahlung

Anschließend wurde die Maische mit einer Schlauchpumpe in eine Stiftmühle befördert, in der das Material bei einer Drehzahl von 1500 min^{-1} fein vermahlen wurde. Danach wurde die Feinmaische in einen weiteren Stahlbehälter (1 m^3) gepumpt. Abb. 21 zeigt die für die Feinvermahlung verwendete Stiftmühle.



Abb. 21: Stiftmühle

8.3.9 Extraktion

Mittels eines Centrisiebes wurde das Futter, bestehend aus Schalen und Fasern, von der Stärkerohmilch abgetrennt. Der Siebkorb des Centrisiebes ist mit einem 125 μm Sieb bespannt. Die Maismaische wurde unter Zudosierung von Leitungswasser über das rotierende Sieb geführt. Die Beförderung der Maische und Rohmilch erfolgte durch Mohnopumpen und die des Futters mit einer Schlauchpumpe. Um eine möglichst vollständige Auswaschung des Futters zu erreichen wurde dieser Vorgang dreimal wiederholt. Es wurden knapp 1,8 m³ Stärkerohmilch mit einer Dichte von 1,5 °Bé gewonnen. Abb. 22 zeigt das Centrisieb.

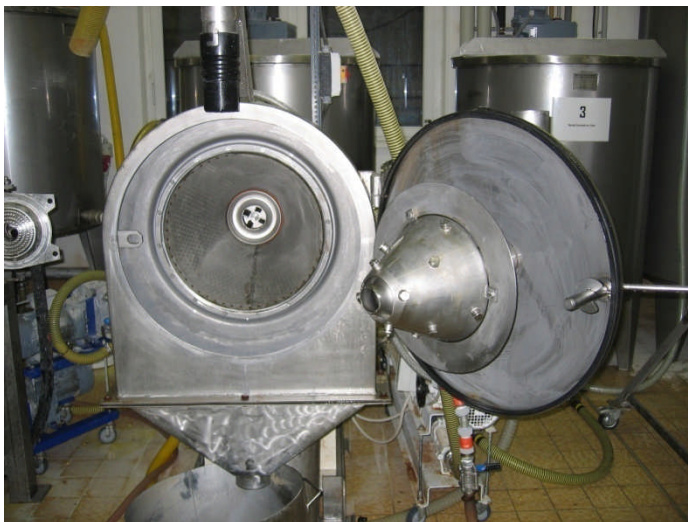


Abb. 22: Centrisieb

8.3.10 Feinfaserabtrennung

Bei der Feinfaserabtrennung wurden die Fasern, die durch das grobmaschigere Centrisieb durchgehen, abgetrennt. Dabei wurde die Stärkerohmilch über ein Bogensieb, welches mit einem 50 μm Schlitzsieb bespannt ist, geführt.

Die Rohmilch wurde mit einer Mohnopumpe über eine 5 mm Düse mit einem Druck von ca. 4,5 bar auf das Sieb aufgebracht. Die Stärkemilch wurde durch das Sieb gepresst während die Fasern, die an der Oberfläche des Siebes

verblieben, in den Überlauf gelangten. Ein Teil der Stärkemilch wurde mit den Fasern in den Überlauf gespült, der aus diesem Grund solange über das Sieb im Kreis gepumpt wurde, bis eine puddingartige Masse mit einem Volumen von ca. 10 L übrigblieb. Um einer Verlegung des Siebes entgegenzuwirken wurde das Sieb zwischendurch mit Leitungswasser gespült. Abb. 23 zeigt das Bogensieb und die sich oberhalb angeordnete Düse, die die Stärkemilch aufbringt.



Abb. 23: Bogensieb

8.3.11 Kleberabtrennung

Die Kleberabtrennung erfolgt aufgrund des Dichteunterschieds zwischen Protein und Stärke. Die Abtrennung wurde mit der Hydrozyklonanlage durchgeführt, wobei die Stärkerohmilch von ca. 1,5 °Bé auf ca. 8 °Bé aufkonzentriert wurde.

8.3.12 Aufkonzentrierung und Raffination

Für die Raffination wurde eine Konzentration der Stärkemilch von 16 °Bé benötigt, da erst bei dieser Eingangskonzentration eine optimale Reinigungsleistung der Hydrozyklonanlage erreicht wird. Dazu wurde die Stärkemilch von ca. 8 °Bé auf ca. 16 °Bé aufkonzentriert, wobei ein Volumen von 300 L/h entionisiertes Wasser als Waschwasser in den Prozess eingeleitet wurde. Sobald eine Konzentration der Stärkemilch von ca. 16 °Bé erreicht wurde, startete die eigentliche Raffination. Dabei wurden die Strömungsverhältnisse sowie die Konzentrationen im Unter- und Oberlauf konstant gehalten. Bei diesem Vorgang wurden 600 L/h entionisiertes Wasser als Waschwasser in die Hydrozyklonanlage eingebracht und eine Konzentration der Stärkemilch von ca. 19 °Bé erreicht. Ab dem Zeitpunkt konstanter Fahrweise wurde die Stärkemilch für 60 min über die Hydrozyklonanlage im Kreis gefahren. Anschließend wurde der Kreislauf unterbrochen, die Stärkemilch aus der Hydrozyklonanlage in einem 330 L Behälter geleitet und über Nacht stehen gelassen. Abb. 24 zeigt die Hydrozyklonanlage und den Sammelbehälter für die aufkonzentrierte Stärkemilch.



Abb. 24: Hydrozyklonanlage

8.3.13 Entwässerung und Trocknung

Nach Abdekantieren der Flüssigkeit über der abgesetzten Stärke wurde mit Hilfe eines Handrührwerks unter Zugabe von entionisiertem Wasser die Suspension zu einem Slurry aufgerührt. Der Slurry wurde in mehreren Etappen in die Zentrifuge bei 500 min^{-1} eingebracht und für 15 min bei einer Drehzahl von 1400 min^{-1} zentrifugiert. Der resultierende Stärkekuchen wurde im Trockner getrocknet, wobei die Lufteingangstemperatur bei ca. 160°C und die Ausgangstemperatur bei ca. 60°C lagen. Die erhaltene Stärke wurde in 33 L Rundeimer gefüllt. Abb. 25 zeigt die Zentrifuge und den Trockner.



Abb. 25: Zentrifuge (links) und Spin Flash Dryer (rechts)

Die gewonnenen Stärken wurden den nach in Tab. 10 aufgezeigten Analysen unterzogen.

9 Versuchsergebnisse und Diskussion

9.1 Nassmaislagerungen im Labormaßstab

Bei der Beurteilung der Wirkstoffe nach der Wirksamkeit gegen Mikroorganismen wie Milchsäurebakterien wurde jede zu einem verschiedenen Zeitpunkt bereitete Versuchsserie individuell betrachtet. Ein direkter Vergleich zwischen zwei Versuchsserien durch absolute Zahlen, beispielsweise von Lactatwerten, ist kaum möglich. So wurden in den Nullproben (Nullprobe bezeichnet das Material der Probenentnahme, bei dem entionisiertes Wasser anstelle einer Wirkstofflösung aufgesprüht wurde), bei der gleichen Temperatur und nach Ablauf derselben Zeitspanne Differenzen in der Lactatkonzentration von bis zu 274 % festgestellt. Die Gründe für die erheblichen Unterschiede in den bestimmten Parametern der Versuchsserien dürften in der stark unterschiedlichen Beschaffenheit des Ausgangsmaterials liegen. Eine ungleich starke und auf unterschiedliche Mikroorganismenstämme basierende Kontamination des Versuchsmaterials zu Versuchsbeginn dürfte die gesamte Entwicklung und Aktivität der Stämme beeinflussen. Ebenso stellen der Gefrierprozess generell und dessen Dauer Selektionskriterien für das Überleben und die Aktivitäten von Mikroorganismen dar.

9.1.1 Änderungen im pH-Wert

Die Bestimmung der pH-Werte konnte kaum Hinweise auf das Fortschreiten oder die Hemmung von Mikroorganismen im Rahmen einer Nassmaislagerung im Labormaßstab liefern. Unter anderem durch die Milchsäuregärung entwickelte sich ein saures Milieu im Mais, wodurch auch im Allgemeinen bei allen Versuchsserien nach einer Lagerdauer von 44 oder 66 h eine Absenkung des pH-Werts festgestellt wurde. Abweichungen zwischen den einzelnen Werten wurden jedoch nur in Zehntel- bzw. Hundertstelbereichen festgestellt. Somit dürfte die Lagerdauer zu kurz gewesen sein, um vermehrte Säurebildung über pH-Wert Absenkungen manifestieren zu können. In Abb. 26 ist der pH-Wert Verlauf der Versuchsserie THI- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C graphisch dargestellt.

Anhand der pH-Werte nach 21 aller Ansätze im Vergleich zum Wert der Nullprobe zum Zeitpunkt 0 ist der Einfluss der basischen Eigenschaft der Wirkstofflösung erkennbar. Der Zeitpunkt 0 entspricht dem Zeitpunkt direkt nach Herstellung eines Ansatzes, das heißt der Mais wurde mit entionisiertem Wasser oder einer Wirkstofflösung behandelt, aber noch nicht gelagert.

Bei näherer Betrachtung der Skalierung der y-Achse sind die geringen Unterschiede der einzelnen pH-Werte feststellbar. Trotzdem ist eine gewisse Startdynamik, vor allem zu Lagerbeginn in den Versuchsansätzen durch die Abfälle der pH-Werte erkennbar. Da diese schwachen Unterschiede in den pH-Werten keine Aussagen über die Wirksamkeit der einzelnen Konzentrationen der jeweiligen Wirkstoffe zulassen, wurden die Ergebnisse der pH-Wert Untersuchungen der restlichen Versuchsserien nicht näher diskutiert. Die einzelnen Ergebnisse der Versuchsserien sind den Tab. 11 und 12 zu entnehmen. Bei den Versuchsserien, wo Wirkstoffe eingesetzt wurden, wurden keine Ansätze für eine Analyse zum Zeitpunkt 0 bereitet. In der Tabelle sind diese durch „n. u.“ (nicht untersucht) angegeben. Die Ergebnisse der Nullproben sind cremefarben unterlegt.

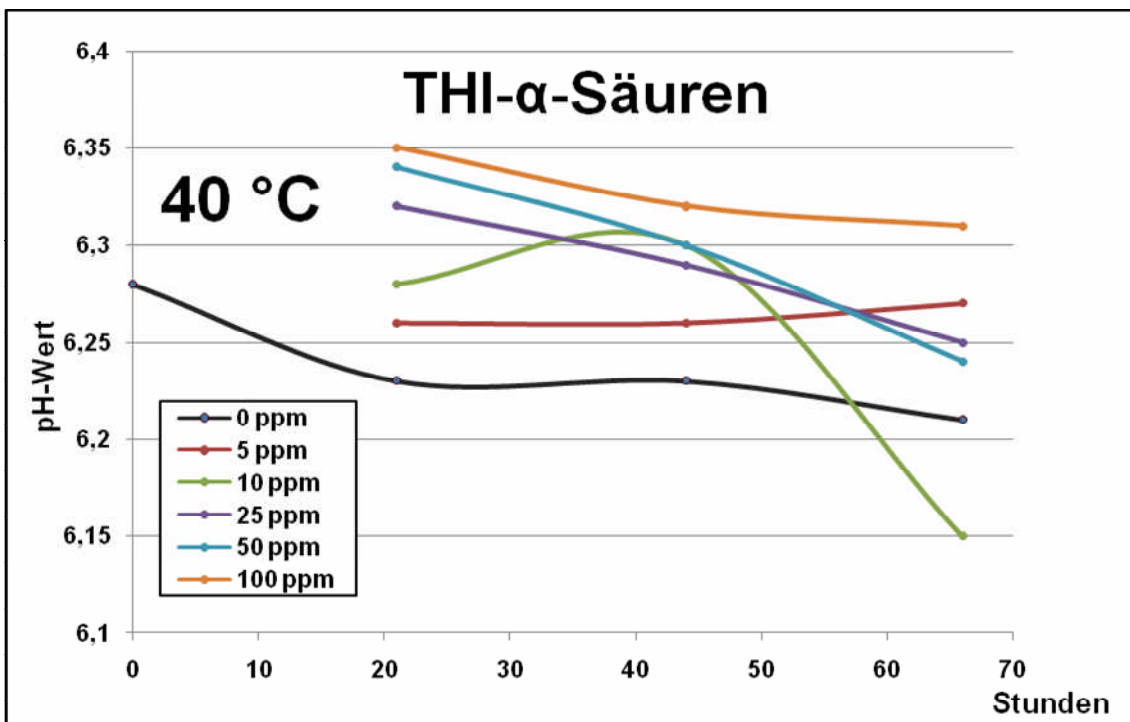


Abb. 26: pH-Wert Verlauf der Versuchsserie THI-α-Säuren bei 40 °C

Tab. 11: pH-Werte der Versuchsreihen mit THI- α -Säuren, Iso- α -Säuren und Hopfen- β -Säuren

Lagertemperatur 30 °C		THI- α -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
	21	6,10	6,16	6,12	6,11	6,09	6,16
	44	5,86	5,96	5,97	6,11	6,14	6,03
	66	5,83	5,92	5,91	5,94	6,01	5,94
Lagertemperatur 40 °C		THI- α -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
	21	6,23	6,26	6,28	6,32	6,34	6,35
	44	6,23	6,26	6,30	6,29	6,30	6,32
	66	6,21	6,27	6,15	6,25	6,24	6,31
Lagertemperatur 30 °C		Iso- α -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
	21	6,26	6,31	6,31	6,29	6,27	6,28
	44	6,20	6,16	6,21	6,17	6,19	6,16
	66	6,15	6,21	6,15	6,15	6,17	6,19
Lagertemperatur 40 °C		Iso- α -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
	21	6,18	6,15	6,18	6,28	6,28	6,28
	44	6,17	6,13	6,20	6,15	6,24	6,25
	66	6,20	6,21	6,26	6,26	6,27	6,31
Lagertemperatur 30 °C		Hopfen- β -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
	21	6,05	6,13	6,07	6,07	6,15	6,24
	44	5,95	5,94	5,94	6,04	6,08	6,11
	66	6,04	6,05	6,03	6,15	6,13	6,20
Lagertemperatur 40 °C		Hopfen- β -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.	n. u.
	21	6,24	6,29	6,26	6,20	6,24	6,30
	44	6,13	6,22	6,21	6,21	6,19	6,27
	66	6,15	6,16	6,08	6,21	6,21	6,20

Tab. 12: pH-Werte der Versuchsreihen mit Harzsäuren, Myristinsäure und RoMy8 : 2

Lagertemperatur 30 °C		Harzsäuren (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.
	21	6,05	6,22	6,27
	44	5,95	6,19	6,15
	66	6,04	6,15	6,20
Lagertemperatur 40 °C		Harzsäuren (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.
	21	6,24	6,31	6,30
	44	6,13	6,25	6,24
	66	6,15	6,20	6,27
Lagertemperatur 30 °C		Myristinsäure (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.
	21	6,05	6,18	6,22
	44	5,95	6,15	6,20
	66	6,04	6,08	6,13
Lagertemperatur 40 °C		Myristinsäure (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.
	21	6,24	6,22	6,23
	44	6,13	6,19	6,18
	66	6,15	6,17	6,23
Lagertemperatur 30 °C		RoMy8 : 2 (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.
	21	6,05	6,24	6,31
	44	5,95	6,08	6,23
	66	6,04	6,10	6,17
Lagertemperatur 40 °C		RoMy8 : 2 (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
pH-Wert	0	6,28	n. u.	n. u.
	21	6,24	6,19	6,28
	44	6,13	6,23	6,28
	66	6,15	6,21	6,24

9.1.2 Änderungen in der Trockensubstanz

Die Bestimmung der Trockensubstanz mittels Infrarottrocknung führte teils zu widersprüchlichen Ergebnissen. Massenverluste, gekennzeichnet durch stetige Abnahmen der Trockensubstanzgehalte, mit Zunahme der Lagerdauer konnten in einigen, aber nicht bei allen Versuchsserien bestätigt werden. Vor allem die Ergebnisse nach Lagerungsperioden von 21 und 44 zeigten Schwankungen, die sich aber auch auf die natürlichen Schwankungen und die Zusammensetzung des Ausgangsmaterials zurückführen lassen können. Der Grund dürfte auch in der Unabhängigkeit der einzelnen Proben liegen, da für jede Probenentnahme ein eigenes Einweckglas hergestellt wurde. Zudem war die Lagermenge mit 600 g Mais einer Probe sehr gering und so konnten Masseverluste bzw. durch Wirkstoffe vermiedene Massenverluste nach diesen relativ kurzen Zeitspannen auf diesem Weg kaum quantifiziert werden. Eine Analyse nach einer längeren Lagerung von fünf oder sechs Tagen würde sicher zu deutlicheren Ergebnissen führen.

