



Hochschule Neubrandenburg

Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften

Studiengang Lebensmittel- und Bioprodukttechnologie

Einfluss der Anzuchtbedingungen von Starterkulturen auf deren Fermentationsverhalten bezüglich Wachstum, Säuerung, Textur, Gesamtkeimzahl und Geschmacksprofil in Joghurt

Masterarbeit

zur Erlangung des akademischen Grades

Master of Science (M.Sc.)

Vorgelegt von: Lisa Hentschel

Betreuer: Prof. Dr. Karl Steffens

Zweitbetreuer: [REDACTED]

Tag der Einreichung: 06.12.2017

URN: urn:nbn:de:gbv:519-thesis2017-0577-2

Selbstständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass die vorliegende Arbeit von mir selbstständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt worden ist und ich keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Textstellen, die wörtlich oder annähernd wörtlich aus Veröffentlichungen entnommen wurden, sind durch Zitate als solche gekennzeichnet.

Ich erkläre weiterhin, dass die abgegebene digitale Version mit der eingereichten schriftlichen Arbeit übereinstimmt.

Ort, Datum

Unterschrift

Abstract

Starter bacteria for the production of yoghurt are sensitive to numerous factors. The aim of this study was to investigate the influence of temperature, lactose content and the quantity of inoculation during the cultivation of a mixed culture consisting of *S. thermophilus* and *L. acidophilus*. For this purpose, the parameters acidification during cultivation and yoghurt fermentation, the total bacteria count, the texture of the produced yoghurt as well as the taste were examined. It has been shown, that the time of cultivation decreases, the time of fermentation increases, and the viscosity of the yoghurt increases with rising temperature. A lactose content of 1.5 to 2.0 % in the culture medium shortened, whereas lower and higher lactose contents extended the time of cultivation and fermentation. A higher quantity of inoculation in the cultivation led to no results. Regarding the total bacteria count, no dependencies were found. The taste of the yoghurts only showed minor dependencies and needs further investigations.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|----------|
| Abkürzungsverzeichnis..... | VI |
| Abbildungsverzeichnis..... | VII |
| Tabellenverzeichnis..... | IX |
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 2 Aufgabenstellung..... | 3 |
| 3 Grundlagen..... | 4 |
| 3.1 Begriffsbestimmung..... | 4 |
| 3.2 Rohstoff Milch | 5 |
| 3.2.1 Allgemein | 5 |
| 3.2.2 Zusammensetzung der Milch | 6 |
| 3.2.2.1 Wasser..... | 6 |
| 3.2.2.2 Fett..... | 6 |
| 3.2.2.3 Milchprotein..... | 6 |
| 3.2.2.4 Lactose | 7 |
| 3.2.2.5 Mineralien und Vitamine..... | 7 |
| 3.3 Joghurtherstellung..... | 7 |
| 3.3.1 Herstellung der Joghurtmilch..... | 7 |
| 3.3.2 Joghurtfermentation und Gelbildung..... | 8 |
| 3.3.3 Fertigstellung des Joghurts | 9 |
| 3.4 Starterkulturen..... | 10 |
| 3.4.1 Allgemein | 10 |
| 3.4.2 Stoffwechselprodukte | 12 |
| 3.4.2.1 Milchsäure..... | 12 |
| 3.4.2.2 Geschmackskomponenten | 12 |
| 3.4.2.3 Exopolysaccharide | 13 |
| 3.4.2.4 Peptide und Aminosäure | 13 |
| 3.4.2.5 Fettsäuren..... | 14 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 3.4.2.6 | Vitamine | 14 |
| 3.4.2.7 | Ammoniak | 14 |
| 3.4.3 | Starterkulturen für die Joghurtherstellung..... | 15 |
| 3.4.4 | Kulturenherstellung | 15 |
| 4 | Aktueller Stand von Wissenschaft und Technik | 17 |
| 4.1 | Einfluss Temperatur und pH-Wert auf Wachstum..... | 17 |
| 4.2 | Einfluss Nährmedium auf Wachstum..... | 19 |
| 4.3 | Einflussfaktoren auf die Viskosität des Joghurts..... | 21 |
| 5 | Material und Methoden | 23 |
| 5.1 | Materialien | 23 |
| 5.2 | Methoden zur Probenherstellung..... | 24 |
| 5.2.1 | Aufbereitung der Mutterkultur | 24 |
| 5.2.2 | Herstellung Nährboden | 24 |
| 5.2.3 | Anzucht der Starterkulturen..... | 25 |
| 5.2.4 | Herstellung Joghurtmilch..... | 25 |
| 5.2.5 | Joghurtfermentation | 26 |
| 5.3 | Analysemethoden | 26 |
| 5.3.1 | Säuerungsverlauf | 26 |
| 5.3.2 | Gesamtkeimzahl | 27 |
| 5.3.3 | Viskosität..... | 28 |
| 5.3.4 | Sensorik..... | 28 |
| 5.3.5 | Statistik | 29 |
| 6 | Ergebnisse und Diskussion der Vorversuche..... | 30 |
| 6.1 | Schlussfolgerungen aus aktuellem Stand von Wissenschaft und Technik | 30 |
| 6.2 | Vorversuche: Temperatureinfluss..... | 31 |
| 6.3 | Vorversuche: pH-Einfluss | 34 |
| 6.4 | Vorversuche: Lactoseeinfluss..... | 37 |
| 6.5 | Vorversuche: Harnstoffeinfluss..... | 39 |
| 6.6 | Vorversuche: Einfluss des Alters der Kultur..... | 40 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 6.7 | Vorversuche: Einfluss des Alters der Milch..... | 41 |
| 6.8 | Diskussion der Vorversuche..... | 42 |
| 7 | Ergebnisse und Diskussion der Hauptversuche..... | 45 |
| 7.1 | Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt des Nährmediums..... | 45 |
| 7.1.1 | Einfluss auf das Säuerungsverhalten während der Anzucht..... | 45 |
| 7.1.2 | Einfluss auf das Fermentationsverhalten im Joghurt..... | 49 |
| 7.1.3 | Einfluss auf die Gesamtkeimzahl..... | 53 |
| 7.1.4 | Einfluss auf die Viskosität des Joghurts..... | 55 |
| 7.1.5 | Einfluss auf die Sensorik des Joghurts..... | 57 |
| 7.2 | Einfluss der Inokulationsmenge des Nährbodens der Anzucht..... | 58 |
| 7.2.1 | Einfluss auf das Säuerungsverhalten während der Anzucht..... | 58 |
| 7.2.2 | Einfluss auf das Fermentationsverhalten im Joghurt..... | 59 |
| 7.2.3 | Einfluss auf die Gesamtkeimzahl..... | 61 |
| 7.2.4 | Einfluss auf die Viskosität des Joghurts..... | 63 |
| 7.2.5 | Einfluss auf die Sensorik des Joghurts..... | 64 |
| 8 | Diskussion..... | 65 |
| 9 | Ausblick..... | 71 |
| 10 | Zusammenfassung..... | 72 |
| | Literaturverzeichnis..... | 72 |
| | Anhang..... | 74 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|--|
| d | Tage |
| EPS | Exopolysaccharide |
| EPS ⁻ | EPS-negativ |
| EPS ⁺ | EPS-positiv |
| GKZ | Gesamtkeimzahl |
| h | Stunden |
| KZ | Keimzahl |
| LA | <i>Lactobacillus acidophilus</i> |
| Lac | Lactose |
| MIV | Milchindustrie-Verband e.V. |
| n.a. | nicht angegeben |
| n.s. | nicht signifikant |
| ST | <i>Streptococcus thermophilus</i> |
| VDLUFA | Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1: Pro-Kopf-Verbrauch von Milchprodukten in Deutschland [MIV 2017]..... | 1 |
| Abbildung 2: Aufbau und Stabilisierung von Kaseinmizellen [Tetra Pak 2012, S. 42] | 7 |
| Abbildung 3: Drei vereinfachte Phasen der Wirkung von Säure und Lauge auf Casein | 9 |
| Abbildung 4: Herstellung von stichfestem und gerührtem Joghurt | 10 |
| Abbildung 5: Homofermentative Fermentation von Lactose durch Milchsäurebakterien | 11 |
| Abbildung 6: Struktur der Milchsäure..... | 12 |
| Abbildung 7: Schritte bei der Kulturenherstellung. | 16 |
| Abbildung 8: Effekt der Temperaturveränderung auf die spezifische Wachstumsrate μ von 1 S. thermophilus St20 (pH 6,5), 4 L. acidophilus La5 (pH 6,2)..... | 18 |
| Abbildung 9: Effekt der pH-Veränderung auf die spezifische Wachstumsrate μ von 1 S. thermophilus St20 (43 °C) und 4 L. acidophilus La5 (41 °C)..... | 19 |
| Abbildung 10: Arttypisches Koloniewachstum von S. thermophilus auf Blutagar | 27 |
| Abbildung 11: Arttypisches Koloniewachstum von L. acidophilus auf Blutagar | 27 |
| Abbildung 12: Einfluss der Anzuchttemperatur auf die Säuerungszeit im Nährboden..... | 32 |
| Abbildung 13: Einfluss der Anzuchttemperatur auf die Fermentationszeit im Joghurt bei 44 °C..... | 33 |
| Abbildung 14: Einfluss des pH-Wertes auf das Säuerungsverhalten während der Anzucht bei 41 °C..... | 35 |
| Abbildung 15: Einfluss der pH-Veränderungen in der Anzucht auf die Fermentationszeit im Joghurt bei 44 °C..... | 36 |
| Abbildung 16: Einfluss des Lactosegehaltes im Nährmedium auf die Säuerungszeit bei 41 °C Anzuchttemperatur | 37 |
| Abbildung 17: Einfluss des Lactosegehaltes im Nährmedium der Anzucht auf die Fermentationszeiten in Joghurt bei 44 °C Fermentationstemperatur | 38 |
| Abbildung 18: Einfluss von Harnstoff im Nährmedium auf das Säuerungsverhalten bei 41 °C Anzuchttemperatur | 39 |
| Abbildung 19: Einfluss des Alters der Starterkultur auf die Säuerungsverhalten bei 41 °C Anzuchttemperatur | 40 |
| Abbildung 20: Einfluss des Alters der Milchrohstoffe auf das Fermentationsverhalten in Joghurt bei 44 °C..... | 42 |
| Abbildung 21: Einfluss der Anzuchttemperatur und des Lactosegehaltes im Nährmedium auf die Anzuchtdauer..... | 45 |
| Abbildung 22: Abhängigkeit des pH-Wertes nach 24 h in der Anzucht von der Anzuchttemperatur | 47 |

| | |
|---|----|
| Abbildung 23: Abhängigkeit des pH-Wertes nach 24 h in der Anzucht vom Lactosegehalt im Nährboden | 48 |
| Abbildung 24: Fermentationszeiten der Joghurts der Untersuchungen zum Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt im Nährmedium der Anzucht | 49 |
| Abbildung 25: Zusammenhang des pH-Wertes nach 24 h im Joghurt bei 42 °C und der Anzuchttemperatur | 51 |
| Abbildung 26: Zusammenhang des pH-Wertes nach 24 h im Joghurt bei 42 °C und dem Lactosegehalt des Nährmediums in der Anzucht | 52 |
| Abbildung 27: Viskositäten der Joghurts zum Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt im Nährmedium der Anzucht | 56 |
| Abbildung 28: Einfluss der Inokulationsmenge der Starterkultur im Nährboden auf die Anzuchtdauer bei 42 °C | 58 |
| Abbildung 29: Einfluss der Inokulationsmenge der Starterkultur auf den pH-Wert nach 24 h in der Anzucht bei 42 °C | 59 |
| Abbildung 30: Einfluss der Inokulationsmenge des Nährbodens auf die Fermentationszeit des Joghurts bei 42 °C | 60 |
| Abbildung 31: Einfluss der Inokulationsmenge des Nährbodens der Anzucht auf den pH-Wert nach 24 h im Joghurt bei 42 °C | 61 |
| Abbildung 32: Viskositäten der Joghurts zum Einfluss der Inokulationsmenge der Anzucht | 63 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1: Joghurtherzeugnisse und ihre jeweiligen Fettgehalte..... | 4 |
| Tabelle 2: Zusammensetzung von Kuhmilch | 5 |
| Tabelle 3: Geschmacksgebende Verbindungen im Joghurt..... | 13 |
| Tabelle 4: Eigenschaften von Starterkulturen für die Joghurtherstellung | 15 |
| Tabelle 5: Temperatur und pH-Optima bezüglich des Wachstums verschiedener Stämme von <i>S. thermophilus</i> und <i>L. acidophilus</i> in unterschiedlichen Nährmedien | 17 |
| Tabelle 6: Zusammenfassung der Aussagen über den Einfluss der Nährmedium zur Anzucht von <i>S. thermophilus</i> und <i>L. acidophilus</i> | 21 |
| Tabelle 7: Zusammenfassung der Aussagen über die EPS-Bildung und deren Funktion in Joghurt | 22 |
| Tabelle 8: Verwendete Geräte, Hersteller und Verwendung | 23 |
| Tabelle 9: Einstellungen des Rotationsviskosimeters | 28 |
| Tabelle 10: GKZ der Joghurts zum Einfluss der Anzuchttemperatur..... | 34 |
| Tabelle 11: GKZ der Joghurts zum Einfluss des pH-Wertes in der Anzucht..... | 36 |
| Tabelle 12: GKZ der Joghurts zum Einfluss des Lactosegehaltes im Nährmedium | 38 |
| Tabelle 13: GKZ der Joghurts zum Einfluss von Harnstoff im Nährmedium der Anzucht | 40 |
| Tabelle 14: GKZ der Joghurts zum Einfluss des Alters der Kultur bei Anzucht | 41 |
| Tabelle 15: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs von Anzuchtdauer und Anzuchttemperatur | 46 |
| Tabelle 16: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs des pH-Wertes nach 24 h in der Anzucht und der Anzuchttemperatur..... | 48 |
| Tabelle 17: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs von Fermentationszeit und Anzuchttemperatur | 50 |
| Tabelle 18: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs zwischen dem pH-Wert nach 24 h im Joghurt bei 42 °C und der Anzuchttemperatur | 51 |
| Tabelle 19: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs zwischen dem pH-Wert nach 24 h im Joghurt bei 42 °C und dem Lactosegehalt des Nährmediums in der Anzucht ... | 52 |
| Tabelle 20: GKZ der aufbereiteten Starterkultur in Ringerlösung der Untersuchungen zum Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt des Nährmediums..... | 53 |
| Tabelle 21: GKZ der Betriebskulturen mit 1,5 % Lactose im Nährmedium in Abhängigkeit der Anzuchttemperatur | 54 |
| Tabelle 22: GKZ der Joghurts deren Betriebskultur mit 1,5 % Lactose im Nährmedium angezüchtet wurde | 54 |
| Tabelle 23: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs von Viskosität und Anzuchttemperatur | 56 |

| | |
|--|----|
| Tabelle 24: GKZ der aufbereiteten Starterkultur in Ringerlösung zur Untersuchung des Einflusses der Inokulationsmenge | 61 |
| Tabelle 25: GKZ der Betriebskulturen zur Untersuchung des Einflusses der Inokulationsmenge | 62 |
| Tabelle 26: GKZ der Joghurts zur Untersuchung des Einflusses der Inokulationsmenge | 62 |

1 Einleitung

Joghurt gehört zu den ältesten bekannten fermentierten Milchprodukten und die Herstellung diente zunächst lediglich der Verlängerung der Haltbarkeit von Milch [Tamime und Robinson 2007, S. 1]. Durch die Zugabe von Milchsäurebakterien, den sogenannten Starterkulturen, wird die in der Milch enthaltene Lactose hierbei zu Milchsäure abgebaut, was den pH-Wert im Produkt absenkt. Dies führt neben der Haltbarkeitsverlängerung auch zu Veränderungen des Geschmacks, des Geruchs sowie der Textur [Chandan 2006, S. 6], was die heutigen Produktionsgründe darstellt [Adams und Moss 2008, S. 323].

Gemäß Abbildung 1 ist in den Jahren 2010 bis 2016 eine leichte Abnahme im jährlichen Verbrauch von Joghurt von 17,8 auf 16,8 kg pro Kopf in Deutschland zu verzeichnen. Dennoch gehört Joghurt nach Konsummilch und Käse zu den beliebtesten Milchprodukten Deutschlands.

| in kg je Kopf | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016* |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Konsummi Konsummilch¹⁾ | 52,3 | 54,8 | 53,6 | 54,1 | 56,3 | 53,7 | 52,6 |
| davon Vollmilch | 24,4 | 24,7 | 24,2 | 24,2 | 25,3 | 25,3 | 25,7 |
| Teilentrahmte Milch | 26,3 | 26,6 | 25,9 | 26,2 | 26,1 | 24,3 | 22,9 |
| Entrahmte Milch (Magermilch) | 0,6 | 0,7 | 0,5 | 0,7 | 0,8 | 0,7 | 0,6 |
| Buttermilcherzeugnisse | 1,6 | 1,5 | 1,5 | 1,3 | 1,1 | 1,1 | 1,1 |
| Sauermilch- Milchmischerzeugnisse u. Milchmischgetränke | 29,8 | 30,9 | 29,9 | 29,7 | 29,9 | 30,1 | 30,0 |
| davon aus Joghurt | 17,8 | 18,5 | 17,5 | 17,1 | 17,0 | 16,9 | 16,8 |
| Naturjoghurt | | 4,1 | 4,1 | 5,0 | 5,4 | 5,6 | 5,7 |
| mit Zusätzen | | 14,3 | 13,4 | 12,1 | 11,6 | 11,3 | 11,0 |
| Sahneerzeugnisse | 5,7 | 5,8 | 5,6 | 5,5 | 5,8 | 5,8 | 6,0 |
| Frischmilcherzeugnisse insgesamt²⁾ | 90,6 | 92,9 | 90,6 | 90,7 | 93,1 | 90,8 | 89,6 |
| Käse gesamt | 22,8 | 23,7 | 23,7 | 23,7 | 24,1 | 24,6 | 24,5 |
| Hartkäse | 1,9 | 2,0 | 2,1 | 2,2 | 2,2 | 2,4 | 2,2 |
| Schnittkäse u. halbfester Schnittkäse | 6,7 | 6,9 | 6,7 | 6,7 | 6,9 | 6,8 | 7,1 |
| Weichkäse | 2,1 | 2,2 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,1 | 2,3 |
| Hart-, Schnitt- u. Weichkäse gesamt | 11,2 | 11,1 | 10,8 | 10,9 | 11,1 | 11,3 | 11,6 |
| Sauermilch-, Koch- und Molkenkäse | 0,5 | 0,5 | 0,4 | 0,5 | 0,5 | 0,3 | 0,3 |
| Frischkäse | 6,8 | 6,9 | 6,9 | 6,7 | 6,4 | 8,1 | 7,7 |
| Pasta Filata | 3,4 | 3,7 | 4,2 | 4,2 | 4,5 | 3,1 | 3,2 |
| Schmelzkäse und Schmelzkäsezubereitungen | 1,6 | 1,6 | 1,4 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,4 |
| Butter Butter³⁾ | 5,9 | 6,0 | 6,1 | 5,8 | 5,7 | 6,0 | 6,0 |
| Bevölkerung (Millionen, Stichtag 30.06.) | 81,751 | 80,233 | 80,399 | 80,586 | 80,925 | 81,459 | 82,700 |
| *vorläufig | | | | | | | |
| 1) Einsch. Eigenverbrauch, Direktverkauf der landwirtschaftl. Betriebe und sonstige Konsummilch. | | | | | | | |
| 2) einschließlich Sahneerzeugnisse | | | | | | | |
| 3) in Butterwert. | | | | | | | |

Abbildung 1: Pro-Kopf-Verbrauch von Milchprodukten in Deutschland [MIV 2017]

Um auf diesem großen Markt konkurrieren zu können, hat eine gleichbleibend hohe Qualität daher für die einzelnen Joghurthersteller höchste Priorität, da sie nur so Kunden dauerhaft an ihre Produkte und somit an das ganze Unternehmen binden können. Gleichzeitig spielt die Wirtschaftlichkeit des Herstellungsprozesses eine wichtige Rolle. Die Verbindung von immer höheren Qualitätsansprüchen bei möglichst geringem Ressourcen- und Kosteneinsatz macht die Zusammenarbeit mit den neuesten Erkenntnissen aus Forschung und Entwicklung für die Joghurthersteller daher unumgänglich. Die Herstellung von Joghurt unter Verwendung von Starterkulturen ist zudem ein Verfahren, das auf komplexen mikrobiologischen

Wechselwirkungen beruht. Besonders der Einsatz von Mischkulturen erfordert von Herstellern große Sorgfalt und intensive Prozessbeobachtung, da sich oftmals aus der Optimierung eines Prozessparameters unerwartete Auswirkungen auf weitere Faktoren im Prozess ergeben [Chandan 2006, S. 90].

2 Aufgabenstellung

Das Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen, inwiefern Änderungen der Anzuchtbedingungen der Starterkulturen *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus acidophilus* den Herstellungsprozess und die Produktqualität von Joghurt beeinflussen.

In Zusammenarbeit mit einer namhaften Molkerei, im Folgenden als Firma A bezeichnet, werden praktische Untersuchungen mit einer Mischkultur aus *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus acidophilus* durchgeführt. Firma A züchtet für ihre Produktion eine eigene Betriebskultur heran, mit der anschließend die Joghurtmilch zur Joghurtherstellung beimpft wird. Dies wird für die Versuche im Technikumsmaßstab nachgebildet. Die zu ermittelnden Zielgrößen sind die Eigenschaften der Säuerungsverläufe in Anzucht und Joghurtfermentation, die Gesamtkeimzahl (GKZ) in der angezüchteten Betriebskultur und dem fertigen Produkt sowie die Textur und der Geschmack des fertigen Produkts.

Die zu untersuchenden Einflussfaktoren sind die Temperatur während der Anzucht, der pH-Wert sowie der Lactosegehalt des Nährmediums, das Vorhandensein von Harnstoff und die Inokulationsmenge mit der der Nährboden beimpft wird.

Während die Anzucht der Betriebskultur bezüglich dieser Parameter variiert, findet die anschließende Joghurtfermentation immer unter gleichen Bedingungen statt. Dies gewährleistet, dass Unterschiede im Joghurt nur auf die Anzucht der Starterkulturen, nicht aber auf die Fermentation des Joghurts zurückzuführen sind.

3 Grundlagen

3.1 Begriffsbestimmung

Im Allgemeinen wird unter Joghurt ein durch Milchsäurebakterien fermentiertes Milchprodukt verstanden, bei dem die Milchsäurebakterien die Lactose zu Milchsäure verstoffwechseln [Chandan 2006, S. 99], was zu einer verlängerten Haltbarkeit, einem Viskositätsanstieg und Geschmacksveränderungen führt [Chandan 2006, S. 6].

Gesetzlich wird die Definition von Joghurt durch die Milcherzeugnisverordnung geregelt. Demnach ist ein Joghurterzeugnis *„aus Milch oder Sahne [hergestellt], wobei im verzehrfertigen Erzeugnis hierfür spezifische thermophile Reifungskulturen, deren Wachstumsoptimum bei über 42 Grad C liegt, überwiegen müssen, auch unter Erhöhung der Milchtrockenmasse und/oder angereichert mit Milcheiweißerzeugnissen, auch unter Verwendung von Laktase“* [MilchErzV].

Unterschieden wird dabei unter anderem zwischen „Joghurt“ und „Joghurt mild“. Bei klassischem „Joghurt“ müssen die verwendeten Reifungskulturen überwiegend aus *Streptococcus thermophilus* und *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* bestehen. Bei der Herstellung von „Joghurt mild“ darf dagegen *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* nicht verwendet werden [MilchErzV]. Stattdessen kommen andere Lactobacillen, wie z.B. *Lactobacillus acidophilus* zum Einsatz [Hamatschek 2016, S. 284]. In beiden Fällen ist eine Anreicherung mit Milcheiweißerzeugnissen oder eine Wärmebehandlung nach der Fermentation nicht erlaubt [MilchErzV].

Weiterhin findet nach der Milcherzeugnisverordnung eine Unterscheidung der jeweiligen Fettgehalte statt, die in Tabelle 1 dargestellt ist. Dies gilt sowohl für „Joghurt“ als auch für „Joghurt mild“.

Tabelle 1: Joghurterzeugnisse und ihre jeweiligen Fettgehalte [MilchErzV]

| Bezeichnung | Fettgehalt |
|--|----------------------------|
| Joghurt | mind. 3,5 % |
| fettarmer Joghurt | mind. 1,5 % und max. 1,8 % |
| Joghurt aus entrahmter Milch (Magermilchjoghurt) | max. 0,5 % |
| Sahnejoghurt (Rahmjoghurt) | mind. 10 % |

Des Weiteren gibt es eine prozessbedingte Unterscheidung zwischen „gerührtem Joghurt“ und „stichfestem Joghurt“. „Gerührter Joghurt“ wird nach der Reifung aufgerührt und erst dann in die vorgesehene Verpackung abgefüllt. Dies führt zu einem teilweisen Aufbrechen der zuvor entstandenen Gelbindungen und somit zu einem cremigeren Endprodukt. „Stichfester Joghurt“ wird nach der Beimpfung mit den Starterkulturen direkt abgefüllt und reift in seiner Verpackung,

was im Vergleich zu „gerührtem Joghurt“ zu einer höheren Viskosität im Endprodukt führt [Tamime und Robinson 2007, S. 86].

Bezüglich Joghurt mit Fruchtzusatz regelt die Richtlinie für Fruchtzubereitungen zur Herstellung von Milcherzeugnissen des Bunds für Lebensmittelrecht und Lebensmittelkunde e. V. wie viel Fruchtzubereitung laut Verkehrsbezeichnung im jeweiligen Joghurt enthalten sein muss.

3.2 Rohstoff Milch

3.2.1 Allgemein

Milch ist laut des Gesetzes über Milch, Milcherzeugnisse, Margarinerzeugnisse und ähnliche Erzeugnisse (MilchMargG) „*das durch ein- oder mehrmaliges Melken gewonnene Erzeugnis der normalen Eutersekretion von zur Milcherzeugung gehaltenen Tierarten*“ und stellt in Form von Kuhmilch die Hauptzutat für die Herstellung von herkömmlichem Joghurt gemäß der Milcherzeugnisverordnung dar. Die durchschnittliche Zusammensetzung von Kuhmilch ist in Tabelle 2 aufgezeigt. Schwankungen können jedoch jederzeit durch saisonale Veränderungen im Futter und der Umgebungstemperatur auftreten. Auch ist diese Zusammensetzung u.a. abhängig von der Rasse der Milchkuh, ihrem Laktationsstadium oder ihrem Alter [Chandan 2006, S. 18; Tamime und Robinson 2007, S. 15].

Tabelle 2: Zusammensetzung von Kuhmilch [Tetra Pak 2012, S. 16]

| Inhaltsstoff | prozentualer Anteil |
|--------------|---------------------|
| Wasser | 87,3 |
| Fett | 3,7 |
| Protein | 3,5 |
| Lactose | 4,8 |
| Asche | 0,7 |

Für die Herstellung von Joghurt ist es von großer Wichtigkeit, dass die verwendete Milch eine hohe bakteriologische Qualität aufweist, die durch ausreichende Analysen zu ermitteln ist. Die Milch muss dabei eine geringe bakterielle Belastung vorweisen, sowie frei von Antibiotika, Bakteriophagen und Desinfektionsmittelrückständen sein, da diese Faktoren das Wachstum der zur Joghurtherstellung notwendigen Starterkulturen hemmen bzw. verhindern würden [Tetra Pak 2012, S. 280].

3.2.2 Zusammensetzung der Milch

3.2.2.1 Wasser

Wasser bildet das Medium, in dem alle anderen Bestandteile der Milch gelöst oder suspendiert sind [Tetra Pak 2012, S. 33]. Nur ein geringer Teil des Wassers liegt in Form von hydratisierter Lactose bzw. hydratisierten Salzen oder an Proteine gebunden vor [Chandan 2006, S. 19].

3.2.2.2 Fett

Das Milchfett setzt sich mit 95 bis 96 % hauptsächlich aus Triglyceriden zusammen, besteht aber auch zu geringen Teilen aus Di- und Monoglyceriden, freien Fettsäuren, Phospholipiden und Cholesterin [Chandan 2006, S. 20]. In der unbehandelten Milch liegt das Fett emulgiert in Form von Fettkügelchen mit einer durchschnittlichen Größe von 3 bis 4 μm vor. Umgeben sind die Fettkügelchen von einer komplexen 5 bis 10 nm dünnen Membran, bestehend aus Phospholipiden, Lipoproteinen, Cerebrosiden, Proteinen, Nukleinsäuren, Enzymen, Spurenelementen und gebundenem Wasser. Da die Fettkügelchen eine geringere Dichte als die umgebende wässrige Phase aufweisen, steigt das Fett bei ruhender Milch mit der Zeit an die Oberfläche, was als Aufrahmen der Milch bezeichnet wird [Tetra Pak 2012, S. 36].

3.2.2.3 Milchprotein

Die Proteine der Milch setzen sich nahezu vollständig aus 80 % Casein und 20 % Molkenprotein zusammen. Daneben gibt es noch einen geringen Teil an anderen Proteinen wie den Membranproteinen, dieser macht jedoch weniger als 1 % des Gesamtproteins in der Milch aus [Tetra Pak 2012, S. 41].

Die Caseine sind weiter unterteilt in α_S -Casein, β -Casein und κ -Casein. Der Großteil dieser Caseine liegt in der Milch in Form von Aggregaten, den sogenannten Caseinmicellen vor, die eine durchschnittliche Größe von 150 nm aufweisen. Diese Caseinmicellen bestehen aus mehreren Submicellen, die durch Calciumphosphatbrücken zusammengehalten werden. Dabei sind α_S -Caseine und β -Caseine im inneren hydrophoben Teil der Submicelle zu finden, während das amphiphile κ -Casein die Oberfläche der äußeren Submicellen besetzt. Der hydrophile Teil des κ -Caseins ragt dabei in Form von winzigen Härchen 5 bis 10 nm von der Oberfläche der Micelle hervor, sodass sich eine Hydrathülle um die Micelle aufbaut. Abbildung 2 zeigt die schematische Darstellung einer Caseinmicelle. Eine Ausfällung der Caseine ist durch Enzyme, wie der Labzugabe bei der Käseherstellung, oder durch Säurezugabe möglich. Der isoelektrische Punkt, kurz IP, der Caseine liegt bei einem pH-Wert von 4,6 bis 4,7 [Tetra Pak 2012, S. 42f].

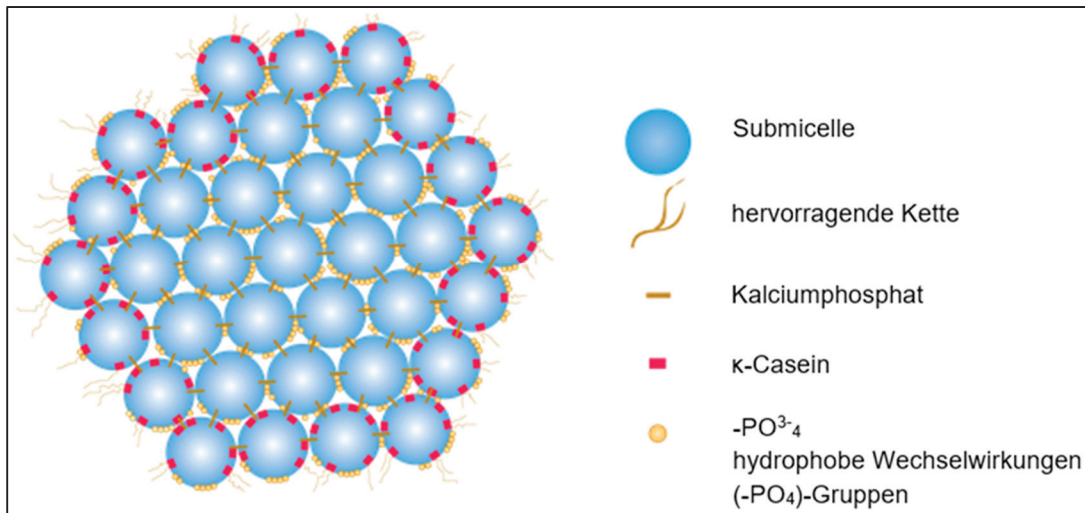


Abbildung 2: Aufbau und Stabilisierung von Kaseinmizellen [Tetra Pak 2012, S. 42]

Das Molkenprotein setzt sich zusammen aus Albuminen und Globulinen. Im Gegensatz zu den Caseinen fallen Molkenproteine, wenn sie nicht zuvor durch Hitzeeinwirkungen denaturiert wurden, nicht bei ihrem isoelektrischen Punkt aus, der zwischen pH 3,5 und 5,2 liegt [Tetra Pak 2012, S. 49]. Sie weisen ein gutes Wasserbindevermögen auf, wobei eine Hitzedenaturierung das Wasserbindevermögen der Molkenproteine weiter erhöht [Goff 2017].

3.2.2.4 Lactose

Lactose stellt die Hauptkohlenhydratquelle in der Milch dar und ist ein Disaccharid, bestehend aus jeweils einem Molekül D-Glucose und D-Galactose. Daneben liegen noch geringe Mengen an Glucose, Galactose und Oligosacchariden vor [Chandan 2006, S. 27].

3.2.2.5 Mineralien und Vitamine

Mineralien machen weniger als 1 % der Gesamtmenge der Milch aus und bestehen überwiegend aus Calcium, Natrium, Kalium und Magnesium. Sie treten als Phosphate, Chloride, Citrate und Caseinate auf [Tetra Pak 2012, S. 49f].

Des Weiteren sind in der Milch geringe Konzentrationen der Vitamine A, B₁ und B₂ sowie C und D enthalten [Tetra Pak 2012, S. 49].

3.3 Joghurtherstellung

3.3.1 Herstellung der Joghurtmilch

Der Herstellungsprozess beginnt zunächst mit der Standardisierung der Milch. Je nach Rezeptur werden Fettgehalt und Trockenmasse durch Eindampfen oder die Zugabe von

beispielsweise Magermilchpulver oder Rahm eingestellt. Eine im Vergleich zu herkömmlicher Milch erhöhte Trockenmasse wirkt sich dabei positiv auf die spätere Textur des Endproduktes aus. Daneben sind außerdem Zusatzstoffe in Form von Saccharose, Süßungsmitteln und Stabilisatoren erlaubt [Tetra Pak 2012, S. 281].

Die standardisierte Milch wird zunächst homogenisiert, um ein Aufrahmen der Milch während der Fermentation zu vermeiden. Gleichzeitig wirkt sich die Homogenisierung positiv auf die Viskosität des Endprodukts aus, da kleinere Fettkügelchen in die später entstehende Gallerte eingebaut werden und sie somit stärken. Gängige Parameter bei der Homogenisierung für Joghurtmilch sind 200 bis 250 MPa bei einer Temperatur von 65 bis 70 °C [Tetra Pak 2012, S. 282].

Anschließend wird die homogenisierte Milch erhitzt und heißgehalten, um pathogene und mit den später zugegebenen Milchsäurebakterien konkurrierende Mikroorganismen abzutöten. Des Weiteren wirkt sich das Erhitzen wiederum positiv auf die Viskosität des Endproduktes aus, da die durch die Hitze denaturierten Molkenproteine ein höheres Wasserbindevermögen aufweisen und so die Viskosität erhöhen [Tetra Pak 2012, S. 282]. Ebenso entstehen durch das Erhitzen mikroaerophile Bedingungen in der Milch, die das gewünschte Wachstum der Milchsäurebakterien begünstigen [Chandan 2006, S. 196]. Temperaturen von 90 bis 95 °C für eine Dauer von fünf Minuten erzielt laut Literatur gute Ergebnisse bezüglich der zuvor genannten Faktoren, die durch die Heißhaltung beeinflusst werden [Tetra Pak 2012, S. 282].

Nach dem Erhitzen wird die nun fertige Joghurtmilch auf die je nach Milchsäurebakterien und Rezeptur vorgesehene Fermentationstemperatur abgekühlt, die in der Regel zwischen 40 und 45 °C liegt [Tetra Pak 2012, S. 284].

3.3.2 Joghurtfermentation und Gelbildung

Werden der temperierten Joghurtmilch die vorgesehenen Starterkulturen zugesetzt, was üblicherweise in Mengen von 0,5 bis 5 % geschieht, beginnt der eigentliche Fermentationsprozess [Chandan 2006, S. 196].

Da die Milchsäurebakterien die in der Joghurtmilch vorhandene Lactose zu Milchsäure verstoffwechseln, sinkt der pH-Wert der Joghurtmilch mit zunehmender Fermentationszeit. Dies führt zu Veränderungen der Caseinmicellen auf unterschiedliche Weisen. Zum einen geht das micellare Calciumphosphat in Lösung und bildet ionisiertes Calcium aus, was die Micellenstruktur durchdringt und starke interne Calciumbindungen hervorruft. Gleichzeitig sinkt der pH-Wert immer mehr in Richtung des isoelektrischen Punkts der Caseine (pH 4,6 – 4,7). Dadurch werden die negativen Ladungen auf der Micellenoberfläche allmählich durch Ablagerungen von Protonen neutralisiert, was die Hydrathülle schwächt. Beides führt dazu,

dass die Caseinmicellen zunächst aufgrund der hydrophoben Wechselwirkungen wachsen und immer mehr aggregieren, bis bei einem pH-Wert von 4,6, dem isoelektrischen Punkt der Caseine, das Casein vollständig koaguliert. Die Serum-Phase der Milch wird dabei fest in das dreidimensionale Caseinnetzwerk eingebunden, sodass je nach Trockenmasse ein mehr oder weniger festes Gel entsteht, das als Joghurt bezeichnet wird [Tetra Pak 2012, S. 43f]. Findet nach Erreichen des isoelektrischen Punktes kein Abbruch der Fermentation durch Kühlung statt, sinkt der pH-Wert weiter ab, was zu einem erneuten Abstoßen der Caseinmicellen führt [Tetra Pak 2012, S. 40]. Abbildung 3 veranschaulicht die Auswirkungen des pH-Wertes auf die Caseinmicellen.

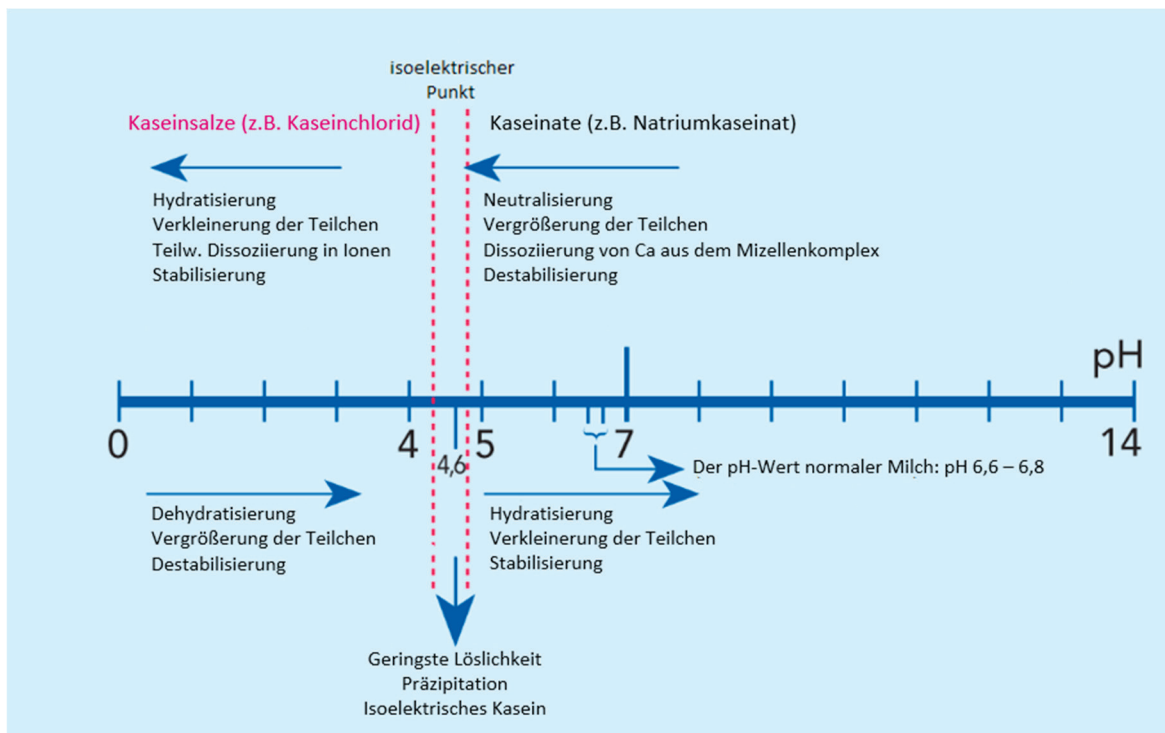


Abbildung 3: Drei vereinfachte Phasen der Wirkung von Säure und Lauge auf Casein [Tetra Pak 2012, S. 44]

3.3.3 Fertigstellung des Joghurts

Erreicht der pH-Wert des Joghurts folglich einen Wert von 4,6 ist die gewünschte Fermentation als beendet angesehen und das Produkt wird schnellstmöglich auf Temperaturen zwischen 5 und 10 °C abgekühlt, um die Stoffwechselaktivität der Milchsäurebakterien gering zu halten und so eine weitere Säuerung des Joghurts zu verhindern [Tamime und Robinson 2007, S. 96f].

Je nachdem für was der nun fertige Joghurt vorgesehen ist, wird dieser glattgerührt und anschließend abgefüllt (gerührter Joghurt) oder glattgerührt und mit einer Fruchtzubereitung versehen und dann abgefüllt (gerührter Joghurt mit Fruchtzusatz). Wird das Produkt nach der Beimpfung mit den Starterkulturen direkt abgefüllt und findet die Reifung in der Endverpackung

statt, spricht man von stichfestem Joghurt. Dieser kann ebenfalls in Form einer Fruchtunterlage mit Fruchtzusatz versehen werden [Tetra Pak 2012, S. 285ff].

Abbildung 4 zeigt den Prozess der Joghurtherstellung für gerührten und stichfesten Joghurt vereinfacht in Form eines Fließschemas. Je nach Hersteller kann der Prozess geringfügig variieren. So ist es möglich, dass die Homogenisierung der Milch erst nach dem Erhitzungsschritt stattfindet [Chandan 2006, S. 196].

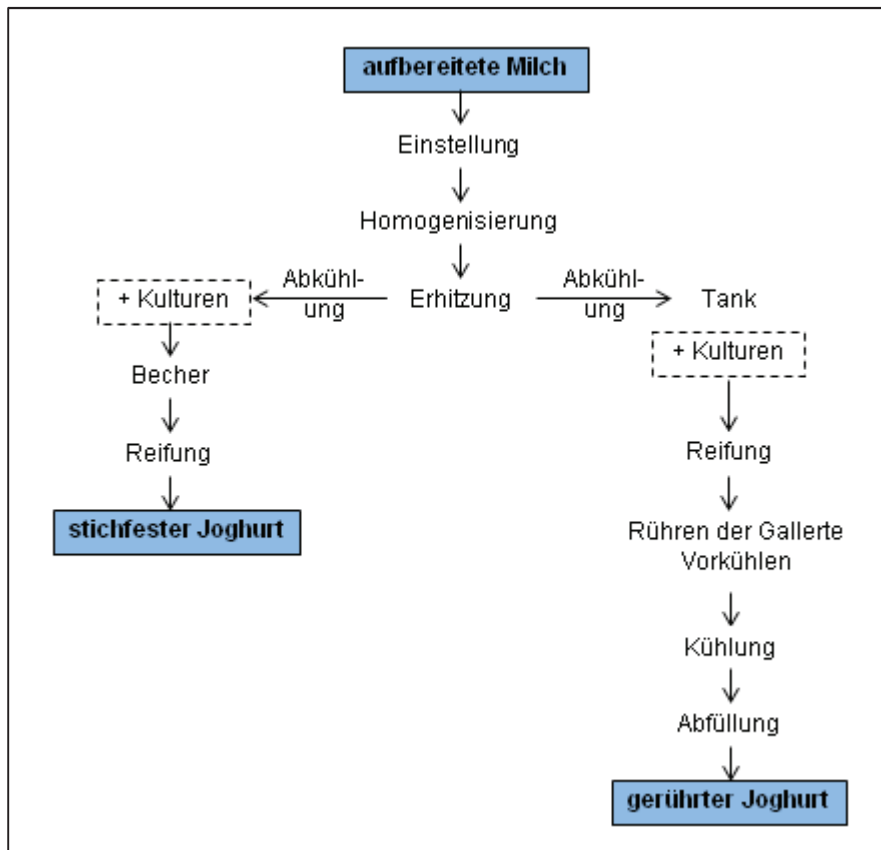


Abbildung 4: Herstellung von stichfestem und gerührtem Joghurt [veränderte Darstellung nach Krämer und Prange 2017, S. 268]

3.4 Starterkulturen

3.4.1 Allgemein

Starterkulturen sind Rein- oder Mischkulturen, die einem Lebensmittel zugesetzt werden, um gezielt dessen chemische Eigenschaften zu verändern [Munk 2001, S. 12-5]. Ihre Hauptaufgabe bei der Joghurtherstellung ist die Säuerung der Milch durch den Abbau von Lactose zu Milchsäure. Diese Säuerung bewirkt neben der Verlängerung der Haltbarkeit durch eine Absenkung des pH-Wertes außerdem Textur- sowie Geschmacksveränderungen [Chandan 2006, S. 91f].

Zu unterscheiden sind homofermentative und heterofermentative Milchsäurebakterien. Homofermentative Milchsäurebakterien, die für die Joghurtproduktion von größerer Relevanz sind, bilden aus der Lactose nahezu ausschließlich Milchsäure. Dies geschieht zunächst durch die Spaltung von Lactose mittels des Enzyms Lactase zu Glucose und Galactose. Die Glucose wird dann über die Glykolyse zu Pyruvat und schließlich zu Lactat bzw. Milchsäure abgebaut. Die bei der Spaltung von Lactose entstandene Galactose kann nur von einigen Milchsäurebakterien verstoffwechselt werden. Diese wird dafür über mehrere Schritte zu Glucose-6-Phosphat abgebaut und folgt anschließend ebenfalls der Glykolyse [Tamime und Robinson 2007, S. 536f]. Der Weg der Lactose zu Milchsäure von homofermentativen Milchsäurebakterien ist in Abbildung 5 verdeutlicht.

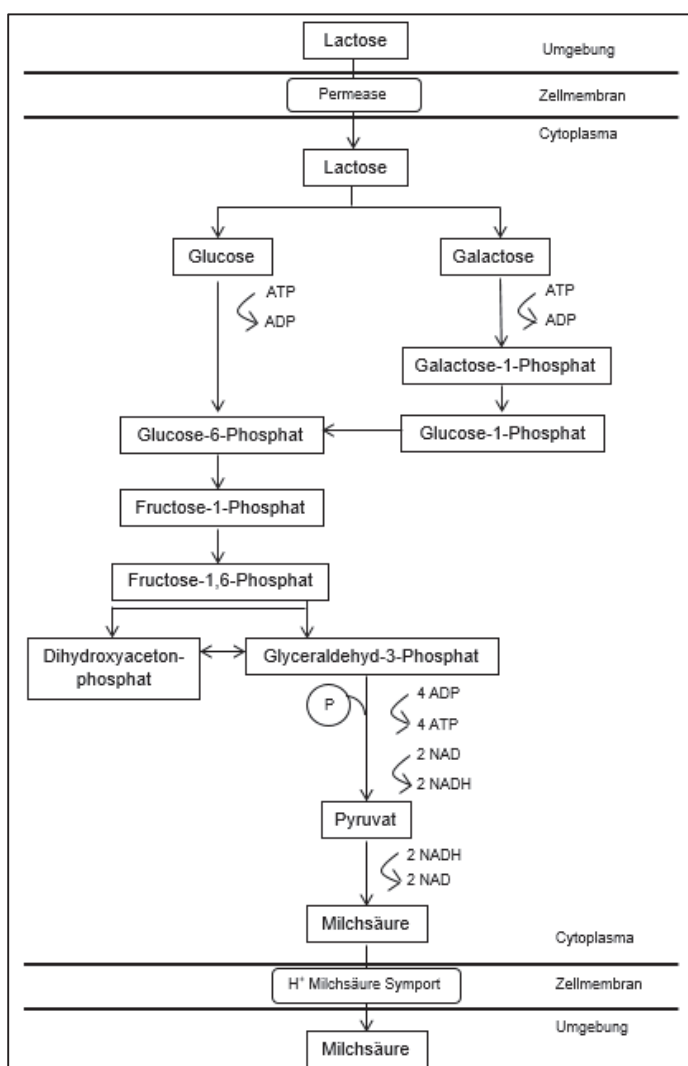


Abbildung 5: Homofermentative Fermentation von Lactose durch Milchsäurebakterien [veränderte Darstellung nach Tamime und Robinson 2007, S. 537]

Heterofermentative Milchsäurebakterien dagegen bauen die Lactose neben Milchsäure auch zu Ethanol, Essigsäure und Kohlenstoffdioxid ab. Dies geschieht aufgrund des fehlenden

Enzyms Aldolase nicht über die Glykolyse, sondern über den Pentosephosphatweg [Fritsche 2016, S. 101].

Neben Milchsäure aus Lactose bilden die Starterkulturen jedoch aus den im Nährmedium sonstigen vorliegenden Stoffen noch andere Stoffwechselprodukte, die in Kapitel 3.4.2 näher erläutert werden. Diese werden in das umgebende Medium abgegeben und beeinflussen somit die Eigenschaften des Endprodukts [Tamime und Robinson 2007, S. 542ff]. In Mischkulturen findet durch die ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte auch eine gegenseitige Beeinflussung der beteiligten Milchsäurebakterien statt, die sich positiv, neutral oder negativ äußern kann [Chandan 2006, S. 98].

3.4.2 Stoffwechselprodukte

3.4.2.1 Milchsäure

Milchsäure, auch 2-Hydroxypropansäure genannt, ist das Hauptstoffwechselprodukt bei der Fermentation von Milch durch homofermentative Milchsäurebakterien [Tamime und Robinson 2007, S. 540]. Je nach verwendeter Starterkultur bildet das jeweilige Bakterium linksdrehende D(-)-Milchsäure, rechtsdrehende L(+)-Milchsäure oder auch beide Stereoisomere [Krämer und Prange 2017, S. 218], die in Abbildung 6 dargestellt sind. L(+)-Milchsäure ist im menschlichen Körper schneller abbaubar als D(-)-Milchsäure, weswegen die L(+)-Milchsäure als physiologisch günstiger anzusehen ist [Hamatschek 2016, S. 268].

Im Joghurt ist die Milchsäure in erster Linie für die Säuerung verantwortlich, sie trägt aber auch zum Geschmacksprofil des Joghurts bei [Tamime und Robinson 2007, S. 540].

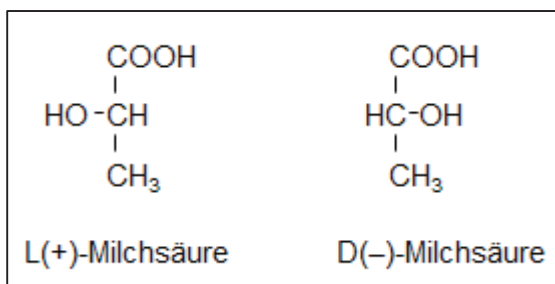


Abbildung 6: Struktur der Milchsäure [Krämer und Prange 2017, S. 218]

3.4.2.2 Geschmackskomponenten

Die für das im Joghurt vorhandene Geschmacksprofil verantwortlichen Komponenten, die durch Milchsäurebakterien gebildet werden, sind gemäß Tamime und Robinson (2007, S. 551f) in drei Kategorien zu unterteilen: nichtflüchtige Säuren, flüchtige Säuren sowie Carbonylverbindungen. Tabelle 3 zeigt diese Kategorien sowie ihre einzelnen Vertreter.

Tabelle 3: Geschmacksgebende Verbindungen im Joghurt [nach Tamime und Robinson 2007, S. 551f]

| Verbindung | Vertreter |
|-----------------------|---|
| nichtflüchtige Säuren | Benztraubensäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, Oxalsäure |
| flüchtige Säuren | Ameisensäure, Buttersäure, Essigsäure, Propionsäure |
| Carbonylverbindungen | Acetaldehyd, Acetoin, Aceton, Diacetyl |

Acetaldehyd, Milchsäure, Diacetyl und Essigsäure spielen dabei die wichtigsten Rollen für das Geschmacksprofil des Joghurts, wobei Acetaldehyd hauptsächlich für den typischen Geschmack des Joghurts verantwortlich ist [Ray und Bhunia 2008, S. 148].

3.4.2.3 Exopolysaccharide

Einige der Milchsäurebakterien sind dazu befähigt aus den in der Milch enthaltenen Kohlenhydraten Exopolysaccharide, kurz EPS, zu bilden, die in das umgebende Medium ausgeschieden werden. EPS sind Ketten verschiedener Längen bestehend aus Monosacchariden oder Zuckerderivaten [Tamime und Robinson 2007, S. 542ff]. Im Joghurt haben EPS positive Auswirkungen auf die Viskosität. So erhöhen sie die Viskosität durch ein gutes Wasserbindevermögen und sorgen gerade bei Joghurt mit Fruchtzubereitung dafür, dass Fruchtstücke sich nicht absetzen. Bei einer zu großen Menge an gebildetem EPS kann der Joghurt jedoch auch eine schleimige Konsistenz aufweisen [Chandan 2006, S. 91].

Neben der Unterscheidung von EPS-negativen (EPS⁻) und EPS-positiven (EPS⁺) Stämmen werden EPS weiter unterteilt in kapsuläre EPS und fadenziehende EPS. Kapsuläre EPS sind als eine Art Hülle mit der mikrobiellen Zelle verbunden, fadenziehende EPS dagegen werden in das umgebende Medium abgegeben. Für die Beeinflussung der Joghurttextur ist die chemische Zusammensetzung der EPS sowie die Art der EPS, kapsulär oder fadenziehend, ausschlaggebend [Tamime und Robinson 2007, S. 89]. So tragen kapsuläre EPS weniger zu einer schleimigen Konsistenz des Joghurts bei als fadenziehende EPS [Folkenberg et al. 2006].

3.4.2.4 Peptide und Aminosäure

Mittels proteolytischer Enzyme sind Milchsäurebakterien befähigt die in der Milch vorkommenden Proteine in freie Peptide und Aminosäuren zu spalten. Da die unterschiedlichen Milchsäurebakterien für einen optimalen Stoffwechsel auf einzelne dieser Spaltprodukte angewiesen sind, ohne diese selbst in ausreichender Menge zu produzieren, können sich bei Mischkulturen synergistische Effekte ergeben [Chandan 2006, S. 206].

Durch die Bildung von antimikrobiell wirkenden Peptiden, sogenannten Bacteriocinen, verhindern bzw. hemmen die Milchsäurebakterien das Wachstum von pathogenen Mikroorganismen. Dies trägt neben dem geringen pH-Wert durch die gebildete Milchsäure ebenfalls zu einer verlängerten Haltbarkeit von Joghurt bei [Chandan 2006, S. 207; Mozzi et al. 2010, S. 89ff].

3.4.2.5 Fettsäuren

Da die in der Milch natürlich vorkommenden Lipasen während der Pasteurisierung in der Regel nahezu vollständig inaktiviert wurden [Tetra Pak 2012, S. 48], sind Veränderungen in der Fett- bzw. Fettsäurezusammensetzung in der Milch auf enzymatische Aktivitäten der Milchsäurebakterien in Form von Lipasen zurückzuführen. Laut Chandan [2006, S. 206] ist die Aktivität dieser Lipasen jedoch schwach, sodass die Menge der freien Fettsäuren nur gering ansteigt.

3.4.2.6 Vitamine

Neben den in der Milch natürlich enthaltenen Vitaminen können durch Milchsäurebakterien weitere Vitamine in das Endprodukt Joghurt eingetragen werden, gleichzeitig verstoffwechseln diese jedoch auch einige der Vitamine. Die Prozess- und Lagerbedingungen des Joghurts beeinflussen den Vitamingehalt dabei ebenso. Eine Abnahme von Vitamin B₁₂, Biotin und Pantothersäure von der Milch bis zum Joghurt sowie die Zunahme von Folsäure sind üblich. Durch die Milch als Grundstoff ist Joghurt jedoch immer noch als eine gute Vitaminquelle anzusehen [Chandan 2006, S. 207f; Tamime und Robinson 2007, S. 579ff].

3.4.2.7 Ammoniak

Einige Stämme von *Streptococcus thermophilus* weisen eine Urease-Aktivität auf, die es ihnen erlaubt, aus dem in der Milch zu kleinsten Teilen enthaltenen Harnstoff Ammoniak zu bilden. Durch das basisch wirkende Ammoniak sinkt der pH-Wert im umgebenden Medium nicht so schnell, wie bei Urease-negativen Stämmen [Chandan 2006, S. 108]. Folglich befindet sich der pH-Wert des Nährmediums für eine längere Zeit in höheren pH-Bereichen, in denen das Wachstum begünstigt wird. Sowohl in Reinkulturen als auch in Mischkulturen mit *S. thermophilus* wirkt sich diese Tatsache positiv auf das Wachstum der Starterkulturen aus [Letort und Juillard 2001; Arioli et al. 2014].

3.4.3 Starterkulturen für die Joghurtherstellung

Für die Herstellung von klassischem Joghurt ist die Verwendung von *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* und *Streptococcus thermophilus* vorgeschrieben [MilchErzV], für milden Joghurt wird ersterer häufig durch *Lactobacillus acidophilus* ersetzt. Tabelle 4 zeigt die Eigenschaften von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* im Überblick. Da die einzelnen Milchsäurebakterien jedoch noch verschiedene Unterstämme aufweisen, die sich in ihren Eigenschaften teils stark unterscheiden können, sind in Tabelle 4 einige Eigenschaften als variabel angegeben. Die hier aufgezählten Merkmale dienen folglich nur einem ersten Überblick. Genauere Eigenschaften der Starterkulturen werden in Kapitel 4 „Aktueller Stand von Wissenschaft und Technik“ erläutert.

Tabelle 4: Eigenschaften von Starterkulturen für die Joghurtherstellung [1 Chandan 2006, S. 102ff; 2 Tamime und Robinson 2007, S. 468ff]

| | <i>S. thermophilus</i> | <i>L. acidophilus</i> |
|--------------------------------------|---|--|
| Zellform | Kokke ⁽¹⁾ | Stäbchen ⁽¹⁾ |
| homo-/heterofermentativ | homofermentativ ⁽²⁾ | homofermentativ ⁽²⁾ |
| Temperaturoptimum | 40 – 45 °C ⁽¹⁾ | 37 °C ⁽¹⁾ |
| pH-Optimum | n.a. | 5,5 – 6,0 ⁽²⁾ |
| Glucose-/Galactose-verwertung | Glucose ⁽²⁾ | Glucose und Galactose ⁽²⁾ |
| gebildete Milchsäureisomere | ausschließlich L(+)-Milchsäure ⁽¹⁾ | D(-)- und L(+)-Milchsäure ⁽¹⁾ |
| proteolytische Aktivität | ja ⁽¹⁾ | variabel ⁽¹⁾ |
| lipolytische Aktivität | variabel ⁽¹⁾ | variabel ⁽¹⁾ |
| Bildung von EPS | variabel ⁽²⁾ | variabel ⁽¹⁾ |

3.4.4 Kulturenherstellung

Joghurthersteller benötigen für die Beimpfung der Milch große Mengen an Starterkulturen. Da der Transport bzw. die Lagerung solcher Mengen immer mit hohen Kosten verbunden ist, beziehen Joghurthersteller in der Regel nur kleine Mengen Stammkultur von den Herstellern und züchten damit ihre eigenen sogenannten Betriebskulturen heran [Tamime und Robinson 2007, S. 608]. Die Anzucht einer Betriebskultur erfolgt dabei über mehrere Schritte, wie sie in Abbildung 7 dargestellt sind.

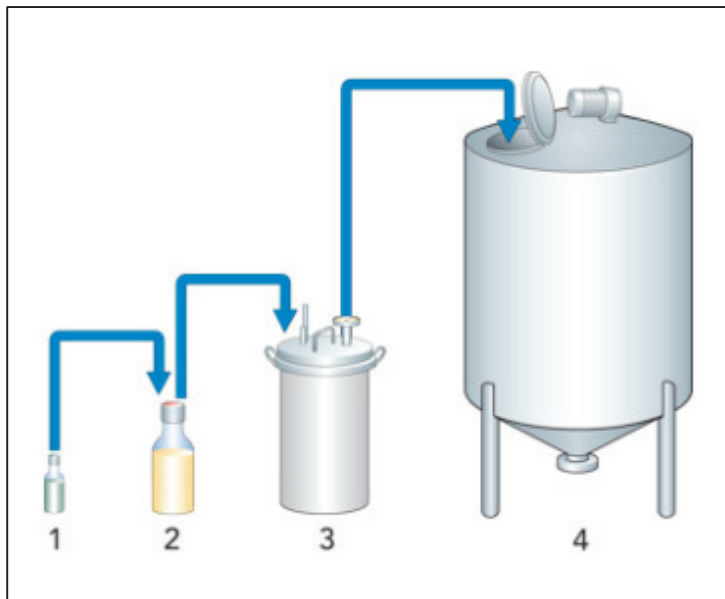


Abbildung 7: Schritte bei der Kulturerstellung. 1 Stammkultur, 2 Mutterkultur, 3 Zwischenkultur, 4 Betriebskultur [Tetra Pak 2012, S. 271]

Die Stammkultur ist dabei die Originalkultur, welche die Molkerei von ihrem Kulturenhersteller bezieht, die Betriebskultur ist die in der Produktion verwendete Kultur. Die Zwischenschritte Mutterkultur und Zwischenkultur entfallen jedoch immer öfter, da hochkonzentrierte Stammkulturen den Molkereien ermöglichen damit direkt ihre Betriebskultur anzuzüchten und diese sofort in der Produktion zu verwenden [Tetra Pak 2012, S. 271]. Vorteile dieser Direktbeimpfung ist, dass eine Rekontamination der Starterkulturen bei den Zwischenschritten ausgeschlossen werden kann und ein Mehraufwand entfällt [Tetra Pak 2012, S. 283].

Ein geeigneter Nährboden zur Anzucht der Starterkulturen ist rekonstituierte Magermilch mit einer Trockenmasse von 9 bis 12 % [Tetra Pak 2012, S. 272]. Da Magermilch jedoch ein für die Molkereien wertvoller Rohstoff ist, kann diese durch lactosehaltige Flüssigkomponenten ersetzt werden, dem weitere Nährstoffe in Form von Hefeextrakt zugesetzt werden [Firma A].

Die Prozessstufen bei der Herstellung von Mutter-, Zwischen- und Betriebskultur ist dabei immer gleich. Der Nährboden wird erhitzt um möglicherweise vorhandene Mikroorganismen und Bakteriophagen abzutöten. Anschließend wird der Nährboden auf die jeweilige Beimpfungstemperatur abgekühlt und beimpft. Es folgt die Bebrütung des Nährmediums bis zu einem empirisch festgelegten Säuregrad sowie die Kühlung der angezüchteten Kultur. Die Haltbarmachung erfolgt in der Regel durch Gefrieren oder Gefriertrocknen [Tetra Pak 2012, S. 272ff].

4 Aktueller Stand von Wissenschaft und Technik

4.1 Einfluss Temperatur und pH-Wert auf Wachstum

Tabelle 5 zeigt die laut Literatur optimalen Wachstumsfaktoren bezüglich Temperatur und pH-Wert verschiedener Stämme von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* in Reinkulturen in unterschiedlichen Nährmedien.

Tabelle 5: Temperatur und pH-Optima bezüglich des Wachstums verschiedener Stämme von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* in unterschiedlichen Nährmedien

| Starterkultur | Stamm | Temperatur-optimum [°C] | pH-Optimum | Nährmedium | Quelle |
|------------------------|-----------|-------------------------|------------|-------------------------------|------------------------|
| <i>S. thermophilus</i> | PTCC 1738 | 42,8 | 7,0 | Molke mit Hefeextrakt | Aghababaie et al. 2015 |
| | St20 | 45 | > 6,0 | lactosehaltig mit Hefeextrakt | Adamberg et al. 2003 |
| | 404 | 38,5 – 49,5 | 6,5 | lactosehaltig mit Hefeextrakt | Beal et al. 1989 |
| <i>L. acidophilus</i> | NCFM | 40,5 | n.a. | MRS-Agar | Medvedova et al. 2016 |
| | NCFM | 40,1 | n.a. | Milch | Medvedova et al. 2016 |
| | La5 | 42,0 | 6,1 | lactosehaltig mit Hefeextrakt | Adamberg et al. 2003 |

So wird durch Tabelle 5 auf den ersten Blick deutlich, dass die Temperatur- und pH-Optima für das Wachstum von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* nicht nur zwischen den beiden Milchsäurebakterien variieren, sondern dass auch die verschiedenen Stämme eines Milchsäurebakteriums deutliche Unterschiede aufweisen. Abhängig ist dies jedoch auch immer von den zur Anzucht verwendeten Nährmedien, die sich in der Literatur häufig unterscheiden, was Vergleiche erschwert.

Deutlich wird dies am Beispiel der Untersuchungen von Medvedova et al. [2016]. Diese beschäftigten sich mit dem Stamm *L. acidophilus* NCFM und dem Temperatureinfluss auf dessen Wachstum. Hierbei diente zum einen Milch und zum anderen MRS-Agar als Nährmedium. Die optimale Wachstumstemperatur in Milch betrug 40,1 °C, in MRS-Agar dagegen 40,5 °C. Angaben über den pH-Wert während der Anzucht sind nicht zu finden, dieser kann jedoch ebenfalls für die gefundenen Unterschiede verantwortlich sein. Zwar handelt es sich hierbei nur um eine geringe Abweichung der Optimaltemperatur, dadurch wird jedoch deutlich, dass schon geringe Unterschiede Auswirkungen auf das Ergebnis haben können.

Aghababaie et al. [2015] setzten sich zum Ziel ein optimales kinetisches Modell zur Anzucht von *S. thermophilus* in einem auf Molke basierenden Nährmedium mit Zusatz von Hefeextrakt zu entwickeln. Verwendet wurde der Stamm 1738 der Persian type culture collection (PTCC).

Als Ergebnis konnte festgehalten werden, dass dieser Stamm ein optimales Wachstum bei 42,8 °C und einem pH-Wert von 7,0 aufweist.

Beal et al. beschäftigten sich bereits 1989 mit einem ähnlichen Ziel, jedoch diene hier als Nährmedium ein lactosehaltiges Medium mit Hefeextrakt. Das Ergebnis hierbei war, dass *S. thermophilus*, verwendet als Stamm 404, einen sehr weiten Temperaturbereich aufweist, in dem sein Wachstum optimal ist. Dieser Bereich erstreckt sich von 38,5 bis 49,5 °C. Der für das Wachstum von *S. thermophilus* 404 optimale pH-Wert wurde als 6,5 ermittelt.

Adamberg et al. [2003] untersuchten den Einfluss von Temperatur und pH-Wert auf das Wachstum verschiedenster Milchsäurebakterien in Reinkulturen, darunter auch *S. thermophilus* (Stamm St20) und *L. acidophilus* (Stamm La5). Als Nährmedium diene ein lactosehaltiges Medium mit Zusatz von Hefeextrakt. Abbildung 8 zeigt die Wachstumsrate verschiedener Milchsäurebakterien in Abhängigkeit von der Temperatur.

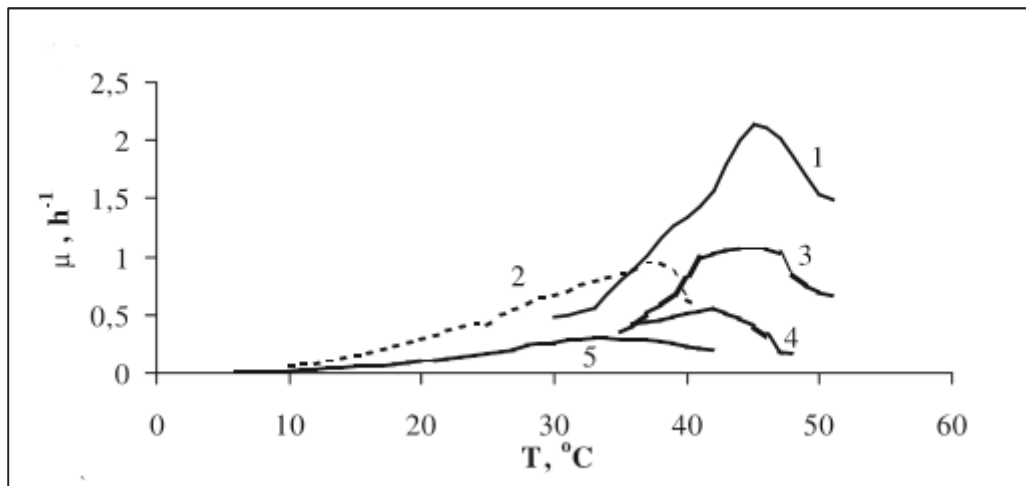


Abbildung 8: Effekt der Temperaturveränderung auf die spezifische Wachstumsrate μ von 1 *S. thermophilus* St20 (pH 6,5), 4 *L. acidophilus* La5 (pH 6,2) [Adamberg et al. 2003]

Dabei ist anzumerken, dass die Temperaturveränderungen bei einem konstanten pH-Wert des Nährmediums durchgeführt wurden. Als Ergebnis lässt sich festhalten, dass *S. thermophilus* bei einem pH-Wert von 6,5 und einer Temperatur von 45 °C seine maximale spezifische Wachstumsrate erreicht. Bei höheren und niedrigeren Temperaturen nimmt das Wachstum von *S. thermophilus* stark ab, sodass deutlich von einem Temperaturoptimum gesprochen werden kann. *L. acidophilus* dagegen weist bei einem konstanten pH-Wert von 6,5 einen breiteren Temperaturbereich auf in dem seine spezifische Wachstumsrate nahezu maximal ist. Zwar lässt sich ein Optimum bei einer Temperatur von etwa 42 °C erkennen, bei höheren bzw. niedrigeren Temperaturen nimmt die spezifische Wachstumsrate im Vergleich zu *S. thermophilus* jedoch nur wenig ab. Somit lässt sich ableiten, dass *S. thermophilus* eine

höhere Sensitivität gegenüber der Temperatur bezüglich der spezifischen Wachstumsrate aufweist als *L. acidophilus*.