Durchgängig konnten aber bei beinahe allen Versuchsserien nach einer dreitägigen Lagerung Trockensubstanzverluste dokumentiert werden. Somit wurde bei allen Ansätzen ein Verlust an Stärke beobachtet. Zur Demonstration wurde der Trockensubstanzverlauf der Versuchsserie THI- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C in Abb. 27 graphisch dargestellt. Bei den Versuchsserien, wo Wirkstoffe eingesetzt wurden, wurden keine Ansätze für eine Analyse zum Zeitpunkt 0 bereitet und es wurden die Analysenwerte der jeweiligen Nullprobe zum Zeitpunkt 0 verwendet. Der geringe Trockensubstanzgehalt der Wirkstofflösung hat keine Auswirkungen auf das Ergebnis der Trockensubstanzbestimmung zum Zeitpunkt 0, deshalb wurde auf die Bereitung dieser Ansätze verzichtet. Die einzelnen Ergebnisse der Versuchsserien sind den Tab. 13 und 14 zu entnehmen. Die Ergebnisse der Nullproben nach 0, 21, 44 und 66 h Lagerung sind cremefarben unterlegt.

Beim Öffnen aller Proben wurde nach Ablauf der jeweiligen Lagerdauer eine Gasentweichung beobachtet, die auf einen Trockensubstanzverlust in Form von CO₂-Produktion hinweist. CO₂ entsteht neben Lactat, Ethanol und Acetat bei der heterofermentativen Milchsäuregärung im Rahmen der Gärungsvorgänge [78].

Die Bestimmung des Masseverlustes mittels gravimetrischer Methode konnte aufgrund des hohen Eigengewichts der Einweckgläser nicht durchgeführt werden.

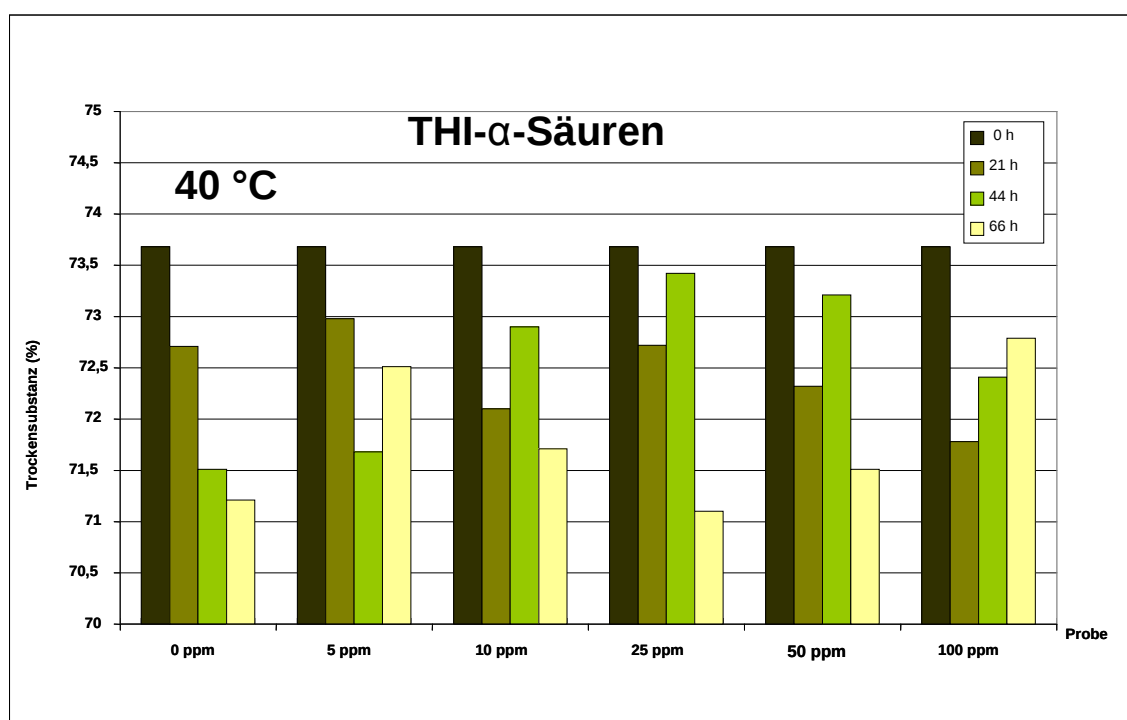


Abb. 27: Trockensubstanzverlauf der Probenserie THI-α-Säuren bei 40 °C

Tab. 13: Trockensubstanzen der Versuchsreihen mit THI- α -Säuren, Iso- α -Säuren und Hopfen- β -Säuren

Lagertemperatur 30 °C		THI- α -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
TS (%)	0	74,00	74,00	74,00	74,00	74,00	74,00
	21	73,01	71,72	72,72	71,52	74,17	73,18
	44	74,70	72,09	74,41	72,88	74,03	74,23
	66	71,88	72,00	71,71	73,51	72,92	71,80
Lagertemperatur 40 °C		THI- α -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
TS (%)	0	73,68	73,68	73,68	73,68	73,68	73,68
	21	72,71	72,98	72,10	72,72	72,32	71,78
	44	71,51	71,68	72,90	73,42	73,21	72,41
	66	71,21	72,51	71,71	71,10	71,51	72,79
Lagertemperatur 30 °C		Iso- α -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
TS (%)	0	72,58	72,58	72,58	72,58	72,58	72,58
	21	71,50	72,21	72,48	72,00	71,20	72,10
	44	73,48	72,03	72,82	72,79	72,11	72,32
	66	72,00	71,69	70,91	72,60	71,90	71,41
Lagertemperatur 40 °C		Iso- α -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
TS (%)	0	72,13	72,13	72,13	72,13	72,13	72,13
	21	71,51	71,38	71,99	72,01	72,19	72,30
	44	72,80	71,89	70,90	72,69	71,11	70,21
	66	70,79	71,28	70,42	71,00	71,29	71,50
Lagertemperatur 30 °C		Hopfen- β -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
TS (%)	0	72,27	72,27	72,27	72,27	72,27	72,27
	21	72,00	71,48	72,18	72,20	73,02	72,42
	44	72,31	71,98	72,48	71,58	72,32	71,20
	66	72,00	71,81	71,61	71,50	71,61	71,31
Lagertemperatur 40 °C		Hopfen- β -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
TS (%)	0	72,80	72,80	72,80	72,80	72,80	72,80
	21	71,89	73,32	74,18	73,69	72,61	73,89
	44	72,32	72,59	72,31	71,19	72,99	71,59
	66	71,30	72,00	71,41	70,92	71,99	70,71

Tab. 14: Trockensubstanzen der Versuchsreihen mit Harzsäuren, Myristinsäure und RoMy8 : 2

Lagertemperatur 30 °C		Harzsäuren (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
TS (%)	0	72,27	72,27	72,27
	21	72,00	73,12	72,91
	44	72,31	72,08	73,17
	66	72,00	73,79	73,82
Lagertemperatur 40 °C		Harzsäuren (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
TS (%)	0	72,80	72,80	72,80
	21	71,89	72,89	71,43
	44	72,32	72,66	72,57
	66	71,30	73,39	73,21
Lagertemperatur 30 °C		Myristinsäure (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
TS (%)	0	72,27	72,27	72,27
	21	72,00	72,32	73,43
	44	72,31	72,14	73,50
	66	72,00	72,71	74,20
Lagertemperatur 40 °C		Myristinsäure (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
TS (%)	0	72,80	72,80	72,80
	21	71,89	71,92	72,12
	44	72,32	71,88	72,74
	66	71,30	72,11	72,70
Lagertemperatur 30 °C		RoMy8:2 (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
TS (%)	0	72,27	72,27	72,27
	21	72,00	72,00	71,23
	44	72,31	72,31	72,98
	66	72,00	72,10	71,99
Lagertemperatur 40 °C		RoMy8:2 (ppm)		
	Lagerdauer (h)	0	10	100
TS (%)	0	72,80	72,80	72,80
	21	71,89	72,46	72,76
	44	72,32	72,80	73,10
	66	71,30	73,91	73,48

9.1.3 Veränderungen in der L- und D-Lactatkonzentration

Bei der Beurteilung der Beeinflussung in Form einer Hemmung durch eingesetzte Wirkstoffe auf unerwünschte Mikroorganismen, im speziellen Lactatbildner, wurden durch die Bestimmungen des L- und D-Lactats nach ICUMSA die aussagekräftigsten Resultate erzielt. Die Ermittlung des L-Lactats mittels Yellow Springs Test lieferte Richtwerte bezüglich der enthaltenen Konzentrationen. Die Analyse wurde durchgeführt, um die Einschätzung und anschließende Berechnung der Verdünnungsstufen der nachfolgenden Lactatbestimmung nach ICUMSA zu erleichtern. Aus diesem Grund wurde auf die Angabe dieser Ergebnisse verzichtet.

Bei der anschließenden Darstellung und Diskussion der Analyseergebnisse der Lactatkonzentrationen nach ICUMSA wurden für jeden Wirkstoff auf Basis von Hopfeninhaltsstoffen zwei Diagramme erstellt. Eines behandelt die auf den Wirkstoff zurückzuführende, hemmende Wirkung auf die Lactatbildung während der Lagerung bei 30 °C, das Andere bei 40 °C. Für die Darstellung der Untersuchungsergebnisse, der mit den restlichen Wirkstoffen durchgeführten Versuchsserien, wurden aufgrund der geringeren Probenanzahl die Ergebnisse aller Versuche bei 30 °C in einer Abbildung dargestellt, ebenso die Ergebnisse aller Versuche bei 40 °C.

Um einen besseren Überblick und Vergleich der Wirkungen zwischen den einzelnen Wirkstoffen auf die Lactatentwicklung zu ermöglichen, wurden die Farben der Balkendiagramme aller 30 °C Serien, und die aller 40 °C Serien in einem einheitlichen Schema gestaltet. Ebenso wurde bei der jeweiligen Temperatur immer auf die gleiche Skalierung der y-Achse geachtet. Im Anschluss an die graphische Darstellung folgt die Angabe der Ergebnisse in tabellarischer Form. In den Tabellen wurden die nachgewiesenen Gesamtlactatkonzentrationen der Nullproben nach 0, 21, 44 und 66 Lagerung cremefarben unterlegt. Dadurch wird die, durch mikrobielle Aktivitäten, im speziellen von Milchsäurebildnern, bezeichnende Dynamik im Nassmais während der Lagerung deutlicher erkennbar.

Zudem wurde eine Bewertung der einzelnen Wirkstoffkonzentrationen anhand des in Tab. 15 dargestellten Symbolschemas vorgenommen. Die prozentuelle Verminderung der Lactatkonzentrationen der mit Wirkstoffen behandelten Proben, im Vergleich zur zugehörigen Nullprobe derselben Stundenanzahl, wurde berechnet und kategorisch eingeteilt. Zur Berechnung wurde die Summe aus der L- und D-Lactatkonzentration herangezogen. In der ersten Zeile der Tabelle der kategorischen Einteilung wurden immer die Lactatkonzentrationen der beiden Nullproben nach 44 und 66 h angegeben.

Tab. 15: Kategorische Einteilung der Wirkstoffkonzentrationen nach ihrem Hemmeffekt auf die Lactatbildung

Hemmung	Symbol	Wirkung
90 – 100,0 %	++++	Praktisch vollständige Unterdrückung der Lactatbildung
70 – 89,9 %	++++	Ausgezeichnete Wirkung
50 – 69,9 %	+++	Sehr gute Wirkung
30 – 49,9 %	++	Gute Wirkung
10 – 29,9 %	+	Mäßige Wirkung
0 – 9,9 %	-	Praktisch keine hemmende Wirkung

Eine Reduktion von Lactataktivitäten um bis zu 100 % ist in der Realität auch mittels chemischer Desinfektionsmittel nicht möglich. Eine vollständige Inaktivierung aller Mikroorganismen in oder auf Mais wäre nur durch Bestrahlung oder durch eine thermische Behandlung vorstellbar. Weiters ist eine gänzliche Unterdrückung von Mikroorganismenaktivitäten nicht wünschenswert, da bestimmte Konzentrationen an Lactat im Quellprozess von Vorteil sind.

Bei der im Anschluss folgenden Diskussion der einzelnen Versuchsserien wird von einer „deutlichen“ Hemmung bzw. Effekt in der Reduktion der Lactatproduktion gesprochen falls die, durch den Zusatz von Wirkstoffen erzielte verminderte Lactatkonzentration mindestens 50 % beträgt – im Vergleich zur jeweiligen Nullprobe derselben Stundenanzahl.

Generell auffallend, aber einheitlich bei allen Versuchsserien, zeigte sich der jeweilige Anteil an L- und D-Lactat am nachgewiesenen Gesamtlactat bei den beiden unterschiedlichen Lagertemperaturen. Bei einer Temperatur von 30 °C bestand das gebildete Lactat etwa zu zwei Drittel aus D-Lactat, erkennbar an den gelb bis bräunlichen Schattierungen des Balkens in Abb. 28, 30, 32 und 34. Die bläulichen Schattierungen des Balkens in der Darstellung entsprechen dem L-Lactat Anteil bei der jeweiligen Wirkstoffkonzentration und Lagerdauer. Bei einer Lagertemperatur von 40 °C besteht der Hauptanteil des gebildeten Lactats aus L-Lactat, erkennbar an den grünlichen Schattierungen des Balkens in den Diagrammen in Abb. 29, 31, 33 und 35. Die, in den rosatönen gehaltenen, Anteile entsprechen den dazugehörigen Konzentrationen an D-Lactat. Aufgrund der temperaturbedingten Selektion der Lactatbildner ist der Anteil des D-Lactats bei 40 °C deutlich geringer.

9.1.3.1 THI- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C

Die Ergebnisse der Untersuchungen der Versuchsserie THI- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C sind Tab. 16 zu entnehmen und in Abb. 28 in Form eines Balkendiagramms graphisch dargestellt.

In der Nullprobe wurde nach einer Lagerung von 44 h ein Lactatgehalt von insgesamt 386 mg/kg und nach 66 h von 568 mg/kg Nassmais festgestellt. Somit wurde generell eine hohe Dynamik an Milchsäureaktivitäten in den ersten drei Tagen einer Nassmaislagerung festgestellt, da im Vergleich zum Zeitpunkt 0 kaum Lactat nachgewiesen werden konnte.

Durch den Zusatz von 5 ppm THI- α -Säuren wurde eine Hemmung der Lactatproduktion um mehr als 38 % nach 44 und um knapp 43 % nach 66 h Lagerung erreicht. In den mit 10 ppm behandelten Ansätzen wurden nach 44 und 66 h Lagerung gering höhere Konzentrationen an Lactat festgestellt als in den mit 5 ppm THI- α -Säuren behandelten Ansätzen.

Tab. 17 zeigt die Beurteilung der einzelnen Konzentrationen an THI- α -Säuren über die symbolische Darstellung. In dieser Darstellung ist auch die ausgezeichnete Wirkung von 100 ppm THI- α -Säuren erkennbar. Diese hohe Konzentration des Wirkstoffs dürfte Milchsäurebildner über einen Zeitrahmen von 44 h so stark beeinflussen, dass praktisch keine Lactatproduktion möglich ist.

Die Schwankungsbreite an nachgewiesenen Lactat in allen mit dem Wirkstoff behandelten Ansätzen nach einer Lagerung von 66 h war mit 248 mg/kg (100 ppm) - 362 mg/kg (10 ppm) sehr gering. Daher wäre beispielsweise ein Einsatz von 50 ppm THI- α -Säuren nicht Ziel führend, da abgesehen von den höheren Kosten für den Wirkstoff bereits eine Konzentration von 5 ppm ausreichen würde um beinahe denselben Effekt der Reduktion der Lactatproduktion erzielen zu können. Eine unter Kap. 9.1.3 definierte „deutliche Hemmung“ wurde nach 44 h ab einem Zusatz von 50 ppm THI- α -Säuren und nach 66 h ab 25 ppm erreicht.