Abbildung 9 zeigt die spezifische Wachstumsrate von verschiedenen Starterkulturen in Abhängigkeit des pH-Wertes. Die aufgezeigten Abhängigkeiten wurden bei konstanten Temperaturen von 43 °C bei *S. thermophilus* und 41 °C bei *L. acidophilus* ermittelt.

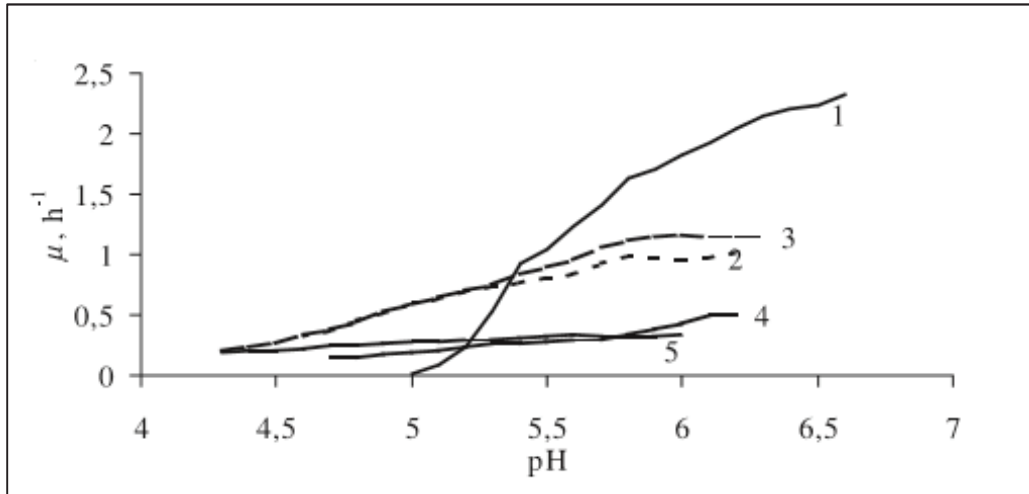


Abbildung 9: Effekt der pH-Veränderung auf die spezifische Wachstumsrate μ von 1 *S. thermophilus* St20 (43 °C) und 4 *L. acidophilus* La5 (41 °C) [Adamberg et al. 2003]

Die spezifische Wachstumsrate von *S. thermophilus* nimmt demnach mit steigendem pH-Wert stark zu. *L. acidophilus* weist sein hier ermitteltes Wachstumsoptimum bei einem pH-Wert von 6,1 bis 6,2 auf. Der Einfluss höherer pH-Werte wurde bei *L. acidophilus* nicht untersucht. Bei pH-Werten < 6,1 nimmt die spezifische Wachstumsrate von *L. acidophilus* nur langsam ab. Wie auch schon bei dem Temperatureinfluss, weist *S. thermophilus* auch bei dem pH-Einfluss eine sehr viel höhere Sensitivität als *L. acidophilus* auf. In beiden Fällen, Temperatur- und pH-Einfluss, ist jedoch anzumerken, dass trotz höherer Sensitivität die spezifische Wachstumsrate von *S. thermophilus* deutlich höher liegt als die von *L. acidophilus*. Einzig unter einem pH-Wert von etwa 5,2 ist die spezifische Wachstumsrate von *L. acidophilus* höher als die von *S. thermophilus*.

4.2 Einfluss Nährmedium auf Wachstum

Abhängig von den enthaltenen Nährstoffen kann auch das gewählte Nährmedium zu Unterschieden in der Anzucht von Starterkulturen und dem späteren Joghurt führen.

So untersuchten Smith et al. [2014] wie sich die Zugabe von Hefeextrakt auf die Fermentationszeit von Joghurt auswirkt. Als Starterkulturen diente hierbei eine Mischkultur aus *S. thermophilus* und *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, die genauen Stämme sind nicht bekannt.

Dazu wurde zunächst der Milch für die Joghurtherstellung Hefeextrakt in verschiedenen Konzentrationen zugegeben. Als Ergebnis konnte festgehalten werden, dass die Zugabe von Hefeextrakt in Konzentrationen von 1 bis 10 g/L die gleichen Auswirkungen hat und zu einer Verkürzung der Fermentationszeit von 21 % führt. Eine Erhöhung der Konzentration des Hefeextraktes auf 15 g/L löste eine Verkürzung der Fermentationszeit um 43 % aus. Dies ist jedoch laut Smith et al. [2014] der pH-Erhöhung des Nährmediums durch den Hefeextrakt zuzuschreiben und nicht der höheren Konzentration an Nährstoffen. Um herauszufinden, welche Komponenten im Hefeextrakt für die Verkürzung der Fermentationszeit verantwortlich sind, führten Smith et al. [2014] außerdem eine Ultrafiltration des Hefeextrakts durch und fügten die gewonnenen Fraktionen der Milch einzeln hinzu. Da alle Fraktionen jedoch zum selben Ergebnis führten, konnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass die für die Verkürzung der Fermentationszeit verantwortlichen Komponenten im Hefeextrakt in jeder Fraktion zu finden sind und somit kleiner als die kleinste Trennstufe (< 1 kDa) sein müssen. Als Fermentationsbeschleuniger vermuten Smith et al. [2014] hierbei Peptide mit niedrigem Molekulargewicht, die das Wachstum der Starterkulturen fördern und somit schneller zum gewünschten Ziel führen. Weiterhin wurde der Einfluss von Aminosäuren und Vitaminen auf die Fermentationszeit untersucht. In beiden Fällen konnte keine Verkürzung der Fermentationszeit beobachtet werden. Die Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Cystein wirkten sich sogar negativ auf die Fermentationszeit im Joghurt aus.

Letort und Juillard [2001] beschäftigten sich damit ein Minimalmedium für das Wachstum von *S. thermophilus* zu definieren. Untersucht wurden die Stämme St1, St7, St8, St11, St18 und St21. Das für das Wachstum dieser Stämme definierte Minimalmedium besteht aus Lactose, den Aminosäuren Glutaminsäure, Cystein, Methionin, Leucin, Isoleucin und Valin, den Vitaminen Ascorbinsäure, Riboflavin, Nicotinsäure, Ca-Panthothenat, Thiamin und Pyridoxamin sowie den Erdalkalimetallen Calcium und Magnesium. Natriumacetat, Ammoniumcitrat, Kaliumhydrogenphosphat, Dikaliumhydrogenphosphat sowie Harnstoff wurden von Letort und Juillard [2001] weiterhin als das Wachstum von *S. thermophilus* stimulierend identifiziert. Durch den zugegebenen Harnstoff bilden Urease-positive Stämme von *S. thermophilus* Ammoniak, was als Puffer im Nährmedium wirkt. Der pH-Wert sinkt folglich nicht so rasch ab wie ohne die Zugabe von Harnstoff. Das Resultat ist eine erhöhte Wachstumsrate, ein Anstieg der Endpopulation oder eine Kombination aus beidem [Letort und Juillard 2001].

Arioli et al. [2017] fanden heraus, dass sich die Zugabe von Harnstoff zum Nährmedium auch positiv auf das Wachstums- und Säuerungsverhalten einer Mischkultur aus *S. thermophilus* (Stamm CNRZ385) und *L. bulgaricus* (Stamm MIM91) auswirkt.

Die wichtigsten gesammelten Aussagen der zuvor behandelten Studien über Nährmedien zur Anzucht von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Tabelle 6: Zusammenfassung der Aussagen über den Einfluss der Nährmedium zur Anzucht von *S. thermophilus* und *L. acidophilus*

| Aussage | Quelle |
|---|--|
| Hefeextrakt verkürzt die Fermentationszeit, die Konzentration ist dabei nicht entscheidend | Smith et al. 2014 |
| Vitamine und Aminosäuren haben keinen positiven Effekt auf die Fermentationszeit | Smith et al. 2014 |
| Vitamine haben einen positiven Einfluss auf das Wachstum von <i>S. thermophilus</i> | Letort und Juillard 2001 |
| die Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Cystein wirken sich negativ auf die Fermentationszeit aus | Smith et al. 2014 |
| u.a. die Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Cystein haben einen positiven Einfluss auf das Wachstum von <i>S. thermophilus</i> | Letort und Juillard 2001 |
| Harnstoff wirkt sich positiv auf das Wachstum von <i>S. thermophilus</i> in Rein- und Mischkulturen aus | Letort und Juillard 2001; Arioli et al. 2014 |

4.3 Einflussfaktoren auf die Viskosität des Joghurts

Die Viskosität des Joghurts wird vor allem durch das Vorhandensein bzw. nicht-Vorhandensein von EPS bestimmt. Ist eine hohe Viskosität des Joghurts von der Molkerei gewünscht, haben EPS dabei den großen Vorteil, dass der Geschmack des Joghurts nicht beeinträchtigt wird, anders als beim Zusatz von einigen Stabilisatoren [Han et al. 2016].

Han et al. [2016] beschäftigten sich daher mit der Verbesserung der Textur von Joghurt durch den Einsatz von EPS⁺-Milchsäurebakterien. Als Starterkulturen verwendet wurden unterschiedliche Stämme von *S. thermophilus* jeweils in Mischkultur mit *L. bulgaricus*. Als Ergebnis konnte festgehalten werden, dass die Stämme, die mehr EPS bilden, im Joghurt zu einer höheren Viskosität führen. Die Menge an gebildeten EPS im Joghurt und die Viskosität des Endprodukts stehen jedoch in keinem linearen Zusammenhang, was ebenfalls durch Folkenberg et al. [2006] beschrieben wurde.

Wie sich die Wachstumsfaktoren Temperatur, pH-Wert und Inkubationszeit auf die Bildung von EPS in einer Reinkultur aus *S. thermophilus* W22 auswirken, untersuchten Aslim et al. [2005]. Mit steigender Temperatur nimmt die Bildung von EPS zu. Auch mit steigendem pH-Wert des Nährmediums nimmt die EPS-Produktion zu, jedoch nur bis zu einem pH-Wert von 6,8. Bei höheren pH-Werten nimmt die Bildung von EPS wieder ab. Somit liegt nahe, dass die Bildung der EPS am höchsten ist, wenn der pH-Wert rund um den für das Wachstum der Starterkulturen optimalen pH-Wert liegt, im Falle von *S. thermophilus* zwischen pH 6 und 7 [Beal et al. 1989, Adamberg et al. 2003; Aghababaie et al. 2015]. Bis zu einer Inkubationszeit von 18 Stunden erreicht die Bildung von EPS sein Maximum, bei längeren Standzeiten sinkt

die EPS-Produktion wieder. Die maximale EPS-Bildung wird nach Aslim et al. [2005] in der exponentiellen Wachstumsphase der Milchsäurebakterien erreicht, während in der stationären Phase keine weitere Produktion von EPS stattfindet.

Auch Haque et al. [2001] fand bezüglich des Einflusses der Fermentationstemperatur auf die Viskosität des Joghurts ähnliches heraus. Als Starterkultur wurde eine EPS⁺-Mischkultur und eine EPS⁻-Mischkultur, jeweils aus *S. thermophilus* und *L. acidophilus*, verwendet. Die genauen Stämme sind nicht bekannt. In beiden Fällen führte eine höhere Fermentationstemperatur zu einem stärkeren Gel im Endprodukt. Der Joghurt mit der EPS⁺-Mischkultur weist dabei eine höhere Viskosität auf als der durch die EPS⁻-Mischkultur fermentierte Joghurt.

Mit der Fragestellung, ob und wie verschiedene EPS⁺-Stämme von *S. thermophilus* (St1, St2, St3, St4 und St5) interagieren, beschäftigten sich Folkenberg et al. [2006]. Als Ergebnis konnte festgehalten werden, dass das Vorhandensein von EPS für eine erhöhte Viskosität des Joghurts wichtig ist, weniger aber eine hohe Konzentration an EPS. Vielmehr ist es das Zusammenspiel verschiedener EPS von unterschiedlichen EPS⁺-Stämmen, die sich sowohl in den Serumporen des Joghurts befinden als auch mit dem vorhandenen Protein agieren müssen, um eine hohe Viskosität im Joghurt zu erreichen.

Die gesammelten wissenschaftlichen Aussagen über den Einfluss der EPS-Bildung von Milchsäurebakterien sowie die Auswirkungen von EPS in Joghurt sind in Tabelle 7 vereinfacht zusammengefasst.

Tabelle 7: Zusammenfassung der Aussagen über die EPS-Bildung und deren Funktion in Joghurt

| Aussage | Quelle |
|--|--|
| das Vorhandensein von EPS erhöht die Viskosität von Joghurt | Folkenberg et al. 2006; Haque et al. 2006; Han et al. 2016 |
| es besteht kein linearer Zusammenhang zwischen der Konzentration an EPS in Joghurt und dessen Viskosität | Folkenberg et al. 2006; Han et al. 2016 |
| die Bildung von EPS wird durch höhere Temperaturen begünstigt | Aslim et al. 2005; Haque et al. 2006 |
| die Bildung von EPS wird durch pH-Werte rund um das Wachstumsoptimum der jeweiligen Milchsäurebakterien begünstigt | Aslim et al. 2005 |
| das Vorhandensein von verschiedenen EPS unterschiedlicher Stämme erhöht die Viskosität von Joghurt | Folkenberg et al. 2006 |

5 Material und Methoden

5.1 Materialien

Die verwendeten Gerätschaften, die jeweiligen Hersteller sowie die Verwendungszwecke sind Tabelle 8 zu entnehmen.

Tabelle 8: **Verwendete Geräte, Hersteller und Verwendung**

| Bezeichnung | Hersteller | Verwendung |
|--|---|--|
| Thermomix® <i>TM31</i> | Vorwerk Deutschland GmbH & Co. KG (Wuppertal, Deutschland) | Herstellung Nährboden/Joghurtmilch der Vorversuche |
| Pilotanlage | GEA Tuchenhagen GmbH (Büchen, Deutschland) | Herstellung Nährboden/Joghurtmilch der Hauptversuche |
| Laborwaage <i>Adventurer® Precision AX4202</i> | OHaus Europe GmbH (Greifensee, Schweiz) | Abwiegen der Trockenstoffe |
| Technikumswaage <i>Mettler ID 1 Multi Range</i> | Mettler Toledo GmbH (Gießen, Deutschland) | Abwiegen der Flüssigkomponenten |
| pH-Meter <i>inoLab pH 730</i> | WTW GmbH (Weilheim, Deutschland) | Aufzeichnung des Säuerungsverlaufs |
| Wärmeschrank <i>UF 750</i> | Memmert GmbH + Co. KG (Schwabach, Deutschland) | Temperierung von Nährboden und Joghurtmilch |
| ESGE-Zauberstab® <i>Gastro Type 200</i> | Unold AG (Hockenheim, Deutschland) | Glattrühren des Joghurts |
| Rotationsviskosimeter <i>DV-II+ Pro Extra RV</i> | Brookfield Engineering Laboratories Vertriebs GmbH (Lorch, Deutschland) | Bestimmung der Viskosität des Joghurts |
| Handsiegelmaschine <i>Easyline (75/95)</i> | Schupack GmbH (Hünfeld, Deutschland) | Versiegeln der befüllten Joghurtbecher |

Außerdem werden folgende Materialien benötigt:

- Starterkultur (Mischkultur aus *S. thermophilus* und *L. acidophilus*)
- Ringerlösung
- Wasser
- Lactosehaltige Flüssigkomponente
- Hefeextrakt
- Speisesalz (NaCl)
- Milch
- Rahm
- Milcheiweißkonzentrate
- Saccharose
- Nachweismedium für Lactobacillen
- Agar-Agar
- steriles defibriniertes Hammelblut
- Harnstoff
- Citronensäure
- Natronlauge

5.2 Methoden zur Probenherstellung

5.2.1 Aufbereitung der Mutterkultur

Als Stammkultur wird in allen Versuchen eine Mischkultur aus *S. thermophilus* und *L. acidophilus* verwendet. Der Hersteller liefert die Starterkultur in Form von tiefgefrorenen Pellets in Beuteln mit einem Inhalt von 500 g. Angaben über die verwendeten Stämme oder das Verhältnis der beiden Milchsäurebakterien sind in der Spezifikation des Herstellers nicht zu finden. Um eine gleichbleibende Produktqualität zu gewährleisten, gibt der Hersteller an, dass stets der ganze Beutel verwendet werden muss. Andernfalls kann durch eventuelle Leerpellets die Gesamtkeimzahl der Starterkultur variieren.

Aus Kostengründen werden jedoch für die Vorversuche je 10 g Starterkultur aus einem Beutel entnommen und im Verhältnis von 1:10 mit Ringerlösung versetzt. Dies ist das Standardverfahren der Firma A für Versuche im kleinen Maßstab.

Für die Hauptversuche findet die Aufbereitung der Mutterkultur ähnlich zu der Aufbereitung für die Vorversuche statt, allerdings wird hier jeweils der komplette Beutel Starterkultur verwendet und im Verhältnis 1:10 mit Ringerlösung gemischt.

Die aufbereitete Kultur wird in beiden Fällen in verschließbare Laborgläser abgefüllt und bis zur Verwendung bei + 6 °C gelagert.

5.2.2 Herstellung Nährboden

Die für den Nährboden verwendeten Inhaltsstoffe sind Wasser, eine lactosehaltige Flüssigkomponente, Hefeextrakt und Speisesalz (NaCl). Genaue Mengenangaben können aus Gründen der Betriebswahrung nicht genannt werden. Über die Dosierung von der lactosehaltigen Flüssigkomponente und Wasser können unterschiedliche Lactosegehalte im Nährboden erreicht werden. Die Menge an Hefeextrakt und Speisesalz ist in allen Nährböden gleich.

Der Nährboden der Vorversuche wird in einem Thermomix® der Firma Vorwerk Deutschland Stiftung & Co. KG (Wuppertal, Deutschland) hergestellt. Die Flüssigkomponenten werden im Thermomix® vorgelegt und bei Stufe 3 auf 60 °C vorgewärmt. Anschließend werden die Trockenstoffe unter Rühren bei Stufe 3 zugegeben. Nach einer Erhitzung auf 90 °C wird diese Temperatur für 5 Minuten bei Stufe 3 gehalten. Nach Ablauf der 5 Minuten wird der fertige Nährboden im Eiswasserbad auf die gewünschte Anzuchttemperatur abgekühlt.

Der Nährboden der Hauptversuche wird in der Pilotanlage der Firma A hergestellt. Dazu werden die Flüssigkomponenten vorgelegt, unter Rühren die Trockenstoffe hinzugegeben und das Ganze auf 60 °C vorgewärmt. Der angemischte Nährboden wird bei 180 bar homogenisiert

und anschließend für 210 Sekunden bei 120 °C heißgehalten, was den HACCP-Vorgaben der Qualitätssicherung der Firma A entspricht. Anschließend erfolgt die Abfüllung in luftdicht verschließbare Eimer sowie eine Kühlung auf die gewünschte Anzuchttemperatur.

Bis zur Ansäuerung verweilen die Nährböden in einem Brutschrank, der auf die jeweilige Anzuchttemperatur eingestellt ist.

5.2.3 Anzucht der Starterkulturen

Zur Anzucht der Starterkulturen wird der temperierte Nährboden sowohl in den Vorversuchen als auch in der Hauptversuchsreihe mit 0,2 % Starterkultur beimpft und für die Anzuchtdauer bei entsprechend gewählter Temperatur in einem Brutschrank aufbewahrt. Die Anzucht erfolgt bis zu einem pH-Wert von 4,5. Dies ist Vorgabe der Firma A, um zu gewährleisten, dass mögliche Fremdkeime in diesem sauren Milieu nicht überlebensfähig sind.

Hat der beimpfte Nährboden im Brutschrank den gewünschten pH-Wert von 4,5 erreicht, erfolgt eine rasche Abkühlung in einem gekühlten Eiswasserbad sowie die Lagerung bei + 6 °C im Kühlhaus bis zur weiteren Nutzung.

5.2.4 Herstellung Joghurtmilch

Die Joghurtmilch der Vor- und Hauptversuche besteht aus den Flüssigkomponenten Magermilch, Rahm, verschiedenen Milcheiweißkonzentraten sowie Saccharose als Trockenstoff. Dabei handelt es sich um eine Standardrezeptur der Firma A für milden Joghurt mit 3,5 % Fett im Milchanteil. Genaue Mengenangaben können aufgrund der Wahrung des Betriebsgeheimnisses nicht genannt werden.

Die Joghurtmilch der Vorversuche werden im Thermomix® zubereitet. Dazu werden die Flüssigkomponenten bei Stufe 3 auf 60 °C vorgewärmt, die Trockenstoffe zugegeben und das Ganze anschließend auf 90 °C erhitzt. Diese Temperatur wird für fünf Minuten bei Stufe 3 gehalten. Es folgt die Abkühlung auf die Fermentationstemperatur von 42 °C.

Die Herstellung der Joghurtmilch der Hauptversuche erfolgt in der Pilotanlage der Firma A. Zunächst werden die Flüssigkomponenten vorgelegt und die Trockenstoffe eingerührt. Anschließend erfolgt ein Homogenisierungsschritt bei 190 bar sowie eine Sterilisation bei 90 °C für 300 Sekunden. Die Joghurtmilch wird mit einer Temperatur von 42 °C ausgefahren, in 5-L-Eimer abgefüllt, luftdicht verschlossen und bis zur weiteren Verwendung in einem Brutschrank mit einer Temperatur von 42 °C aufbewahrt.

5.2.5 Joghurtfermentation

Die Joghurtmilch der Vor- und Hauptversuche wird mit je 2 % der zuvor angezüchteten Starterkultur beimpft. Die Fermentation findet in temperierten Brutschränken bis zu einem pH-Wert von 4,6 statt. In den Vorversuchen wird der Joghurt bei 44 °C fermentiert, was der gängigen Temperatur der Firma A für die verwendete Joghurtrezeptur entspricht. In den Hauptversuchen wird die Fermentationstemperatur jedoch auf 42 °C herabgesetzt, da dies die Empfehlung des Kulturenherstellers ist.

Ist der pH-Wert von 4,6 erreicht, wird der fertige Joghurt mittels Wasserbad und Kühlhaus auf + 6 °C abgekühlt und mit einem Zauberstab® der Unold AG (Hockenheim, Deutschland) mit der Schlagscheibe auf Stufe 2 für 45 Sekunden glattgerührt. Der gerührte Joghurt wird dann in 150 g Becher abgefüllt, versiegelt und bis zum weiteren Gebrauch bei + 6 °C im Kühlhaus gelagert.

5.3 Analysemethoden

5.3.1 Säuerungsverlauf

Der Säuerungsverlauf während der Anzucht der Starterkulturen und dem Joghurtfermentationsprozess wird mit dem pH-Meter InoLab® pH 730 der Firma Xylem Analytics Germany Sales GmbH & Co. KG (Weilheim, Deutschland) dokumentiert.

Dazu wird jeweils ein Teil der beimpften Probe in ein Laborglas gefüllt, das mit einer pH-Sonde mit integriertem Temperaturfühler versehen wird. Das pH-Meter wird so programmiert, dass pH-Wert und Temperatur in einem Intervall von 30 Minuten gemessen werden. Der Säuerungsverlauf wird für eine Dauer von 24 Stunden aufgezeichnet. Während dieser Zeit stehen die befüllten Laborgläser in temperierten Wasserbädern, die auf die jeweiligen Anzucht- bzw. Fermentationstemperaturen eingestellt sind. Von besonderem Interesse ist dabei die Zeit, in der der gewünschte pH-Wert von 4,5 bei der Anzucht und 4,6 beim Joghurt erreicht wird, sowie der End-pH-Wert der einzelnen Proben nach 24 Stunden.

Die pH-Sonde hat laut Hersteller eine Genauigkeit von $\pm 0,01$ pH-Einheiten, der integrierte Temperaturfühler von $\pm 0,1$ °C. Als interne Vorgabe der Firma A werden Schwankungen der Fermentationszeiten bis zu $\pm 0,5$ h toleriert. Bei dem pH-Wert nach 24 Stunden liegt die Toleranz bei $\pm 0,1$ pH-Einheiten.

5.3.2 Gesamtkeimzahl

Die GKZ der Kulturen und des Joghurts werden im hauseigenen Labor der Firma A bestimmt. Die verwendete Methode ist eine an das Methodenbuch VI für Milch und Milchprodukte des Verbands Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA) angelehnte modifizierte Haus-Methode der Firma A, die zusammen mit einem Kulturenhersteller entwickelt wurde.

Dafür werden zunächst Blutagarplatten aus den Bestandteilen Agar-Agar, einem Nachweismedium für Lactobacillen und sterilem defibriniertem Hammelblut hergestellt. Von der zu untersuchenden Probe (Kultur oder Joghurt) wird eine Verdünnungsreihe angelegt. Dabei sollen die Verdünnungen so gewählt werden, dass die Anzahl der Kolonien in den Petrischalen zwischen 30 und 60 beträgt. Die Verdünnungsreihe wird nach dem Referenzverfahren nach Methode M 6.3.1 des Methodenbuchs VI der VDLUFA hergestellt. Durch die Erfahrungswerte der Firma A werden Verdünnungen mit den Verdünnungsfaktoren 10^4 bis 10^9 benötigt.

Je 0,1 mL dieser Verdünnungen wird auf je eine Blutagarplatte pipettiert und mittels sterilem Spatel gleichmäßig verteilt und leicht eingerieben. Die Blutagarplatten werden für vier Tage bei 38 °C bebrütet. Die Auswertung der Platten erfolgt makroskopisch durch die Unterscheidung des arttypischen Wachstums der Kolonien von *S. thermophilus* und *L. acidophilus*, wie es in Abbildung 10 und Abbildung 11 dargestellt ist. *S. thermophilus* ist an der auftretenden β -Hämolyse rund um die Kolonie zu erkennen, *L. acidophilus* weist dagegen γ -Hämolyse auf.



Abbildung 10: Arttypisches Koloniewachstum von *S. thermophilus* auf Blutagar

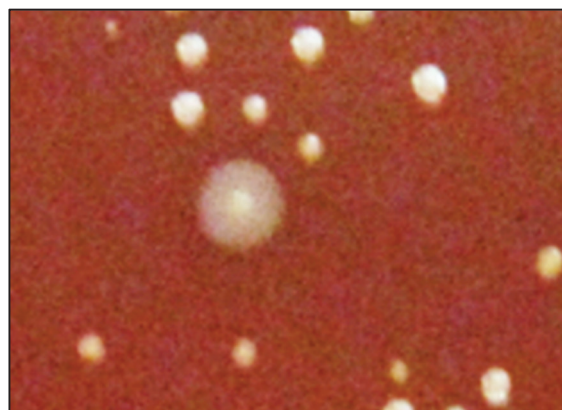


Abbildung 11: Arttypisches Koloniewachstum von *L. acidophilus* auf Blutagar

Aufgrund der Vielzahl der täglich anfallenden Proben der Firma A, ist die Ermittlung der GKZ nur in Einfachbestimmung möglich. Ebenfalls aus Zeitgründen wird nur die am besten

auswertbare Verdünnung ausgezählt und nicht wie von dem VDLUFA vorgegeben jede auswertbare Verdünnung. Die Berechnung der GKZ erfolgt über folgende Formel 1:

$$\bar{c} = c \times d$$

mit \bar{c} = Anzahl der koloniebildenden Einheiten je g bzw. ml (Keimzahl)

c = Anzahl der Kolonien auf der ausgewerteten Petrischale

d = Faktor der ausgewerteten Verdünnungsstufe

Der VDLUFA gibt für ihre Methode eine Messtoleranz von $\pm 30\%$ der ermittelten GKZ an, dies wird auch für die modifizierte Haus-Methode angenommen.

5.3.3 Viskosität

Die Viskosität des fertigen Joghurts wird durch das Rotationsviskosimeter DV-II+ Pro Extra RV der Firma Brookfield (Lorch, Deutschland) ermittelt.

Die verwendeten Einstellungen sind Tabelle 9 zu entnehmen. Gemessen wird die dynamische Viskosität, angegeben in mPa*s, mit der Spindel RV5. Die Messungen finden bei einer Produkttemperatur von + 6 °C vier Tage nach Fermentationsende in den abgefüllten 150 g-Bechern statt. Die Temperatur wird dabei mit einem Temperaturfühler aufgezeichnet, der eine Messgenauigkeit von $\pm 0,1$ °C aufweist.

Tabelle 9: Einstellungen des Rotationsviskosimeters

| Parameter | Einstellung |
|------------------|-------------|
| Drehzahl [1/min] | 10 |
| Messdauer [s] | 120 |

Die Messgenauigkeit der ermittelten Viskosität ist laut Hersteller abhängig von dem verwendeten Messgerät, der Spindel sowie den Messeinstellungen. Für die hier verwendete Messmethodik liegt die Messgenauigkeit bei ± 400 mPa*s. Es findet pro Versuchscharge eine dreifache Messung (in drei verschiedenen Bechern) der Viskosität statt.

5.3.4 Sensorik

Die sensorische Verkostung der Joghurts erfolgt aufgrund unvorhersehbarer Abweichungen in den Produkten nur in Form einer nicht statistisch auswertbaren Verkostung mit den Produktentwicklern der Firma A. In Kapitel 7.1.5 wird dies näher erläutert.

5.3.5 Statistik

Ob statistisch signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Proben der Hauptversuche bezüglich der Anzuchtdauer, der Fermentationszeit, der GKZ und der Viskosität bestehen, wird mittels der Statistiksoftware XLSTAT der Firma Addinsoft (New York, USA) für Microsoft Excel® (Redmond, USA) berechnet.

Erweisen sich die Daten nach dem Test auf Normalverteilung als parametrisch, erfolgt eine ANOVA (Analysis of Variances) mit nachgeschaltetem Tukey-HSD-Test.

Ist die Verteilung der Daten nicht-parametrisch, findet zur Ermittlung von signifikanten Unterschieden der Kruskal-Wallis-Test statt, dem ein mehrfacher paarweiser Vergleich nach Dunn folgt.

Das Signifikanzniveau bzw. die Irrtumswahrscheinlichkeit wird für alle Tests mit 5 % festgelegt.

6 Ergebnisse und Diskussion der Vorversuche

6.1 Schlussfolgerungen aus aktuellem Stand von Wissenschaft und Technik

Für die nachfolgenden praktischen Versuche ist zunächst festzuhalten, dass eine Mischkultur aus *S. thermophilus* und *L. acidophilus* verwendet wird, deren genauen Stämme durch den Hersteller nicht bekannt gegeben werden.

Diese Tatsache macht Ableitungen aus der Literatur auf die Anwendung in Molkereien wie Firma A nur eingeschränkt möglich, da sich die einzelnen Stämme der Milchsäurebakterien teils stark in ihren Eigenschaften unterscheiden. Die unterschiedlich verwendeten Nährmedien der zuvor behandelten Studien stellen ebenfalls Gründe dar, warum die genannten Ergebnisse sich nur bedingt miteinander vergleichen lassen und somit auch erschwert in der Praxis zum Einsatz kommen.

Auch sind dadurch teilweise auftretende Abweichungen z.B. bei den Temperatur- und pH-Optima in Kapitel 4.1 oder direkte Widersprüche wie bei Letort und Juillard [2001] und Smith et al. [2014] in Kapitel 4.2 zu erklären. Erstere fanden heraus, dass die Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Cystein essentiell für das Wachstum von *S. thermophilus* sind. Letztere identifizierten diese drei Aminosäuren als störend in der Fermentation von Joghurt unter dem Einsatz einer Mischkultur aus *S. thermophilus* und *L. bulgaricus*. Ähnliche Widersprüche gibt es über den Einsatz von Vitaminen im Nährmedium bei Letort und Juillard [2001] und Smith et al. [2014].

Die zuvor gesammelten Aussagen in den Kapiteln 4.1 bis 4.3 über das Wachstum von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* und die EPS-Bildung der Starterkulturen können folglich nur Anhaltspunkte liefern, eine vollständige Übereinstimmung zwischen den praktischen Versuchen und der Literatur ist nicht zu erwarten.

Durch die in Punkt 4.1 aufgezeigten Temperaturoptima von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* wird für die geplanten Vorversuche ein Temperaturbereich von 37 bis 45 °C für die Anzucht als sinnvoll erachtet. Dadurch werden zunächst alle in der verwendeten Literatur genannten Temperaturoptima der Stämme *S. thermophilus* und *L. acidophilus* abgedeckt.

Da die Anzucht der Starterkulturen der Firma A im batch-Verfahren stattfindet, das heißt, dass während der Anzucht keine Stoffe ein- oder ausgetragen werden, nimmt der pH-Wert im Nährmedium durch die Bildung der Milchsäure unweigerlich ab. Eine Anzucht bei einem festen pH-Wert ist daher nicht möglich, sodass die Starterkulturen auch pH-Werten ausgesetzt sind, die nicht ihren Wachstumsoptima entsprechen. Um dennoch die Auswirkungen von verlängerten Zeiten der pH-Werte in den für die verwendeten Starterkulturen optimalen Bereichen zu untersuchen, finden einzelne Vorversuche statt, in denen der pH-Wert des

Nährmediums durch die Zugabe von Citronensäure bzw. Natronlauge manuell erhöht und herabgesetzt wird oder die Anzucht frühzeitig abgebrochen wird.

Als Nährmedium wird eine der Firma A gängige Methode verwendet, in der unter anderem Hefeextrakt zum Einsatz kommt. Durch die Erkenntnisse von Smith et al. [2014], dass die Konzentration des Hefeextraktes im Nährmedium keine übergeordnete Rolle spielt, wird der Hefeextrakt in der für Firma A üblichen Dosage verwendet und variiert in den Versuchen nicht. Der Lactosegehalt im Nährmedium wird durch das Verhältnis von Wasser und lactosehaltiger Flüssigkomponente eingestellt und wird für die Vorversuche mit 1 % sowie 2,5 % und 5 % festgelegt.

Durch die mehrfache Nennung des positiven Effektes von Harnstoff im Nährmedium findet außerdem ein Versuch statt, in dem Harnstoff in einer Konzentration von 4 mmol/L dem Nährmedium zugesetzt wird. Dies entspricht der von Letort und Juillard [2001] empfohlenen Konzentration im Nährmedium.

Da die zu verwendende Kultur durch Firma A festgelegt wurde, kann die Viskosität im Joghurt nur durch die Auswirkungen der unterschiedlichen Temperaturen und pH-Werte sowie der Zusammensetzung des Nährmediums während der Anzucht beeinflusst werden. Da der Kulturenhersteller sein Produkt explizit für die Nutzung der Joghurtfermentation anbietet, wird davon ausgegangen, dass es sich bei den verwendeten Stämmen von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* um EPS⁺-Milchsäurebakterien handelt.

Eine Anzucht bei 41 °C in einem Nährmedium mit 1 % Lactose ohne Anpassung des pH-Wertes wird zunächst für alle Vorversuche zu Vergleichszwecken als Standard definiert.

Um andere Einflussfaktoren wie das Alter der Starterkultur nach Aufbereitung sowie das Alter der Milchbestandteile des Joghurts als Störfaktoren während der Versuche auszuschließen, finden außerdem Versuche diesbezüglich statt.

Die genauen Messwerte und GKZ der nachstehenden Proben der Vorversuche können Anhang 1.1 und 1.2 entnommen werden.

6.2 Vorversuche: Temperatureinfluss

Abbildung 12 zeigt die Anzuchtdauer der Starterkultur bis zu einem pH-Wert von 4,6 in Abhängigkeit der Anzuchttemperatur. Mit Ausnahme der Anzuchttemperatur von 41 °C, deren Mittelwert hier aufgetragen ist, wurde jede andere Anzuchttemperatur nur in Einfachbestimmung untersucht. Die Anzuchttemperatur von 41 °C wurde aufgrund von Vergleichszwecken für die nachfolgenden Einflussfaktoren insgesamt sechsmal durchgeführt,

weswegen in diesem Fall auch die Standardabweichung der Messwerte angegeben werden kann.

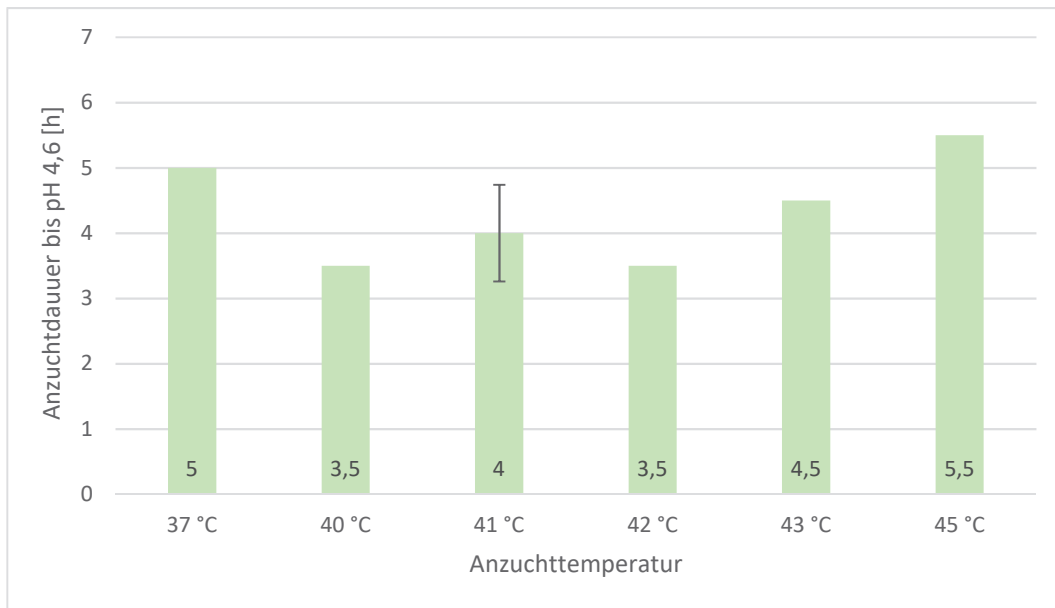


Abbildung 12: Einfluss der Anzuchttemperatur auf die Säuerungszeit im Nährboden

Zunächst ist festzuhalten, dass die Standardabweichung der Anzuchtdauer bei 41 °C mit $\pm 0,74$ h über der tolerierten Abweichung von $\pm 0,5$ h liegt. Da die anderen Anzuchttemperaturen nur in Einfachbestimmung untersucht wurden, ist anzunehmen, dass diese Untersuchungen ähnliche Schwankungen aufweisen. Folglich ist die Aussagekraft und Reproduzierbarkeit der in Abbildung 12 dargestellten Ergebnisse zu hinterfragen.

Trotz alledem ist die Tendenz erkennbar, dass im Bereich der Anzuchttemperaturen von 40 bis 42 °C mit 3,5 bis 4 h eine geringere Anzuchtdauer erreicht wird als bei 37 °C bzw. 43 und 45 °C. Hier betragen die Säuerungszeiten 4,5 bis 5,5 h.

In Abbildung 13 sind die zugehörigen Fermentationszeiten des Joghurts mit den in Abbildung 12 angezüchteten Starterkulturen in Abhängigkeit der Anzuchttemperaturen abgebildet. Mit einer Standardabweichung von $\pm 4,39$ h bei einer Anzuchttemperatur von 41 °C zeigt sich eine noch geringere Reproduzierbarkeit der Messwerte im Joghurt im Vergleich zur Anzucht der Starterkulturen.

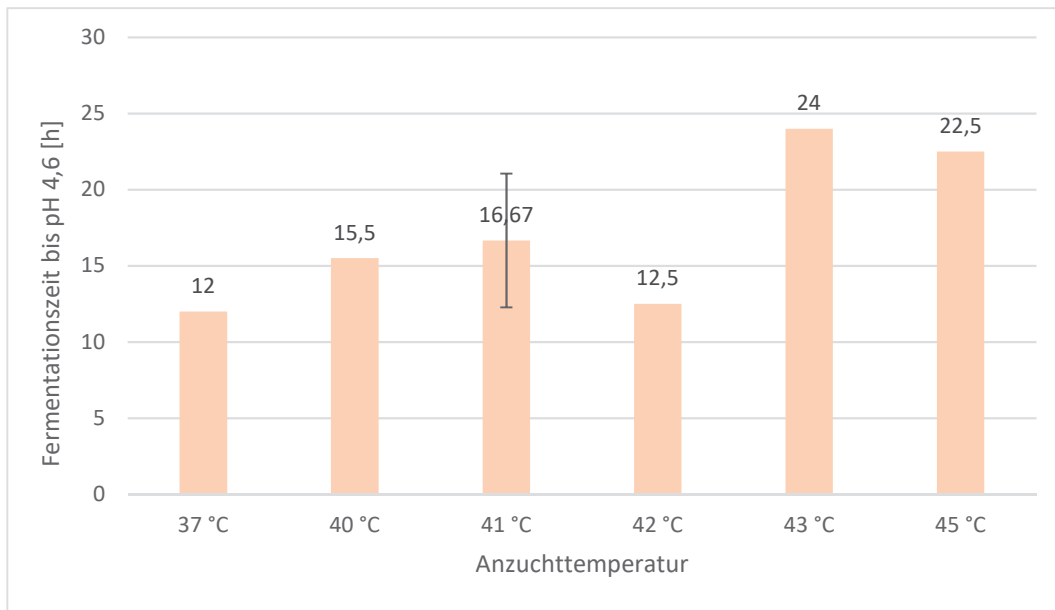


Abbildung 13: Einfluss der Anzuchttemperatur auf die Fermentationszeit im Joghurt bei 44 °C

Anders als bei der Anzucht ist kein klar abgegrenzter Minimalbereich der Fermentationszeiten zu erkennen. Mit 12 bzw. 12,5 h zeigen die Anzuchttemperaturen 37 und 42 °C hier die geringsten Fermentationszeiten. Bei 40 bzw. 41 °C Anzuchttemperatur liegen die Fermentationszeiten mit 15,5 und 16,67 h deutlich höher. Die Anzuchttemperaturen von 43 und 45 °C führen sogar zu Fermentationszeiten von 24 und 22,5 h. Das Optimum für eine möglichst geringe Fermentationszeit liegt in diesen Untersuchungen folglich bei 37 und 42 °C, bei Anzuchttemperaturen dazwischen bzw. über diesen erfolgt eine Verlängerung der Fermentationszeit. Wird jedoch angenommen, dass die Standardabweichungen der Messwerte bei 41 °C auch für die anderen Anzuchttemperaturen gelten, ist eine Aussagekraft der hier dargestellten Messwerte nicht mehr gegeben.

Weiterhin fand die Bestimmung der GKZ dieser Joghurts statt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 dargestellt. Im Falle der Anzuchttemperatur von 41 °C wurden nur fünf der insgesamt sechs Proben untersucht, der zugehörige Mittelwert in KbE/mL und die Standardabweichung in Prozent sind hier angegeben.

Tabelle 10: GKZ der Joghurts zum Einfluss der Anzuchttemperatur

| Anzuchttemperatur | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|-------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 37 °C | 1,0 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 40 °C | 2,5 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 41 °C | 1,4 x 10 ⁸ ± 34 % | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 42 °C | 4,4 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 43 °C | 8,0 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 45 °C | 1,9 x 10 ⁸ | 7,0 x 10 ⁴ |

Auffallend ist zunächst, dass bis auf eine Anzuchttemperatur von 45 °C bei keiner anderen Anzuchttemperatur *L. acidophilus* nachgewiesen werden konnte, auch nicht bei der Vierfachuntersuchung der Anzuchttemperatur von 41 °C. Bei einer Anzuchttemperatur von 45 °C konnten zwar 7,0 x 10⁴ KbE/mL nachgewiesen werden, im Vergleich zu *S. thermophilus* ist dies jedoch sehr gering. *S. thermophilus* wurde in allen Proben mit mindestens 1,0 x 10⁸ KbE/mL gefunden. Einzige Ausnahme stellt die Anzuchttemperatur von 43 °C dar, hier beträgt die GKZ 8,0 x 10⁷ KbE/mL. Die Vierfachbestimmung der Anzuchttemperatur ergab jedoch eine Messschwankung von ± 34 %. Damit liegt diese vier Prozentpunkte über der tolerierten Messschwankung von ± 30 %, folglich ist die Reproduzierbarkeit der Versuchsmethode in Frage zu stellen. Da auch die Anzuchtdauer und Fermentationszeiten eine Abweichung außerhalb der Messtoleranz aufweisen, ist eine Abweichung in der GKZ nur eine erneute Bestätigung dafür, dass die Versuchsmethode keine reproduzierbaren Ergebnisse liefert.

6.3 Vorversuche: pH-Einfluss

Anders als bei dem Einfluss der Anzuchttemperatur wird im Falle des pH-Einflusses nicht die Anzuchtdauer betrachtet, sondern der genaue Säuerungsverlauf, um auch geringe Unterschiede wahrnehmen zu können. Folglich zeigt Abbildung 14 den pH-Wert während der Anzucht in Abhängigkeit der Anzuchtdauer. Untersucht wurde jeweils in Einfachbestimmung.

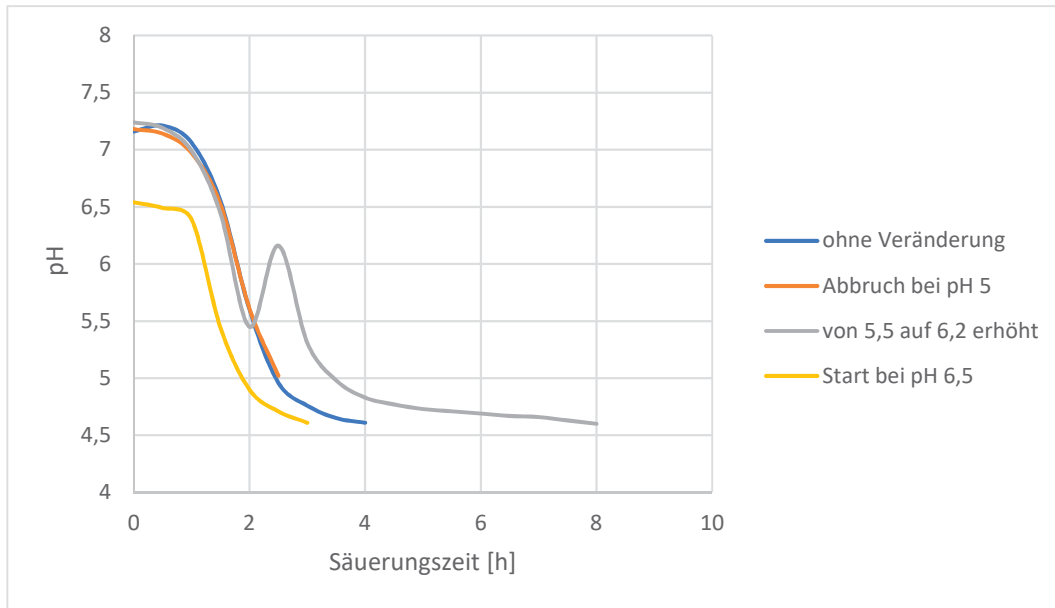


Abbildung 14: Einfluss des pH-Wertes auf das Säuerungsverhalten während der Anzucht bei 41 °C

So wird zunächst deutlich, dass die Proben mit dem Abbruch bei pH 5 und der Erhöhung des pH-Wertes mit Natronlauge von 5,5 auf 6,2 bis zu dem Eingriff mit der Standardprobe ohne Veränderung nahezu den identischen pH-Verlauf zeigen. Die Standardprobe ohne pH-Veränderung benötigte bis zu einem pH-Wert von 4,6 eine Zeit von 4 h. Wird der hier grau dargestellten Probe bei Erreichen von pH 5,5 Natronlauge zugesetzt, steigt der pH-Wert folglich an. Nach der pH-Erhöhung sinkt der pH-Wert zunächst noch im selbem Maße wie vor dem Eingriff in den Säuerungsverlauf. Ab einem pH-Wert von etwa 5,2 sinkt der pH-Wert jedoch weniger schnell als bei der Probe ohne Veränderung, sodass der gewünschte End-pH-Wert von 4,6 erst nach 8 h erreicht wird. Die pH-Erhöpfung hatte demnach eine Verdopplung der Säuerungszeit zur Folge. Die Probe, die direkt nach der Kulturzugabe auf einen pH-Wert von 6,5 eingestellt wurde, benötigte für die Säuerung bis pH 4,6 nur 3 h. Eine Anlaufphase von ca. einer Stunde bis sich der pH-Wert deutlich verändert, wurde bei jeder Probe festgestellt.

Abbildung 15 zeigt die Fermentationszeiten der zugehörigen Joghurts in Abhängigkeit der pH-Veränderungen während der Anzucht. Wie schon die Anzucht fand auch die Joghurtfermentation mit den zuvor herangezuchteten Kulturen nur in Einfachbestimmung statt.

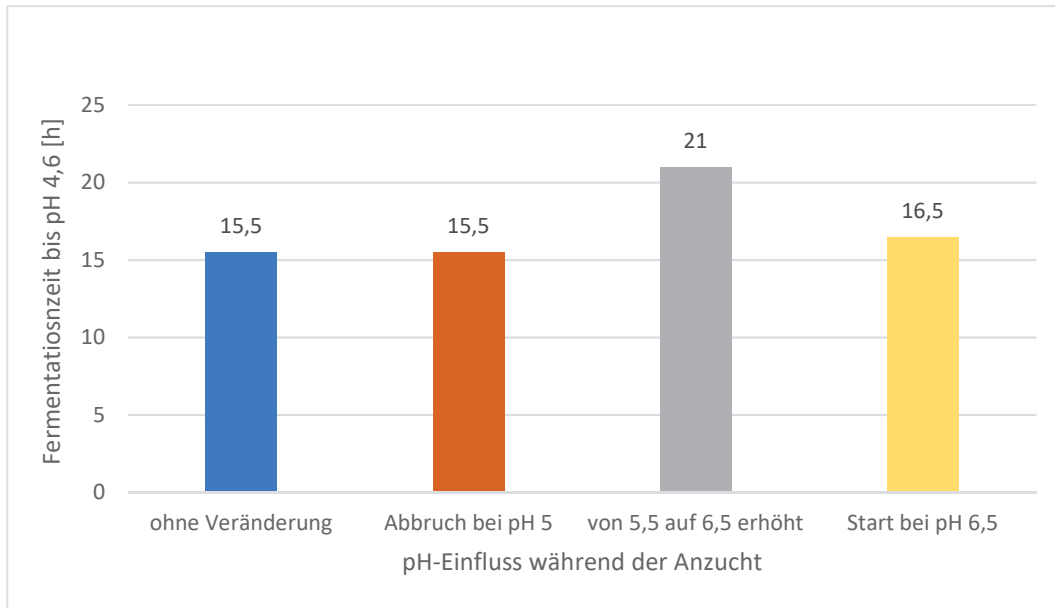


Abbildung 15: Einfluss der pH-Veränderungen in der Anzucht auf die Fermentationszeit im Joghurt bei 44 °C

Auf den ersten Blick wird deutlich, dass der Abbruch der Anzucht bei einem pH-Wert von 5 keine Veränderung der Fermentationszeit im Joghurt hervorgerufen hat. Eine Fermentationszeit von 15,5 h wurde sowohl bei der Probe ohne Veränderung als auch bei der Probe mit Abbruch bei pH 5 festgestellt. Die Absenkung des Anfangs-pH-Wertes auf 6,5 mit Citronensäure führte zu einer Verlängerung der Fermentationszeit um eine Stunde auf 16,5 h, obwohl die Anzuchtdauer hier nur 3 h betrug. Die Probe, deren pH-Wert während der Anzucht mit Natronlauge noch einmal auf pH 6,2 erhöht wurde, zeigt die hier längste Fermentationszeit im Joghurt mit 21 h.

Die GKZ der Joghurtproben sind in Tabelle 11 aufgeführt. Die Ergebnisse sind dabei denen aus Tabelle 10 und dem dort untersuchten Temperatureinfluss sehr ähnlich. *L. acidophilus* konnte in einer Mindestmenge von $1,0 \times 10^4$ KbE/mL nicht gefunden werden, wogegen *S. thermophilus* mit einem Faktor von 10^8 nachgewiesen werden konnte. Auf die GKZ des Joghurts scheinen die untersuchten pH-Veränderungen folglich keinen Einfluss zu haben.

Tabelle 11: GKZ der Joghurts zum Einfluss des pH-Wertes in der Anzucht

| pH-Einstellung in der Anzucht | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| ohne Veränderung | $1,9 \times 10^8$ | $< 1,0 \times 10^4$ |
| Abbruch bei pH 5 | $1,8 \times 10^8$ | $< 1,0 \times 10^4$ |
| von 5,5 auf 6,2 erhöht | $1,3 \times 10^8$ | $< 1,0 \times 10^4$ |
| Start bei pH 6,5 | $1,5 \times 10^8$ | $< 1,0 \times 10^4$ |

Es ist jedoch anzumerken, dass die hier dargestellten Versuche zum Einfluss des pH-Wertes nur in Einfachbestimmung stattgefunden haben. Da aus den Vorversuchen zum Einfluss der Temperatur hervorgegangen ist, dass die Reproduzierbarkeit der Methode nicht gewährleistet werden kann, sind die Versuche zum pH-Einfluss ebenfalls zu hinterfragen und haben folglich nur eine geringe Aussagekraft.

6.4 Vorversuche: Lactoseeinfluss

Der Einfluss des Lactosegehaltes im Nährmedium wurde in den Vorversuchen durch drei verschiedene Konzentrationen untersucht: 1 %, 2,5 % und 5 % Lactose. Es erfolgte jeweils eine Dreifachbestimmung, sodass Abbildung 16 die Mittelwerte mit zugehöriger Standardabweichung der Anzuchtdauer in Abhängigkeit des Lactosegehaltes im Nährmedium zeigt.

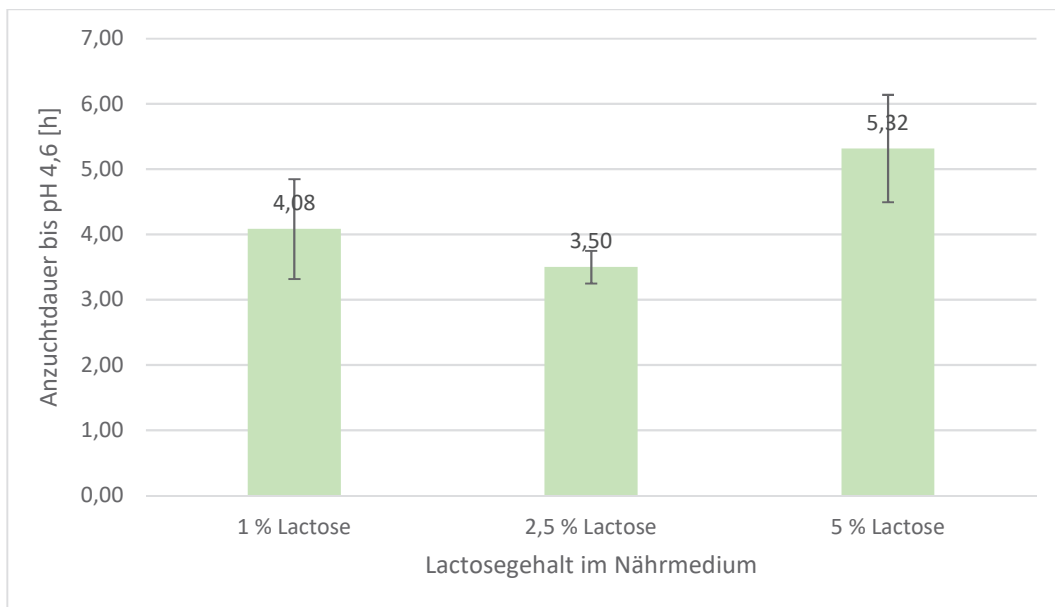


Abbildung 16: Einfluss des Lactosegehaltes im Nährmedium auf die Säuerungszeit bei 41 °C Anzuchttemperatur

Nur die Standardabweichung der Probe mit 2,5 % Lactose liegt mit $\pm 0,25$ h innerhalb der Messtoleranz von $\pm 0,5$ h. Die Probe mit 1 % Lactose und 5 % Lactose im Nährmedium haben eine Standardabweichung von $\pm 0,76$ h bzw. $\pm 0,82$ h. Somit ist die Aussagekraft dieser Proben erneut nur begrenzt gegeben. Mit 3,5 h weist die Probe mit 2,5 % Lactose die geringste Anzuchtdauer auf. 1 % Lactose im Nährmedium führt zu einer Anzuchtdauer von 4,08 h und 5 % Lactose zu 5,32 h.

Ähnliches zeigt sich in den Fermentationszeiten des Joghurts, die in Abbildung 17 in Abhängigkeit des Lactosegehaltes des Nährmediums in der Anzucht dargestellt sind.

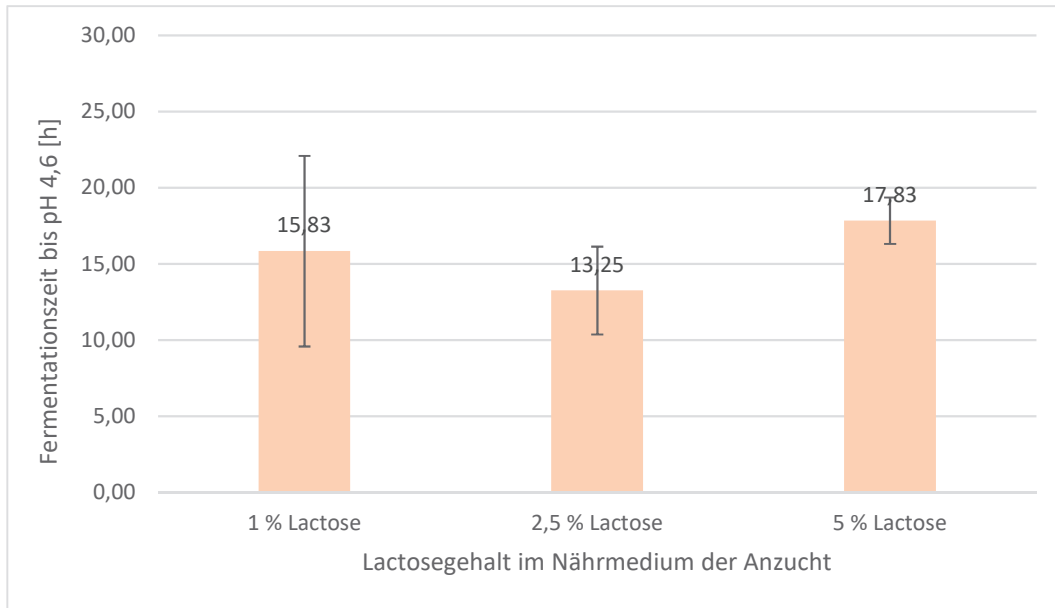


Abbildung 17: Einfluss des Lactosegehaltes im Nährmedium der Anzucht auf die Fermentationszeiten in Joghurt bei 44 °C Fermentationstemperatur

Die Probe mit 2,5 % Lactose im Nährmedium zeigt die niedrigste Fermentationszeit von 13,25 h \pm 2,88 h. Die Probe mit 1 % Lactose im Nährmedium benötigte im Durchschnitt 15,83 h \pm 3,25 h für die Joghurtfermentation und die Probe mit 5 % Lactose 17,83 h \pm 1,53 h. Die Reihenfolge der Anzuchtdauer bzw. Fermentationszeiten veränderte sich zwischen der Anzucht und der Joghurtherstellung folglich nicht. Da die Standardabweichungen jedoch erneut stark über der Messtoleranz von \pm 0,5 h liegen, liefern diese Ergebnisse nur einen ersten Anhaltspunkt, der näher untersucht werden muss.

Die Untersuchung der GKZ des Joghurts zum Einfluss des Lactosegehaltes im Nährmedium während der Anzucht ergab die in Tabelle 12 aufgeführten Ergebnisse. Es erfolgte eine Dreifachbestimmung durch die Untersuchung von drei an unterschiedlichen Tagen hergestellten Joghurts.

Tabelle 12: GKZ der Joghurts zum Einfluss des Lactosegehaltes im Nährmedium

| Lactosegehalt im Nährmedium | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|-----------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 1 % | $1,2 \times 10^8 \pm 44 \%$ | $< 1,0 \times 10^4$ |
| 2,5 % | $5,0 \times 10^7 \pm 83 \%$ | $< 1,0 \times 10^4$ |
| 5 % | $1,8 \times 10^8 \pm 69 \%$ | $< 1,0 \times 10^4$ |

L. acidophilus konnte dabei erneut nicht nachgewiesen werden. *S. thermophilus* wurde wieder im Bereich von 10^7 bis 10^8 KbE/mL gefunden, was zur Vermutung führt, dass der Lactosegehalt des Nährmediums keinen Einfluss auf die GKZ des Joghurts hat. Die Messschwankungen von bis zu \pm 83 % lassen jedoch darauf schließen, dass keine

Reproduzierbarkeit der Ergebnisse gegeben ist, was Aussagen bezüglich des Lactoseeinflusses im Nährmedium auf die GKZ des Joghurts erschwert.

6.5 Vorversuche: Harnstoffeinfluss

Zur Überprüfung der Thesen von Letort und Juillard [2001] sowie Arioli et al. [2014], dass sich die Zugabe von Harnstoff zum Nährmedium positiv auf das Wachstums- und Säuerungsverhalten von *S. thermophilus* in Rein- und Mischkulturen auswirkt, wurden dem Nährmedium 4 mmol/l Harnstoff zugegeben. Den Säuerungsverlauf dieser Anzucht im Vergleich zu einer Probe ohne Harnstoffzugabe zeigt Abbildung 18. Es fand eine Einfachbestimmung statt.

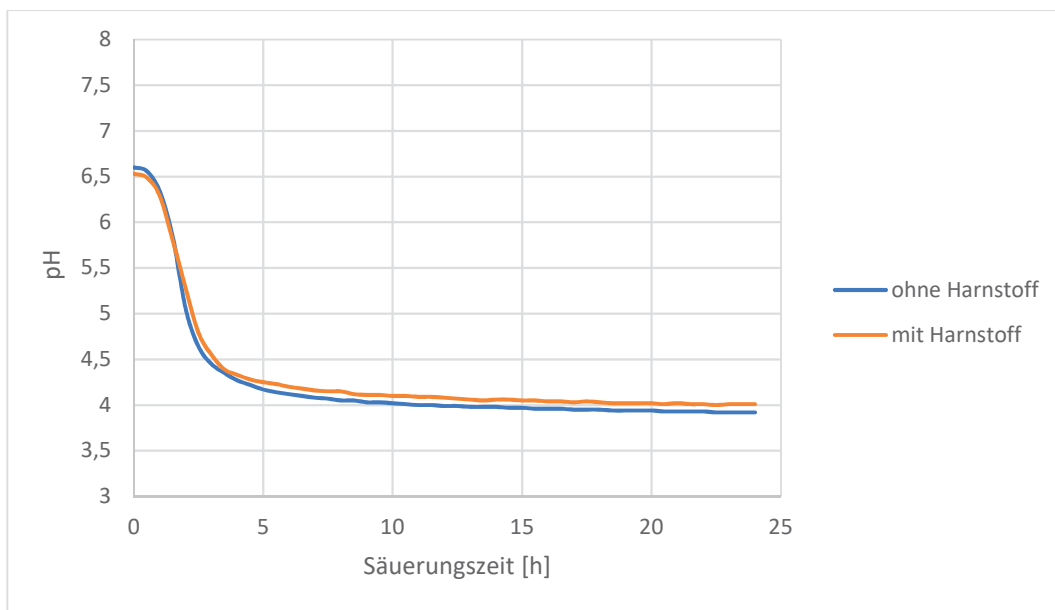


Abbildung 18: Einfluss von Harnstoff im Nährmedium auf das Säuerungsverhalten bei 41 °C Anzuchttemperatur

Da die beiden Säuerungsverläufe nahezu identisch verlaufen, steht die Vermutung nahe, dass die Zugabe von Harnstoff keine Auswirkungen auf das Wachstum oder die Säuerung der Kultur hat.

Im Joghurt konnten die Fermentationsverläufe aufgrund von anderweitiger Belegung der pH-Meter nicht aufgezeichnet werden. Eine stichprobenartige Messung des pH-Wertes zeigte jedoch keine Unterschiede.

Die GKZ der beiden Joghurtproben, jeweils in Einfachbestimmung, sind in Tabelle 13 aufgeführt. Ein Nachweis von *L. acidophilus* mit mindestens 10^4 KbE/mL war erneut nicht möglich. Mit $1,5 \times 10^8$ und $2,1 \times 10^8$ KbE/mL liegen die Werte für *S. thermophilus* in der Probe ohne Harnstoff bzw. in der Probe mit Harnstoff im Nährmedium sehr nahe beieinander. Dies bestätigt den Verdacht, dass die Harnstoffzugabe im Nährmedium keine Auswirkungen auf das Wachstum der Starterkulturen hat. Da die Untersuchungen zum Harnstoffeinfluss jedoch

nur in Einfachbestimmung stattgefunden haben, ist eine Beeinflussung der hier untersuchten Starterkulturen durch eine Harnstoffzugabe nicht endgültig auszuschließen.

Tabelle 13: GKZ der Joghurts zum Einfluss von Harnstoff im Nährmedium der Anzucht

| Harnstoff im Nährmedium | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|-------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| kein Harnstoff | $1,5 \times 10^8$ | $< 1,0 \times 10^4$ |
| 4 mmol/L | $2,1 \times 10^8$ | $< 1,0 \times 10^4$ |

6.6 Vorversuche: Einfluss des Alters der Kultur

Um auszuschließen, dass die gefundenen Messschwankungen nicht auf das Alter der aufbereiteten Kultur zurückzuführen sind, wurde der Säuerungsverlauf einer Kultur am Tag ihrer Aufbereitung (frisch) mit dem Säuerungsverlauf einer Kultur, deren Aufbereitung bereits vier Tage (3 d alte Kultur) zurückliegt, verglichen. Abbildung 19 zeigt die Ergebnisse dieser Untersuchungen, die in Einfachbestimmung stattfanden.

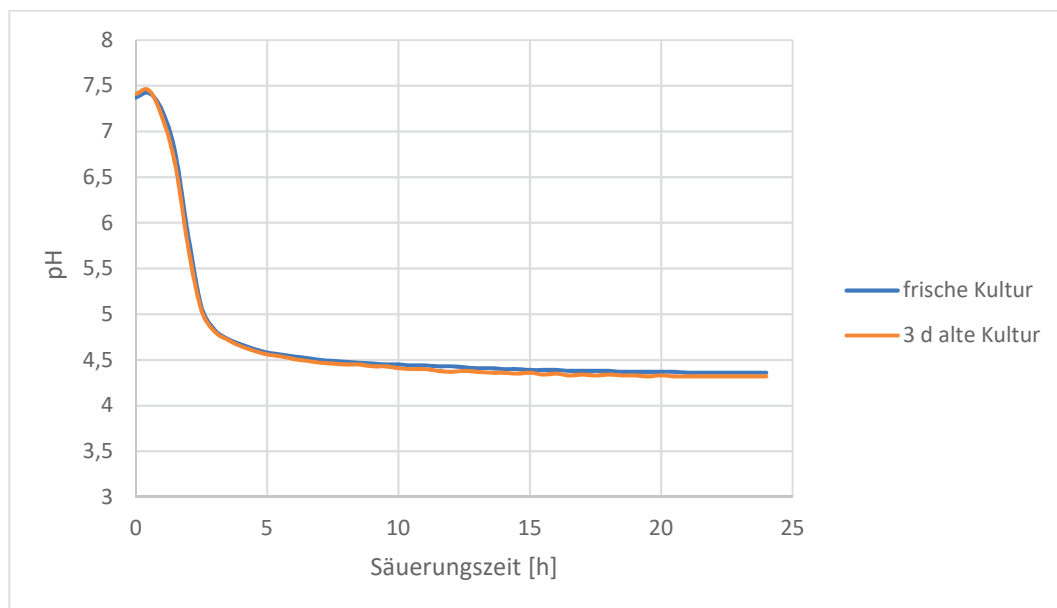


Abbildung 19: Einfluss des Alters der Starterkultur auf die Säuerungsverhalten bei 41 °C Anzuchttemperatur

Wie klar zu erkennen ist, verläuft der pH-Wert der beiden Proben nahezu identisch. Die geringen Unterschiede in den Säuerungsverläufen sind auf Messschwankungen des pH-Meters zurückzuführen.