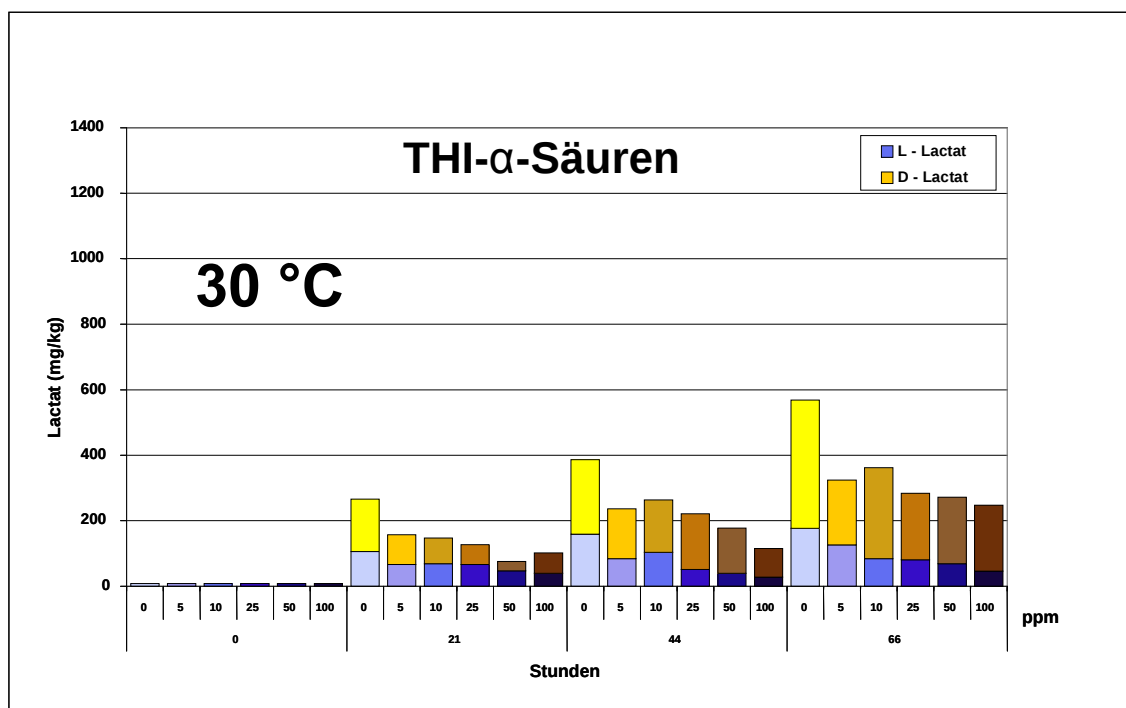


Abb. 28: L- und D-Lactat Verlauf der Versuchsserie THI-α-Säuren bei 30 °C

Tab. 16: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie THI-α-Säuren bei 30 °C

Lager-temperatur 30 °C		THI-α-Säuren (ppm)																	
L- und D-Lactat (mg/kg)	Lager- dauer (h)	0			5			10			25			50			100		
		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	0	66			126	198	324	84	278	362	81	203	284	69	203	272	46	202	248
	21	44			84	152	236	103	161	264	51	170	221	39	139	178	28	87	115
	106	159			66	91	157	68	78	147	66	61	127	47	28	75	39	63	102
	8				8	0	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8

Tab. 17: Kategorische Einteilung der THI- α -Säuren nach ihrer Wirkung bei 30 °C

THI- α -Säuren (ppm)	Wirkung nach 44 h	Wirkung nach 66 h
0	386 mg/kg	568 mg/kg
5	++	++
10	++	++
25	++	+++
50	+++	+++
100	++++	+++

9.1.3.2 THI- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C

Die Untersuchungsergebnisse der Lactatbestimmungen nach ICUMSA der Versuchsserie THI- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C sind Tab. 18 zu entnehmen. Diese sind in Abb. 29 in Form eines Balkendiagramms graphisch dargestellt.

In der Nullprobe wurden nach einer 44 h Lagerung 193 mg/kg Lactat festgestellt. Bei dem mit 5 ppm behandelten Ansatz derselben Stundenanzahl wurde mit 85 mg/kg ein um mehr als 55 % geringerer Gehalt festgestellt. Generell wurden nach einer Lagerung von 44 h in den mit dem Wirkstoff behandelten Ansätzen sehr niedrige Lactatkonzentrationen im Bereich von 49 mg/kg (100 ppm) - 89 mg/kg (10 ppm) nachgewiesen. Die symbolische Darstellung in Tab. 19 zeigt die durchwegs ausgezeichnete Wirkung der THI- α -Säuren über einen Zeitraum von 44 h.

Nach der 66 h Lagerung wurde in der Nullprobe 345 mg/kg festgestellt. In dem mit 10 ppm THI- α -Säuren behandelten Ansatz wurde mit 193 mg/kg ein um 44 % niedrigerer Lactatwert nachgewiesen.

Wie aus Tab. 19 ersichtlich wurde ab einer Konzentration von 25 ppm über 66 h kaum mehr eine Lactatproduktion festgestellt. In der 25 ppm Probe wurden um 75 %, in der 50 ppm Probe um 77 % und in der 100 ppm Probe um 80 % geringere Lactatkonzentrationen nachgewiesen als in der dazugehörigen Nullprobe.

Es wurden zwar keine weiteren Konzentrationsabstufungen vorgenommen, aber möglicherweise würde eine Konzentration von 15 oder 20 ppm THI- α -Säuren ausreichen um nahezu denselben Effekt der Reduktion der Lactatproduktion zu erzielen, wie durch den Zusatz von 25 ppm.

Eine deutliche Hemmung wurde nach 44 h Lagerung ab einer Konzentration von 5 ppm und nach 66 h ab dem Einsatz von 25 ppm THI- α -Säuren erreicht.

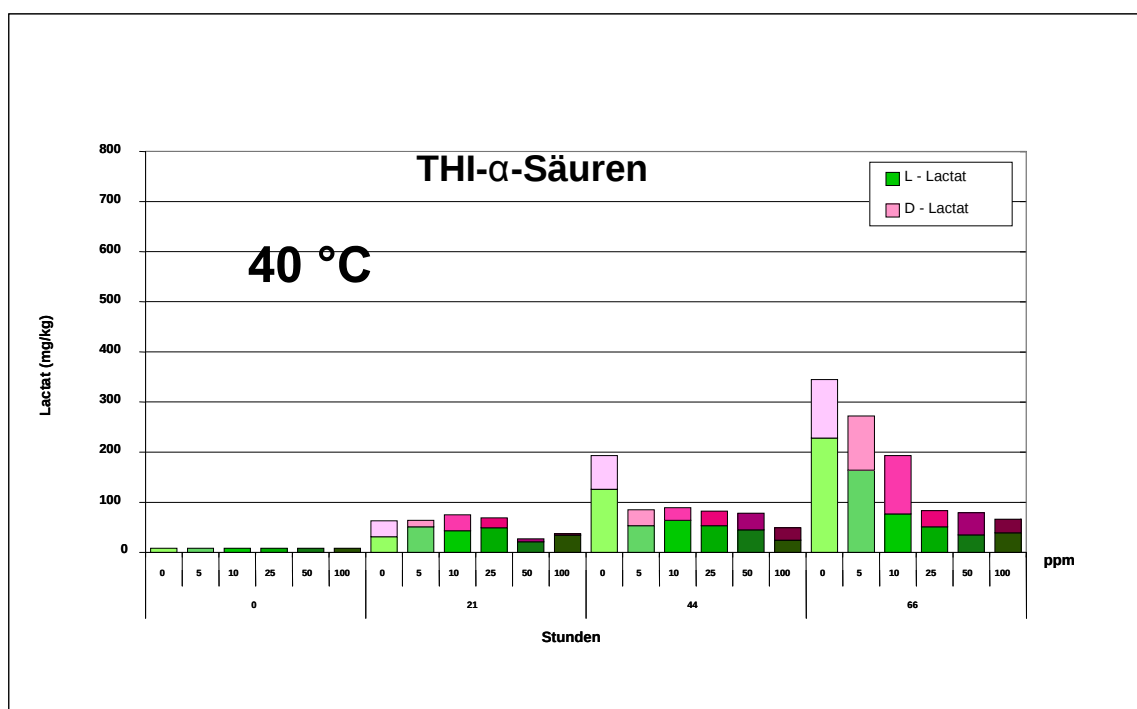


Abb. 29: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserie THI- α -Säuren bei 40 °C

Tab. 18: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie THI- α -Säuren bei 40 °C

Lagertemperatur 40 °C		THI- α -Säuren (ppm)																	
L- und D-Lactat (mg/kg)	Lager- dauer (h)	0			5			10			25			50			100		
		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	228	117	345	164	108	272	77	116	193	51	32	83	35	44	79	39	27	66
	44	126	67	193	53	32	85	64	25	89	53	29	82	45	33	78	24	25	49
	21	31	32	63	51	13	64	43	32	75	46	20	69	21	6	27	34	3	37
	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8
	0	8	0	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8	8	0	8

Tab. 19: Kategorische Einteilung der THI- α -Säuren nach ihrer Wirkung bei 40 °C

THI- α -Säuren (ppm)	Wirkung nach 44 h	Wirkung nach 66 h
0	193 mg/kg	345 mg/kg
5	+++	+
10	+++	++
25	+++	++++
50	+++	++++
100	++++	++++

9.1.3.3 Iso- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C

Die Ergebnisse der Lactatbestimmungen nach ICUMSA der Versuchsserie Iso- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C sind Tab. 20 zu entnehmen, die in Abb. 30 graphisch dargestellt sind.

In der Nullprobe wurde nach einer Lagerung von 21 h ein Lactatgehalt von 167 mg/kg, nach 44 h von 304 mg/kg und nach 66 h von 614 mg/kg Nassmais nachgewiesen. Bei dieser Versuchsserie zeigte sich in den Nullproben eine ungefähre Verdoppelung der Lactatkonzentration zu jeder untersuchten Lagerdauer. Hier wird die hohe Dynamik an Milchsäurebildner während der ersten Tage der Nassmaislagerung deutlich.

Bei einer 44 h Lagerung wurden gute Resultate ab einer Konzentration von 50 ppm Iso- α -Säuren festgestellt. In dem mit 50 ppm behandelten Ansatz wurden mit 165 mg/kg eine um 45 % niedrigere Lactatkonzentration nachgewiesen als in der Nullprobe derselben Stundenanzahl. Nach 66 h wurde durch den Zusatz dieser Konzentration eine Hemmung der Lactatbildung um knapp 44 % erreicht, im Vergleich zur entsprechenden Nullprobe.

Die Behandlung von 5, 10 oder 25 ppm führte kaum zu einer einschränkenden Wirkung auf die Aktivitäten von Lactatbildnern. Die symbolische Darstellung in Tab. 21 zeigt die Wirkung der einzelnen Konzentrationen.

Eine deutliche Hemmung konnte mithilfe den eingesetzten Konzentrationen an Iso- α -Säuren nicht erreicht werden.

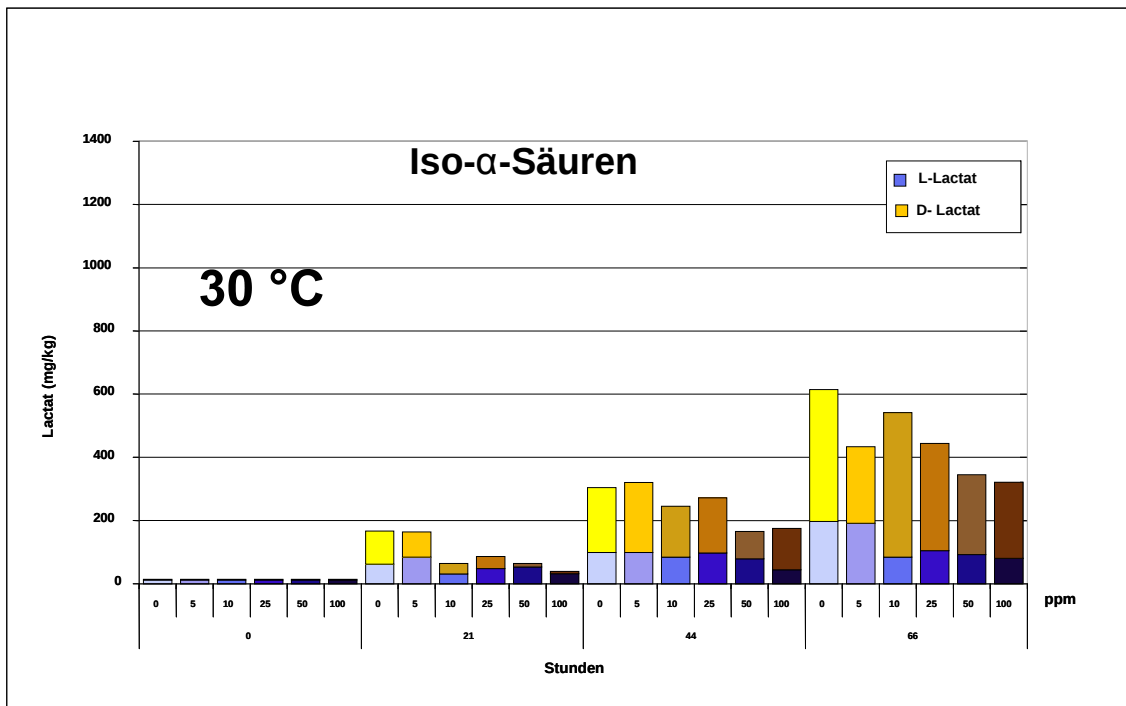


Abb. 30: L- und D-Lactat Verlauf der Probenreihe Iso-α-Säuren bei 30 °C

Tab. 20: L- und D-Lactat Konzentration der Probenreihe Iso-α-Säuren bei 30 °C

Lagertemperatur 30 °C		Iso-α-Säuren (ppm)																	
L- und D-Lactat (mg/kg)	Lager- dauer (h)	0			5			10			25			50			100		
		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	197	417	614	191	242	433	84	457	541	105	339	444	92	253	345	81	240	321
	44	99	205	304	99	221	320	84	161	245	97	175	272	79	86	165	44	131	175
	21	62	105	167	84	80	164	31	33	64	48	38	86	53	11	64	32	7	39
	0	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14

Tab. 21: Kategorische Einteilung der Iso- α -Säuren nach ihrer Wirkung bei 30 °C

Iso- α -Säuren (ppm)	Wirkung nach 44 h	Wirkung nach 66 h
0	304 mg/kg	614 mg/kg
5	-	+
10	+	+
25	+	++
50	++	++
100	++	++

9.1.3.4 Iso- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C

Die Bestimmungen der Lactatkonzentrationen der Versuchsserie Iso- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C sind Tab. 22 zu entnehmen. Diese sind in Abb. 31 graphisch dargestellt.

In der Nullprobe wurde nach 44 h eine Lactatkonzentration von 534 mg/kg und nach 66 h von 618 mg/kg Nassmais nachgewiesen. Folglich wurde der Großteil des Lactats in den ersten 44 h nach Beginn der Lagerung gebildet. Somit zeigten die Lactatbildner in diesem Zeitraum die höchsten Aktivitäten. Möglicherweise liegt die Ursache der geringeren Lactatzunahme in den weiteren 22 h im zunehmenden Sauerstoffmangel.

In der mit 10 ppm Iso- α -Säuren behandelten Ansätzen wurde nach 44 h mit 278 mg/kg ein um knapp 48 % niedrigerer Gehalt an Lactat festgestellt als in der entsprechenden Nullprobe. In den 25 ppm und 50 ppm Proben wurden nach 44 h ähnlich hohe Konzentrationen festgestellt. Diese zeigten um 51 % (25 ppm) und 53 % (50 ppm) niedrigere Lactatkonzentrationen als die entsprechende Nullprobe. Die Beurteilungen der einzelnen Konzentrationen des Wirkstoffs sind Tab. 23 zu entnehmen.

Der Einsatz von 5 ppm zeigte sowohl nach 44 h als auch nach 66 kaum Wirkung. Die mit 10, 25 und 50 ppm behandelten Ansätze zeigten nach 66 h Lagerung sehr ähnliche Konzentrationen im Bereich von 365 mg/kg (50 ppm) - 383 mg/kg (10 ppm). Diese Lactatkonzentrationen sind um 38 % (10 ppm) bis knapp 40 % (50 ppm) niedriger als in der zugehörigen Nullprobe. Mit dem

Zusatz von 100 ppm Iso- α -Säuren wurden nach 44 h um 64 % und nach einer 66 h um 65 % niedrigere Konzentration an Lactat festgestellt als in den jeweiligen Nullproben.

Nach 44 h wurde eine deutliche Hemmung ab einer Konzentration von 25 ppm und nach 66 h ab dem Einsatz von 100 ppm dieses Wirkstoffs erzielt.