Bei der Fermentation des Joghurts waren die programmierbaren pH-Meter erneut belegt, sodass kein Fermentationsverlauf aufgezeichnet werden konnte. Die stichprobenartige Überprüfung des pH-Verlaufs der beiden Joghurts ergab jedoch keine Unterschiede.

Auch die Bestimmung der GKZ der Joghurts in Tabelle 14 ergab keine nennenswerten Unterschiede. Zwar liegt die Anzahl der KbE/mL von *S. thermophilus* diesmal mit 10^6 bei der

älteren Kultur und 10^7 bei der frischen Kultur unter den bisherigen Ergebnissen. Der Unterschied zwischen den beiden Proben liegt jedoch mit einer Abweichung von 18 % innerhalb der Messtoleranz dieses Verfahrens. Somit sind die GKZ der beiden Proben als gleich anzusehen. *L. acidophilus* konnte in keiner der Proben nachgewiesen werden.

Tabelle 14: GKZ der Joghurts zum Einfluss des Alters der Kultur bei Anzucht

| Alter der Kultur bei Anzucht | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| frisch | $1,1 \times 10^7$ | $< 1,0 \times 10^4$ |
| 3 d | $9,0 \times 10^6$ | $< 1,0 \times 10^4$ |

Da die aufbereitete Kultur für die hier beschriebenen Versuche nur am Tag ihrer Aufbereitung und am darauffolgenden Tag zur Anzucht benutzt wird, ist das Alter der Kultur als Grund für die Messschwankungen folglich auszuschließen. Dies bestätigen auch Erfahrungswerte der Firma A, weswegen eine Einfachbestimmung an dieser Stelle als ausreichend angesehen wird.

6.7 Vorversuche: Einfluss des Alters der Milch

Da die Standardabweichungen der Fermentationszeiten des Joghurts immer höher als die Standardabweichungen der Anzuchtdauer waren, ist anzunehmen, dass bei der Herstellung der Joghurtmilch Unterschiede auftreten, die für die Schwankungen verantwortlich sind. Wiegefehler und Abweichungen von der Herstellungsmethode werden zunächst ausgeschlossen, sodass das Alter der Milchrohstoffe als mögliche Fehlerquelle in Frage kommt. Das Entwicklungstechnikum der Firma A erhält die Milchrohstoffe nach Bestellung aus dem eigenen Haus. Einfluss auf das Alter der Milch hat das Entwicklungstechnikum dabei nicht. Es kann folglich nicht gewährleistet werden, dass immer die frischeste Milch verwendet wird.

Der Einfluss des Alters dieser Milchrohstoffe wurde demnach überprüft, indem Joghurt am Tag der Milchlieferung (frische Milch) hergestellt wurde und indem genau diese Milchrohstoffe erst nach 4 Tagen (4 d alte Milch) im Kühlhaus zur Joghurtherstellung verwendet wurden. Abbildung 20 zeigt die Fermentationsverläufe dieser Joghurts in Einfachbestimmung. Als Starterkultur wurde in beiden Fällen eine bei 41 °C angezüchtete Kultur verwendet.

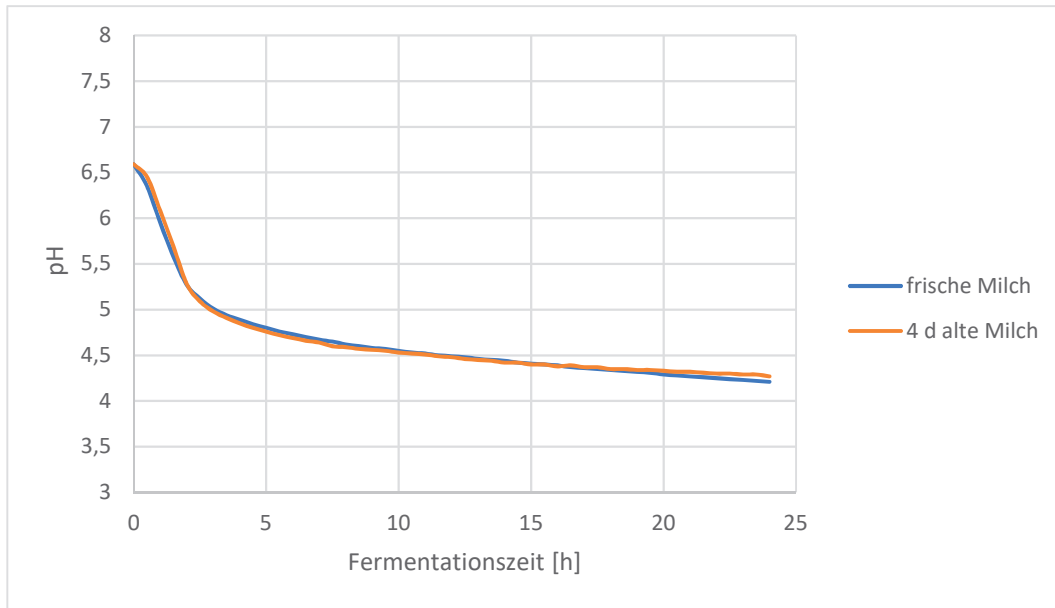


Abbildung 20: Einfluss des Alters der Milchrohstoffe auf das Fermentationsverhalten in Joghurt bei 44 °C

Durch das nahezu identische Fermentationsverhalten der beiden Proben, ist das Alter der Milch ebenfalls als Ursache für die großen Standardabweichungen der Fermentationszeiten des Joghurts auszuschließen. Die an das Entwicklungstechnikum gelieferten Milchrohstoffe werden maximal zwei Tage für die hier beschriebenen Versuchszwecke verwendet. Da Firma A bisher diesbezüglich auch noch keine Probleme vorliegen, werden die Untersuchungen zum Einfluss des Alters der Milch nach einer Einfachbestimmung an dieser Stelle abgebrochen. Eine Bestimmung der GKZ der Joghurts erfolgte nicht.

6.8 Diskussion der Vorversuche

Zunächst ist festzuhalten, dass sowohl die Messwerte der Anzucht- bzw. Fermentationszeiten als auch die der GKZ bei Mehrfachbestimmungen bis auf wenige Ausnahmen immer Schwankungen aufweisen, die außerhalb der tolerierbaren Grenzen liegen. Die Reproduzierbarkeit dieser Versuchsmethodik ist demnach nicht gegeben. Die bisher gesammelten Ergebnisse haben somit nur eine eingeschränkte Aussagekraft.

Auf weitere Untersuchungen durch die Probenherstellung im Thermomix wird daher verzichtet. Es wird vermutet, dass die Temperaturangaben des Thermomix zu ungenau für eine gleichbleibende Methodik sind. Auch ist im Thermomix keine Homogenisierung möglich, die normalerweise für die Herstellung des Nährbodens bzw. der Joghurtmilch von Firma A eingesetzt wird. Dies hat wiederum Auswirkungen auf die chemischen Eigenschaften dieser Produkte, sodass ein Vergleich mit gängigen Produkten der Firma A nicht möglich ist. Aufgrund dessen werden die Nährböden und die Joghurtmilch der weiterführenden Hauptversuche nun in der Pilotanlage der Firma A hergestellt.

Eine weitere Schlussfolgerung aus den Vorversuchen ist, dass für die Hauptversuche nun der ganze Beutel tiefgefrorene Starterkultur aufgelöst wird, wie es der Hersteller empfiehlt. So wird der Störfaktor ausgeschlossen, dass durch die Entnahme kleinerer Mengen aus einem Beutel eventuelle Leerpellets für Schwankungen in den GKZ und somit auch in der Anzuchtdauer und der Fermentationszeit sorgen.

Da mit nur einer Ausnahme in keiner der bis zu diesem Zeitpunkt untersuchten Proben *L. acidophilus* mit einer GKZ $> 10^4$ KbE/mL nachgewiesen werden konnte, wird angenommen, dass *S. thermophilus* in sehr viel größeren Mengen in der tiefgefrorenen Kultur vorliegt als *L. acidophilus*. Diesbezügliche Angaben des Kulturenherstellers sind nicht bekannt. Eine weitere Begründung liefern Adamberg et al. [2003] mit den in Abbildung 8 und Abbildung 9 bereits erläuterten Grafiken. Die spezifische Wachstumsrate von *S. thermophilus* liegt dabei stets über der von *L. acidophilus*. Einzige Ausnahme bilden pH-Werte des Nährmediums unter 5,2. Es ist also anzunehmen, dass sich *S. thermophilus* bis zu einem pH-Wert von 5,2 schon so stark vermehrt hat, dass *L. acidophilus* auch unter einem pH-Wert von 5,2 nicht dagegen ankommt und folglich im Endprodukt nicht mehr in einer Menge $> 10^4$ KbE/mL nachzuweisen ist.

Um genauere Aussagen bezüglich des Wachstums und dem Verhältnis von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* treffen zu können, werden in den Hauptversuchen daher nicht nur die GKZ des Joghurts bestimmt, sondern auch die der aufbereiteten Kultur in Ringerlösung und die GKZ der im Nährboden angezüchteten Kulturen.

Da die Untersuchungen zum Einfluss des pH-Wertes während der Anzucht keinerlei Potenzial zur Verkürzung der Anzuchtdauer bzw. Fermentationszeit oder der Erhöhung der GKZ im Joghurt zeigten, wird dieser Aspekt in den Hauptversuchen nicht wieder aufgegriffen. Zwar war die Säuerungszeit der Probe, die zu Beginn schon durch Citronensäure auf 6,5 runtergesäuert wurde, geringer als die der Probe ohne pH-Veränderung. Das Fermentationsverhalten sowie die GKZ im Joghurt zeigten anschließend jedoch keine Unterschiede mehr. Dadurch wird ein zusätzlicher Eingriff in das System durch die Zugabe der Citronensäure als nicht lohnenswert betrachtet. Die Zugabe der Citronensäure ist mit zusätzlichen Kosten verbunden und stellt ein Kontaminationsrisiko des Nährbodens dar. Eine Verkürzung der Anzuchtdauer um eine Stunde wiegt diese Nachteile nicht auf. Die Probe, deren Anzucht bereits bei einem pH-Wert von 5 abgebrochen wurde, zeigte die gleiche Anzuchtdauer wie die Probe ohne Veränderung. Daher ist außerdem davon auszugehen, dass die stationäre Phase des Bakterienwachstums schon bei einem pH-Wert über 5 eintritt.

Auch die Zugabe des Harnstoffs zum Nährmedium erzielte keine Ergebnisse hinsichtlich der Verbesserung von Wachstums- und Säuerungsverhalten der Starterkultur. Da die genauen

Stämme in der Kultur nicht vom Kulturenhersteller angegeben sind, wird angenommen, dass *S. thermophilus* mit einem oder mehreren Stämmen vertreten ist, die keine Urease-Aktivität aufweisen und den Harnstoff somit nicht verstoffwechseln können. In den Hauptversuchen wird der Einfluss von Harnstoff im Nährmedium daher nicht wieder aufgegriffen.

Auch wenn sich die Ergebnisse des Einflusses der Anzuchttemperatur und des Lactosegehaltes im Nährmedium nicht reproduzieren ließen, waren hier die deutlichsten Unterschiede in Anzuchtdauer und Fermentationszeit erkennbar. Für die Hauptversuche werden daher vier Anzuchttemperaturen untersucht: 36, 38, 40 und 42 °C. Die Lactosegehalte im Nährmedium werden mit 1 %, 1,5 %, 2 %, 2,5 % und 3 % festgelegt. Höhere Lactosegehalte im Nährmedium werden als nicht sinnvoll erachtet, da die Ergebnisse der Vorversuche mit 5 % Lactose eine deutliche Verlängerung der Anzuchtdauer und der Fermentationszeit hervorrief. Gleichzeitig stellt Lactose im Nährmedium einen wichtigen Kostenfaktor dar, weswegen 3 % Lactose hier als Maximalwert festgesetzt wird.

Die Viskosität und der Geschmack der hergestellten Joghurts wurden wegen der fehlenden Reproduzierbarkeit der Ergebnisse in den Vorversuchen nicht betrachtet, werden jedoch bei besserer Reproduzierbarkeit der Hauptversuche mitaufgenommen.

7 Ergebnisse und Diskussion der Hauptversuche

7.1 Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt des Nährmediums

7.1.1 Einfluss auf das Säuerungsverhalten während der Anzucht

Abbildung 21 zeigt die Anzuchtdauer bis zur Erreichung des pH-Wertes von 4,5 in Abhängigkeit der Anzuchttemperatur und des Lactosegehaltes im Nährmedium. Dargestellt sind die Mittelwerte einer Dreifachbestimmung mit den zugehörigen Standardabweichungen.

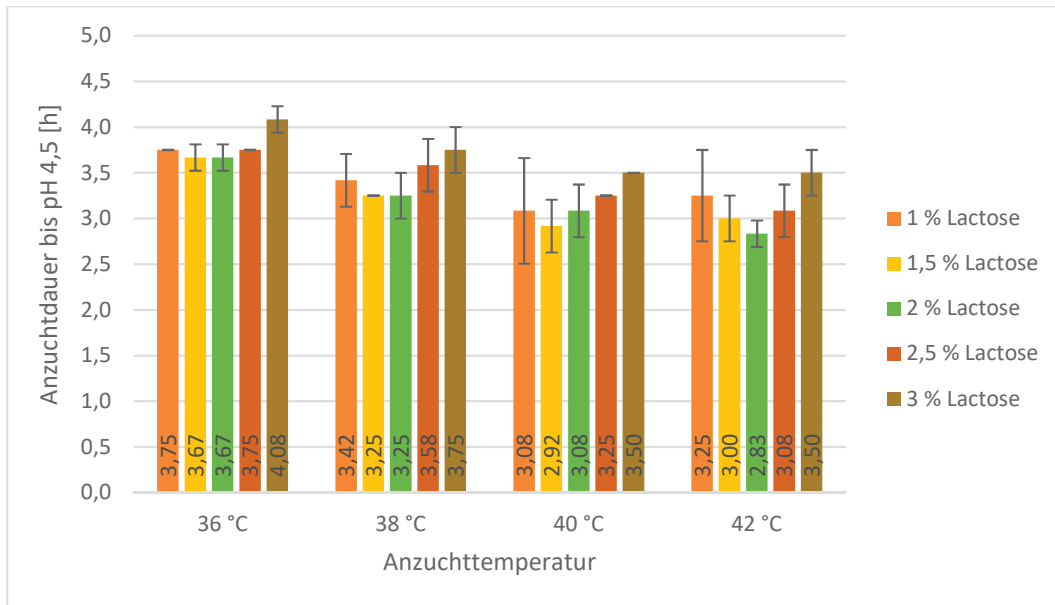


Abbildung 21: Einfluss der Anzuchttemperatur und des Lactosegehaltes im Nährmedium auf die Anzuchtdauer

Zunächst ist festzuhalten, dass bis auf die Messwertreihe bei 40 °C Anzuchttemperatur und 1 % Lactose im Nährmedium alle Messwertreihen eine Standardabweichung aufweisen, die innerhalb der Schwankungstoleranz von $\pm 0,5$ h liegen. Mit $\pm 0,58$ h ist die Messwertreihe bei 40 °C und 1 % Lactose auch nur leicht außerhalb der Toleranz, sodass die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse in der Anzucht der Hauptversuche als gegeben angesehen werden kann.

Die Anzuchtdauer der einzelnen Messwertreihen reicht von 2,83 h (42 °C und 2 % Lactose) bis hin zu 4,08 h (36 °C und 3 % Lactose). Durch die verschiedenen Einstellungen von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt im Nährmedium können also Unterschiede von bis zu 1,25 h in der Anzuchtdauer erreicht werden.

Mit steigender Anzuchttemperatur scheint die Anzuchtdauer in Abbildung 21 abzunehmen. Dies wird durch die Korrelationskoeffizienten der einzelnen Messreihen in Tabelle 15 bestätigt.

Tabelle 15: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs von Anzuchtdauer und Anzuchttemperatur

| Lactosegehalt im Nährmedium | Korrelationskoeffizient |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1 % | - 0,83 |
| 1,5 % | - 0,90 |
| 2 % | - 0,98 |
| 2,5 % | - 0,99 |
| 3 % | - 0,93 |

Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die zugehörigen Regressionsgeraden des Zusammenhangs von Anzuchtdauer und Anzuchttemperatur in Abbildung 21 nicht dargestellt. Unabhängig des Lactosegehaltes im Nährmedium ist in allen Fällen mit Korrelationskoeffizienten zwischen - 0,83 und - 0,99 ein starker negativer linearer Zusammenhang gegeben. Die mit steigender Anzuchttemperatur abnehmende Anzuchtdauer kann in den hier untersuchten Umständen unabhängig vom Lactosegehalt des Nährmediums folglich bestätigt werden. Unterstützt wird diese These zusätzlich durch die signifikanten Unterschiede, die vermehrt zwischen den Versuchsreihen mit 36 und 40 °C bzw. 36 und 42 °C Anzuchttemperatur belegt werden konnten (Anhang 2.5). Da durch den linearen Zusammenhang hier folglich die größten Unterschiede in der Anzuchtdauer zu finden sind, gibt es auch die meisten signifikanten Unterschiede.

Ein linearer Zusammenhang zwischen der Anzuchtdauer und dem Lactosegehalt im Nährmedium ist nach Abbildung 21 nicht zu erwarten, weswegen keine Korrelationskoeffizienten berechnet wurden. Bei genauer Betrachtung der Messpunkte in Abbildung 21 wird jedoch deutlich, dass jede Messreihe unabhängig der Anzuchttemperatur ein Minimum der Anzuchtdauer im Bereich von 1,5 bis 2 % Lactose im Nährmedium aufweist. Mit 1 % Lactose oder Gehalten > 2 % Lactose steigt die Anzuchtdauer bei jeder untersuchten Anzuchttemperatur wieder an. Als signifikant können die gefundenen Unterschiede bezüglich des Lactosegehaltes jedoch gemäß Anhang 2.5 nicht bezeichnet werden.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, wie sich der pH-Wert nach 24 h verhält, wenn die Anzucht nicht bei Erreichen von pH 4,5 abgebrochen wird. Dies zeigt Abbildung 22 in Abhängigkeit der Anzuchttemperatur und Abbildung 23 in Abhängigkeit des Lactosegehaltes. Zunächst ist anzumerken, dass wie im Falle der Ermittlung der Anzuchtdauer auch bei der Messung des pH-Wertes nach 24 h eine Dreifachbestimmung stattgefunden hat und nachstehend in Abbildung 22 bzw. Abbildung 23 deren Mittelwerte aufgetragen sind. Aus Gründen der Übersichtlichkeit sind die zugehörigen Standardabweichungen nicht dargestellt, können bei

Bedarf aber Anhang 2.1 bis 2.4 entnommen werden. Bis auf die Messwertreihen mit 1 % Lactose im Nährmedium bei 40 °C und bei 42 °C liegen alle Standardabweichungen innerhalb der Messtoleranz von $\pm 0,1$ pH-Einheiten, sodass die Ergebnisse insgesamt als reproduzierbar angesehen werden.

Bei Betrachtung von Abbildung 22 deutet sich ein mit steigender Anzuchttemperatur höherer pH-Wert nach 24 h an. Um dies zu bestätigen wurden die Korrelationskoeffizienten der einzelnen Messreihen ermittelt, die in Tabelle 16 aufgeführt sind. Demnach weisen die Messreihen mit 2, 2,5 und 3 % Lactose mit Korrelationskoeffizienten von 0,93, 0,97 und 0,94 einen starken linearen Zusammenhang zwischen dem pH-Wert nach 24 h und der Anzuchttemperatur auf. Der Messwertreihe mit 1,5 % Lactose kann durch einen Korrelationskoeffizienten von 0,14 nur ein schwacher linearer Zusammenhang nachgewiesen werden. 1 % Lactose im Nährmedium weist mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,61 einen mittleren linearen Zusammenhang auf. Es ist also festzuhalten, dass bei Lactosegehalten von 2 bis 3 % im Nährmedium mit steigender Anzuchttemperatur der pH-Wert nach 24 h höher ist. Die niedrigeren Lactosegehalte mit 1 und 1,5 % lassen auf keinen solchen Zusammenhang zwischen dem pH-Wert nach 24 h und der Anzuchttemperatur schließen.

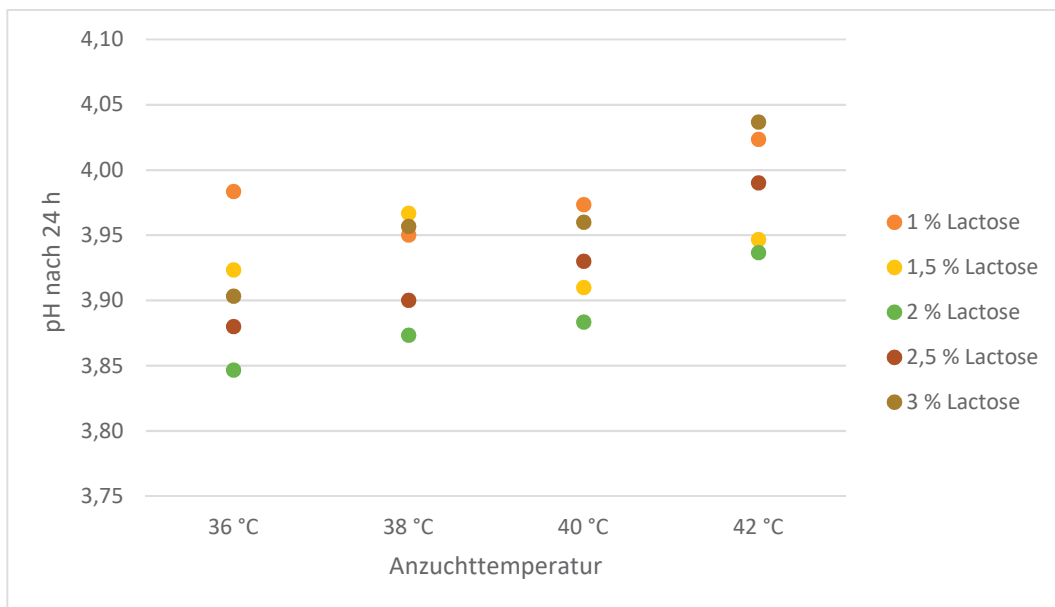


Abbildung 22: Abhängigkeit des pH-Wertes nach 24 h in der Anzucht von der Anzuchttemperatur

Tabelle 16: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs des pH-Wertes nach 24 h in der Anzucht und der Anzuchttemperatur

| Lactosegehalt im Nährmedium | Korrelationskoeffizient |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1 % | 0,61 |
| 1,5 % | 0,14 |
| 2 % | 0,93 |
| 2,5 % | 0,97 |
| 3 % | 0,94 |

Abbildung 23 zeigt den pH-Wert nach 24 h in der Anzucht in Abhängigkeit des Lactosegehaltes für die einzelnen Anzuchttemperaturen. Wie auf den ersten Blick zu erkennen ist, besteht hier kein linearer Zusammenhang zwischen dem pH-Wert nach 24 h in der Anzucht und dem Lactosegehalt des Nährmediums, sodass keine Korrelationskoeffizienten berechnet wurden. Unabhängig des Lactosegehaltes weist jede Messwertreihe bei einem Lactosegehalt von 2 % im Nährmedium den minimalen pH-Wert nach 24 h auf. Bis zu einem Lactosegehalt von 2 % sinkt der pH-Wert nach 24 h mit steigendem Lactosegehalt. Über einem Lactosegehalt von 2 % steigt der pH-Wert mit steigendem Lactosegehalt dagegen an.

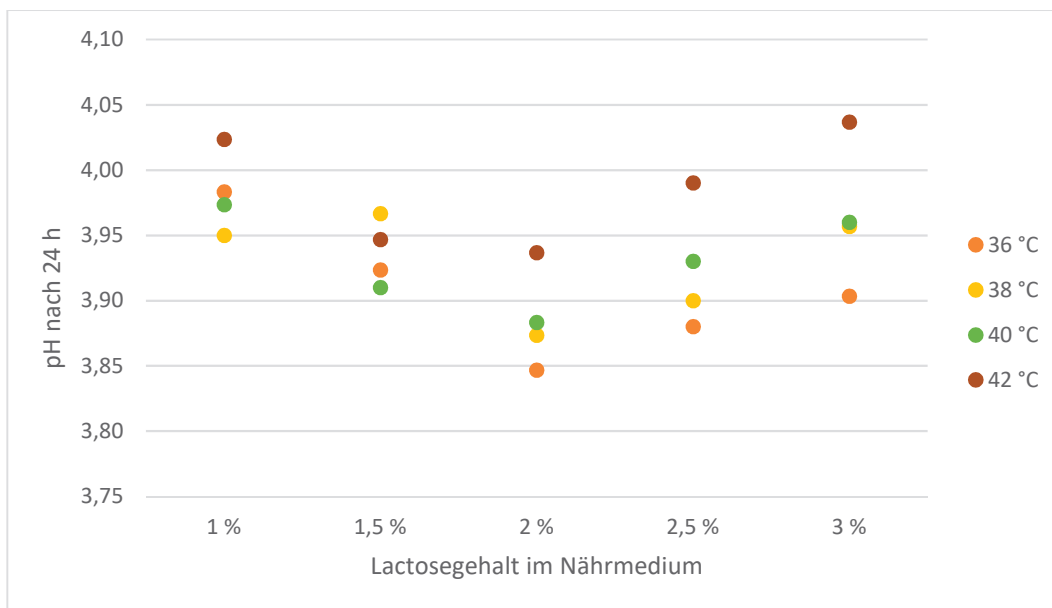


Abbildung 23: Abhängigkeit des pH-Wertes nach 24 h in der Anzucht vom Lactosegehalt im Nährboden

Folglich ist festzuhalten, dass bei steigender Anzuchttemperatur die Anzuchtdauer abnimmt, der pH-Wert nach 24 h im Nährmedium bei 42 °C jedoch höher liegt. Bezüglich des Lactosegehaltes kann festgestellt werden, dass ein Minimum der Anzuchtdauer bei Lactosegehalten von 1,5 % und 2 % erreicht wird. Die niedrigsten pH-Werte nach 24 h im Nährmedium bei 42 °C wurden bei einem Lactosegehalt von 2 % erzielt. Mit niedrigeren bzw.

höheren Lactosegehalten im Nährmedium nimmt sowohl die Anzuchtdauer als auch der pH-Wert nach 24 h zu.

7.1.2 Einfluss auf das Fermentationsverhalten im Joghurt

Abbildung 24 zeigt die Fermentationszeiten der Joghurts in Abhängigkeit der Anzuchttemperatur und dem Lactosegehalt des Nährmediums während der Anzucht. Aufgetragen sind die Mittelwerte der Dreifachbestimmung mit den jeweiligen Standardabweichungen. Die Joghurtfermentation erfolgte für alle Proben bei 42 °C.

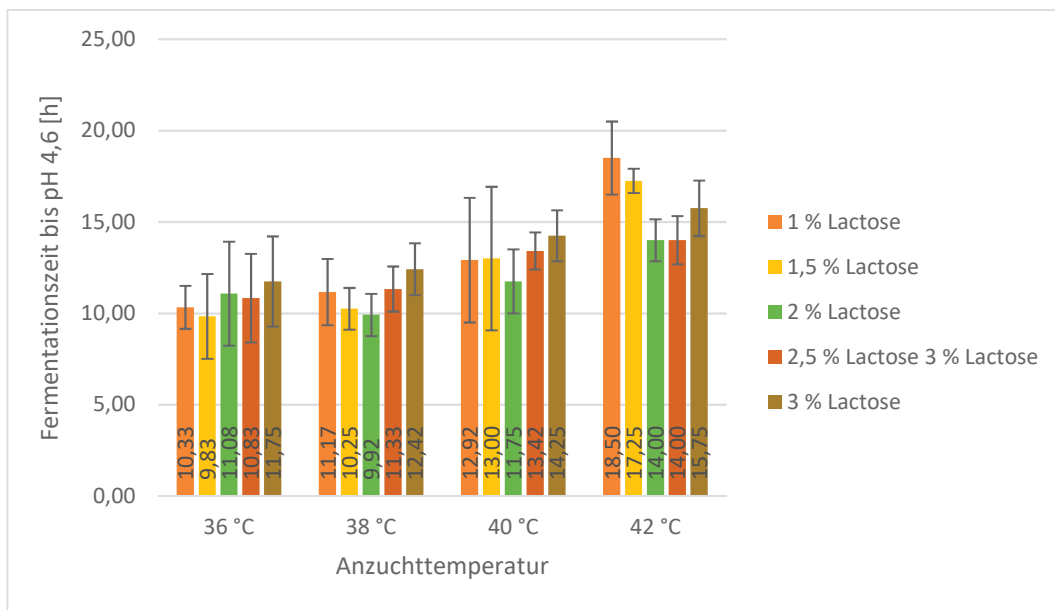


Abbildung 24: Fermentationszeiten der Joghurts der Untersuchungen zum Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt im Nährmedium der Anzucht; Fermentationstemperatur des Joghurt: 42 °C

Die Standardabweichungen der Fermentationszeiten des Joghurts liegen dabei wie schon in den Vorversuchen deutlich über denen der Anzuchtdauer. Mit Werten von $\pm 0,66$ h (42 °C und 2 % Lactose) bis hin zu $\pm 3,93$ h (40 °C und 1,5 % Lactose) befinden sich die Standardabweichungen aller Messwertreihen über der Schwankungstoleranz von $\pm 0,5$ h. Eine Reproduzierbarkeit der Fermentationszeiten der Joghurts konnte also auch in den Hauptversuchen nicht erreicht werden.

Dennoch ist eine mit steigender Anzuchttemperatur zunehmende Fermentationszeit zu erkennen. Die Korrelationskoeffizienten der nicht dargestellten Regressionsgeraden sind in Tabelle 17 aufgeführt. So weisen durch Korrelationskoeffizienten zwischen 0,8 und 0,99 alle Messreihen einen starken linearen Zusammenhang zwischen Fermentationszeit und Anzuchttemperatur der Starterkulturen auf. Trotz der hohen Standardabweichungen außerhalb des tolerierten Bereichs, konnten im Vergleich der Anzuchttemperaturen von 36 und 42 °C einzelne signifikante Unterschiede nachgewiesen werden (Anhang 2.6). Somit ist

eine mit steigender Anzuchttemperatur verlängerte Fermentationszeit des Joghurts folglich nicht von der Hand zu weisen.

Tabelle 17: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs von Fermentationszeit und Anzuchttemperatur

| Lactosegehalt im Nährmedium | Korrelationskoeffizient |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1 % | 0,92 |
| 1,5 % | 0,95 |
| 2 % | 0,80 |
| 2,5 % | 0,97 |
| 3 % | 0,99 |

Bei Betrachtung der Abhängigkeit der Fermentationszeit von dem Lactosegehalt im Nährmedium während der Anzucht ist dagegen in Abbildung 24 kein linearer Zusammenhang zu erkennen. Bis auf die Messreihe bei 36 °C weisen alle Messreihen ihre minimale Fermentationszeit bei einem Lactosegehalt im Nährmedium von 2 % auf. Bei niedrigeren bzw. höheren Lactosegehalten steigen die Fermentationszeiten hier jeweils an. Dieser Anstieg der Fermentationszeiten wird durch eine Anzuchttemperatur von 42 °C am deutlichsten. Demnach ist zu vermuten, dass durch eine höhere Anzuchttemperatur der Starterkulturen der Lactosegehalt im Nährmedium während der Anzucht einen größeren Einfluss auf die Fermentationszeit im Joghurt hat als niedrigere Anzuchttemperaturen. Aufgrund der hohen Standardabweichungen sind bezüglich des Lactosegehaltes keine signifikanten Unterschiede zwischen den Proben zu verzeichnen (Anhang 2.6), sodass die hier aufgetretenen Abhängigkeiten nicht endgültig bestätigt werden können.

Die pH-Werte nach 24 h im Joghurt bei einer Fermentationstemperatur von 42 °C sind in Abbildung 25 in Abhängigkeit der Anzuchttemperatur und in Abbildung 26 in Abhängigkeit des Lactosegehaltes im Nährmedium der Anzucht dargestellt. Zu sehen sind jeweils die Mittelwerte aus einer Dreifachbestimmung, die zugehörigen Standardabweichung können Anhang 2.1 bis 2.4 entnommen werden. Anders als bei den Fermentationszeiten des Joghurts liegen die Standardabweichungen der pH-Werte nach 24 h innerhalb der Schwankungstoleranz von $\pm 0,1$ pH-Einheiten. Nur die Standardabweichungen der Messreihen bei 40 °C mit 1, 1,5 und 2 % Lactose liegen außerhalb dieser Toleranz. Bezüglich des pH-Wertes nach 24 h ist die Reproduzierbarkeit in den meisten Fällen folglich gegeben.

Bei näherer Betrachtung von Abbildung 25 und den dazugehörigen Korrelationskoeffizienten in Tabelle 18 wird deutlich, dass ein starker linearer Zusammenhang zwischen dem pH-Wert im Joghurt nach 24 h und der Anzuchttemperatur nur im Falle der Lactosegehalte mit 1 und

3 % gegeben ist. Die Messreihen mit 1,5 und 2,5 % Lactose weisen jeweils einen mittleren linearen Zusammenhang auf, die Messreihe mit 2 % Lactose dagegen nur einen schwachen linearen Zusammenhang. Demnach ist zu vermuten, dass der pH-Wert nach 24 h im Joghurt bei 42 °C mit steigender Anzuchttemperatur höher liegt.

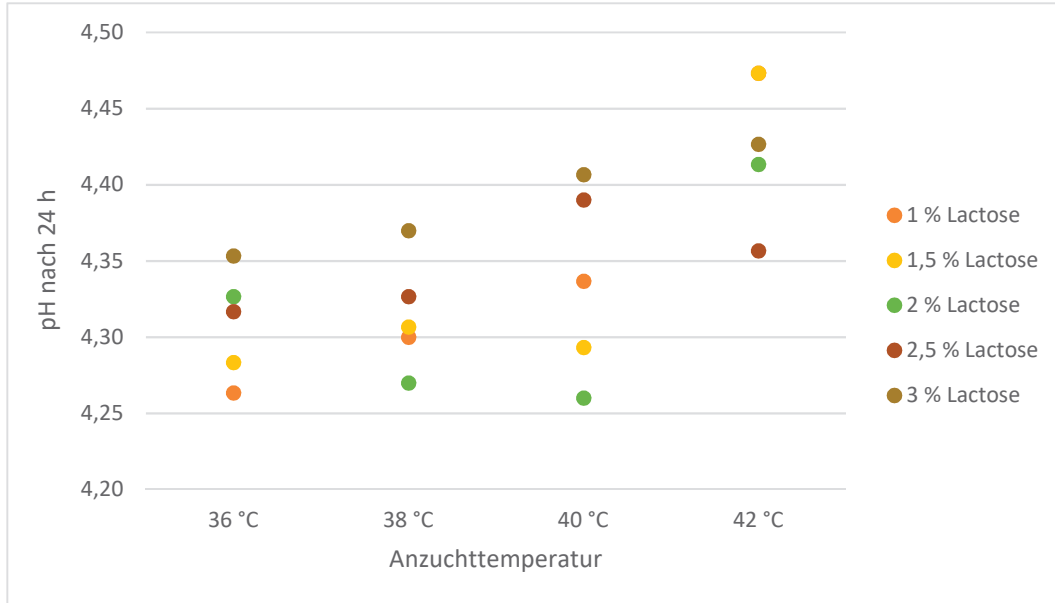


Abbildung 25: Zusammenhang des pH-Wertes nach 24 h im Joghurt bei 42 °C und der Anzuchttemperatur

Tabelle 18: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs zwischen dem pH-Wert nach 24 h im Joghurt bei 42 °C und der Anzuchttemperatur

| Lactosegehalt im Nährmedium | Korrelationskoeffizient |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1 % | 0,95 |
| 1,5 % | 0,79 |
| 2 % | 0,42 |
| 2,5 % | 0,73 |
| 3 % | 0,99 |

Abbildung 26 zeigt den pH-Wert nach 24 h im Joghurt bei 42 °C in Abhängigkeit des Lactosegehaltes des Nährmediums in der Anzucht. Hier zeigen sich teils große Unterschiede im Verlauf der Messreihen bezogen auf die Anzuchttemperatur. So zeigen die Messwertreihen bei 36 und 38 °C einen starken linearen Zusammenhang zwischen dem pH-Wert nach 24 h und dem Lactosegehalt des Nährmediums, was die Korrelationskoeffizienten in Tabelle 19 mit Werten von 0,94 und 0,80 bestätigen. Die Messwertreihe bei 40 °C weist dagegen bis zu einem Lactosegehalt von 2 % ein mit steigendem Lactosegehalt sinkenden pH-Wert auf, während bei Lactosegehalten über 2 % der pH-Wert nach 24 h ansteigt. Bei einer Anzuchttemperatur von 42 °C deutet der Korrelationskoeffizienten von -0,65 auf einen

mittleren negativen linearen Zusammenhang hin. Eine allgemeingültige Aussage über den Zusammenhang zwischen dem pH-Wert nach 24 h und dem Lactosegehalt im Nährmedium der Anzucht ist daher unabhängig der Anzuchttemperatur nicht möglich.

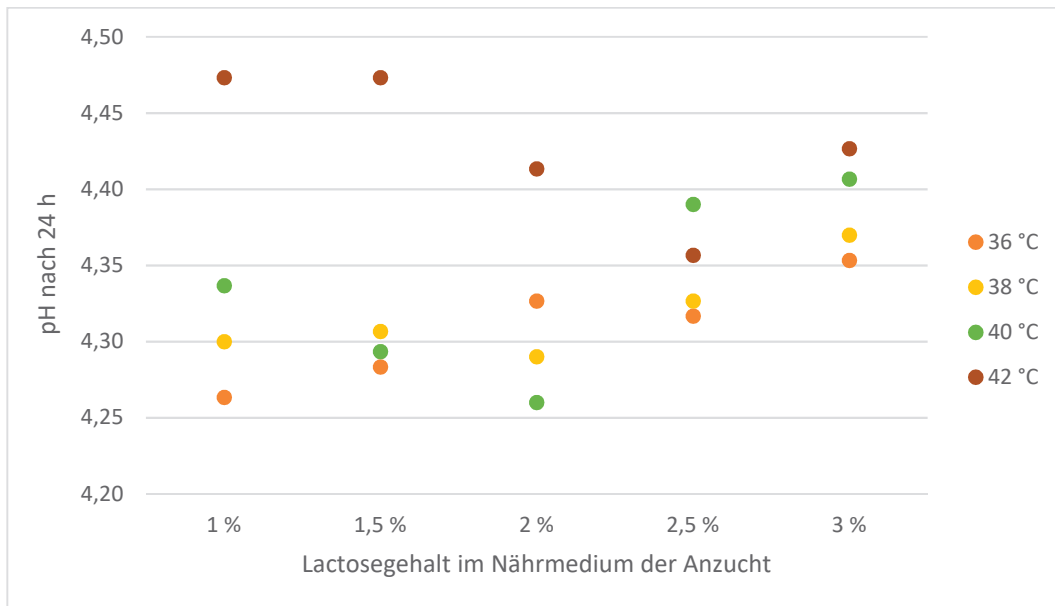


Abbildung 26: Zusammenhang des pH-Wertes nach 24 h im Joghurt bei 42 °C und dem Lactosegehalt des Nährmediums in der Anzucht

Tabelle 19: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs zwischen dem pH-Wert nach 24 h im Joghurt bei 42 °C und dem Lactosegehalt des Nährmediums in der Anzucht

| Anzuchttemperatur | Korrelationskoeffizient |
|-------------------|-------------------------|
| 36 °C | 0,94 |
| 38 °C | 0,80 |
| 40 °C | 0,60 |
| 42 °C | - 0,65 |

Abschließend ist an diesem Punkt noch anzumerken, dass sich die pH-Werte nach 24 h im Joghurt nur um $\pm 0,21$ pH-Einheiten unterscheiden, was in Anbetracht einer Schwankungstoleranz von $\pm 0,1$ pH-Einheiten keinen großen Unterschied darstellt, auch wenn dies in Abbildung 25 bzw. Abbildung 26 durch die Darstellungsweise anders erscheint. Die Auswirkungen von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt im Nährmedium der Anzucht auf den pH-Wert nach 24 h im Joghurt ist folglich nur als gering einzustufen.

Bezüglich des Fermentationsverhaltens im Joghurt ist zusammenfassend festzuhalten, dass die Fermentationszeit mit steigender Anzuchttemperatur abnimmt. Lactosegehalte von 1 und 3 % im Nährmedium führen dabei zu längeren Fermentationszeiten als Lactosegehalte von 1,5 bis 2,5 %. Die Unterschiede im pH-Wert nach 24 h sind dagegen nur gering. Es zeigt sich

jedoch eine leichte Tendenz, dass mit steigender Anzuchttemperatur der pH-Wert nach 24 h höher liegt.

7.1.3 Einfluss auf die Gesamtkeimzahl

Um den Einfluss der Anzuchttemperatur auf die GKZ des Joghurts besser interpretieren zu können, zeigt Tabelle 20 zunächst die GKZ der aufbereiteten Starterkulturen in Ringerlösung. Gemessen wurden die GKZ jeweils einen Tag nach Aufbereitung der Starterkultur.

Tabelle 20: GKZ der aufbereiteten Starterkultur in Ringerlösung der Untersuchungen zum Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt des Nährmediums

| Starterkultur | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|-------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| (a) | $4,0 \times 10^8$ | $1,8 \times 10^7$ |
| (b) | $1,1 \times 10^9$ | $3,9 \times 10^7$ |
| (c) | $1,1 \times 10^9$ | $9,0 \times 10^7$ |
| (d) | $1,4 \times 10^9$ | $1,1 \times 10^8$ |
| (e) | $1,0 \times 10^9$ | $2,0 \times 10^7$ |
| (f) | $5,5 \times 10^8$ | $5,0 \times 10^5$ |
| Mittelwert | $9,3 \times 10^8$ | $4,6 \times 10^7$ |
| s [%] | ± 40 | ± 95 |

So wird zunächst deutlich, dass *S. thermophilus* in einer höheren KZ in der Starterkultur des Herstellers vertreten ist als *L. acidophilus*. Dabei ist die KZ von *S. thermophilus* mit einer Standardabweichung von ± 40 % in einer konstanteren Menge vertreten als *L. acidophilus*, dessen Standardabweichung ± 95 % beträgt. Da die GKZ der Starterkultur des Herstellers nicht bekannt ist, ist es entweder möglich, dass die GKZ in den einzelnen Beuteln schwankt oder die Methode zur Ermittlung der GKZ keine Reproduzierbarkeit gewährleistet. Auch eine Kombination aus beiden Fehlerquellen ist möglich und kann durch die zur Verfügung stehenden Mittel und Methoden an dieser Stelle nicht geklärt werden.

Tabelle 21 zeigt die Mittelwerte aus der Dreifachbestimmung der GKZ der angezüchteten Betriebskulturen für den Lactosegehalt von 1,5 % im Nährmedium. Die Standardabweichungen sind jeweils in Prozent angegeben. Eine Bestimmung der GKZ aller Proben war aufgrund der Auslastung des hauseigenen Labors der Firma A nicht möglich. Aussagen über den Einfluss des Lactosegehaltes des Nährmediums in der Anzucht auf die GKZ können daher nicht getroffen werden.

Tabelle 21: GKZ der Betriebskulturen mit 1,5 % Lactose im Nährmedium in Abhängigkeit der Anzuchttemperatur

| Anzuchttemperatur | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|-------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 36 °C | $3,2 \times 10^7 \pm 77 \%$ | $1,3 \times 10^6 \pm 44 \%$ |
| 38 °C | $4,2 \times 10^7 \pm 32 \%$ | $9,3 \times 10^4 \pm 79 \%$ |
| 40 °C | $2,7 \times 10^7 \pm 17 \%$ | $5,7 \times 10^4 \pm 143 \%$ |
| 42 °C | $3,5 \times 10^7 \pm 49 \%$ | $1,0 \times 10^5 \pm 92 \%$ |

Da bis auf die KZ von *S. thermophilus* der Betriebskultur bei 40 °C alle Proben eine Standardabweichung über der Schwankungstoleranz von $\pm 30 \%$ aufweisen, sind Aussagen bezüglich der Auswirkungen durch die Anzuchttemperatur nur schwer möglich. Die Mittelwerte der Auszählung von *S. thermophilus* liegen alle bei einem Faktor von 10^7 , sodass an dieser Stelle die Vermutung nahe liegt, dass die Anzuchttemperatur keinen Einfluss auf die KZ der Betriebskultur hinsichtlich *S. thermophilus* hat. Bezüglich der KZ von *L. acidophilus* zeigen sich dagegen größere Unterschiede. So führt eine Anzuchttemperatur von 36 °C zu einer KZ von $1,3 \times 10^6$ KbE/mL, bezogen auf *L. acidophilus*, höhere Anzuchttemperaturen führen dagegen zu kleineren KZ von 10^4 bis 10^5 KbE/mL in der Betriebskultur. Dabei ist jedoch anzumerken, dass die Standardabweichungen der KZ von *L. acidophilus* sehr viel größer sind als die der KZ von *S. thermophilus*, was die Aussagekraft dieses Ergebnisses beeinflusst.

Tabelle 22 zeigt die GKZ der Joghurts (Fermentationstemperatur 42 °C), die mit den in Tabelle 21 aufgeführten Betriebskulturen hergestellt wurden. Aufgezeigt sind erneut die Mittelwerte einer Dreifachbestimmung mit den zugehörigen Standardabweichungen in Prozent. Dabei ist anzumerken, dass wenn bei *L. acidophilus* eine KZ von $< 1,0 \times 10^4$ KbE/mL festgestellt wurde, für die Ermittlung der hier dargestellten Mittelwerte näherungsweise mit $3,9 \times 10^3$ KbE/mL gerechnet wurde, sodass die Standardabweichungen in Wirklichkeit noch größer sein könnten. Die GKZ der einzelnen Proben können Anhang 2.8 entnommen werden.

Tabelle 22: GKZ der Joghurts deren Betriebskultur mit 1,5 % Lactose im Nährmedium angezchtet wurde

| Anzuchttemperatur | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|-------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| 36 °C | $3,8 \times 10^8 \pm 63 \%$ | $1,1 \times 10^6 \pm 161 \%$ |
| 38 °C | $2,0 \times 10^8 \pm 70 \%$ | $< 1,0 \times 10^4$ |
| 40 °C | $1,7 \times 10^8 \pm 35 \%$ | $7,3 \times 10^6 \pm 172 \%$ |
| 42 °C | $2,8 \times 10^8 \pm 60 \%$ | $3,5 \times 10^6 \pm 138 \%$ |

Auffällig ist zunächst, dass die Standardabweichungen der GKZ im Vergleich zur Betriebskultur angestiegen sind, besonders hinsichtlich *L. acidophilus*. Daher ist davon

auszugehen, dass diese starken Schwankungen nicht nur durch eine fehlerhafte Messmethodik zu Stande kommen können. Vielmehr sind die bereits in der aufbereiteten Betriebskultur in Ringerlösung aufgetretenen Unterschiede Ursache dafür, dass sich die GKZ in Betriebskultur und Joghurt trotz identischer Anzuchtbedingungen immer mehr unterscheiden und die Standardabweichungen daher zunehmen. Vereinfacht gesagt wird angenommen, dass sich die anfänglichen Unterschiede der GKZ in der aufbereiteten Kultur über die Betriebskultur bis hin zum Joghurt summieren. Es zeigt sich durch die Mittelwerte in Tabelle 22 erneut, dass mit 10^8 KbE/mL im Joghurt bezüglich *S. thermophilus* kein Unterschied zwischen den einzelnen Anzuchttemperaturen besteht. Bei Betrachtung von *L. acidophilus* besteht im Joghurt eine KZ von 10^6 KbE/mL unabhängig der Anzuchttemperatur. Einzige Ausnahme bildet die Anzuchttemperatur von 38 °C, hier konnte in keinem der drei untersuchten Proben *L. acidophilus* in einer Mindestmenge von $1,0 \times 10^4$ nachgewiesen werden.

Signifikante Unterschiede zwischen den Proben der Betriebskultur und des Joghurts konnten nicht nachgewiesen werden, was vor allem den hohen Standardabweichungen zuzuschreiben ist. Daher ist zusammenfassend anzunehmen, dass die Anzuchttemperatur der Betriebskultur im untersuchten Bereich von 36 bis 42 °C keinen Einfluss auf die GKZ der Betriebskultur und des Joghurts hat.

7.1.4 Einfluss auf die Viskosität des Joghurts

Aufgrund der schwankenden Fermentationszeiten konnte die Fermentation des Joghurts nicht immer rechtzeitig bei einem pH-Wert von 4,6 durch Kühlung abgebrochen werden. Dies hat zur Folge, dass die fertigen Joghurts teilweise stark unterschiedliche pH-Werte aufweisen (Anhang 2.7). Da sich der pH-Wert des Joghurts jedoch auf dessen Viskosität auswirkt, ist ein Vergleich nur von Joghurts mit ähnlichen pH-Werten möglich, um Aussagen über den Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt im Nährmedium der Anzucht treffen zu können. In jeder Dreifachbestimmung konnte jeweils nur ein Joghurt mit einem End-pH-Wert von 4,5 bis 4,6 erzielt werden, weswegen auf die Ermittlung von signifikanten Unterschieden zwischen den Proben an dieser Stelle verzichtet wurde. Die Viskosität der Joghurts mit einem pH-Wert von 4,5 bis 4,6 wurde jeweils in drei abgefüllten Bechern gemessen. Abbildung 27 zeigt die Mittelwerte der Viskositäten aus dieser dreifachen Messung mit zugehöriger Standardabweichung. Die einzelnen Messwerte können Anhang 2.9 entnommen werden.

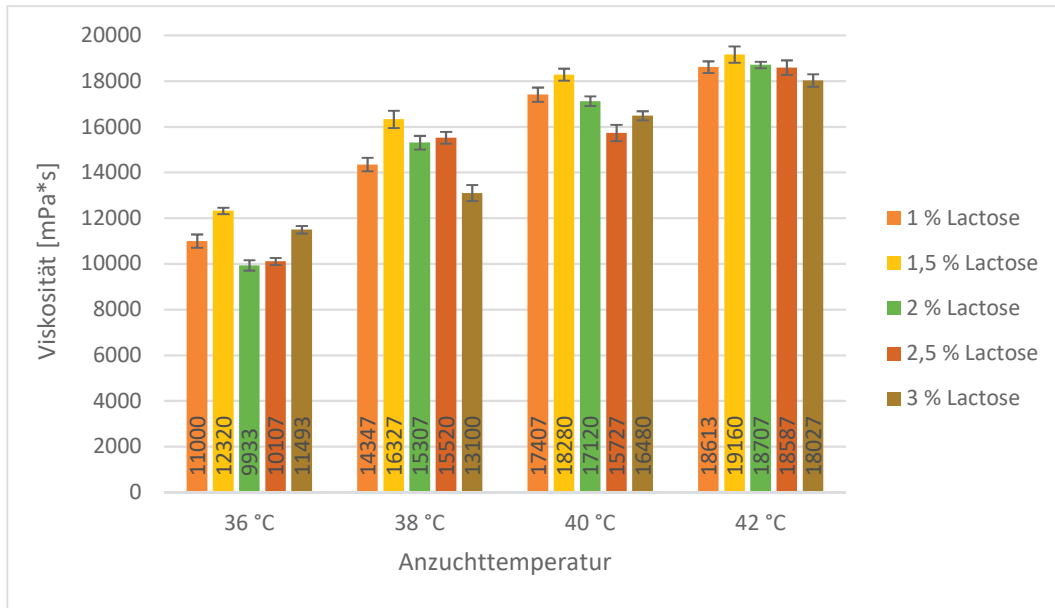


Abbildung 27: Viskositäten der Joghurts zum Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt im Nährmedium der Anzucht

Die Standardabweichungen aller Messreihen liegen dabei innerhalb der vom Hersteller angegebenen Schwankungstoleranz von ± 400 mPa*s. Damit ist sichergestellt, dass die Viskosität des jeweiligen Joghurts in allen drei gemessenen Bechern identisch ist. Ob Joghurts mit gleichem Herstellungsverfahren von unterschiedlichen Herstellungstagen auch reproduzierbare Ergebnisse hinsichtlich der Viskosität aufweisen, konnte an dieser Stelle nicht geklärt werden.

Bei Betrachtung der Viskosität des Joghurts in Abhängigkeit der Anzuchttemperatur wird deutlich, dass die Viskosität mit steigender Anzuchttemperatur unabhängig vom Lactosegehalt zunimmt. Dies bestätigen auch die Korrelationskoeffizienten in Tabelle 23 für die einzelnen Messreihen. Mit Werten zwischen 0,93 und 0,98 weist jede Messreihe einen starken linearen Zusammenhang zwischen der Viskosität des Joghurts und der Anzuchttemperatur auf.

Tabelle 23: Korrelationskoeffizienten des Zusammenhangs von Viskosität und Anzuchttemperatur

| Lactosegehalt im Nährmedium | Korrelationskoeffizient |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1 % | 0,98 |
| 1,5 % | 0,95 |
| 2 % | 0,95 |
| 2,5 % | 0,93 |
| 3 % | 0,98 |

Ein linearer Zusammenhang zwischen der Viskosität des Joghurts und dem Lactosegehalt des Nährmediums in der Anzucht ist in Abbildung 27 nicht erkennbar. Es wird jedoch deutlich, dass

ein Lactosegehalt von 1,5 % im Nährmedium zu höheren Viskositäten führt als die anderen untersuchten Lactosegehalte. Die Messreihe bei 42 °C Anzuchttemperatur zeigt dabei nur leichte Unterschiede in der Viskosität bezüglich der unterschiedlichen Lactosegehalte. Hier besteht folglich kein Einfluss des Lactosegehaltes im Nährmedium auf die Viskosität des Joghurts. Bei den anderen Messreihen mit Anzuchttemperaturen zwischen 36 und 40 °C sind deutlichere Unterschiede zwischen den Viskositäten der Joghurts mit den verschiedenen Lactosegehalten im Nährmedium vorhanden. Bis auf die Tatsache, dass 1,5 % Lactose im Nährmedium immer die höchste Viskosität aufweist, ist keine Abhängigkeit zu erkennen.

Zwar fand eine Dreifachbestimmung bezüglich der Messungen statt, hinsichtlich der Herstellung der Joghurts sind die hier aufgezeigten Ergebnisse jedoch nur als Einfachbestimmung zu werten. Die Wiederholbarkeit der Ergebnisse an verschiedenen Herstellungstagen ist somit nicht sichergestellt und die hier getätigten Aussagen können nicht endgültig bestätigt werden.

7.1.5 Einfluss auf die Sensorik des Joghurts

Wie schon bei der Viskosität spielt auch der pH-Wert für den Geschmack des Joghurts eine wichtige Rolle. Aufgrund der unterschiedlichen End-pH-Werte der Joghurts wurden daher keine statistisch auswertbaren sensorischen Untersuchungen mit einem Sensorikpanel durchgeführt. Stattdessen erfolgte die Verkostung der hergestellten Joghurts in einem kleinen Kreis aus Produktentwicklern der Firma A (Ergebnisse nicht aufgeführt).

Dabei konnte zunächst bestätigt werden, was die Viskositätsmessungen zeigten: Mit steigender Anzuchttemperatur nimmt die Viskosität des Joghurts zu. Die unterschiedlichen Lactosegehalte im Nährmedium der Anzucht ergaben keine nennenswerten Unterschiede in der Viskosität.

Geschmacklich ist das Ziel der Firma A ein möglichst milder Joghurt, was wenig Säure im Geschmack bedeutet. Dies wurde vor allem bei den Joghurts erreicht, deren Starterkultur bei 42 °C angezüchtet wurden. Die Unterschiede zwischen direkt nebeneinanderliegenden Anzuchttemperaturen waren dabei eher gering. So zeigten sich zwischen den Joghurts mit 40 und 42 °C Anzuchttemperatur kaum wahrnehmbare Unterschiede. Im direkten Vergleich der Joghurts mit 36 und 42 °C Anzuchttemperatur erschien der Joghurt bei 42 °C dagegen wahrnehmbar milder bzw. der Joghurt bei 36 °C saurer. Diese Aussagen beziehen sich auf Joghurts deren End-pH-Werte vergleichbar waren.

7.2 Einfluss der Inokulationsmenge des Nährbodens der Anzucht

7.2.1 Einfluss auf das Säuerungsverhalten während der Anzucht

Die bisher untersuchte Inokulationsmenge zur Beimpfung des Nährbodens beträgt 0,2 %. Um die Auswirkungen einer höheren Inokulationsmenge zu ermitteln, wurden außerdem Versuche mit einer Inokulationsmenge von 0,4 % durchgeführt. Die Parameter der Anzucht beliefen sich dabei auf eine Anzuchttemperatur von 42 °C und zwei verschiedene Lactosegehalte im Nährmedium, 2 % und 3 %.

Abbildung 28 zeigt die Anzuchtdauer in Abhängigkeit des Lactosegehaltes für die Messreihen mit 0,2 % und 0,4 % Starterkultur im Nährboden. Dargestellt sind die Mittelwerte und die zugehörigen Standardabweichungen aus einer Doppelbestimmung.

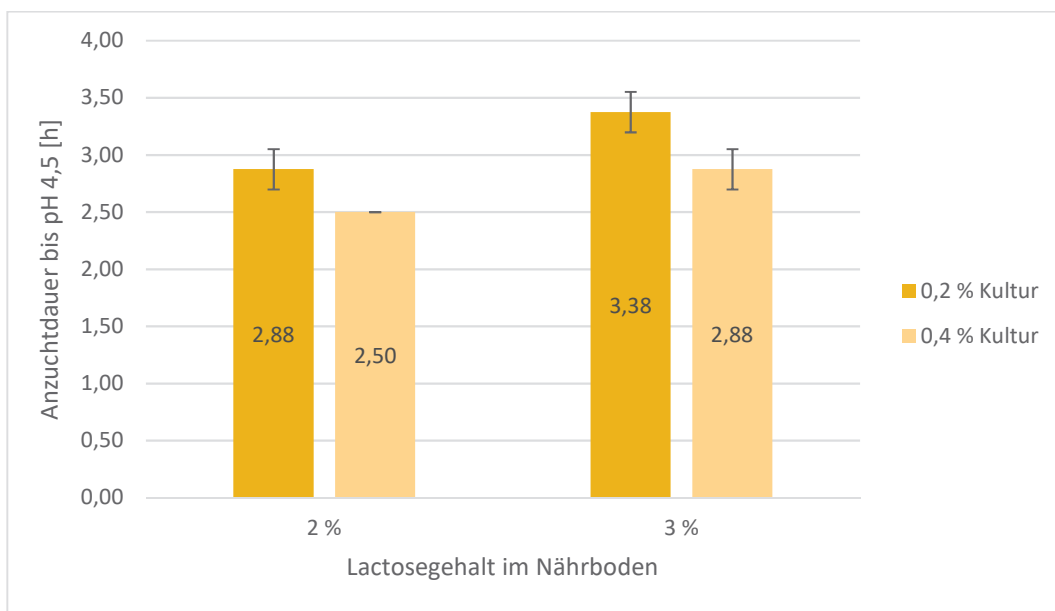


Abbildung 28: Einfluss der Inokulationsmenge der Starterkultur im Nährboden auf die Anzuchtdauer bei 42 °C

Die ermittelten Standardabweichungen sind dabei in allen Fällen innerhalb der Schwankungstoleranz von $\pm 0,5$ h, sodass die Ergebnisse in der Anzucht als reproduzierbar angesehen werden. So zeigt sich zunächst, dass eine Erhöhung der Inokulationsmenge von 0,2 % auf 0,4 % zu einer Verkürzung der Anzuchtdauer führt. Im Falle des Nährbodens mit 2 % Lactose verkürzt sich die Anzuchtdauer um 0,38 h und mit 3 % Lactose im Nährboden um 0,5 h. Es ist jedoch anzumerken, dass nur zwischen der Probe mit 2 % Lactose und einer Inokulationsmenge von 0,4 % und der Probe mit 3 % Lactose und einer Inokulationsmenge von 0,2 % ein signifikanter Unterschied festgestellt werden konnte (Anhang 3.2). Dieser wird jedoch dem unterschiedlichen Lactosegehalt im Nährmedium und nicht der Inokulationsmenge zugeschrieben.

Abbildung 29 zeigt den pH-Wert nach 24 h in der Anzucht in Abhängigkeit des Lactosegehaltes des Nährbodens für die Messreihen mit 0,2 % und 0,4 % Inokulationsmenge der Starterkultur. Gezeigt sind erneut die Mittelwerte und Standardabweichungen aus der Doppelbestimmung.

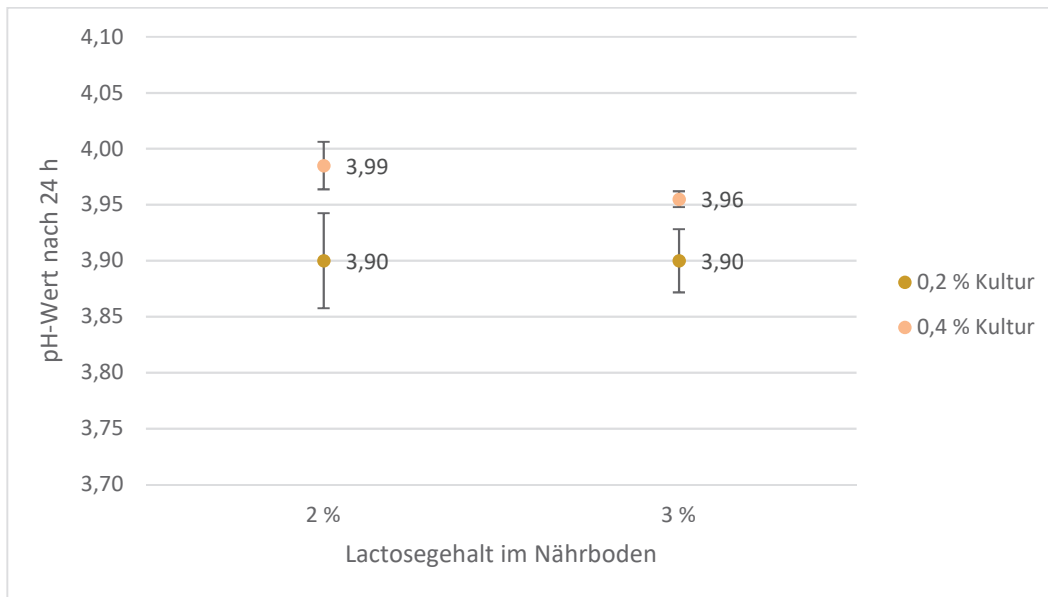


Abbildung 29: Einfluss der Inokulationsmenge der Starterkultur auf den pH-Wert nach 24 h in der Anzucht bei 42 °C

Die Standardabweichungen wie auch die Messwerte liegen alle innerhalb der Schwankungstoleranz von $\pm 0,1$ pH-Einheiten im Bereich von pH 3,90 bis 3,99. Die dargestellten Unterschiede sind folglich nicht sehr groß. Mit einer Inokulationsmenge von 0,4 % ist der pH-Wert nach 24 h in der Anzucht geringfügig höher als mit einer Inokulationsmenge von 0,2 %.

7.2.2 Einfluss auf das Fermentationsverhalten im Joghurt

Die Herstellungsmethode des Joghurts dieser Versuchsreihe blieb unverändert. Die Joghurtmilch wurde mit 2 % der angezüchteten Betriebskultur beimpft und bei 42 °C fermentiert. Abbildung 30 zeigt die Fermentationszeit des Joghurts in Abhängigkeit des Lactosegehaltes bezüglich der Messreihen mit 0,2 % und 0,4 % Inokulationsmenge in der Anzucht. Zu sehen sind die Mittelwerte und Standardabweichungen aus einer Doppelbestimmung.

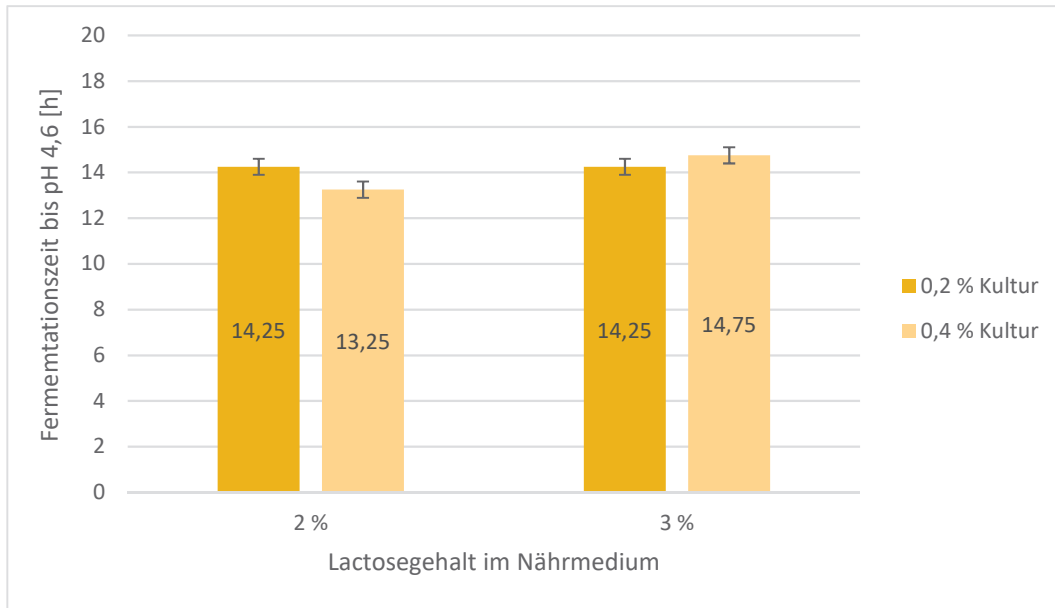


Abbildung 30: Einfluss der Inokulationsmenge des Nährbodens auf die Fermentationszeit des Joghurts bei 42 °C

Mit einer Standardabweichung von je $\pm 0,35$ h liegen alle Messwerte innerhalb der Schwankungstoleranz. Bezogen auf einen Lactosegehalt von 2 % im Nährmedium verkürzt sich die Fermentationszeit durch die Verdopplung der Inokulationsmenge in der Anzucht um 1 h. Im Gegensatz dazu führt eine Verdopplung der Inokulationsmenge in der Anzucht bei einem Lactosegehalt von 3 % im Nährmedium zu einer Verlängerung der Fermentationszeit um 0,5 h. Zusätzlich ist anzumerken, dass nur zwischen den beiden Proben mit einer Inokulationsmenge von 0,4 % ein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden konnte (Anhang 3.3). Eine allgemeingültige Aussage bezüglich des Einflusses der Inokulationsmenge in der Anzucht auf die Fermentationszeit des Joghurts ist daher nicht möglich.

Abbildung 31 zeigt den pH-Wert des Joghurts nach 24 h bei 42 °C in Abhängigkeit des Lactosegehaltes im Nährmedium der Anzucht für die Messreihen mit 0,2 % und 0,4 % Inokulationsmenge in der Anzucht.

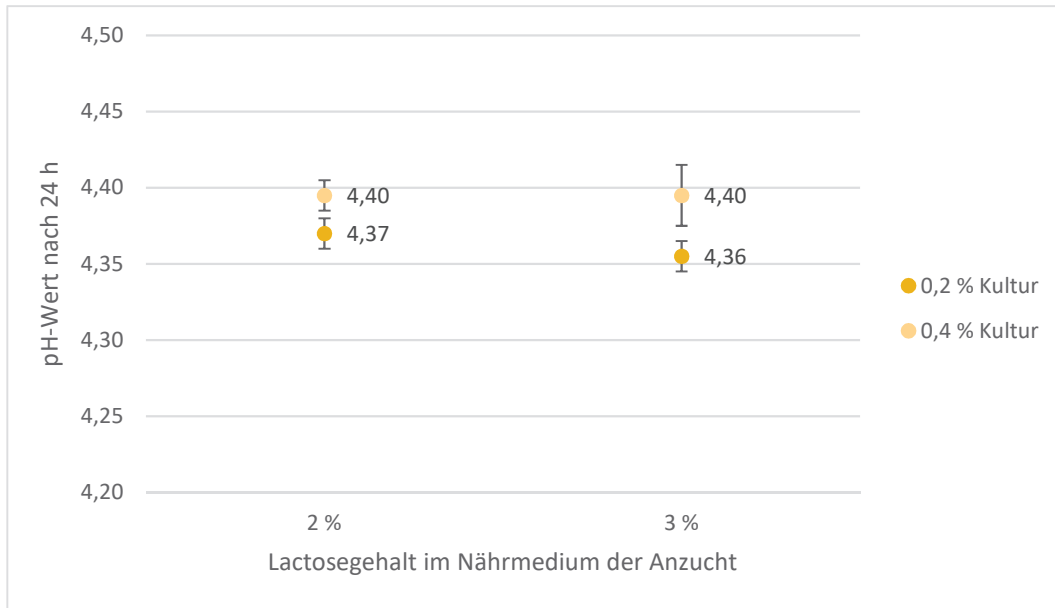


Abbildung 31: Einfluss der Inokulationsmenge des Nährbodens der Anzucht auf den pH-Wert nach 24 h im Joghurt bei 42 °C

Die dargestellten Mittelwerte und Standardabweichungen aus der Doppelbestimmung liegen alle wie schon bei der Anzucht innerhalb der Schwanungstoleranz von $\pm 0,1$ pH-Einheiten. Durch eine Inokulationsmenge von 0,4 % in der Anzucht ist der pH-Wert nach 24 h im Joghurt bei 42 °C minimal höher als bei einer Inokulationsmenge von 0,2 %. Durch die Schwankungstoleranz von $\pm 0,1$ pH-Einheiten sind die gefundenen Unterschiede jedoch vernachlässigbar.