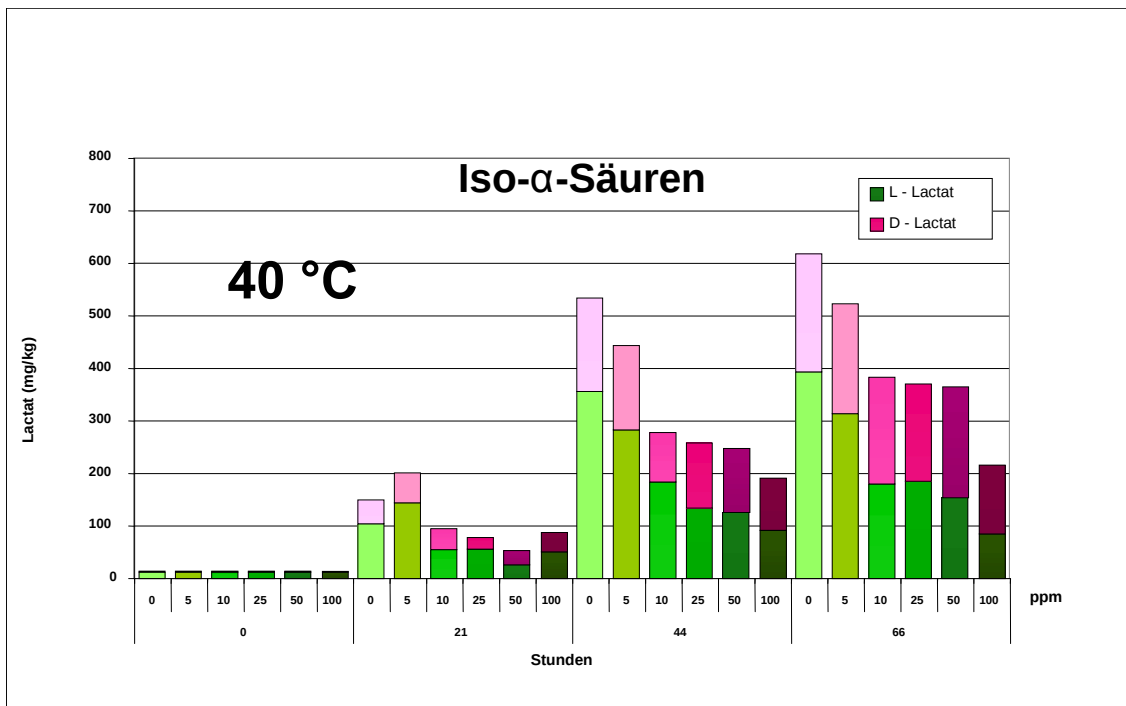


Abb. 31: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserie Iso- α -Säuren bei 40 °C

Tab. 22: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Iso- α -Säuren bei 40 °C

Lagertemperatur 40 °C		Iso- α -Säuren (ppm)																	
L- und D-Lactat (mg/kg)	Lager- dauer (h)	0			5			10			25			50			100		
		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	393	225	618	314	209	523	180	203	383	185	185	370	154	211	365	85	131	216
	44	356	178	534	283	160	443	184	94	278	134	124	258	126	122	248	92	99	191
	21	104	46	150	144	57	201	55	40	95	56	22	78	26	27	53	51	37	88
	0	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14

Tab. 23: Kategorische Einteilung der Iso- α -Säuren nach ihrer Wirkung bei 40 °C

Iso- α -Säuren (ppm)	Wirkung nach 44 h	Wirkung nach 66 h
0	534 mg/kg	618 mg/kg
5	+	+
10	++	++
25	+++	++
50	+++	++
100	+++	+++

9.1.3.5 Hopfen- β -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C

Die Untersuchungsergebnisse der Lactatbestimmungen nach ICUMSA der Versuchsserie Hopfen- β -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C sind Tab. 24 zu entnehmen. Diese sind in Abb. 32 graphisch dargestellt.

In der Nullprobe wurde nach einer Lagerung von 44 h ein Lactatgehalt von insgesamt 1137 mg/kg und nach 66 h von 1136 mg/kg Nassmais festgestellt. Grundsätzlich wurden in dieser Versuchsserie sehr beachtliche Konzentrationen an Lactat festgestellt. Die Dynamik der Lactatbildung in den ersten 44 h nach Lagerbeginn ist in dieser Versuchsserie besonders stark ausgeprägt. Auffallend zudem sind die sehr hohen Konzentrationen an Lactat nach der 44 h Lagerung im Vergleich zu den meist etwas niedrigeren Konzentrationen nach einer Lagerung von 66 h. Beispielsweise wurden in der mit 100 ppm Hopfen- β -Säuren versetzten Proben nach 44 h 538 mg/kg nachgewiesen und nach 66 h 356 mg/kg. Möglicherweise konnten sich nach einer bestimmten Lagerzeit vermehrt Mikroorganismen im System durchsetzen, die eine andere Gärung als die Milchsäuregärung bevorzugen und Lactat als Substrat verwerten.

Generell dürften Konzentrationen bis 10 ppm dieses Wirkstoffs kaum hemmende Wirkung auf Lactatbildner ausüben. Die Beurteilung der einzelnen Konzentrationen sind der Tab. 25 zu entnehmen.

Mit einer Behandlung von 25 ppm wurde mit 662 mg/kg nach 44 h ein um 41 % niedrigerer Gehalt an Lactat festgestellt, als in der Nullprobe derselben Stundenanzahl. Die beiden mit 50 und 100 ppm versetzten Ansätze zeigten nach der 44 h Lagerung ähnliche Konzentration, die im Vergleich zur Nullprobe um 51 % (50 ppm) bzw. 52 % (100 ppm) geringere Konzentrationen an Lactat enthielten.

Nach 44 h Lagerung wurde eine deutliche Hemmung der Lactatproduktion ab dem Einsatz von 50 ppm erzielt und nach einer Lagerung von 66 h ab dem Zusatz von 100 ppm des Wirkstoffs.

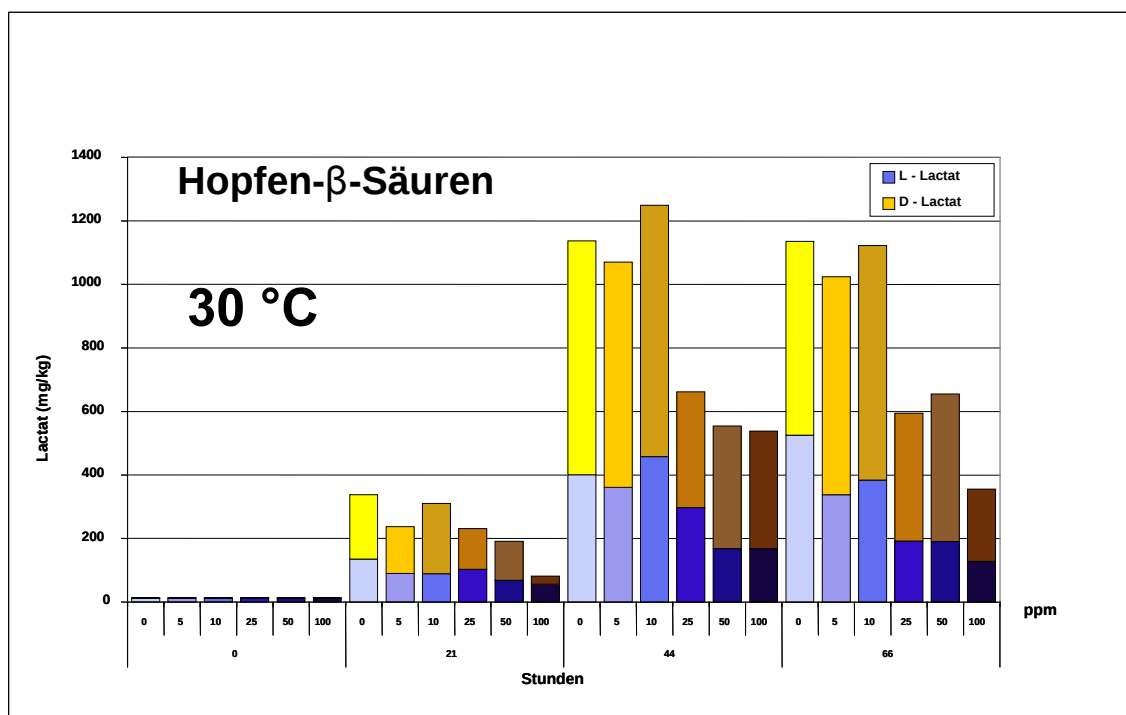


Abb. 32: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserie Hopfen-β-Säuren bei 30 °C

Tab. 24: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Hopfen-β-Säuren bei 30 °C

Lagertemperatur 30 °C		Hopfen-Säuren (ppm)																	
L- und D-Lactat (mg/kg)	Lager- dauer (h)	0			5			10			25			50			100		
0	66	44	21		12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14
													</						

Tab. 25: Kategorische Einteilung der Hopfen- β -Säuren nach ihrer Wirkung bei 30 °C

Hopfen- β -Säuren (ppm)	Wirkung nach 44 h	Wirkung nach 66 h
0	1137 mg/kg	1136 mg/kg
5	-	-
10	-	-
25	++	++
50	+++	++
100	+++	+++

9.1.3.6 Hopfen- β -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C

Die Ergebnisse der Lactatbestimmungen der Versuchsserie Hopfen- β -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C sind Tab. 26 zu entnehmen. Diese sind in Abb. 33 graphisch dargestellt.

Nach der Lagerung von 44 h wurde in der Nullprobe eine Lactatkonzentration von 559 mg/kg und nach 66 h von 687 mg/kg Nassmais nachgewiesen. Somit wurde der größte Anteil des Lactats während den ersten 44 h der Lagerung produziert. Somit war in diesem Zeitraum auch die stärkste Dynamik von Lactat produzierenden Aktivitäten im Laborsilo gegeben.

Durchgängig wurden nach 44 h in allen Ansätzen bis zu einer eingesetzten Konzentration von 50 ppm ähnliche Lactatkonzentrationen im Bereich von 294 mg/kg (10 ppm) - 361 mg/kg (25 ppm) festgestellt. Diese Konzentrationen sind um 35 % (25 ppm) - 47 % (10 ppm) geringer als die Lactatkonzentration der Nullprobe derselben Lagerdauer. Somit wurde die Lactatproduktion durch den Einsatz von 5 ppm genauso stark gehemmt wie durch 50 ppm Hopfen- β -Säuren. Bei der mit 100 ppm behandelten Probe derselben Stundenanzahl wurde mit 229 mg/kg eine um 59 % geringerer Lactatkonzentration festgestellt. Tab. 27 zeigt die Beurteilung der einzelnen Konzentrationen über die symbolische Darstellung.

Konzentrationen des Wirkstoffs bis 10 ppm zeigten nach 66 h keine hemmende Wirkung auf die Aktivitäten von Lactatbildnern. In der 25 ppm Probe

wurden um 29 %, in der 50 ppm Probe um 27 % und in der 100 ppm Probe um 30 % geringere Lactatkonzentrationen als in der dazugehörigen Nullprobe nachgewiesen.

Eine deutliche Reduktion der Lactatproduktion konnte nach 44 h mit einer Konzentration von 100 ppm erzielt werden. Eine deutliche Hemmung nach 66 h Lagerung konnte mit denen in der Versuchsserie eingesetzten Konzentrationen nicht erreicht werden.

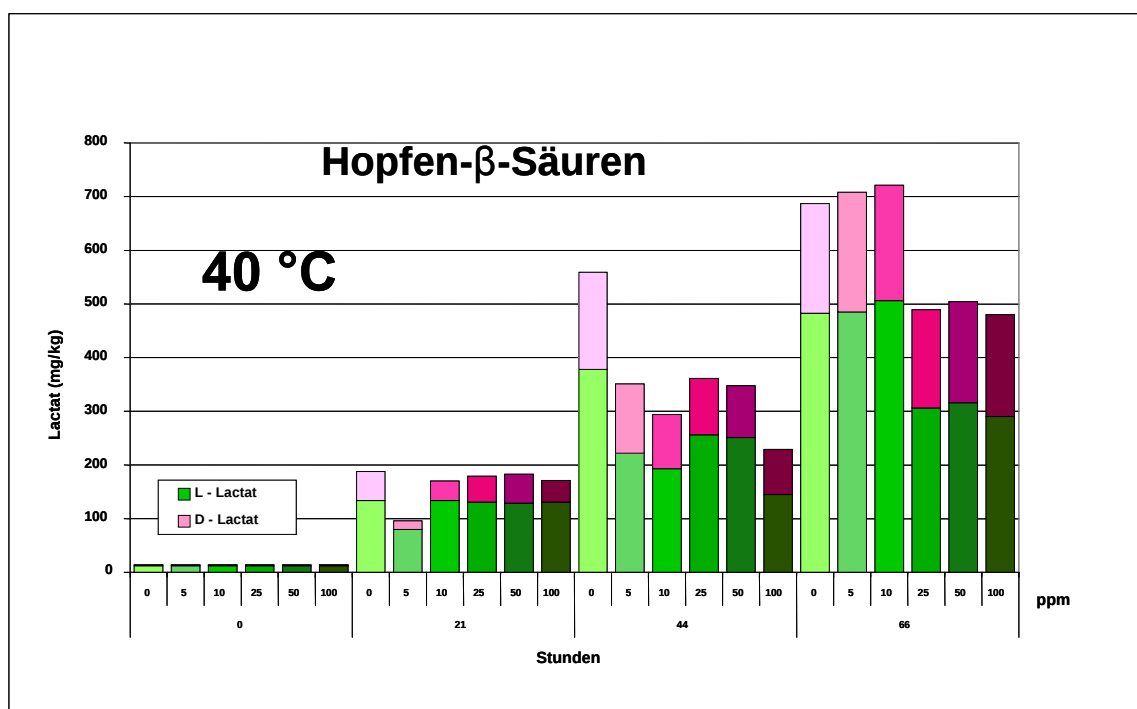


Abb. 33: L- und D-Lactat Verlauf der Probenserie Hopfen-β-Säuren bei 40 °C

Tab. 26: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Hopfen- β -Säuren bei 40 °C

Lagertemperatur 40 °C		Hopfen-β-Säuren (ppm)																	
L- und D-Lactat (mg/kg)	Lager- dauer (h)	0			5			10			25			50			100		
		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	483	204	687	485	223	708	506	215	721	306	183	489	316	188	504	290	190	480
	44	378	181	559	222	129	351	193	101	294	256	105	361	251	97	348	145	84	229
	21	134	54	188	80	16	96	134	36	170	131	48	179	129	54	183	131	40	171
	0	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14	12	2	14

Tab. 27: Kategorische Einteilung der Hopfen- β -Säuren nach ihrer Wirkung bei 40 °C

Hopfen- β -Säuren (ppm)	Wirkung nach 44 h	Wirkung nach 66 h
0	559 mg/kg	687 mg/kg
5	++	-
10	++	-
25	++	+
50	++	+
100	+++	++

9.1.3.7 Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei einer Lagertemperatur von 30 °C

Die Ergebnisse der Lactatbestimmungen nach ICUMSA der Versuchsserien Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei einer Lagertemperatur von 30 °C sind den Tab. 28, 29 und 30 zu entnehmen. Diese sind in Abb. 34 graphisch dargestellt. Die Beurteilung der einzelnen Wirkstoffkonzentrationen sind der Tab. 31 zu entnehmen. RoMy8 : 2 bezeichnet das in Kap. 6.3.2 beschriebene Mischprodukt aus Harzsäuren und Myristinsäure im Verhältnis 80 : 20.

Bei einer Lagertemperatur von 30 °C wurden in der Nullprobe nach einer Lagerung von 44 h ein Lactatgehalt von insgesamt 1137 mg und nach 66 h von 1136 mg/kg Nassmais festgestellt. Die Ansätze dieser Versuchsserien wurden zum gleichen Zeitpunkt bereitet, wie die Versuchsserie der Hopfen- β -Säuren (30 °C). Die Dynamik der Lactatbildung, vor allem in den ersten 44, wurde unter Kap. 9.1.3.5 beschrieben.

Im Rahmen dieser Versuchsserien wurde die beste Wirkung gegen Lactatbildung durch Harzsäuren erzielt. Sowohl nach 44 als auch nach 66 h wurden bei den jeweiligen Konzentrationen von 10 und 100 ppm die niedrigsten Gehalte an Lactat festgestellt. Nach einer 66 h Lagerung wurden im Vergleich zur Nullprobe um 60 % (10 ppm) und 74 % (100 ppm) niedriger Konzentrationen an Lactat nachgewiesen.