7.2.3 Einfluss auf die Gesamtkeimzahl

Um den Einfluss auf die GKZ der Joghurts mit verschiedenen Inokulationsmengen in der Anzucht der Betriebskultur zu untersuchen, wird eine Doppelbestimmung mit zwei verschiedenen Beuteln der Starterkultur durchgeführt. Die GKZ dieser beiden Beutel sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen sind in Tabelle 24 aufgeführt.

Tabelle 24: GKZ der aufbereiteten Starterkultur in Ringerlösung zur Untersuchung des Einflusses der Inokulationsmenge

| Beutel Starterkultur | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| (g) | $1,6 \times 10^9$ | $2,0 \times 10^7$ |
| (h) | $1,3 \times 10^9$ | $5,8 \times 10^5$ |
| Mittelwert | $1,5 \times 10^9$ | $1,4 \times 10^7$ |
| s [%] | $\pm 15 \%$ | $\pm 133 \%$ |

Wie auch schon in den Untersuchungen zum Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt im Nährmedium zeigen die ausgewerteten GKZ auch in diesem Fall, dass *S. thermophilus* in einer höheren Menge in den Beuteln des Herstellers enthalten ist als *L. acidophilus*. Mit einer Standardabweichung von $\pm 133\%$ bei der KZ von *L. acidophilus* sind nachfolgende Schwankungen in den GKZ der Betriebskulturen und der Joghurts nicht verwunderlich.

Tabelle 25 zeigt die GKZ der angezüchteten Betriebskulturen als Mittelwerte der Doppelbestimmung mit zugehörigen Standardabweichungen.

Tabelle 25: GKZ der Betriebskulturen zur Untersuchung des Einflusses der Inokulationsmenge

| Inokulationsmenge/Lactosegehalt in der Anzucht | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|--|---------------------------------|--------------------------------|
| 0,2 % / 2 % Lactose | $3,7 \times 10^7 \pm 54\%$ | $1,6 \times 10^5 \pm 41\%$ |
| 0,4 % / 2 % Lactose | $4,5 \times 10^7 \pm 72\%$ | $8,5 \times 10^4 \pm 25\%$ |
| 0,2 % / 3 % Lactose | $5,2 \times 10^7 \pm 67\%$ | $9,2 \times 10^4 \pm 68\%$ |
| 0,4 % / 3 % Lactose | $6,8 \times 10^7 \pm 25\%$ | $1,4 \times 10^5 \pm 7\%$ |

So zeigt sich bei *S. thermophilus* kein Zusammenhang zwischen Inokulationsmenge sowie Lactosegehalt in der Anzucht und der KZ von *S. thermophilus*. Alle Proben liegen im Bereich von 10^7 KbE/mL. *L. acidophilus* ist im Bereich von 10^4 bis 10^5 KbE/mL vertreten, eine Abhängigkeit von der Inokulationsmenge ist auch hier nicht sichtbar.

Gleiches gilt für die GKZ im Joghurt, die in nachstehender Tabelle 26 aufgeführt sind. Abhängigkeiten bezüglich Inokulationsmenge oder Lactosegehalt im Nährmedium sind nicht zu finden.

Tabelle 26: GKZ der Joghurts zur Untersuchung des Einflusses der Inokulationsmenge

| Inokulationsmenge/Lactosegehalt in der Anzucht | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
|--|---------------------------------|--------------------------------|
| 0,2 % / 2 % Lactose | $9,5 \times 10^7 \pm 67\%$ | $6,5 \times 10^6 \pm 54\%$ |
| 0,4 % / 2 % Lactose | $1,0 \times 10^8 \pm 28\%$ | $8,5 \times 10^7 \pm 50\%$ |
| 0,2 % / 3 % Lactose | $2,2 \times 10^8 \pm 69\%$ | $5,1 \times 10^6 \pm 53\%$ |
| 0,4 % / 3 % Lactose | $2,0 \times 10^8 \pm 14\%$ | $6,5 \times 10^6 \pm 120\%$ |

Signifikante Unterschiede zwischen den Proben konnten weder in der Betriebskultur noch im Joghurt nachgewiesen werden. Durch die allgemein hohen Standardabweichungen in der aufbereiteten Kultur in Ringerlösung, der Betriebskultur sowie dem Joghurt sind die hier

ermittelten Ergebnisse nicht als reproduzierbar anzusehen und ihre Aussagekraft daher nur begrenzt. Die einzelnen GKZ von Betriebskultur und Joghurt sind in Anhang 3.4 aufgeführt.

7.2.4 Einfluss auf die Viskosität des Joghurts

Abbildung 32 zeigt die Viskositäten der Joghurts in Abhängigkeit der Inokulationsmenge und des Lactosegehaltes während der Anzucht. Dargestellt sind die Mittelwerte aus einer Doppelbestimmung und die zugehörigen Standardabweichungen. Die einzelnen Messwerte können Anhang 3.6 entnommen werden.

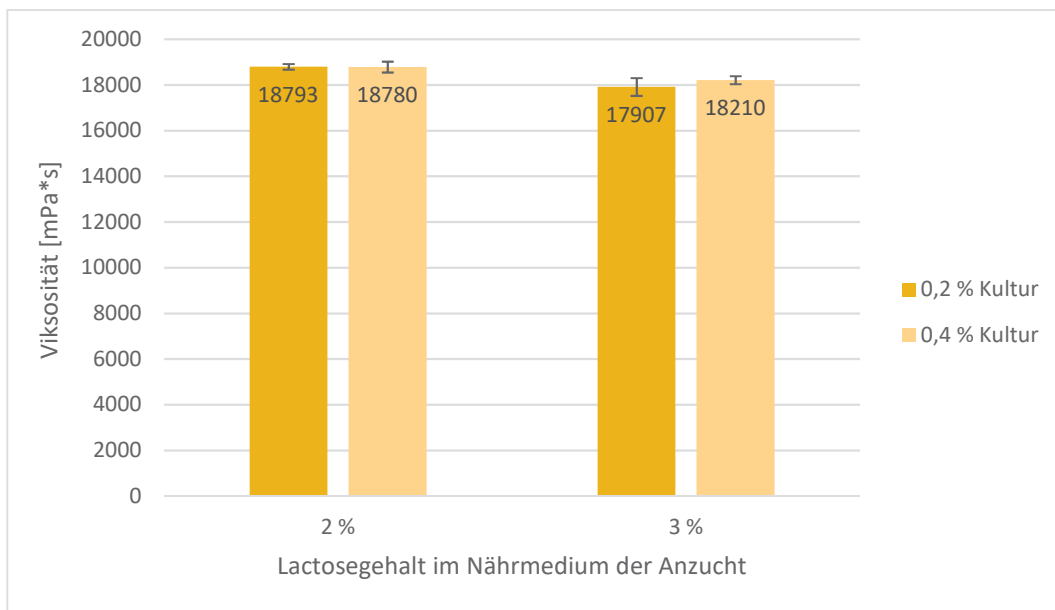


Abbildung 32: Viskositäten der Joghurts zum Einfluss der Inokulationsmenge der Anzucht

Zunächst ist zu erwähnen, dass die fertigen Joghurts der hier durchgeführten Doppelbestimmung einen vergleichbaren pH-Wert aufgewiesen haben (Anhang 3.5). Durch die ermittelten Standardabweichungen, die unter ± 400 mPa*s liegen, ist die Reproduzierbarkeit der Viskositäten der Joghurts folglich auch an unterschiedlichen Versuchstagen gegeben. Dies konnte bezüglich des Einflusses von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt noch nicht bestätigt werden. Die erkennbaren Unterschiede zwischen der Inokulationsmenge von 0,2 und 0,4 % liegen innerhalb der Schwankungstoleranz von ± 400 mPa*s und sind somit vernachlässigbar. Signifikante Unterschiede können zudem auch nur zwischen Proben verschiedener Lactosegehalte nachgewiesen werden (Anhang 3.7). Ein Einfluss der Inokulationsmenge in der Anzucht auf die Viskosität des Joghurts kann daher ausgeschlossen werden.

7.2.5 Einfluss auf die Sensorik des Joghurts

Die sensorische Verkostung der Joghurts ergab keine geschmacklichen Unterschiede zwischen den untersuchten Proben mit Inokulationsmengen von 0,2 und 0,4 % Kultur in der Anzucht.

8 Diskussion

In der Anzucht der Mischkultur aus *S. thermophilus* und *L. acidophilus* zeigt sich, dass die Anzuchtdauer bis zu einem pH-Wert von 4,5 mit steigender Anzuchttemperatur im Bereich von 36 bis 42 °C unabhängig vom Lactosegehalt des Nährmediums abnimmt (Abbildung 21). Dies ist durch die in der Literatur gefundenen Temperaturoptima bezüglich des Wachstums der beteiligten Milchsäurebakterien zu erklären. Zwar sind die genauen Stämme in der verwendeten Mischkultur nicht bekannt, dennoch ist anzunehmen, dass die hier verwendeten Stämme von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* ihr Wachstumsoptimum in ähnlichen Temperaturbereichen aufweisen, wie in der Literatur beschrieben. Für *S. thermophilus* liegt dieses Temperaturoptimum daher im Bereich von 38,5 bis 49,5 °C [Beal et al. 1989]. Da Aghababaie et al. [2015] jedoch für *S. thermophilus* ein Temperaturoptimum von 42,8 °C und Adamberg et al. [2003] von 45 °C ermittelt haben, ist zu vermuten, dass das Temperaturoptimum von *S. thermophilus* über dem von *L. acidophilus* liegt. Für *L. acidophilus* werden Temperaturoptima von 40,5 °C [Medvedova et al. 2016] und 42 °C [Adamberg et al. 2003] beschrieben. In einer Mischkultur aus *S. thermophilus* und *L. acidophilus* liegt ein gemeinsames Temperaturoptimum folglich eher im Bereich von 40 bis 42 °C. Da das Wachstum der Milchsäurebakterien in gewissem Maße auch mit der Milchsäurebildung zusammenhängt, ist daher zu schlussfolgern, dass ein pH-Wert von 4,5 schneller erreicht wird, wenn eine höhere Wachstumsrate der Milchsäurebakterien vorliegt. Folglich nimmt die Anzuchtdauer mit steigender Anzuchttemperatur ab, da die höheren Anzuchttemperaturen näher am Wachstumsoptimum der Mischkultur liegen und so zu einer höheren Stoffwechselaktivität führen. Unterstützt wird diese These vor allem durch Adamberg et al. [2003] die eine mit sinkender Umgebungstemperatur abnehmende spezifische Wachstumsrate von *S. thermophilus* und *L. acidophilus* feststellten.

Die Tendenz, dass der pH-Wert nach 24 h im Nährboden mit steigender Anzuchttemperatur steigt (Abbildung 22), ist zunächst eher widersprüchlich zur Anzuchtdauer, die mit steigender Anzuchttemperatur abnimmt. Zu erwarten wäre, dass bei einer kürzeren Anzuchtdauer der pH-Wert nach 24 h tiefer liegt, da bei einem früher erreichten pH-Wert von 4,5 folglich mehr Zeit zur weiteren Säurebildung besteht. Da sich jedoch das Gegenteil in den Ergebnissen zeigt, wird vermutet, dass sich eine langsamere pH-Absenkung (durch niedrige Anzuchttemperaturen) in einer länger andauernden Säurebildung äußert. Dies wird begründet, durch einen längeren Zeitraum zur Anpassung der Starterkulturen an das zunehmend saurere Umgebungsmilieu. Starterkulturen, die hohen Anzuchttemperaturen ausgesetzt sind, bilden in kürzerer Zeit mehr Säure, was eine kurze Anpassungsphase an die sich veränderte Umgebung nach sich zieht.

Bezüglich des Lactosegehaltes im Nährmedium konnten in der Literatur keine Hinweise auf eine Abhängigkeit bezüglich der Anzuchtdauer gefunden werden. Da die niedrigsten Werte der Anzuchtdauer bei Lactosegehalten von 1,5 und 2 % erreicht wurden und die Anzuchtdauer bei niedrigeren bzw. höheren Lactosegehalten jeweils zunahm (Abbildung 21), ist zu vermuten, dass ein Mangel bzw. Überangebot von Lactose sich negativ auf das Wachstumsverhalten und damit auch auf die Säurebildung auswirkt. Bei einem Lactosemangel ist zu vermuten, dass durch die nicht ausreichende Menge an Lactose im Verhältnis zu den Starterkulturen deren Wachstum und somit die Säurebildung verlangsamt wird. Dies würde aber nicht erklären, warum ein Überangebot im Falle von 2,5 und 3 % Lactose negative Auswirkungen zeigt. Eine weitere Vermutung ist daher, dass der osmotische Druck die Säurebildung beeinflusst. So wäre bei Lactosegehalten von 2,5 und 3 % anzunehmen, dass die Konzentration an gelösten Teilchen durch den erhöhten Lactoseanteil im Nährmedium höher ist als in der Bakterienzelle. Dies kann zum einen dazu führen, dass der Zelle Wasser entzogen wird, zum anderen kann eine Hemmung der Abgabe von Stoffwechselprodukten in das umgebende Medium auftreten. Beide Aspekte können das Wachstum sowie die Säurebildung der Starterkulturen negativ beeinflussen.

Der pH-Wert nach 24 h in der Anzucht in Abhängigkeit des Lactosegehaltes im Nährmedium zeigt, dass 2 % Lactose zu den niedrigsten pH-Werten unabhängig der Anzuchttemperatur führt. Mit sinkendem und steigendem Lactosegehalt steigt der pH-Wert nach 24 h jeweils an (Abbildung 23). An dieser Stelle war zunächst zu erwarten, dass mit steigendem Lactosegehalt im Nährmedium der pH-Wert nach 24 h tiefer liegt, da mehr Lactose vorhanden ist, die zu Milchsäure verstoffwechselt werden kann. Da sich jedoch Lactosegehalte unterhalb von 1,5 % und oberhalb von 2 % als für die Milchsäurebildung negativ herausstellten, kann diese Vermutung verworfen werden. In diesem Fall bestätigt sich, was in Abhängigkeit der Anzuchttemperatur vermutet, sich aber nicht bewahrheitet hatte: Ist in kürzerer Zeit ein pH-Wert von 4,5 erreicht, liegt der pH-Wert nach 24 h tiefer.

Dass die Fermentationszeit des Joghurts bis zu einem pH-Wert von 4,6 mit steigender Anzuchttemperatur der Starterkultur zunimmt (Abbildung 24), stellt einen klaren Widerspruch zur Anzuchtdauer dar. Diese sinkt mit steigender Anzuchttemperatur. Anzuchtdauer und Fermentationszeit verhalten sich bezüglich der Anzuchttemperatur folglich antiproportional zueinander. Einen möglichen Erklärungsansatz dafür liefern Adamberg et al. [2003], die berichten, dass niedrigere Anzuchttemperaturen zu stressresistenteren Milchsäurebakterien führen. Stressfaktoren können in diesem Fall hohe oder niedrige Temperaturen sowie ein stark saures Milieu sein [Adamberg et al. 2003]. Nach der Anzucht wird die jeweilige Betriebskultur auf + 6 °C abgekühlt und bei dieser Temperatur bis zur Benutzung gelagert, was einen solchen Stressfaktor darstellt. In der Joghurtmilch sind alle angezüchteten Betriebskulturen 42 °C

ausgesetzt. Weist die Betriebskultur, die bei 36 °C angezüchtet wurde also eine höhere Stressresistenz gegenüber den niedrigen Temperaturen während der Lagerung auf, ist zu vermuten, dass diese Betriebskultur eine höhere Vitalität aufweist. Bei der Beimpfung der Joghurtmilch führt eine vitalere Betriebskultur demzufolge schneller zum gewünschten pH-Wert, was die Fermentationszeit im Gegensatz zu weniger vitalen Betriebskulturen verkürzt.

Diese Vermutung würden auch die pH-Werte nach 24 h im Joghurt bei 42 °C erklären. Mit steigender Anzuchttemperatur liegt der pH-Wert hier nach 24 h höher (Abbildung 25). Die höhere Vitalität der Starterkulturen bei niedrigeren Anzuchttemperaturen führt demnach auch über 24 h hinweg zu einer tieferen Absenkung des pH-Wertes im Joghurt.

Der Lactosegehalt des Nährmediums in der Anzucht zeigt ähnlichen Einfluss auf die Fermentationszeit des Joghurts wie in der Anzuchtdauer: 2 % Lactose führt zu kürzeren Fermentationszeiten als niedrigere und höhere Lactosegehalte (Abbildung 24). Hier trifft die Antiproportionalität zwischen Anzuchtdauer und Fermentationszeit nicht zu. Die vermuteten Auswirkungen des osmotischen Drucks durch die verschiedenen Lactosegehalte im Nährmedium der Anzucht könnten die Milchsäurebakterien dabei nachhaltig in ihrer Vitalität beeinflusst haben. Eine Anzucht mit 2 % Lactose im Nährmedium würde demnach eine vitalere Starterkultur hervorbringen als andere Lactosegehalte und daher die Fermentationszeit des Joghurts verkürzen.

Eine Abhängigkeit des pH-Wertes nach 24 h im Joghurt bei 42 °C vom Lactosegehalt des Nährmediums in der Anzucht konnte nicht festgestellt werden (Abbildung 26). Die Anzuchttemperatur hat hier folglich den größeren Einfluss.

Ein wichtiger Aspekt in Bezug auf das Fermentationsverhalten der Starterkulturen im Joghurt ist jedoch die hohe Standardabweichung der Fermentationszeiten außerhalb der Schwankungstoleranz in den untersuchten Proben. Da sich derart hohe Schwankungen nicht im Anzuchtverhalten zeigen, ist zunächst davon auszugehen, dass im Herstellungsprozess des Joghurts eine nicht identifizierte Fehlerquelle vorhanden ist, die zu den hohen Standardabweichungen führt. Dass das Alter der verwendeten Milchrohstoffe dafür verantwortlich ist, konnte in den Vorversuchen bereits ausgeschlossen werden (Abbildung 20). Wiegefehler werden ebenfalls nicht als die verantwortliche Fehlerquelle gesehen. Firma A berichtet aus Erfahrungen, dass es von Zeit zu Zeit vorkommt, dass es einen Ausreißer der Starterkultur in der Joghurtproduktion gibt, obwohl die Anzucht der Betriebskultur unauffällig war. Dies äußert sich in verhältnismäßig sehr kurzen oder sehr langen Fermentationszeiten des Joghurts. Zu betonen ist an dieser Stelle, dass es sich bei Starterkulturen um lebende Mikroorganismen handelt, deren Verhalten nicht gänzlich vorhersehbar ist. Minimale Unterschiede in der Produktion der Starterkulturen beim Hersteller können für Schwankungen

im Wachstums- und Säuerungsverhalten bei Molkereien verantwortlich sein. Wie am Beispiel von Medvedova et al. [2016] deutlich wird, kann das Wachstums- und Säuerungsverhalten dabei in verschiedenen Nährmedien variieren. Da die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Versuche nicht mit der gleichen Charge an Starterkulturen des Herstellers produziert wurden, kann dies ein möglicher Grund für die hohen Standardabweichungen im Fermentationsverhalten darstellen.

Dass die verwendeten Starterkulturen nicht aus einer Charge des Herstellers stammen, wird auch als Grund für die hohen Standardabweichungen in den GKZ vermutet. Bereits zu dem Zeitpunkt, als die tiefgefrorenen Starterkulturpellets nur in Ringerlösung aufgelöst wurden, zeigen sich mit Standardabweichungen von $\pm 40\%$ für *S. thermophilus* und $\pm 95\%$ für *L. acidophilus* gravierende Unterschiede in der GKZ des Kulturenbeutels. In gewissem Maße ist für die Schwankungen die Methode der GKZ-Bestimmung verantwortlich, da diese selbst Schwankungen von bis zu $\pm 30\%$ als Toleranz vorgibt. Gerade in Bezug auf *L. acidophilus* ist dennoch auch von Schwankungen seitens des Herstellers auszugehen. Kulturenhersteller verwenden in ihrer Produktion häufig die sogenannte Kulturenrotation, um eine Rekontamination mit Bakteriophagen zu verhindern bzw. ihr entgegenzuwirken indem die Stämme der Milchsäurebakterien von Zeit zu Zeit gewechselt werden [Marco et al. 2012]. Somit ist es möglich, dass die verschiedenen Chargen des Herstellers unterschiedliche Stämme beinhalten. Dies kann, wie bereits erläutert, zu Abweichungen in den optimalen Bedingungen ihrer Anzucht resultieren und somit sowohl den Grund für die Schwankungen der Fermentationszeiten als auch der GKZ darstellen. Dass nach Schwankungen in den Kulturenbeuteln des Herstellers anschließend auch Schwankungen in der damit hergestellten Betriebskultur wie dem Joghurt auftreten, ist daher zu schlussfolgern.

Werden die Standardabweichungen der GKZ außer Acht gelassen, zeigen sich in den Mittelwerten keine Abhängigkeiten bezüglich der Anzuchttemperatur (Tabelle 21 und Tabelle 22). Ebenso eine Verdopplung der Inokulationsmenge des Nährbodens in der Anzucht ruft wider Erwarten keine höheren GKZ in der Betriebskultur und im Joghurt hervor (Tabelle 25 und Tabelle 26). Hier liegt die Vermutung nahe, dass auch durch eine Inokulationsmenge von 0,2 % in der Anzucht die maximale GKZ bezüglich der vorhandenen Nährstoffe in der Betriebskultur erreicht wird. Folglich verkürzt sich die Anzuchtdauer durch eine Inokulationsmenge von 0,4 %, die GKZ der Betriebskultur am Ende der Anzucht wird jedoch nicht beeinflusst.

In der Fermentationszeit des Joghurts sowie der GKZ des Joghurts zeigen sich demzufolge aber keine Unterschiede. Gleiches ist für die Anzuchttemperatur und den Lactosegehalt des Nährmediums anzunehmen: Die Stoffwechselaktivität wird zwar durch beides beeinflusst, was die unterschiedlichen Säuerungszeiten belegen, am Ende der Anzucht ist jedoch in allen

Fällen die maximale GKZ erreicht, die im Rahmen dieser Arbeit geschaffenen Umstände möglich ist.

Die Viskosität des Joghurts nimmt in den hier beschriebenen Untersuchungen mit steigender Anzuchttemperatur der Starterkulturen zu (Abbildung 27). Haque et al. [2001] berichten, dass die Viskosität von Joghurt durch höhere Fermentationstemperaturen ansteigt. Begründet wird dies durch eine mit steigender Fermentationstemperatur zunehmende EPS-Bildung der Milchsäurebakterien [Aslim et al. 2005, Haque et al. 2006]. Ein linearer Zusammenhang zwischen dem EPS-Gehalt und der Viskosität von Joghurt wird in der Literatur verneint [Folkenberg et al. 2006, Han et al. 2016]. Durch die verwendete Mischkultur aus *S. thermophilus* und *L. acidophilus* ist davon auszugehen, dass bei EPS⁺-Stämmen verschiedene EPS im Joghurt vorhanden sind. Dies erhöht nach Folkenberg et al. [2006] die Viskosität von Joghurt. Da dieser Aspekt in allen beschriebenen Proben erfüllt ist, wird vermutet, dass im Rahmen dieser Untersuchungen ein höherer EPS-Gehalt des Joghurts zu einer höheren Viskosität führt. Da sich die zuvor beschriebenen Aussagen der Literatur jedoch auf die Fermentationstemperatur beziehen, der Joghurt hier aber immer bei 42 °C fermentiert wurde, muss für die Anzuchttemperatur der Starterkulturen ein anderer Zusammenhang gelten. Daher besteht die Vermutung, dass die Menge an gebildetem EPS auch mit der Fermentationszeit zusammenhängt. Mit steigender Anzuchttemperatur nimmt die Fermentationszeit wie zuvor beschrieben zu. Steht mehr Zeit zur Verfügung, können folglich auch mehr EPS gebildet werden, was die Viskosität des Joghurts erhöht. Unterstützt wird dies von Aslim et al. [2005] die berichten, dass bis zu einer Fermentationszeit von 18 h der Gehalt an EPS stark zunimmt.

Bezüglich des Geschmacksprofils von Joghurt fanden zwar keine statistisch auswertbaren Tests statt, dennoch zeigte sich die Tendenz, dass der Joghurt mit steigender Anzuchttemperatur milder im Geschmack ist. Adamberg et al. [2003] berichtet, dass die Milchsäurebakterien bei niedrigeren Anzuchttemperaturen stressresistenter sind als bei hohen Anzuchttemperaturen. Das führte zu der Vermutung, dass stressresistentere Starterkulturen nach der Lagerung bei + 6 °C vitaler sind, was auch auf die Bildung von geschmacksgebenden Komponenten übertragen werden kann. Bei geringerer Vitalität der Milchsäurebakterien im Joghurt werden folglich in gleicher Zeit weniger geschmacksgebende Komponenten gebildet als bei einer hohen Vitalität. Dies lässt den Joghurt trotz des gleichen pH-Wertes insgesamt als milder im Geschmack wirken.

Die allgemein hohen Standardabweichungen bezogen auf die Fermentationszeiten sind zum einen durch die vermutete Kulturenrotation des Herstellers zu erklären, wodurch es zu unterschiedlichen optimalen Bedingungen bezüglich Wachstum und Säuerung der Mischkultur kommen kann. Trotz großer Sorgfalt bei den praktischen Versuchen sind Mess- und

Wiegefehler jedoch nicht gänzlich auszuschließen. Besonders in kleinen Versuchsmaßstäben führen bereits winzigste Abweichungen von der eigentlichen Handhabung zu Schwankungen im Produkt. Deutlich wird dies im Vergleich der Vorversuche und Hauptversuche. Der Ansatz der Vorversuche im Thermomix betrug gerade einmal einen Liter. Die Hauptversuche in der Pilotanlage wurden dagegen in Ansätzen von fünf Litern hergestellt. Wurden bei der Beimpfung des Nährbodens der Vorversuche beispielsweise 0,1 mL Kultur zu viel zugegeben, entspricht dies bereits einer zusätzlichen Menge von 0,01 %, im 5-L-Ansatz der Hauptversuche dagegen nur von 0,002 %. Kleinere Ansatzmengen bilden folglich ein größeres Risiko für Abweichungen als große. Dennoch ist erneut zu betonen, dass Starterkulturen lebende Organismen sind, deren Stoffwechselverhalten durch kleinste Abweichungen beeinflusst werden kann. Diese Abweichungen können sowohl beim Kulturenhersteller als auch bei der Handhabung in der Molkerei vorkommen.

9 Ausblick

Ein Problem dieser Arbeit besteht in der fehlenden Reproduzierbarkeit der Ergebnisse bezüglich Fermentationszeit und GKZ. Die geringen Versuchsansätze tragen vermutlich einen Teil dazu bei, können vor dem Hintergrund der Handhabung im Technikum jedoch nicht geändert werden, was ein sorgfältiges Arbeiten unumgänglich macht.

Da bei der GKZ der aufbereiteten Starterkultur in Ringerlösung Schwankungen von bis zu $\pm 133\%$ aufgetreten sind, sind Unterschiede zwischen den Chargen des Kulturenherstellers als einziger Grund nicht vertretbar. Die von Firma A angewandte Methode zur Bestimmung der GKZ ist eine eigene Hausmethode, die schon einige Jahre im Einsatz ist und bei Firma A bisher zu keinerlei bewusster Probleme führte. Dennoch stellt gerade die Einfachbestimmung aufgrund der Auslastung des Labors von Firma A eine Fehlerquelle dar. Für weiterführende Arbeiten wäre also zu überlegen, die Anzahl der zu untersuchenden Proben zu reduzieren, um eine Mehrfachbestimmung einzelner Proben zu ermöglichen. Zwar wären so weniger Aussagen bezüglich potentieller Einflussfaktoren möglich, die Aussagekraft der erworbenen Ergebnisse wäre somit jedoch erhöht. Ebenso könnte eine Überprüfung der hauseigenen Methode durch den Vergleich mit den Ergebnissen eines externen Labors in Betracht gezogen werden.

Im Rahmen dieser Arbeit kam es außerdem zu einigen Einfachbestimmungen, wie z.B. im Falle des Harnstoffeinflusses im Nährmedium, die wissenschaftlich gesehen nur eine geringe Aussagekraft haben und bei Bedarf wiederholt werden sollten.

Weiterhin konnten Viskosität und Geschmack des Joghurts nur unzureichend ermittelt werden, da es die großen Schwankungen der Fermentationszeiten nicht ermöglichten, die Fermentation immer rechtzeitig abubrechen. Folglich konnte der Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt des Nährmediums besonders in Bezug auf den Geschmack des Joghurts nicht mit Sicherheit geklärt werden und bedarf weiterer Untersuchungen.

10 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit möglichen Einflussfaktoren während der Anzucht einer Betriebskultur zur Herstellung von Joghurt. Die Zielgrößen sind dabei die Anzuchtdauer der Betriebskultur, die Fermentationszeit des Joghurts, die GKZ von Betriebskultur und Joghurt sowie dessen Textur und Geschmack. Als Starterkultur dient eine Mischkultur aus *S. thermophilus* und *L. acidophilus*.

Als potentielle Einflussfaktoren wurden die Anzuchttemperatur, der pH-Wert, der Lactosegehalt des Nährmediums und die Zugabe von Harnstoff zum Nährmedium festgelegt. Diese wurden anschließend in Vorversuchen auf ihre Auswirkungen bezüglich der verwendeten Mischkultur untersucht.

In den Vorversuchen wurde daher ein Nährboden bestehend aus Wasser, einer lactosehaltigen Flüssigkomponente, Hefeextrakt und Speisesalz in einem 1-Liter-Ansatz im Thermomix® hergestellt. Dieser wurde anschließend mit der Starterkultur beimpft und die Anzuchtdauer aufgezeichnet, in der ein pH-Wert von 4,5 erreicht wurde. Mit der so entstandenen Betriebskultur wurde danach Joghurtmilch beimpft und die Fermentationszeit bis zu einem pH-Wert von 4,6 ermittelt. Anschließend wurde die GKZ des fertigen Joghurts ermittelt. Die Anzucht der Betriebskultur variierte dabei in der Anzuchttemperatur von 37 bis 45 °C, im Lactosegehalt des Nährbodens von 1 bis 5 %, in pH-Einstellungen durch die Zugabe von Citronensäure und Natronlauge sowie durch den Zusatz von Harnstoff. Bezüglich der pH-Einstellungen und der Harnstoffzugabe zeigten sich keine Auswirkungen auf die untersuchten Eigenschaften. In Abhängigkeit der Anzuchttemperatur und des Lactosegehaltes konnten dagegen Unterschiede festgestellt werden. Allerdings traten an diesen Stellen sehr große Messschwankungen auf, sodass konkrete Aussagen bezüglich des Einflusses von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt im Nährmedium zu diesem Zeitpunkt nicht möglich waren.

Daher wurde in den Hauptversuchen der Versuchsansatz einer Probe von einem auf fünf Liter erhöht und die Herstellung von Nährboden und Joghurtmilch auf die Pilotanlage übertragen. Der zu untersuchende Bereich der Anzuchttemperatur wurde auf 36 bis 42 °C in 2 °C-Schritten festgelegt und der des Lactosegehaltes auf 1 bis 3 % Lactose in 0,5 %-Schritten. Zusätzlich erfolgte eine Überprüfung der Inokulationsmenge des Nährbodens in der Anzucht. Als Ergebnis konnte festgehalten werden, dass die Anzuchtdauer mit steigender Anzuchttemperatur abnimmt, die Fermentationszeit im Joghurt jedoch zunimmt. Hinsichtlich des Lactosegehaltes konnte eine minimale Anzuchtdauer und Fermentationszeit bei einem Lactosegehalt im Bereich von 1,5 bis 2 % festgestellt werden. Niedrigere oder höhere Lactosegehalte führten zu einer Verlängerung von Anzuchtdauer und Fermentationszeit. Ein

Einfluss von Anzuchttemperatur und Lactosegehalt des Nährmediums auf die GKZ in Betriebskultur und Joghurt wurde nicht gefunden. Aufgrund großer Schwankungen der Ergebnisse sind hier jedoch keine endgültigen Aussagen zu treffen. Mit steigender Anzuchttemperatur konnte außerdem eine Zunahme der Viskosität des Joghurts verzeichnet werden, eine Abhängigkeit des Lactosegehaltes zeigte sich bezüglich der Viskosität nicht. Im Geschmack konnte eine abnehmende Säure des Joghurts mit steigender Anzuchttemperatur verzeichnet werden. Der Lactosegehalt des Nährmediums hatte sowohl auf die Viskosität als auch den Geschmack des Joghurts keine Auswirkungen. Ebenso führte die Erhöhung der Inokulationsmenge in der Anzucht zu keinen Veränderungen bezüglich der untersuchten Parameter.

Im Rahmen dieser Arbeit ist daher abschließend festzuhalten, dass eine Veränderung der Anzuchttemperatur unter den hier geschaffenen Bedingungen den größten Einfluss auf die verwendeten Starterkulturen hat. Der Anzuchttemperatur können dabei eindeutige lineare Zusammenhänge bezüglich Anzuchtdauer, Fermentationszeit und Viskosität zugeordnet werden.