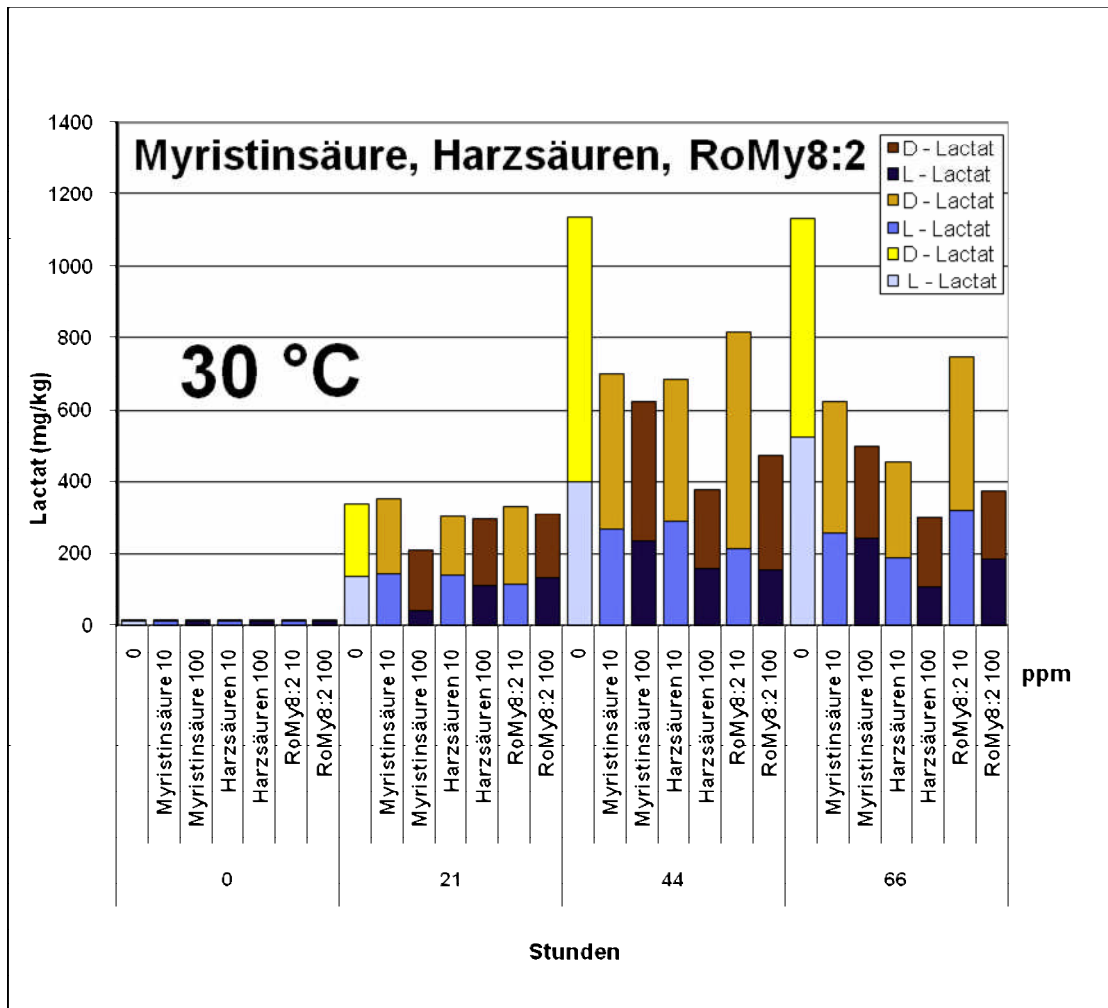


Abb. 34: L- und D-Lactat Verlauf der Probenreihen Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei 30 °C

Tab. 28: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Myristinsäure bei 30 °C

Lagertemperatur 30 °C		Myristinsäure (ppm)								
	Lager- dauer (h)	0			10			100		
L- und D-Lactat (mg/kg)		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	525	611	1136	259	366	625	243	257	500
	44	401	736	1137	267	435	702	235	389	624
	21	135	203	338	144	208	352	38	174	212
	0	12	2	14	12	2	14	12	2	14

Tab. 29: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Harzsäuren bei 30 °C

Lagertemperatur 30 °C		Harzsäuren (ppm)								
	Lager- dauer (h)	0			10			100		
L- und D-Lactat (mg/kg)		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	525	611	1136	189	267	456	106	195	301
	44	401	736	1137	289	397	686	156	221	377
	21	135	203	338	140	164	304	110	188	298
	0	12	2	14	12	2	14	12	2	14

Tab. 30: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie RoMy8 : 2 bei 30 °C

Lagertemperatur 30 °C		RoMy8 : 2 (ppm)								
	Lager- dauer (h)	0			10			100		
L- und D-Lactat (mg/kg)		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	525	611	1136	322	426	748	187	189	376
	44	401	736	1137	214	602	816	155	319	474
	21	135	203	338	113	219	332	133	176	309
	0	12	2	14	12	2	14	12	2	14

Tab. 31: Kategorische Einteilung der Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 nach ihrer Wirkung bei 30 °C

Wirkstoff (ppm)	Wirkung nach 44 h	Wirkung nach 66 h
0 Myristinsäure	1137 mg/kg	1136 mg/kg
10	++	++
100	++	+++
Harzsäuren		
10	++	+++
100	+++	++++
RoMy8 : 2		
10	+	++
100	+++	+++

9.1.3.8 Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei einer Lagertemperatur von 40 °C

Die Ergebnisse der Untersuchungen der Versuchsserien Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei einer Lagertemperatur von 40 °C sind Tab. 32, 33 und 34 zu entnehmen, die in Abb. 35 graphisch dargestellt sind. Tab. 35 zeigt die Beurteilung der einzelnen Konzentrationen der eingesetzten Wirkstoffe.

In den Nullproben wurden nach einer Lagerung von 44 h 559 mg/kg und nach 66 h 687 mg/kg nachgewiesen. Die Ansätze dieser Versuchsserien wurden zum gleichen Zeitpunkt bereitet, wie die Versuchsserie der Hopfen- β -Säuren bei einer Lagertemperatur von 40 °C. Die Dynamik der Milchsäurebildung in dieser Versuchsserie wurde kurz unter Kap. 9.1.3.6 besprochen.

Wie bei der Lagertemperatur von 30 °C wurde auch bei 40 °C mittels Harzsäuren die beste Wirkung gegen Lactat bildenden Aktivitäten von Mikroorganismen erreicht.

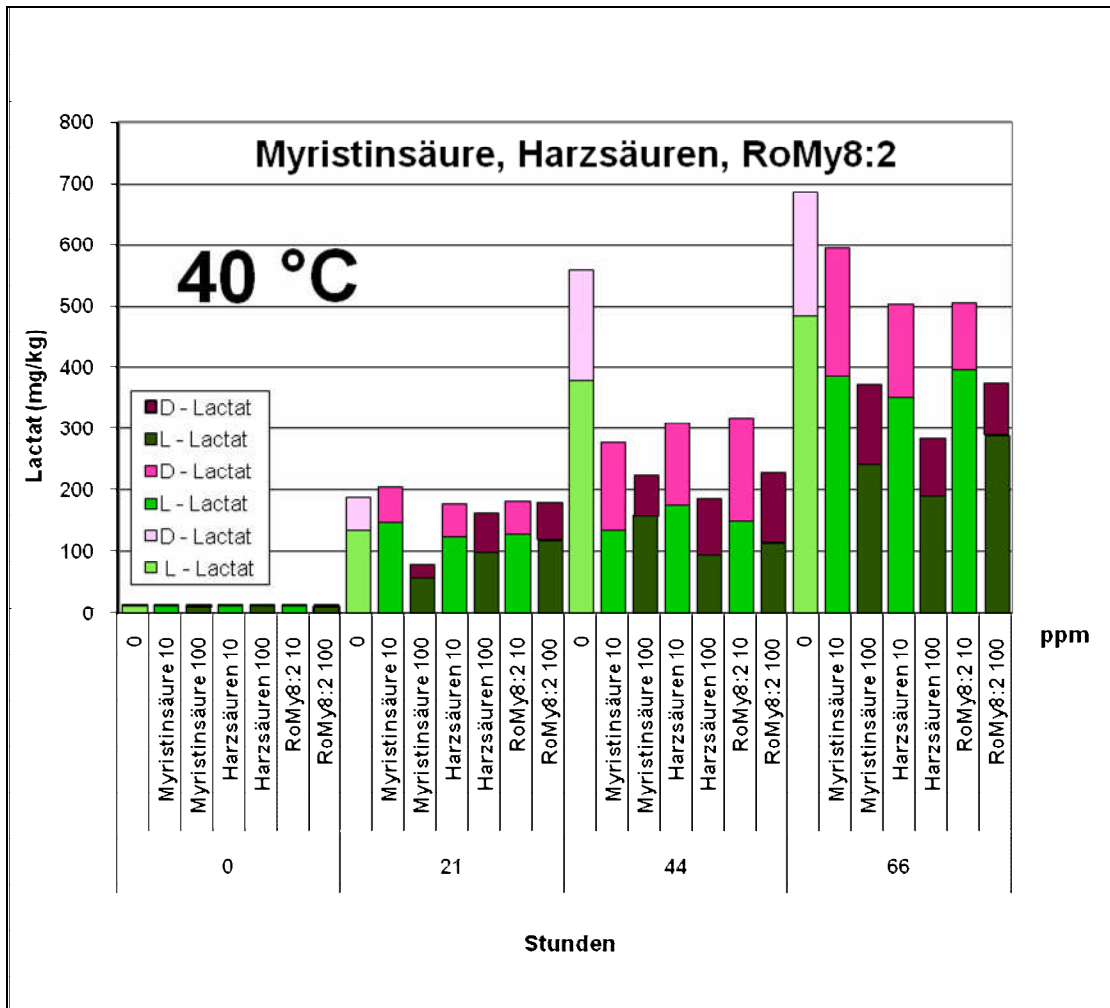


Abb. 35: L- und D-Lactat Verlauf der Probenreihen Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 bei 40 °C

Tab. 32: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Myristinsäure bei 40 °C

Lagertemperatur 40 °C		Myristinsäure (ppm)								
	Lager- dauer (h)	0			10			100		
L- und D-Lactat (mg/kg)		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	483	204	687	386	208	594	243	131	374
	44	378	181	559	134	144	278	158	67	225
	21	134	54	188	146	59	205	59	19	78
	0	12	2	14	12	2	14	12	2	14

Tab. 33: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie Harzsäuren bei 40 °C

Lagertemperatur 40 °C		Harzsäuren (ppm)								
	Lager- dauer (h)	0			10			100		
L- und D-Lactat (mg/kg)		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	483	204	687	350	152	502	189	94	283
	44	378	181	559	176	132	308	94	92	186
	21	134	54	188	123	54	177	97	65	162
	0	12	2	14	12	2	14	12	2	14

Tab. 34: L- und D-Lactat Konzentration der Probenserie RoMy8 : 2 bei 40 °C

Lagertemperatur 40 °C		RoMy8 : 2 (ppm)								
	Lager- dauer (h)	0			10			100		
L- und D-Lactat (mg/kg)		L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat	L-Lactat	D-Lactat	L+D-Lactat
	66	483	204	687	396	109	505	290	84	374
	44	378	181	559	147	171	318	114	113	227
	21	134	54	188	127	54	181	118	62	180
	0	12	2	14	12	2	14	12	2	14

Tab. 35: Kategorische Einteilung der Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 nach ihrer Wirkung bei 40 °C

Wirkstoff (ppm)	Wirkung nach 44 h	Wirkung nach 66 h
0 Myristinsäure	559 mg/kg	687 mg/kg
10	+++	+
100	+++	++
Harzsäuren		
10	++	+
100	+++	+++
RoMy8 : 2		
10	++	+
100	+++	++

Die beste Wirkung gegen die Lactatbildung bei der Nassmaislagerung im Labormaßstab wurde unter den eingesetzten Wirkstoffen durch THI- α -Säuren erzielt. Bei einer Lagertemperatur von 30 °C konnte durch den Gabe von 5 ppm nach 44 h eine Hemmung der Lactatproduktion um 38 % erreicht werden und nach 66 h um mehr als 43 %. Diese Konzentration führte bei der Lagertemperatur von 40 °C nach 44 h zu einer Hemmung der Lactatproduktion um mehr als 55 %. Ab einer Konzentration von 25 ppm konnte unter diesen Bedingungen über einen Zeitraum von 66 h praktisch keine Lactatproduktion festgestellt werden.

Eine sogenannte deutliche Hemmung der Lactatproduktion von mehr als 50 % im Vergleich zur entsprechenden Nullprobe wurde bei den Versuchen mit Iso- α -Säuren ab Konzentrationen von 25 ppm bei einer Lagertemperatur von 40 °C nachgewiesen. Bei einer Lagertemperatur von 30 °C konnte mit den eingesetzten Konzentrationen keine Reduktion in dieser Größenordnung festgestellt werden.

Bei einer Lagertemperatur von 30 °C zeigten bei den Hopfen- β -Säuren Konzentrationen ab 25 ppm hemmende Wirkung auf die Lactatbildung. Geringere Konzentrationen führten zu keinen hemmenden Einfluss auf die Lactatentwicklung. Eine deutliche Hemmung konnte mit diesem Wirkstoff bei 30 °C ab einer Konzentration von 50 ppm und bei 40 °C ab 100 ppm erzielt werden.

Bei denen mit Myristinsäure, Harzsäuren und RoMy8 : 2 durchgeführten Versuchen konnte die beste Wirkung den Harzsäuren zugeschrieben werden. Bei einer Lagertemperatur von 30 °C führte die Verwendung von 10 ppm nach 66 h Lagerung zu einer Reduktion der Lacatproduktion um 60 %. Somit konnte eine stärkere Hemmung der Lactatproduktion festgestellt werden als vergleichsweise durch dieselbe Konzentration von THI- α -Säuren erreicht wurde. Da bei diesen Versuchsserien keine Ansätze mit 5, 25 und 50 ppm Wirkstoffkonzentrationen hergestellt wurden, ist ein direkter Vergleich mit THI- α -Säuren nur bedingt möglich.

9.1.4 Bestimmungen von Ethanol, Methanol, Lactat, Acetat, Formiat und Butyrat mittels HPLC

Exemplarisch wurden die Gärprodukte Ethanol, Methanol, Lactat, Acetat, Formiat und Butyrat einer Versuchsserie mittels HPLC bestimmt. Zum Einen wurden mit diesen Untersuchungen die Ergebnisse der enzymatischen Lactatbestimmung nach ICUMSA und zum Anderen die Anwesenheit von weiteren Gärprodukten aus heterofermentativer Milchsäuregärung, überprüft. Die Ergebnisse der HPLC - Untersuchung der Versuchsserie THI- α -Säuren bei einer Lagertemperatur von 30 °C sind der Tab. 36 zu entnehmen.

Die mit der HPLC bestimmten Lactatgehalte stimmten weitgehend mit den Untersuchungsergebnissen der Lactatbestimmung nach ICUMSA überein, die in Tab. 16 angeführt sind. Jedoch ist mit dieser Methode keine Aufspaltung des Lactats in L- und D-Lactat möglich. Abweichungen zwischen den beiden Methoden wurden vorwiegend bei den Proben nach der 21 h Lagerung festgestellt. Die Ursache für die etwas höheren Werte bei der Bestimmung mittels HPLC kann nicht erklärt werden.

Acetat wurde in einem Gehalt bis zu 271 mg/kg und Butyrat in geringen Konzentrationen bis zu 64 mg/kg Nassmais nachgewiesen. Formiat und Methanol wurde in keinem Ansatz dieser Versuchsserie festgestellt. Ethanol wurde in Konzentrationen von 1932 - 3903 mg/kg Nassmais in dieser Versuchsserie nachgewiesen.

Mit dieser Bestimmung wurde die Anwesenheit weiterer Gärprodukte abgesehen von Lactat in den Ansätzen bestätigt. Um aussagekräftige Resultate über die einzelnen Gehalte der Stoffwechselprodukte zu erhalten wären weitere, systematische Untersuchungen mehrerer Versuchsserien mit dieser Methode erforderlich. Diese konnten im Rahmen dieser Arbeit nicht durchgeführt werden. Weitere systematische Untersuchungen zur Bestimmung von Gärprodukten mittels HPLC sind den Arbeiten von HUBER et al. [79] zu entnehmen.

Tab. 36: Lactat, Acetat, Butyrat, Formiat, Ethanol und Methanol der Versuchsserie THI- α -Säuren bei 30 °C mittels HPLC

Lagertemperatur 30 °C		THI- α -Säuren (ppm)					
	Lagerdauer (h)	0	5	10	25	50	100
Lactat (mg/kg)	21	456	198	233	224	139	116
	44	325	236	281	215	193	120
	66	518	269	341	332	281	248
Acetat (mg/kg)	21	271	220	152	223	189	229
	44	188	161	206	198	191	215
	66	217	139	168	211	183	202
Butyrat (mg/kg)	21	0	0	64	47	43	40
	44	0	0	21	22	36	0
	66	0	35	40	0	0	0
Formiat (mg/kg)	21	0	0	0	0	0	0
	44	0	0	0	0	0	0
	66	0	0	0	0	0	0
Ethanol (mg/kg)	21	1932	1933	2045	2169	2034	2196
	44	2937	2834	3162	3037	2888	2570
	66	3718	3431	3751	3679	3453	3902
Methanol (mg/kg)	21	0	0	0	0	0	0
	44	0	0	0	0	0	0
	66	0	0	0	0	0	0

9.1.5 Weiterführende Versuche mit verlängerter Lagerzeit im Labormaßstab

Abb. 36 und 37 zeigen die Verläufe der Lactatgehalte der Versuche mit verlängerter Lagerzeit im Labormaßstab bei 30 und 40 °C, durchgeführt mit Nassmais aus der zweiten Charge. Nach einer Lagerdauer von 66 h (2,75 Tage) wurde bei einer Lagertemperatur von 30 °C ein Lactatgehalt von 139 mg/kg und bei 40 °C ein Gehalt von 249 mg/kg nachgewiesen. Im Vergleich dazu wurden in den durchgeführten Versuchsserien mit Nassmais aus der ersten Charge nach einer Lagerzeit von 66 h bei einer Temperatur von 30 °C Lactatkonzentrationen bis zu 1137 mg/kg und bei 40 °C bis zu 687 mg/kg festgestellt.

Zum Unterschied zu den Ansätzen der vorherigen Versuchsserien im Labormaßstab wurde der Mais weder mit einem Wirkstoff noch mit entionisiertem Wasser besprüht. Durch die nicht erfolgte Flüssigkeitsbeimengung wurden die Aktivitäten von Mikroorganismen nicht gefördert, wie in den zuvor durchgeführten Ansätzen, bei denen die Behandlung mit entionisiertem Wasser erfolgte. Aber dennoch zeigten diese Versuchsserien mit verlängerter Lagerzeit die geringe Ausgangskontamination des Nassmaises dieser Charge mit Lactatbildnern im Vergleich zum Nassmais der ersten Charge. Zudem besteht die gesamte, nachgewiesene Lactatkonzentration aus L-Lactat. Sowohl bei der 30 °C als auch bei der 40 °C Versuchsserie mit verlängerter Lagerzeit wurde keine D-Lactatproduktion festgestellt.

Die Ergebnisse zeigten, dass die Menge an lactatbildenden Mikroorganismen in dieser Maischarge sehr gering ist und eine Hemmung der Lactatproduktion mittels dieser Wirkstoffe in dieser Maischarge kaum quantifizierbar ist. Zudem wurde auch kaum eine Gas- oder Geruchsbildung nach mehreren Tagen Lagerung beobachtet. Da sich diese Maischarge aufgrund dieser Untersuchungsergebnisse nicht für die Durchführung von Lagerversuchen im Labormaßstab eignete, wurden keine weiteren Versuche mit den Wirkstoffen Harzsäuren, Myristinsäure und RoMy8 : 2 durchgeführt.

Trotzdem war eine gewisse Dynamik an Milchsäurebildung und mikrobielle Aktivitäten erkennbar. Vor allem zu Beginn, innerhalb der ersten Tage der Lagerung, wurde ein Großteil des Lactats gebildet.

Bei der Lagertemperatur von 30 °C wurde in den ersten sieben Tagen eine stetige und regelmäßige Zunahme der Lactatkonzentration beobachtet. In den darauffolgenden weiteren knapp sieben Tagen wurde kaum noch eine Zunahme der Konzentration festgestellt (Abb. 36). Das gesamte nachgewiesene Lactat wurde in der bei 40 °C durchgeführten Versuchsserie innerhalb der ersten vier Tage, nach Beginn der Lagerung, produziert (Abb. 37). Anschließend folgte über einen Zeitraum von knapp zehn Tagen ein leichter Abfall bzw. eine Stagnation der Lactatkonzentration.

Ein möglicher Grund für die beobachteten Stagnation der Lactatkonzentrationen mit zunehmender Lagerzeit in den Versuchsserien könnte zunehmender Sauerstoffmangel im anaeroben Laborsilo sein. Milchsäurebakterien benötigen für ihre Lebensweise geringe Konzentrationen an Sauerstoff – in strikt anaeroben Systemen ist ihr Bestehen stark eingeschränkt. Weiters konnten sich möglicherweise im Laufe der Lagerdauer vermehrt Mikroorganismen etablieren, die eine andere Gärungen, abgesehen von der Milchsäuregärung, bevorzugen und Lactat als Substrat verwerten.

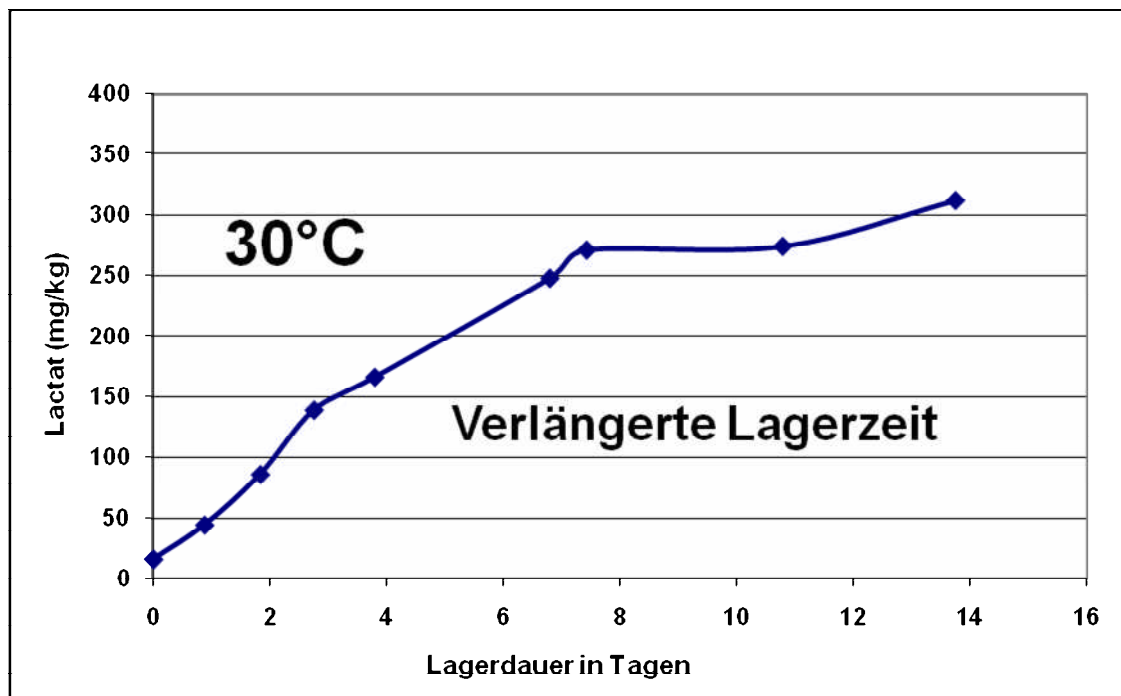


Abb. 36: Lactatkonzentration der Versuchsserie mit verlängerter Lagerzeit bei 30 °C

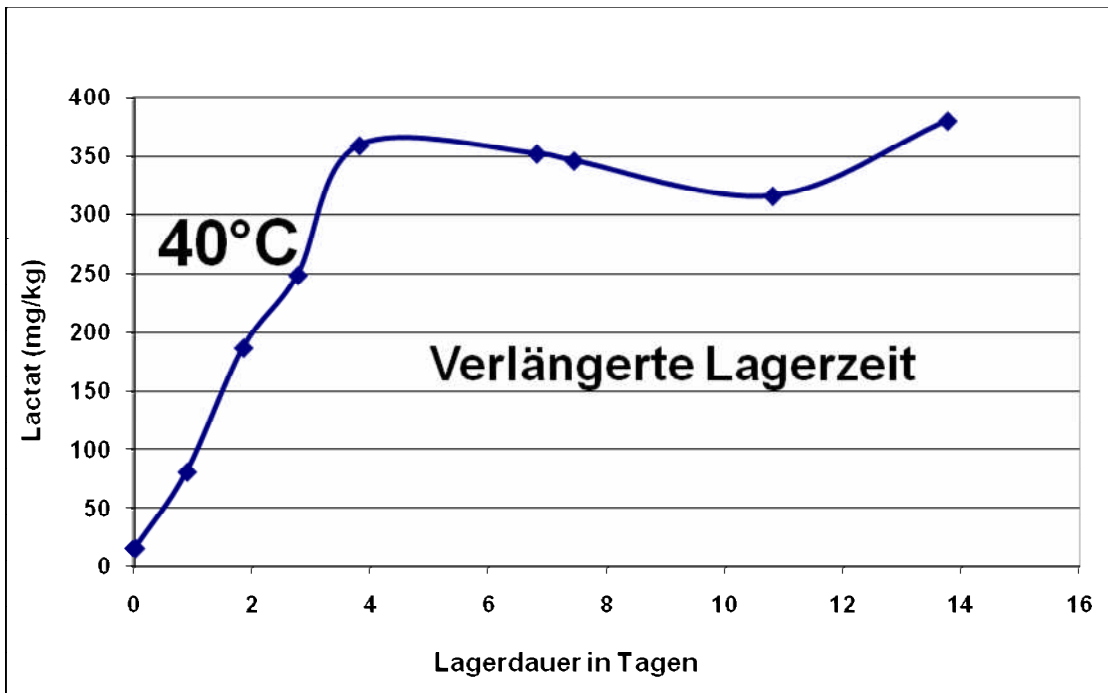


Abb. 37: Lactatkonzentration der Versuchsserie mit verlängerter Lagerzeit bei 40 °C

9.2 Versuche im Pilotmaßstab

Der Einsatz und die Auswirkungen von THI- α -Säuren auf die Herstellung von Maisstärken wurden über den Lactatzuwachs während der Lagerung, die Lactatentwicklung im Rahmen der Maisquellung sowie über Untersuchungen der gewonnenen Stärken beurteilt. Die Versuchsbedingungen der einzelnen Pilotversuche sind der Tab. 9 unter Kap. 8.3 zu entnehmen.

9.2.1 Nassmaislagerungen im Pilotmaßstab

Die für die Beurteilung der Nassmaislagerung im Pilotmaßstab relevanten Ergebnisse sind der Tab. 37 zu entnehmen. Auf die Angabe der Untersuchungsergebnisse der Feuchtigkeitsgehalts- und pH-Wertbestimmung wurde verzichtet, da diese, wie auch bei den Versuchen im Labormaßstab, keine Anhaltspunkte auf das Fortschreiten oder die Hemmung von Mikroorganismen im Rahmen einer Nassmaislagerung im Pilotmaßstab liefern.

Da die L-Lactatbestimmung mittels Yellow Springs Test wie bei den vorhergehenden Lactatuntersuchungen durchgeführt wurde, um die Bestimmung nach ICUMSA zu erleichtern, wurde auf die Angabe der Ergebnisse ebenfalls verzichtet.

Tab. 37: Versuchsbedingungen und Untersuchungsergebnisse der Nassmais-lagerungen im Pilotmaßstab

Pilotversuch	1		1a		2		3		4	
Nassmais	Frisch		Frisch		Frisch		Gefroren		Gefroren	
THI- α -Säuren (ppm)	0		0		100		25		0	
Besprühen mit Wasser bzw. THI- α -Säuren	Nein		Ja		Ja		Ja		Ja	
Lagerdauer (h)	18		18	48	18	48	48		48	
Lagertemperatur (°C)	20		4	40	4	40	40		40	
Zeitpunkt der Untersuchung	v. L.	n. L.	v. L.	n. L.	v. L.	n. L.	v. L.	n. L.	v. L.	n. L.
L-Lactat (mg/kg)	1	9	1	159	1	67	1	84	1	127
D-Lactat (mg/kg)	0	5	0	35	0	16	0	0	0	0
L+D-Lactat (mg/kg)	1	14	1	194	1	83	1	84	1	127

v.L....vor Lagerbeginn

n.L....nach der Lagerung

Bei Pilotversuch 1 führte die Lagerung des Nassmais für 18 h bei 20 °C zu einer Zunahme der Gesamtlactatkonzentration im Nassmais um 14 %. Dieser Versuch zeigte das Vorhandensein von Lactataktivitäten im frisch geernteten Nassmais.

Ein direkter Vergleich bei der Lagerung mit frischem Nassmais ist nur zwischen Pilotversuch 1a und 2 möglich. Bei beiden Versuchen wurde der Nassmais für 18 h bei 4 °C gelagert, anschließend mit entionisiertem Wasser (Pilotversuch 1a) bzw. einer THI- α -Säuren - Lösung mit einer Konzentration von 100 ppm (Pilotversuch 2) besprüht und für weitere 48 h bei 40 °C gelagert. Die Behandlung mit 100 ppm THI- α -Säuren führte im Vergleich zum Pilotversuch 1a zu einer Verminderung der Lactatbildung um 57,2 %.

Beim Pilotversuch 3, mit zwischenzeitlich gefrorenen Nassmais, wurde nach einer Lagerung von 48 h eine Lactatkonzentration von 84 mg/kg festgestellt. Dieser Nassmais wurde nach dem Auftauen mit einer Konzentration von 25 ppm THI- α -Säuren behandelt. Die dazugehörige, mit entionisiertem Wasser behandelte Charge wurde im Anschluss in Form des Pilotversuchs 4 durchgeführt. Bei diesem Versuch wurde nach Lagerung eine Lactatkonzentration von 127 mg/kg Nassmais nachgewiesen. Somit führte der Einsatz von 25 ppm THI- α -Säuren zu einer Reduktion der Lactatbildung um 33,9 %.

Auffallend bei allen Lagerversuchen im Pilotmaßstab sind die im Allgemeinen niedrigen Konzentrationen an Lactat im Vergleich zu den Versuchen im Labormaßstab, sowie die Zusammensetzung des L- und D-Lactats bei den mit zwischenzeitlich gefrorenem Nassmais durchgeführten Pilotversuchen 3 und 4. Alle Pilotversuche wurden mit Nassmais der 2. Charge durchgeführt und dieser zeigte, wie auch unter Kap. 9.1.5 diskutiert wurde, generell eine geringe Ausgangskonzentration an Lactatbildnern.

Die L- und D-Lactatkonzentrationen der Pilotversuche 3 und 4 zeigen im Vergleich zu den Ergebnissen der Versuche 1 und 2 die Auswirkungen des Gefrierprozesses auf die D-Lactatproduktion. Im Nassmais wurde kein D-Lactat festgestellt. Bei den mit diesem Nassmais durchgeführten Laborversuchen (Kap. 8.2 und 9.1.5) wurde ebenfalls kein D-Lactat nachgewiesen. Somit dürfte ein Einfrieren des Nassmaises gewisse Lactatbildner und somit die D-Lactatproduktion stark nachteilig beeinflussen. Im Unterschied dazu wurde in den Laborversuchen mit zwischenzeitlich gefrorenen Nassmais der 1. Charge (Kap. 8.1 und 9.1) D-Lactat nachgewiesen.

9.2.2 Maisquellung

Zur Beurteilung von THI- α -Säuren auf die Lactatentwicklung im Zuge der Maisquellung wurde basierend auf die Analysenergebnisse, eine Lactatbilanz erstellt, die die Veränderung des Lactatgehalts während des Quellprozesses zeigt. Dafür wurden die L- und D-Lactatkonzentration nach ICUMSA und der Feuchtigkeitsgehalt des Maises und des Quellwassers vor und nach Abschluss der Quellung bestimmt. Zudem wurde die Dichte des Quellwassers bestimmt. Die Zusammensetzung und der Ablauf eines Versuchsansatzes wurde unter Kap. 8.3.4 erklärt. Die Zugaben an Natriumbisulfit und Salzsäure im Quellprozess wurden in den Berechnungen zur Bilanzerstellung berücksichtigt.

Da bei den Pilotversuchen 1 und 2 frischer Nassmais und für die Pilotversuche 3 und 4 gefrorener Nassmais verwendet wurde, wurden nur die Pilotversuche 1 und 2 miteinander verglichen und ebenso die Versuche 3 und 4. Zudem wurde nur bei den zusammengehörigen Versuchen dasselbe Maisquellwasser für die Quellung eingesetzt.

Tab. 38 - 41 zeigen die Analysenergebnisse im Zuge der Bilanzerstellung sowie den Lactatzuwachs im Verlauf der Maisquellungsschritte der Pilotversuche 1 - 4. Die in kursiver Schrift angegebenen Werte wurden berechnet, während die übrigen Werte von Analysen stammen.

Tab. 38: Lactatbilanz des Pilotversuchs 1

Pilotversuch 1	Beginn der Quellung (0h)		Ende der Quellung (48h)	
	Mais	Quellwasser	Quellmais	Quellwasser
Menge	108 kg	100 L (102,6 kg)	158,9 kg	207,47 kg
TS (%)	79,58	7,51	54,09	6,16
Lactat (mg/kg)	14	13432	3028	8279
Dichte	-	1,026	-	1,022
Eingebrachte Lactatmenge (g)	1,51	1378,12	481,15	1717,64
Lactatzuwachs (%)			(+) 59,4	

Tab. 39: Lactatbilanz des Pilotversuchs 2

Pilotversuch 2	Beginn der Quellung (0h)		Ende der Quellung (48h)	
	Mais	Quellwasser	Quellmais	Quellwasser
Menge	107 kg	100 L (103,2 kg)	150,58 kg	215,97 kg
TS (%)	77,81	10,97	55,29	6,81
Lactat (mg/kg)	83	11248	1739	3890
Dichte	-	1,032	-	1,023
Eingebrachte Lactatmenge (g)	8,88	1160,79	261,86	840,11
Lactatzuwachs (%)			(-) 5,8	

Tab. 40: Lactatbilanz des Pilotversuchs 3

Pilotversuch 3	Beginn der Quellung (0h)		Ende der Quellung (48h)	
	Mais	Quellwasser	Quellmais	Quellwasser
Menge	109,5 kg	100 L (103,5 kg)	157,5 kg	210,38 kg
TS (%)	79,18	9,23	55,05	6,16
Lactat (mg/kg)	84	11279	2016	4291
Dichte	-	1,035	-	1,018
Eingebrachte Lactatmenge (g)	9,20	1167,38	317,51	902,74
Lactatzuwachs (%)			(+) 3,7	

Tab. 41: Lactatbilanz des Pilotversuchs 4

Pilotversuch 4	Beginn der Quellung (0h)		Ende der Quellung (48h)	
	Mais	Quellwasser	Quellmais	Quellwasser
Menge	103,5 kg	100 L (104,8 kg)	147,1 kg	217,36 kg
TS (%)	78,51	12,31	55,23	7,41
Lactat (mg/kg)	127	11121	2358	4263
Dichte	-	1,048	-	1,028
Eingebrachte Lactatmenge (g)	13,14	1165,48	346,78	926,61
Lactatzuwachs (%)			(+) 8,0	

Beim Pilotversuch 1 wurde eine Gesamtmenge von 1379,63 g Lactat in die Maisquellung eingebracht, wobei 99,9 % des Lactats vom zugegebenen Quellwasser stammte. Nach Abschluss der Quellung wurden insgesamt 2198,79 g Lactat im gequollenen Mais und Quellwasser nachgewiesen. Somit wurde ein Lactatzuwachs von 59,4 % (819,16 g) ermittelt.

Beim Pilotversuch 2 wurde nach Abschluss der Quellung keine Zunahme an Lactat festgestellt (- 5,78 %). Folglich führte der Einsatz von 100 ppm THI- α -Säuren zu einer Unterdrückung der Milchsäurebildung über den gesamten Zeitraum des Quellprozesses.

Bei dem mit zwischenzeitlich, gefrorenem Nassmais durchgeführten Pilotversuch 3 wurde eine Gesamtmenge von 1178,62 g Lactat in die Maisquellung eingebracht und nach Abschluss der Quellung wurden insgesamt 1220,24 g Lactat nachgewiesen. Es wurde ein Lactatzuwachs von insgesamt 43,66 g oder 3,7 % ermittelt.

Beim Pilotversuch 4 – mit entionisiertem Wasser behandelte und zwischenzeitlich gefrorene Nassmais – konnte ein Lactatzuwachs von 8,0 % nachgewiesen werden, obwohl keine Behandlung mit THI- α -Säuren erfolgte. Beim ebenfalls mit entionisiertem Wasser behandelten, mit frischen Nassmais durchgeführten Pilotversuch 1 zeigte sich, trotz kürzerer Lagerdauer, ein Zuwachs an Lactat während der Quellung von knapp 60 %.

Der Grund für den relativ niedrigen Zuwachs an Lactat während der Quellung beim Pilotversuch 4 dürfte im verwendeten Quellwasser liegen. Beim Pilotversuch 4, sowie auch beim Pilotversuch 3 wurde Quellwasser aus der Trockenmaiskampagne verwendet. Dieses ist aufgrund der niedrigeren Ausgangsbelastung von Milchsäurebakterien im Trockenmais nicht so stark mit Lactatbildnern kontaminiert wie das Quellwasser von Pilotversuch 1 oder 2, welches von der Nassmaiskampagne stammte.

Bei allen 4 Pilotversuchen stammte das in den Quellprozess eingebrachte Lactat beinahe zur Gänze vom Quellwasser. Aktive Lactatbildner

wurden sowohl vom Mais als auch mithilfe des Quellwassers in den Quellprozess eingebracht.

Zudem könnte der niedrige Lactatzuwachs in Pilotversuch 4 – und eventuell auch in Pilotversuch 3 – mit der Tatsache in Verbindung stehen, dass der Nassmais für längere Zeit eingefroren war. Durch den Gefrierprozess wurde die Anzahl an aktiven Milchsäurebildner vermindert, wie bereits unter Kap. 9.2.1 diskutiert wurde.

Die Bestimmung des pH-Werts des Maises und des Quellwassers sowie der Leitfähigkeit diente zur Überprüfung der Säuerung im Laufe des Quellprozesses und zur Charakterisierung des Quellwassers. Auf die Angabe der Ergebnisse wurde verzichtet, da der pH-Wert des Quellwassers und somit auch der des quellenden Maises während der Quellung durch Zugabe von Salzsäure immer wieder nachgestellt wurde, wie unter Kap. 8.3.4 angegeben wurde. Darüberhinaus wurde infolge dieses Vorgangs sowie durch die einzelnen Verdünnungsschritte, die im Zuge der batchweise betriebenen Quellung erfolgt sind, die Leitfähigkeit des Quellwassers verändert.

9.2.3 Stärkeuntersuchung

Die getrockneten Stärken der Pilotversuche wurden ausgewählt, den in der Stärkeabteilung Zuckerforschung Tulln GmbH üblichen, Untersuchungsmethoden unterzogen.

9.2.3.1 Feuchtigkeitsgehaltsbestimmung

Die Analysenergebnisse der Feuchtigkeitsgehaltsbestimmung sind der Tab. 42 zu entnehmen. Erfahrungsgemäß sollten die, mithilfe der Pilotanlage, in der Zuckerforschung Tulln GmbH, erzeugten Stärken einen Trockensubstanzgehalt von mindestens 88 % aufweisen. Die Trockensubstanz der vier Maisstärken lag zwischen 89,01 % und 90,43 %.

Tab. 42: Auswertung der Stärkeuntersuchungen

	Leitfähigkeit 25 °C [μS/cm]	pH-Wert Slurry 5 % i. TS	pH-Wert Kleister 5 % i. TS	TS (%)	Proteingehalt [%] i. TS
Pilotversuch 1	28,2	5,97	6,26	89,01	0,69
Pilotversuch 2	22,6	6,15	6,57	89,70	0,23
Pilotversuch 3	8,3	5,51	6,01	90,43	0,49
Pilotversuch 4	7,7	6,07	6,29	90,02	0,22

9.2.3.2 pH-Wert Bestimmung

Die pH-Werte der Slurries liegen zwischen 5,51 (Pilotversuch 3) und 6,15 (Pilotversuch 2) und die pH-Werte der Kleister zwischen 6,01 (Pilotversuch 3) und 6,57 (Pilotversuch 2). Normalerweise haben die mit der Pilotanlage erzeugten Slurries pH-Werte zwischen 5 - 7 und die Werte der Kleister liegen üblicherweise zwischen 6 und 7. Die Ergebnisse sind der Tab. 42 zu entnehmen. Die höchsten pH-Werte wurden in den beiden Untersuchungsmedien des Pilotversuchs 2 festgestellt. Bei diesem Versuch wurde die, im Rahmen der Untersuchungen höchste Konzentration von 100 ppm THI- α -Säuren bei der Lagerung des Nassmaises eingesetzt. Es ist aber sehr unwahrscheinlich, dass diese etwas höheren pH-Werte auf die Zugabe dieser basischen Lösung während der Lagerung zurückzuführen sind. Die Maisquellung und Stärkeherstellung beinhaltet einige Verdünnungsvorgänge und mehrere Auswaschungsprozesse, sodass die Basizität der Lösung keine direkten Auswirkungen auf den pH-Wert des Slurries bzw. Kleisters haben kann.

9.2.3.3 Leitfähigkeitsbestimmung

Die Leitfähigkeit eines Stärkeslurries gibt durch den Ionengehalt Hinweise auf die Auswaschung der Stärke in der Pilotanlage. Ein hoher Ionen-gehalt kann sich negativ auf die rheologischen Eigenschaften der Stärke auswirken [80]. Somit werden in Pilotversuchen niedrige Leitfähigkeiten von maximal 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ angestrebt. Die Werte lagen zwischen 7,7 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Pilotversuch 4) und 28,2 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Pilotversuch 1). Die Ergebnisse sind der Tab. 42 zu entnehmen.

Niedrige Leitfähigkeiten, wie die Werte der Slurries aus den Pilotversuchen 3 und 4, zeigen, dass die Stärke in der Pilotanlage konstant gut ausgewaschen wurde. Der mit 28,2 $\mu\text{S}/\text{cm}$ etwas höhere Wert des Pilotversuchs 1 lässt sich durch die schlechte Proteinabtrennung durch aufgetretene technische Probleme bei der Raffination in diesem Versuch erklären.

9.2.3.4 Rohproteingehaltsbestimmung

Die Ergebnisse der Proteinbestimmung sind der Tab. 42 zu entnehmen. Die Proteinanteile in der Stärke lagen zwischen 0,22 (Pilotversuch 4) und 0,69 % i. TS (Pilotversuch 1). Der etwas höhere Proteingehalt des Pilotversuchs 1 lässt sich, wie auch der hohe Wert der Leitfähigkeitsmessung unter Kap 9.2.3.3, durch die schlechte Abtrennung der Proteinfraction durch technische Probleme bei diesem Versuch erklären. Gewöhnlich liegt der Proteingehalt, der mithilfe der Pilotanlage erzeugten Stärken, in einem Bereich von 0,3 - 0,5 % i. TS.

9.2.3.5 Viskositätsmessung nach Brookfield

Die Untersuchungsergebnisse sind der Tab. 43 zu entnehmen. Die höchste Viskosität wurde beim Kleister des Pilotversuchs 1 festgestellt. Die Unterschiede der Viskositäten zwischen den Stärken sind relativ gering und lassen sich nicht auf die Behandlung des Nassmaises vor der Lagerung mit THI- α -Säuren zurückführen. Die Ergebnisse der Stärken aus mit THI- α -Säuren behandelten Nassmais unterscheiden sich bei diesem Viskositätsversuch nicht von den Viskositäten anderer Maisstärken. Um aussagekräftige Werte über den Einfluss von THI- α -Säuren auf Viskositätsmessungen von Stärken zu erhalten müssen weitere Pilotversuche durchgeführt werden. Im Rahmen nachfolgender Arbeiten wurden bereits weitere Pilotversuche mit dem Zusatz von Wirkstoffen durchgeführt und Viskositätsmessungen mit den erhaltenen Stärken vorgenommen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind dem Bericht von HUBER et al. zu entnehmen [79]. Weitere Forschungsarbeiten über Rückstände dieser Wirkstoffe nach deren Anwendung im Endprodukt Stärke und diversen Nebenprodukten wurde in der Arbeit von EGARTNER behandelt [81].

Tab. 43: Auswertungen der Viskositäten nach Brookfield

	Brookfield - Viskosität [mPa.s]	
	80 °C	50 °C
Pilotversuch 1	456	1082
Pilotversuch 2	374	976
Pilotversuch 3	396	1080
Pilotversuch 4	450	1012

9.2.3.6 Viskositätsmessung nach Brabender

Die Auswertungspunkte der Viskositätsmessungen mit dem Brabender - Viskograph sind der Tab. 44 zu entnehmen. Die Verkleisterungstemperaturen der Stärken aus den letzten beiden Pilotversuchen waren mit 79,8 °C (Pilotversuch 3) und 78,9 °C (Pilotversuch 4) etwas höher als die Verkleisterungstemperaturen der Pilotversuche 1 (71,8 °C) und 2 (72,9 °C). Ob die höheren Verkleisterungstemperaturen mit dem Gefrierprozess des Nassmaises vor der Lagerung in Zusammenhang stehen, kann nicht eindeutig geklärt werden. Wie auch bei der Viskositätsmessung nach Brookfield wurde das höchste Viskositätsniveau bei der Stärke aus dem Pilotversuch 1 festgestellt. Untersuchungsergebnisse von weiteren, mithilfe von Wirkstoffen erzeugten Stärken sind, wie unter Kap. 9.2.3.5 erwähnt, der ebenfalls an der ZFT durchgeführten Arbeiten von HUBER et al. zu entnehmen [79].

Tab. 44: Auswertungen der Brabender - Messungen

Brabender - Viskosität									
	T _{VKL}	Peak - Viskosität		Start der Haltezeit		Start der Kühlzeit		Endviskosität	
	Temp. [° C]	Visk. [BE]	Temp. [° C]	Visk. [BE]	Temp. [° C]	Visk. [BE]	Temp. [° C]	Visk. [BE]	Temp. [° C]
Pilotversuch 1	71,8	1038	90,5	952	94,2	684	94,4	2265	30,0
Pilotversuch 2	72,9	1034	91,4	976	94,1	688	94,5	2204	30,0
Pilotversuch 3	79,8	998	91,5	953	94,0	647	94,5	2101	30,0
Pilotversuch 4	78,9	999	90,9	942	94,0	664	94,5	2168	30,0

T_{VKL}..... Verkleisterungstemperatur

10 Schlussfolgerungen

In mehreren Schritten wurde ein Versuchsmodell zur Nassmaislagerung im Labormaßstab entwickelt. Die zur Verfügung gestellten Wirkstoffe wurden jeweils in unterschiedlichen Konzentrationen durch Aufsprühen auf den Mais aufgebracht. Von den untersuchten Parametern (Lactat, pH-Wert und Trockensubstanz) erwies sich der Lactatwert nach den vorgegebenen Zeitspannen der Lagerung als am aussagekräftigsten.

Von den getesteten Wirkstoffen im Labormaßstab konnte den THI- α -Säuren die beste Wirkung gegen Lactatbildung zugesagt werden. Der Einsatz von 5 ppm führte nach 66 h bei einer Lagertemperatur von 30 °C zu einer Hemmung der Lactatproduktion um knapp 43 % und 25 ppm führten bei 40 °C nach 66 h zu um 75 % niedrigere Lactatkonzentrationen als in der vergleichbaren Nullprobe. Um die Lactatproduktion bei der Nassmaislagerung sinnvoll einzudämmen, wären Konzentrationen von 10 - 15 ppm THI- α -Säuren vorstellbar. Um die Auswirkungen des Wirkstoffs in Silos beurteilen zu können, sind weitere Forschungsarbeiten in größeren Maßstäben notwendig.

Bei den im Pilotmaßstab durchgeführten Versuchen konnte durch den Einsatz von THI- α -Säuren eine unterschiedlich starke Hemmung der Lactatproduktion während der Lagerung und Maisquellung beobachtet werden. Die Untersuchungen des Quellwassers zeigen, dass die vor der zweitägigen Lagerung aufgetragenen THI- α -Säuren auch hemmende Wirkung auf die Lactatbildner im Maisquellwasser ausüben. Eine gänzliche Abwesenheit von Lactat ist im Quellprozess nicht erwünscht, da gewisse Konzentrationen für die Erweichung der Maisschale und Kornstruktur notwendig sind. Demzufolge sind Anwendungen von THI- α -Säuren, nach der Durchführung von weiteren Pilotversuchen mit frischem Probenmaterial, in der industriellen Stärkeerzeugung durchaus vorstellbar.

Die Untersuchungen der aus den Pilotversuchen resultierenden Stärken zeigen, dass sich diese in ihren Eigenschaften nicht von anderen Maisstärken unterscheiden.

11 Zusammenfassung / Summary

Nach der erfolgreichen Anwendung von Wirkstoffen auf Basis von Hopfensäuren, Myristinsäure und Harzsäuren gegen die Lactatbildung in der Zucker-, Ethanol- und Backhefeherstellung wurde im Zuge dieser Arbeit ein Einsatz bei der Nassmaislagerung im Zusammenhang mit der Maisstärkeherstellung untersucht.

Nach der Entwicklung eines geeigneten Versuchsmodells im Labormaßstab wurden systematische Versuche bei zwei Temperaturen und unterschiedlichen Wirkstoffkonzentrationen durchgeführt. Dabei wurde die Lactatentwicklung im Nassmais über eine knapp dreitägige Lagerung bei 30 und 40 °C beobachtet. Die Beurteilung der einzelnen Wirkstoffe und Konzentrationen erfolgte durch Bestimmung des L- und D-Lactats nach ICUMSA. Der pH-Wert und der Feuchtigkeitsgehalt lieferten keine aussagekräftigen Resultate über den Zuwachs von Gärprodukten oder den Verlust von Trockensubstanz durch Mikroorganismenaktivitäten im Nassmais, wahrscheinlich da dafür der Beobachtungszeitraum zu kurz gewählt war.

Unter den zur Verfügung gestellten Wirkstoffen konnte den THI- α -Säuren der beste Effekt bei der Lagerung von Nassmais im Labormaßstab zugeschrieben werden. Bereits eine sehr geringe Konzentration von 5 ppm führte bei einer Lagertemperatur von 30 °C zu einer Hemmung der Lactatproduktion um mehr als 42 %.

Mit der Bestimmung von Methanol, Ethanol, Acetat, Butyrat, Formiat und Lactat mittels HPLC einer exemplarischen Versuchsserie wurde die prinzipielle Anwesenheit von weiteren Gärprodukten, abgesehen von Lactat, aus heterofermentativen Milchsäuregärungen bestätigt.

Um die Wirksamkeit im nächst größeren Maßstab zu bestätigen und um Hinweise über die Auswirkungen des Wirkstoffes auf die Verarbeitbarkeit des Maises und die Eigenschaften der daraus resultierenden Stärke im Zuge des Maisstärkeherstellungsprozesses zu erhalten, wurde mithilfe der Pilotanlage der

Zuckerforschung Tulln GmbH, aus mit THI- α -Säuren behandelten und gelagerten Nassmais, Stärke im Pilotmaßstab hergestellt.

Es konnte gezeigt werden, dass THI- α -Säuren nicht nur bei der Lagerung im Pilotmaßstab, sondern auch bei der Maisquellung hemmenden Einfluss auf die sich im Milieu des Maisquellwassers angepassten Lactatbildner haben. Die produzierten Stärken zeigten keine Unterschiede in den Eigenschaften bei den für Stärken üblichen Untersuchungsmethoden, wie beispielsweise Viskositätsmessungen nach Brabender oder Brookfield, im Vergleich zu den ohne den Einsatz von THI- α -Säuren hergestellten Vergleichsproben.

Die umfangreichen Untersuchungen zur Nassmaislagerung mit Anwendung dieser Wirkstoffe haben gezeigt, dass mit dem Einsatz die Lactatbildung reduziert und so der Eintrag von Lactat in den Produktionsprozess verringert werden kann.

Summary

After the successful application of active ingredients based on hop acids, myristic acid and rosin acids to suppress lactic acid growth in the industrial production of sugar, ethanol and baker's yeast, the use of these products for wet maize storage was tested in this thesis, particularly with regard to maize starch production.

A suitable laboratory scale model for the simulation of wet maize storage was established and systematic tests at two different temperatures with varied concentrations of active ingredients were performed. The formation of lactic acid in wet maize was observed at 30 and 40 °C in the process within a storage period of nearly three days. The assessment of effectiveness of the individual active ingredients and concentrations was based on the adapted ICUMSA method of L- and D-lactic acid analysis. Other determined parameters like pH-value and dry matter didn't lead to significant results about the increase of fermentation products or dry matter loss caused by activity of microorganisms. This was because the time of observation was probably too short.

Among the provided active ingredients the THI- α -acids had shown the best results during wet maize storage on the laboratory scale. Even a very low dosage of 5 ppm reduced lactic acid formation more than 42 % at a storage temperature of 30 °C.

HPLC analysis of methanol, ethanol, acetate, butyrate, formate and lactic acid of an exemplary test series, also confirmed the presence of other fermentation products, deriving from the activity of heterofermentative lactic acid bacteria.

Trials on a larger scale were conducted in the pilot plant of Zuckerforschung Tulln GmbH to confirm the effectiveness of the substances and to evaluate the impact of wet maize treatment on processability and the quality of the starch and by-products produced. In these investigations wet

maize was sprayed with THI- α -acids, stored for a certain time and finally processed in the pilot plant.

Results show that THI- α -acids not only have inhibitory effects during wet maize storage in pilot scale but also during maize steeping where growth of lactic acid bacteria was significantly slowed down. Comparison of starches produced from untreated maize and from maize that had been treated with THI- α -acids before storage showed no differences in quality characteristics. Methods, which are typical for the starch industry, such as viscosity measurements according to Brookfield or Brabender, were adopted.

Results deriving from investigations with these active ingredients indicate potential to limit lactic acid formation in stored wet maize prior to maize processing and therefore seem to be suitable for reducing the lactic acid load in wet maize. Interestingly, this study also demonstrates an impact of applied substances on microbial activity even beyond the storage phase during the subsequent steeping process.

12 Literatur

- [1] POLLACH, G.; W. HEIN und F. HOLLAUS: Einsatz von Hopfenprodukten als Bakteriostaticum in der Zuckerindustrie. Zuckerind. 121 (1996) 919 - 926.
- [2] HEIN, W. und G. POLLACH: Neue Erkenntnisse beim Einsatz von Hopfenprodukten in der Zuckerindustrie. Zuckerind. 122 (1997) 940 - 949.
- [3] HEIN, W.; G. POLLACH and F. EMERSTORFER: 10 years' experience with natural antibacterials within Agrana. Zuckerind. 131 (2006) 477 - 491.
- [4] POLLACH, G.; W. HEIN and D. BEDDIE: The concept of different natural antibacterials for the sugar industry. Zuckerind. 129 (2004) 555 - 564.
- [5] POLLACH, G.; W. HEIN and D. BEDDIE: Application of hop β -acids and rosin acids in the sugar industry. Zuckerind. 127 (2002) 921 - 930.
- [6] HEIN, W.; G. POLLACH and G. RÖSNER: Studies of microbiological activities during thick juice storage. Zuckerind. 127 (2002) 243 - 257.
- [7] <http://www.baua.de/> Verzeichnis krebserzeugender, erbgutverändernder oder fortpflanzungsgefährdender Stoffe, Tätigkeiten und Verfahren nach Anhang I der Richtlinie 67/548/EWG, TRGS 905 und TRGS 906 Stand: März 2007. (18.05.2008).
- [8] POLLACH, G.; W. HEIN and G. RÖSNER: New findings towards solving microbial problems in sugar factories. Zuckerind. 124 (1999) 622 - 637.
- [9] ROBERTS, T. R. and R. J. H. WILSON: Hops. In: Handbook of Brewing. 2nd Edition. Ed. by F. G. PRIEST and G. G. STEWART, CRC Press Taylor & Francis Group, (2006) 177 - 280.
- [10] NARZISS, L.: Abriss der Bierbrauerei. 6. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1995).

- [11] VERZELE, M. and D. DE KEUKELEIRE: Chemistry and Analysis of Hop and Beer Bitter Acids. Elsevier Science, Amsterdam (1991).
- [12] SCHÖNBERGER, C.: The processing of hops. In: Brewing: New Technologies. Ed. By: C. W. BAMFORTH, Woodhead Publishing Limited, Abington (2006) 123 - 148.
- [13] EUROPEAN BREWERY CONVENTION: Manual of good practice, Hops and Hop Products, Getränke - Fachverlag Hans Carl, Nürnberg (1997).
- [14] RÜCKLE, L.: Hop acids as natural antibacterials in ethanol fermentation. International Sugar Journal, Vol. 107, No. 1275 (2005) 162 - 165.
- [15] NARZISS, L.: Die Technologie der Würzebereitung. 7. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1992).
- [16] SHIMWELL, J. L.: On the relation between the staining properties of bacteria and their reaction towards hop antiseptic. J. Inst. Brewing 43 (1937) 111 - 118 and 191 - 195.
- [17] TEUBER, M. and A. F. SCHMALRECK: Membrane Leakage in *Bacillus subtilis* 168 induced by the hop constituents lupulone, humulone and humulinic acid. Arch. Mikrobiol. 94 (1973) 159 - 171.
- [18] SIMPSON, W. J.: Studies on the sensitivity of lactic acid bacteria to hop bitter acids. J. Inst. Brew. 99 (1993) 405 - 411.
- [19] EMERSTORFER, F.: Wirksamkeit von natürlichen Biostabilisatoren gegen mesophile schleimbildende Bakterien. Diplomarbeit an der Universität für Bodenkultur, Wien (2005).
- [20] RÜCKLE, L. and T. SENN: Hop acids can efficiently replace antibiotics in ethanol production. International Sugar Journal, Vol. 108, No. 1287 (2006) 139 - 147.
- [21] <http://www.betatechopproducts.com/> (12.02.2008).

- [22] RUCKENBAUER, W. und J. TRAXLER: Lexikon Wein. Österreichischer Agrarverlag Druck- und Verlagsges.m.b.H. Nfg. KG, Wien (2006).
- [23] HORNSEY, I.: The Chemistry and Biology of Winemaking. The Royal Society of Chemistry, Cambridge (2007).
- [24] FRANKE, W.: Nutzpflanzenkunde. 6. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1997).
- [25] CLAUS, P. K.: Chemie der Naturstoffe. Institut für organische Chemie der Universität Wien, Wien (2002).
- [26] <http://www.maiskomitee.de/> (08.03.2008).
- [27] <http://www.zuckerforschung.at/> (09.02.2008).
- [28] <http://www.inaro.de/> (08.03.2008).
- [29] WATSON, S. A.: Structure and Composition. In: Corn: Chemistry and Technology. Ed. by: S. A. WATSON; A. STANLEY and P. E. RAMSTEAD, American Association of Cereal Chemists, USA (1999) 53 - 82.
- [30] BUNDESMINISTERIUM FÜR ERNÄHRUNG, LANDWIRTSCHAFT UND VERBRAUCHERSCHUTZ: Ernte 2006: Mengen und Preise. Bericht zur Erntelage 2006, Berlin – Bonn (2006).
- [31] ROBL, G.: Mais für die Stärkeindustrie - eine Absatzchance für Österreichs Maisbauern. Maiskorn Fachinformation für Maisbauern. Nr. 1 (2001) 6 - 7.
- [32] ZUSER, W. und D. FALLMANN: Mais – Siebungslisten zum Anbau für die Stärkeindustrie. Agro Zucker Stärke 1/2007 (2007) 20 - 21.
- [33] AGRANA: Bericht über das erste Halbjahr Q2_2006/07. AGRANA Beteiligungs - AG Wien, Wien (2006).

- [34] HINTERHOLZER, J.: Körnermaisqualität in der Stärkeindustrie. In: Arbeitsgemeinschaft landwirtschaftlicher Versuchsanstalten – Jahrestagung 2001 in Wolfpassing (2001) 101 - 102.
- [35] <http://www.lgseeds.de/> : Körnermais, Qualitätskriterien für den Anbau. Broschüre, (08.03.2008).
- [36] LASSERAN, J. C.: Chemical and physical changes in maize components affecting quality for the wet-milling industry. In: Uniformity by 2000: An international Workshop on Maize and Soybean Quality. Ed. by L. D. HILL, Scherer Communications Urbana, Illinois (1991) 197 - 216.
- [37] HAROZ, M. and C. SUAREZ: Effect of drying, initial moisture and variety in corn wet milling. Journal of Food Engineering 34 (1997) 473 - 481.
- [38] TEGGE, G.: Stärke und Stärkederivate. B. Behr's Verlag GmbH & Co. KG, Hamburg (2004).
- [39] HAROZ, M.; O. E. PEREZ and C. M. ROSELL: Effect of steeping corn with lactic acid on starch properties. Cereal Chem. 81 (2004) 10 - 14.
- [40] ROUSHDI, M.; A. A. FAHMY and M. MOSTAFA: Role of lactic acid in corn steeping and its relation with starch isolation. Starch 33 (1981) 426 - 428.
- [41] SHANDERA, D. L.; A. M. PARKHURST and D. S. JACKSON: Interactions of sulfur dioxide, lactic acid, and temperature during simulated corn wet milling. Cereal Chem. 72 (1995) 371 - 378.
- [42] COX, M. J.; M. M. MacMASTERS and G. E. HILBERT: Effect of sulfurous acid steep in corn wet milling. Cereal Chem. 21 (1944) 447 - 465.
- [43] 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.

- [44] DU, L.; B. LI; J. F. LOPES-FILHO; C. R. DANIELS and S. R. ECKHOFF: Effect of selected organic and inorganic acids on corn wet - milling yields. Cereal Chem. 73 (1996) 96 - 98.
- [45] ECKHOFF, S. R. and C. C. TSO: Wet milling of corn using gaseous SO₂ addition before steeping and the effect of lactic acid on steeping. Cereal Chem. 68 (1991) 248 - 251.
- [46] PEREZ, O. E.; M. HAROS and C. SUAREZ: Corn steeping: Influence of time and lactic acid on isolation and thermal properties of starch. Journal of Food Engineering 48 (2001) 251 - 256.
- [47] BISS, R. and U. COGAN: Sulfur dioxide in acid environment facilitates corn steeping. Cereal Chem. 73 (1996) 40 - 44.
- [48] RAUSCH, K. D.; S. K. SINGH and S. R. ECKHOFF: Magnesium bisulfite and sodium bisulfite as alternative steeping agents for wet milling. Cereal Chem. 70 (1993) 489 - 490.
- [49] BALA, B. K.: Drying storage of cereal grains. Science Publishers, Inc., New Hampshire (1997).
- [50] ECKL, J.: Fachgerechte Getreidelagerung. Getreidemagazin 10, 1 (2005) 60 - 62.
- [51] BRUNNER, H.: Getreidepflege durch Kühlkonservierung. Getreide 5, 3 (1999) 122 - 126.
- [52] HUMPISCH, G.: Getreide richtig lagern. Getreidemagazin 11, 2 (2006) 143 - 145.
- [53] SAUL, R. A. and J. L. STEELE: Why damaged shelled corn costs more to dry. Agricultural Engineering 47 (1966) 326 - 329.
- [54] BURGHause, F.: Vorsorge bei der Getreidelagerung. Getreidemagazin 8, 3 (2003) 195 - 197.

- [55] BÖCKELMANN, M.: Getreidetrocknung und -aufbereitung. Getreide 5, 3 (1999) 117 - 121.
- [56] REHMAN, Z. U.; F. HABIB and S. I. ZAFAR: Nutritional changes in maize (Zea mays) during storage at three temperatures. Food chemistry 77 (2002) 197 - 209.
- [57] REHMAN, Z. - U. and W. H. SHAH: Biochemical changes in wheat during storage at three temperatures. Plant Foods Hum. Nutr. 54 (1999) 107 - 117.
- [58] ARTHUR, F. H.: Grain Protectants: Current Status and Prospects for the Future. J. stored Prod. Res. Vol. 32, No. 4 (1996) 293 - 302.
- [59] AGBOOLA, S. D.: Current status of the controlled atmosphere storage in Nigeria. The Journal of Food Technology in Africa, Vol. 6, No. 1 (2001) 30 - 36.
- [60] LASSERAN, J. C.: Incidences of drying and storing conditions of corn (maize) on its quality for starch industry. Die Stärke 25 (1973) 257 - 262.
- [61] TOLLIER, M. T. and A. GUILBOT: Caracteristiques de la fraction glucidique des echantillons de maïs grain. In Le maïs grain: prestockage, sechage et qualite. Annales de zootechnie 20 (1971) 633 - 640.
- [62] ASHRAE: Physiological factors in drying and storing farm crops. In: ASHRAE handbook of fundamental, USA (2001) 11.1 - 11.7.
- [63] HEIDER, J.: Mikrobielle Gärungen. In: Allgemeine Mikrobiologie. Hrsg.: G. FUCHS, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (2007) 347 - 378.
- [64] ANONYMOUS: Produkt - Sicherheitsdatenblatt LactostabTM. Firmenschrift der BetaTec Hopfenprodukte GmbH, Nürnberg (2005).
- [65] ANONYMOUS: Produkt - Sicherheitsdatenblatt IsostabTM. Firmenschrift der BetaTec Hopfenprodukte GmbH, Nürnberg (2004).

- [66] ANONYMOUS: Produkt - Sicherheitsdatenblatt BetaStab® 10 A. Firmenschrift der BetaTec Hopfenprodukte GmbH, Nürnberg (2005).
- [67] ANONYMOUS: Produkt - Sicherheitsdatenblatt PineStab 20 A. Firmenschrift der AGRANA Zucker GmbH, Tulln (2004).
- [68] ANONYMOUS: Produkt - Sicherheitsdatenblatt PalmStab 20 A. Firmenschrift der AGRANA Zucker GmbH, Tulln (2004).
- [69] BRÜCKLER, M.; E. WALSH; KOZICH, M. und M. M. WASTYN: Arbeitsanweisung M 1: Magnetrühreraufkochen. Firmenschrift der Zuckerforschung Tulln GmbH, Tulln (2008).
- [70] ANONYMOUS: L-Laktat. In: Bedienungsanleitung YSI 2700 Select.
- [71] GUTMANN, I. und A. W. WAHLEFELD: L - (+) Lactat - Bestimmung mit Lactat-Dehydrogenase und NAD⁺. In: Methoden der enzymatischen Analyse. Hrsg.: H. U. BERGMAYER, 3. Auflage, Band 2, Verlag Chemie, Weinheim (1974) 1510 - 1514.
- [72] ICUMSA: Method GS8/4/6-13. The Determination of Lactic Acid (L- and D-) in Juice and Processing Products by an Enzymatic Method (1994).
- [73] HUNNIUS, C.: Pharmazeutisches Wörterbuch. 9. Auflage, Hrsg.: H. P. T. AMMON, Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, Berlin (2004).
- [74] BRÜCKLER, M.; R. WITTENBERGER und M. M. WASTYN: Arbeitsanweisung ST 2: Bestimmung des Stickstoffgehalts. Firmenschrift der Zuckerforschung Tulln GmbH, Tulln (2006).
- [75] ANONYMOUS: Seit 120 Jahren bewährt. Jetzt noch einfacher. Stickstoff – Bestimmung nach Kjeldahl. Firmenschrift der Merck KGaA.
- [76] HARRINGER, N.: Mündliche Mitteilung (2007).

- [77] WITTENBERGER, R und E. NOSKO: Gewinnung und Untersuchung von Maisstärke mit der Pilotanlage/ZFT – Verarbeitung von 16 österreichischen Maissorten des Jahrgangs 2001. Bericht der Zuckerforschung Tulln GmbH, Tulln (2002).
- [78] FRITSCH, W. und F. LAPLACE: Mikrobiologie. 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg – Berlin (1999).
- [79] HUBER, C.; F. EMERSTORFER; R. WITTENBERGER and W. HEIN: Application of hop products in maize starch production – Part 2: The influence of hop products on lactic acid formation during the maize steeping process. Report, Zuckerforschung Tulln GmbH, Tulln (2007).
- [80] WITTENBERGER, R.: Gewinnung und Untersuchung von Maisstärke mit der Pilotanlage/ZFT – Verarbeitung von vier österreichischen Maissorten der Ernte 2005. Bericht der Zuckerforschung Tulln GmbH, Tulln (2006).
- [81] EGARTNER, C.: Studies on the fate of hop components in maize starch production. Diploma thesis, University of Vienna (2008).