Literaturverzeichnis

- Adamberg, K.; Kask, S.; Laht, T. M.; Paalme, T. (2003): The effect of temperature and pH on the growth of lactic acid bacteria: a pH-auxostat study. In: *International Journal of Food Microbiology* 85 (1-2), S. 171-183
- Adams, M. R.; Moss, M. O. (2008): Food Microbiology. 3. Auflage, RSC Publishing, Cambridge
- Aghababaie, M.; Khanahmadi, M.; Beheshti, M. (2015): Developing a detailed kinetic model for the production of yogurt starter bacteria in single strain cultures. In: *Food and Bioproducts Processing* 94, S. 657-667
- Arioli, S.; Della Scala, G.; Remagni, M. C.; Stuknyte, M.; Colombo, S.; Guglielmetti, S.; De Noni, I.; Ragg, E.; Mora, D. (2017): Streptococcus thermophilus urease activity boosts Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus homolactic fermentation. In: *International Journal of Food Microbiology* 247, S. 55-64
- Aslim, B.; Yüksesdag, Z. N.; Beyatli, Y.; Mercan, N. (2005): Exopolysaccharide production by Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus and Streptococcus thermophilus strains under different growth conditions. In: *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 21, S. 673-677
- Beal, C.; Louvet, P.; Corrieu, G. (1989): Influence of controlled pH and temperature on the growth and acidification of pure cultures of Streptococcus thermophilus 404 and Lactobacillus bulgaricus 398. In: *Applied Microbiology and Biotechnology* 32 (2), S. 148-154
- Chandan, R. C. (2006): Manufacturing Yogurt and Fermented Milks. Blackwell Publishing, Ames.
- Folkenberg, D. M.; Dejmek, P.; Skriver, A.; Ipsen, R. (2006): Interactions between EPS-producing Streptococcus thermophilus strains in mixed yoghurt cultures. In: *Journal of Dairy Research* 73, S. 385-393
- Fritsche, O. (2016): Mikrobiologie. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg
- Goff, H. D. (2017): The Dairy Science and Technology eBook. Homepage der University of Guelph, Zugriff am 10.08.2017
<https://www.uoguelph.ca/foodscience/book-page/dairy-science-and-technology-ebook>
- Hamatschek, J. (2016): Lebensmitteltechnologie. Eugen Ulmer KG, Stuttgart
- Han, X.; Yang, Z.; Jing, X.; Yu, P.; Zhang, Y.; Yi, H.; Zhang, L. (2016): Improvement of the Texture of Yogurt by Use of Exopolysaccharide Producing Lactic Acid Bacteria. In: *BioMed Research International* 2016

- Haque, A.; Richardson, R. K.; Morris, E. R. (2001): Effect of fermentation temperature on the rheology of set and stirred yogurt. In: *Food Hydrocolloids* 15, S. 593-602
- Krämer, J.; Prange, A. (2017): *Lebensmittelmikrobiologie*. 7. Auflage, Eigen Ulmer KG, Stuttgart.
- Letort, C.; Juillard, V. (2001): Development of a minimal chemically-defined medium for the exponential growth of *Streptococcus thermophilus*. In: *Journal of Applied Microbiology* 91 (6), S. 1023-1029
- Marco, M. B.; Moineau, S.; Quiberoni, A. (2012): Bacteriophages and dairy fermentations. In: *Bacteriophage* 2 (3), S. 149-158
- Medvedova, A.; Mancuskova, T.; Valik, L. (2016): Growth of *Lactobacillus acidophilus* NCFM in dependence on temperature. In: *Acta Alimentaria* 45 (1), S. 104-111
- Milcherzeugnisverordnung (MilchErzV) vom 15.07.1970 i. d. F. vom 05.07.2017
- Milchindustrie-Verband e.V. (2017): Pro-Kopf-Verbrauch von Milch und Milchprodukten, Zugriff 01.12.2017, <https://milchindustrie.de/marktdaten/verbrauch-und-nachfrage/>
- Milch- und Margarinegesetz (MilchMargG) vom 25.07.1990 i. d. F. vom 16.01.2016
- Mozzi, F.; Raya, R. R.; Vignolo, G. M. (2010): *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria – Novel Applications*. Blackwell Publishing, Ames.
- Munk, K. (2001): *Grundstudium Biologie – Mikrobiologie*. Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg/Berlin.
- Ray, B.; Bhunia, A. K. (2008): *Fundamental Food Microbiology*. 4. Auflage, CRC Press, Boca Raton.
- Smith, E. A.; Myburgh, J.; Osthoff, G.; de Wit, M. (2014): Acceleration of yoghurt fermentation time by yeast extract and partial characterization of the active components. In: *Journal of Dairy Research* 81 (4), S. 417-423
- Tamime, A. Y.; Robinson, R. K. (2007): *Tamime und Robinson's Yoghurt – Science and Technology*. 3. Auflage, Woodhead Publishing, Cambridge.
- Tetra Pak (2012): *Handbuch der Milch- und Molkereitechnik*. Überarbeitete Auflage, Verlag Th. Mann GmbH, Essen.
- Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA): *Methodenbuch Band VI Milch*, 4. Auflage von 1985, zuletzt ergänzt 2010

Anhang

Anhangsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| Anhang 1: Daten der Vorversuche..... | 76 |
| Anhang 1.1: pH-Aufzeichnungen der Vorversuche..... | 76 |
| Anhang 1.2: GKZ der Vorversuche..... | 77 |
| | |
| Anhang 2: Daten der Hauptversuche: Temperatur- und Lactoseeinfluss..... | 78 |
| Anhang 2.1: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche bei 36 °C..... | 78 |
| Anhang 2.2: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche bei 38 °C..... | 79 |
| Anhang 2.3: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche bei 40 °C..... | 80 |
| Anhang 2.4: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche bei 42 °C..... | 81 |
| Anhang 2.5: Signifikante Unterschiede in der Anzuchtdauer der Hauptversuche (Temperatur- und Lactoseeinfluss)..... | 82 |
| Anhang 2.6: Signifikante Unterschiede in der Fermentationszeit der Hauptversuche (Temperatur- und Lactoseeinfluss)..... | 83 |
| Anhang 2.7: pH-Wert der Joghurts nach 48 h bei + 6 °C (Temperatur- und Lactoseeinfluss)..... | 84 |
| Anhang 2.8: GKZ der Hauptversuche mit 1,5 % Lactose im Nährboden..... | 85 |
| Anhang 2.9: Viskositäten der Joghurts (Temperatur- und Lactoseeinfluss)..... | 86 |
| | |
| Anhang 3: Daten der Hauptversuche zum Einfluss der Inokulationsmenge..... | 87 |
| Anhang 3.1: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche (Einfluss Inokulationsmenge)..... | 87 |
| Anhang 3.2: Signifikante Unterschiede in der Anzuchtdauer der Hauptversuche (Einfluss Inokulationsmenge)..... | 88 |
| Anhang 3.3: Signifikante Unterschiede in der Fermentationszeit der Hauptversuche (Einfluss Inokulationsmenge)..... | 89 |
| Anhang 3.4: GKZ der Hauptversuche zum Einfluss der Inokulationsmenge..... | 90 |
| Anhang 3.5: pH-Wert im Joghurt nach 48 h bei + 6 °C (Einfluss Inokulationsmenge)..... | 91 |
| Anhang 3.6: Viskositäten der Joghurts (Einfluss Inokulationsmenge)..... | 92 |
| Anhang 3.7: Signifikante Unterschiede in der Viskosität der Joghurts (Einfluss Inokulationsmenge)..... | 93 |

Anhang 1: Daten der Vorversuche

Anhang 1.1: pH-Aufzeichnungen der Vorversuche

| Probe | Anzucht | | Joghurtfermentation | |
|------------------------------|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|
| | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h |
| 37 °C | 5,00 | n.a. | 12,00 | n.a. |
| 40 °C | 3,50 | n.a. | 15,50 | n.a. |
| 41 °C (1) | 3,00 | n.a. | 16,50 | n.a. |
| 41 °C (2) | 4,00 | n.a. | 15,50 | 4,44 |
| 41 °C (3) | 3,25 | 4,36 | 11,50 | 4,03 |
| 41 °C (4) | 4,75 | 4,18 | 13,00 | 4,40 |
| 41 °C (5) | 4,25 | 4,18 | 23,00 | 4,48 |
| 41 °C (6) | 4,75 | n.a. | 20,50 | n.a. |
| Ø und s | 4,00 ± 0,74 | n.a. | 16,67 ± 4,39 | n.a. |
| 42 °C | 3,50 | n.a. | 12,50 | n.a. |
| 43 °C | 4,50 | n.a. | 24 | n.a. |
| 45 °C | 5,50 | n.a. | 22,5 | n.a. |
| Abbruch bei pH 5 | - | n.a. | 15,50 | 4,45 |
| von pH 5,5 auf pH 6,2 erhöht | 8,00 | n.a. | 21,00 | 4,54 |
| Start pH 6,5 | 3,00 | n.a. | 16,50 | 4,46 |
| 1 % Lac (1) | 3,25 | 4,36 | 11,50 | 4,03 |
| 1 % Lac (2) | 4,75 | 4,18 | 13,00 | 4,38 |
| 1 % Lac (3) | 4,25 | 4,18 | 23,00 | 4,59 |
| Ø und s | 4,08 ± 0,76 | 4,24 ± 0,10 | 15,83 ± 6,25 | 4,33 ± 0,28 |
| 2,5 % Lac (1) | 3,25 | 4,07 | 10,25 | 4,08 |
| 2,5 % Lac (2) | 3,50 | 4,12 | 13,50 | 4,40 |
| 2,5 % Lac (3) | 3,75 | 4,06 | 16,00 | 4,48 |
| Ø und s | 3,50 ± 0,25 | 4,08 ± 0,03 | 13,25 ± 2,88 | 4,32 ± 0,21 |
| 5 % Lac (1) | 4,70 | 4,35 | 17,50 | 4,47 |
| 5 % Lac (2) | 6,25 | 4,21 | 19,50 | 4,53 |
| 5 % Lac (3) | 5,00 | 4,18 | 16,50 | 4,47 |
| Ø und s | 5,32 ± 0,82 | 4,25 ± 0,09 | 17,83 ± 1,53 | 4,49 ± 0,03 |
| ohne Harnstoff | 2,75 | 3,92 | n.a. | n.a. |
| mit Harnstoff | 3,00 | 4,01 | n.a. | n.a. |
| frische Kultur | 4,50 | 4,36 | n.a. | n.a. |
| 3 d alte Kultur | 4,50 | 4,32 | n.a. | n.a. |
| frische Milch | 4,75 | n.a. | 8,50 | 4,21 |
| 4 d alte Milch | 4,75 | n.a. | 7,50 | 4,27 |

Anhang 1.2: GKZ der Vorversuche

| Probe | Betriebskultur | | Joghurt | |
|------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
| 37 °C | n.a. | n.a. | 1,0 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 40 °C | n.a. | n.a. | 2,5 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 41 °C (1) | n.a. | n.a. | 1,5 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 41 °C (2) | n.a. | n.a. | 1,9 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 41 °C (3) | n.a. | n.a. | 7,5 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 41 °C (4) | n.a. | n.a. | 1,8 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 41 °C (5) | n.a. | n.a. | 1,1 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 41 °C (6) | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | n.a. | n.a. | 1,4 x 10 ⁸ ± 34 | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 42 °C | n.a. | n.a. | 4,4 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 43 °C | n.a. | n.a. | 8,0 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 45 °C | n.a. | n.a. | 1,9 x 10 ⁸ | 7,0 x 10 ⁴ |
| Abbruch bei pH 5 | n.a. | n.a. | 1,8 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| von pH 5,5 auf pH 6,2 erhöht | n.a. | n.a. | 1,3 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| Start pH 6,5 | n.a. | n.a. | 1,5 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 1 % Lac (1) | n.a. | n.a. | 7,5 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 1 % Lac (2) | n.a. | n.a. | 1,8 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 1 % Lac (3) | n.a. | n.a. | 1,1 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | n.a. | n.a. | 1,2 x 10 ⁸ ± 44 | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 2,5 % Lac (1) | n.a. | n.a. | 9,0 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 2,5 % Lac (2) | n.a. | n.a. | 8,0 x 10 ⁶ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 2,5 % Lac (3) | n.a. | n.a. | 3,1 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | n.a. | n.a. | 5,0 x 10 ⁷ ± 83 | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 5 % Lac (1) | n.a. | n.a. | 7,0 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 5 % Lac (2) | n.a. | n.a. | 1,5 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 5 % Lac (3) | n.a. | n.a. | 3,1 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | n.a. | n.a. | 1,8 x 10 ⁸ ± 69 | < 1,0 x 10 ⁴ |
| ohne Harnstoff | 4,0 x 10 ⁷ | 1,0 x 10 ⁵ | 1,5 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| mit Harnstoff | 3,9 x 10 ⁷ | 3,0 x 10 ⁵ | 2,1 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| frische Kultur | n.a. | n.a. | 1,1 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 3 d alte Kultur | n.a. | n.a. | 9,0 x 10 ⁶ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| frische Milch | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. |
| 4 d alte Milch | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. |

Anhang 2: Daten der Hauptversuche zum Einfluss von Temperatur und Lactosegehalt

Anhang 2.1: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche bei 36 °C

| Probe | Anzucht | | Joghurtfermentation | |
|-----------------------|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|
| | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h |
| 36 °C – 1 % Lac (1) | 3,75 | 3,99 | 10,75 | 4,36 |
| 36 °C – 1 % Lac (2) | 3,75 | 4,01 | 9,00 | 4,25 |
| 36 °C – 1 % Lac (3) | 3,75 | 3,95 | 11,25 | 4,18 |
| Ø und s | 3,75 ± 0,00 | 3,98 ± 0,03 | 10,33 ± 1,18 | 4,26 ± 0,09 |
| 36 °C – 1,5 % Lac (1) | 3,75 | 3,91 | 8,75 | 4,28 |
| 36 °C – 1,5 % Lac (2) | 3,5 | 3,93 | 8,75 | 4,24 |
| 36 °C – 1,5 % Lac (3) | 3,75 | 3,93 | 12,50 | 4,33 |
| Ø und s | 3,67 ± 0,14 | 3,92 ± 0,01 | 9,83 ± 2,32 | 4,28 ± 0,05 |
| 36 °C – 2 % Lac (1) | 3,75 | 3,87 | 10,25 | 4,32 |
| 36 °C – 2 % Lac (2) | 3,75 | 3,85 | 8,75 | 4,25 |
| 36 °C – 2 % Lac (3) | 3,5 | 3,82 | 14,25 | 4,41 |
| Ø und s | 3,67 ± 0,14 | 3,85 ± 0,03 | 11,08 ± 2,84 | 4,33 ± 0,08 |
| 36 °C – 2,5 % Lac (1) | 3,75 | 3,91 | 10,25 | 4,34 |
| 36 °C – 2,5 % Lac (2) | 3,75 | 3,87 | 8,75 | 4,25 |
| 36 °C – 2,5 % Lac (3) | 3,75 | 3,86 | 13,50 | 4,36 |
| Ø und s | 3,75 ± 0,00 | 3,88 ± 0,03 | 10,83 ± 2,43 | 4,32 ± 0,06 |
| 36 °C – 3 % Lac (1) | 4,25 | 3,94 | 11,00 | 4,38 |
| 36 °C – 3 % Lac (2) | 4,00 | 3,88 | 9,75 | 4,29 |
| 36 °C – 3 % Lac (3) | 4,00 | 3,89 | 14,50 | 4,39 |
| Ø und s | 4,08 ± 0,14 | 3,90 ± 0,03 | 11,75 ± 2,46 | 4,35 ± 0,06 |

Anhang 2.2: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche bei 38 °C

| Probe | Anzucht | | Joghurtfermentation | |
|-----------------------|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|
| | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h |
| 38 °C – 1 % Lac (1) | 3,75 | 3,95 | 13,25 | 4,33 |
| 38 °C – 1 % Lac (2) | 3,25 | 3,99 | 10,00 | 4,29 |
| 38 °C – 1 % Lac (3) | 3,25 | 3,91 | 10,25 | 4,28 |
| Ø und s | 3,42 ± 0,29 | 3,95 ± 0,04 | 11,17 ± 1,81 | 4,30 ± 0,03 |
| 38 °C – 1,5 % Lac (1) | 3,25 | 3,96 | 11,50 | 4,35 |
| 38 °C – 1,5 % Lac (2) | 3,25 | 4,02 | 9,25 | 4,30 |
| 38 °C – 1,5 % Lac (3) | 3,25 | 3,92 | 10,00 | 4,27 |
| Ø und s | 3,25 ± 0,00 | 3,97 ± 0,05 | 10,25 ± 1,15 | 4,31 ± 0,04 |
| 38 °C – 2 % Lac (1) | 3,50 | 3,89 | 11,25 | 4,31 |
| 38 °C – 2 % Lac (2) | 3,00 | 3,88 | 9,25 | 4,29 |
| 38 °C – 2 % Lac (3) | 3,25 | 3,85 | 9,25 | 4,27 |
| Ø und s | 3,25 ± 0,25 | 3,87 ± 0,02 | 9,92 ± 1,15 | 4,29 ± 0,02 |
| 38 °C – 2,5 % Lac (1) | 3,75 | 3,92 | 12,75 | 4,35 |
| 38 °C – 2,5 % Lac (2) | 3,25 | 3,91 | 10,50 | 4,32 |
| 38 °C – 2,5 % Lac (3) | 3,75 | 3,87 | 10,75 | 4,31 |
| Ø und s | 3,58 ± 0,29 | 3,90 ± 0,03 | 11,33 ± 1,23 | 4,33 ± 0,02 |
| 38 °C – 3 % Lac (1) | 4,00 | 3,99 | 14,00 | 4,42 |
| 38 °C – 3 % Lac (2) | 3,50 | 3,99 | 11,25 | 4,32 |
| 38 °C – 3 % Lac (3) | 3,75 | 3,89 | 12,00 | 4,37 |
| Ø und s | 3,75 ± 0,25 | 3,96 ± 0,06 | 12,42 ± 1,42 | 4,37 ± 0,05 |

Anhang 2.3: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche bei 40 °C

| Probe | Anzucht | | Joghurtfermentation | |
|-----------------------|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|
| | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h |
| 40 °C – 1 % Lac (1) | 2,75 | 3,91 | 16,00 | 4,53 |
| 40 °C – 1 % Lac (2) | 3,75 | 4,14 | 9,25 | 4,27 |
| 40 °C – 1 % Lac (3) | 2,75 | 3,87 | 13,50 | 4,21 |
| Ø und s | 3,08 ± 0,58 | 3,97 ± 0,15 | 12,92 ± 3,41 | 4,34 ± 0,17 |
| 40 °C – 1,5 % Lac (1) | 2,75 | 3,90 | 13,75 | 4,17 |
| 40 °C – 1,5 % Lac (2) | 3,25 | 3,92 | 8,75 | 4,25 |
| 40 °C – 1,5 % Lac (3) | 2,75 | 3,91 | 16,50 | 4,46 |
| Ø und s | 2,92 ± 0,29 | 3,91 ± 0,01 | 13,00 ± 3,93 | 4,29 ± 0,15 |
| 40 °C – 2 % Lac (1) | 3,25 | 3,89 | 12,50 | 4,13 |
| 40 °C – 2 % Lac (2) | 3,25 | 3,89 | 9,75 | 4,29 |
| 40 °C – 2 % Lac (3) | 2,75 | 3,87 | 13,00 | 4,36 |
| Ø und s | 3,08 ± 0,29 | 3,88 ± 0,01 | 11,75 ± 1,75 | 4,26 ± 0,12 |
| 40 °C – 2,5 % Lac (1) | 3,25 | 3,93 | 14,00 | 4,42 |
| 40 °C – 2,5 % Lac (2) | 3,25 | 3,93 | 12,25 | 4,34 |
| 40 °C – 2,5 % Lac (3) | 3,25 | 3,93 | 14,00 | 4,41 |
| Ø und s | 3,25 ± 0,00 | 3,93 ± 0,00 | 13,42 ± 1,01 | 4,39 ± 0,04 |
| 40 °C – 3 % Lac (1) | 3,50 | 3,97 | 12,75 | 4,40 |
| 40 °C – 3 % Lac (2) | 3,50 | 3,96 | 14,50 | 4,41 |
| 40 °C – 3 % Lac (3) | 3,50 | 3,95 | 15,50 | 4,41 |
| Ø und s | 3,50 ± 0,00 | 3,96 ± 0,01 | 14,25 ± 1,39 | 4,41 ± 0,01 |

Anhang 2.4: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche bei 42 °C

| Probe | Anzucht | | Joghurtfermentation | |
|-----------------------|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|
| | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h |
| 42 °C – 1 % Lac (1) | 3,25 | 4,06 | 20,50 | 4,54 |
| 42 °C – 1 % Lac (2) | 3,75 | 4,15 | 18,50 | 4,52 |
| 42 °C – 1 % Lac (3) | 2,75 | 3,86 | 16,50 | 4,36 |
| Ø und s | 3,25 ± 0,50 | 4,02 ± 0,15 | 18,50 ± 2,00 | 4,47 ± 0,10 |
| 42 °C – 1,5 % Lac (1) | 2,75 | 4,00 | 18,00 | 4,52 |
| 42 °C – 1,5 % Lac (2) | 3,00 | 3,98 | 17,00 | 4,49 |
| 42 °C – 1,5 % Lac (3) | 3,25 | 3,86 | 16,75 | 4,41 |
| Ø und s | 3,00 ± 0,25 | 3,95 ± 0,08 | 17,25 ± 0,66 | 4,47 ± 0,06 |
| 42 °C – 2 % Lac (1) | 2,75 | 3,95 | 13,75 | 4,42 |
| 42 °C – 2 % Lac (2) | 3,00 | 3,98 | 13,00 | 4,41 |
| 42 °C – 2 % Lac (3) | 2,75 | 3,88 | 15,25 | 4,41 |
| Ø und s | 2,83 ± 0,14 | 3,94 ± 0,05 | 14,00 ± 1,15 | 4,41 ± 0,01 |
| 42 °C – 2,5 % Lac (1) | 3,25 | 4,02 | 13,00 | 4,31 |
| 42 °C – 2,5 % Lac (2) | 3,25 | 4,01 | 13,50 | 4,41 |
| 42 °C – 2,5 % Lac (3) | 2,75 | 3,94 | 15,50 | 4,35 |
| Ø und s | 3,08 ± 0,29 | 3,99 ± 0,04 | 14,00 ± 1,32 | 4,36 ± 0,05 |
| 42 °C – 3 % Lac (1) | 3,75 | 4,06 | 16,50 | 4,46 |
| 42 °C – 3 % Lac (2) | 3,50 | 4,06 | 14,00 | 4,42 |
| 42 °C – 3 % Lac (3) | 3,25 | 3,99 | 16,75 | 4,40 |
| Ø und s | 3,50 ± 0,25 | 4,04 ± 0,04 | 15,75 ± 1,52 | 4,43 ± 0,03 |

Anhang 2.5: Signifikante Unterschiede in der Anzuchtdauer der Hauptversuche (Temperatur- und Lactoseeinfluss), Signifikanzniveau 5 %, nicht-parametrische Daten

| | | 36 °C | | | | | 38 °C | | | | | 40 °C | | | | | 42 °C | | | | |
|-------|-----------|---------|-----------|---------|-----------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 1 % Lac | 1,5 % Lac | 2 % Lac | 2,5 % Lac | 3 % Lac | 1 % Lac | 1,5 % Lac | 2 % Lac | 2,5 % Lac | 3 % Lac | 1 % Lac | 1,5 % Lac | 2 % Lac | 2,5 % Lac | 3 % Lac | 1 % Lac | 1,5 % Lac | 2 % Lac | 2,5 % Lac | 3 % Lac |
| 36 °C | 1 % Lac | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | ja | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | ja | n.s. | n.s. |
| | 1,5 % Lac | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | n.s. | n.s. |
| | 2 % Lac | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | n.s. | n.s. |
| | 2,5 % Lac | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | ja | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | ja | n.s. |
| | 3 % Lac | | | | | | ja | ja | ja | n.s. | n.s. | ja | ja | ja | ja | n.s. | ja | ja | ja | ja | n.s. |
| 38 °C | 1 % Lac | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 1,5 % Lac | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2 % Lac | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2,5 % Lac | | | | | | | | | n.s. | n.s. | ja | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | n.s. | n.s. |
| | 3 % Lac | | | | | | | | | | ja | ja | ja | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | ja | ja | n.s. |
| 40 °C | 1 % Lac | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 1,5 % Lac | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2 % Lac | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2,5 % Lac | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 3 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | ja | n.s. | n.s. | n.s. |
| 42 °C | 1 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 1,5 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2,5 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | | | | n.s. | ja |
| | 3 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | n.s. |

Anhang 2.6: Signifikante Unterschiede in der Fermentationszeit der Hauptversuche (Temperatur- und Lactoseeinfluss), Signifikanzniveau 5 %, nicht-parametrische Daten

| | | 36 °C | | | | | 38 °C | | | | | 40 °C | | | | | 42 °C | | | | |
|-------|-----------|---------|-----------|---------|-----------|---------|---------|-----------|---------|-----------|---------|---------|-----------|---------|-----------|---------|---------|-----------|---------|-----------|---------|
| | | 1 % Lac | 1,5 % Lac | 2 % Lac | 2,5 % Lac | 3 % Lac | 1 % Lac | 1,5 % Lac | 2 % Lac | 2,5 % Lac | 3 % Lac | 1 % Lac | 1,5 % Lac | 2 % Lac | 2,5 % Lac | 3 % Lac | 1 % Lac | 1,5 % Lac | 2 % Lac | 2,5 % Lac | 3 % Lac |
| 36 °C | 1 % Lac | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 1,5 % Lac | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | n.s. | n.s. | ja | ja | n.s. | ja | ja | n.s. | n.s. | ja |
| | 2 % Lac | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2,5 % Lac | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | ja | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 3 % Lac | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| 38 °C | 1 % Lac | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 1,5 % Lac | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2 % Lac | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | ja | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2,5 % Lac | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 3 % Lac | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| 40 °C | 1 % Lac | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 1,5 % Lac | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2 % Lac | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2,5 % Lac | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 3 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| 42 °C | 1 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 1,5 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | | | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 2,5 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | n.s. |
| | 3 % Lac | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Anhang 2.7: pH-Wert im Joghurt nach 48 h bei + 6 °C (Temperatur- und Lactoseeinfluss)

| Probe | pH-Wert im Joghurt nach 48 h bei + 6 °C | | | |
|-------------------|---|--------------|--------------|-------------|
| | 1. Durchgang | 2. Durchgang | 3. Durchgang | Ø und s |
| 36 °C - 1 % Lac | 4,31 | 4,28 | 4,58 | 4,39 ± 0,17 |
| 36 °C - 1,5 % Lac | 4,29 | 4,24 | 4,59 | 4,37 ± 0,19 |
| 36 °C - 2 % Lac | 4,33 | 4,30 | 4,58 | 4,40 ± 0,15 |
| 36 °C - 2,5 % Lac | 4,32 | 4,28 | 4,60 | 4,40 ± 0,17 |
| 36 °C - 3 % Lac | 4,33 | 4,29 | 4,59 | 4,41 ± 0,17 |
| 38 °C - 1 % Lac | 4,53 | 4,34 | 4,28 | 4,38 ± 0,13 |
| 38 °C - 1,5 % Lac | 4,52 | 4,32 | 4,30 | 4,41 ± 0,18 |
| 38 °C - 2 % Lac | 4,53 | 4,31 | 4,28 | 4,45 ± 0,16 |
| 38 °C - 2,5 % Lac | 4,52 | 4,32 | 4,34 | 4,47 ± 0,10 |
| 38 °C - 3 % Lac | 4,52 | 4,34 | 4,38 | 4,50 ± 0,08 |
| 40 °C - 1 % Lac | 4,60 | 4,45 | 4,30 | 4,45 ± 0,15 |
| 40 °C - 1,5 % Lac | 4,56 | 4,46 | 4,21 | 4,41 ± 0,18 |
| 40 °C - 2 % Lac | 4,59 | 4,48 | 4,27 | 4,45 ± 0,16 |
| 40 °C - 2,5 % Lac | 4,55 | 4,50 | 4,35 | 4,47 ± 0,10 |
| 40 °C - 3 % Lac | 4,54 | 4,48 | 4,41 | 4,50 ± 0,08 |
| 42 °C - 1 % Lac | 4,55 | 4,50 | 4,59 | 4,55 ± 0,05 |
| 42 °C - 1,5 % Lac | 4,56 | 4,46 | 4,54 | 4,52 ± 0,05 |
| 42 °C - 2 % Lac | 4,51 | 4,39 | 4,59 | 4,50 ± 0,10 |
| 42 °C - 2,5 % Lac | 4,47 | 4,37 | 4,60 | 4,48 ± 0,12 |
| 42 °C - 3 % Lac | 4,50 | 4,45 | 4,56 | 4,50 ± 0,06 |

Anhang 2.8: GKZ der Hauptversuche mit 1,5 % Lactose im Nährboden

| Probe | Betriebskultur | | Joghurt | |
|-----------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
| 36 °C – 1,5 % Lac (1) | 4,4 x 10 ⁷ | 2,0 x 10 ⁵ | 4,6 x 10 ⁸ | 1,4 x 10 ⁵ |
| 36 °C – 1,5 % Lac (2) | 4,9 x 10 ⁷ | 9,0 x 10 ⁴ | 5,6 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 36 °C – 1,5 % Lac (3) | 3,7 x 10 ⁶ | 1,1 x 10 ⁵ | 1,1 x 10 ⁸ | 3,1 x 10 ⁶ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | 3,2 x 10 ⁷ ± 77 | 1,3 x 10 ⁶ ± 44 | 3,8 x 10 ⁸ ± 63 | 1,1 x 10 ⁶ ± 161 |
| 38 °C – 1,5 % Lac (1) | 3,6 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ | 6,0 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 38 °C – 1,5 % Lac (2) | 5,8 x 10 ⁷ | 1,5 x 10 ⁵ | 2,0 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 38 °C – 1,5 % Lac (3) | 3,3 x 10 ⁷ | 1,2 x 10 ⁵ | 3,4 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | 4,2 x 10 ⁷ ± 32 | 9,3 x 10 ⁴ ± 79 | 2,0 x 10 ⁸ ± 70 | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 40 °C – 1,5 % Lac (1) | 2,2 x 10 ⁷ | 1,0 x 10 ⁴ | 2,3 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 40 °C – 1,5 % Lac (2) | 3,1 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ | 1,9 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 40 °C – 1,5 % Lac (3) | 2,9 x 10 ⁷ | 1,5 x 10 ⁵ | 3,4 x 10 ⁸ | 2,0 x 10 ⁸ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | 2,7 x 10 ⁷ ± 17 | 5,7 x 10 ⁴ ± 143 | 1,7 x 10 ⁸ ± 35 | 7,3 x 10 ⁶ ± 172 |
| 42 °C – 1,5 % Lac (1) | 5,0 x 10 ⁷ | < 1,0 x 10 ⁴ | 2,1 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 42 °C – 1,5 % Lac (2) | 4,0 x 10 ⁷ | 2,0 x 10 ⁵ | 1,9 x 10 ⁸ | < 1,0 x 10 ⁴ |
| 42 °C – 1,5 % Lac (3) | 1,6 x 10 ⁷ | 1,0 x 10 ⁵ | 1,0 x 10 ⁸ | 2,2 x 10 ⁷ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | 3,5 x 10 ⁷ ± 49 | 1,0 x 10 ⁵ ± 92 | 2,8 x 10 ⁸ ± 60 | 3,5 x 10 ⁶ ± 138 |

Anhang 2.9: Viskositäten der Joghurts (Temperatur- und Lactoseeinfluss)

| Probe | Viskosität [mPa*s] | | | |
|-----------------------|--------------------|------------|------------|-------------|
| | 1. Messung | 2. Messung | 3. Messung | Ø und s |
| 36 °C - 1 % Lac (3) | 11240 | 11080 | 10680 | 11000 ± 288 |
| 36 °C - 1,5 % Lac (3) | 12240 | 12240 | 12480 | 12320 ± 139 |
| 36 °C - 2 % Lac (3) | 9680 | 10120 | 10000 | 9933 ± 277 |
| 36 °C - 2,5 % Lac (3) | 10000 | 10280 | 10040 | 10107 ± 151 |
| 36 °C - 3 % Lac (3) | 11080 | 10600 | 11040 | 11493 ± 162 |
| 38 °C - 1 % Lac (1) | 14120 | 14240 | 14680 | 14347 ± 295 |
| 38 °C - 1,5 % Lac (1) | 16140 | 16080 | 16760 | 16327 ± 376 |
| 38 °C - 2 % Lac (1) | 15080 | 15200 | 15640 | 15307 ± 295 |
| 38 °C - 2,5 % Lac (1) | 15800 | 15820 | 15480 | 15520 ± 262 |
| 38 °C - 3 % Lac (1) | 13080 | 12760 | 13460 | 13100 ± 350 |
| 40 °C - 1 % Lac (1) | 17440 | 17080 | 17700 | 17407 ± 311 |
| 40 °C - 1,5 % Lac (1) | 18320 | 18000 | 18520 | 18280 ± 262 |
| 40 °C - 2 % Lac (1) | 16880 | 17200 | 17280 | 17120 ± 212 |
| 40 °C - 2,5 % Lac (1) | 16040 | 15340 | 15800 | 15727 ± 356 |
| 40 °C - 3 % Lac (1) | 16480 | 16680 | 16280 | 16480 ± 200 |
| 42 °C - 1 % Lac (3) | 18760 | 18760 | 18320 | 18613 ± 254 |
| 42 °C - 1,5 % Lac (3) | 19560 | 19040 | 18880 | 19160 ± 356 |
| 42 °C - 2 % Lac (3) | 18560 | 18840 | 18720 | 18707 ± 140 |
| 42 °C - 2,5 % Lac (3) | 18280 | 18920 | 18560 | 18587 ± 321 |
| 42 °C - 3 % Lac (3) | 18120 | 17720 | 18240 | 18027 ± 272 |

Anhang 3: Daten der Hauptversuche zum Einfluss der Inokulationsmenge

Anhang 3.1: pH-Aufzeichnungen der Hauptversuche (Einfluss Inokulationsmenge)

| Probe | Anzucht | | Joghurtfermentation | |
|----------------------------|--------------------------------|--------------|--------------------------------|--------------|
| | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h | t bei Erreichen von pH 4,6 [h] | pH nach 24 h |
| 2 % Lac – 0,2 % Kultur (1) | 3,00 | 3,93 | 14,50 | 4,38 |
| 2 % Lac – 0,2 % Kultur (2) | 2,75 | 3,87 | 14,00 | 4,36 |
| Ø und s | 2,88 ± 0,18 | 3,90 ± 0,04 | 14,25 ± 0,35 | 4,37 ± 0,01 |
| 2 % Lac – 0,4 % Kultur (1) | 2,50 | 4,00 | 13,50 | 4,40 |
| 2 % Lac – 0,4 % Kultur (2) | 2,50 | 3,97 | 13,00 | 4,39 |
| Ø und s | 2,50 ± 0,00 | 3,99 ± 0,02 | 13,25 ± 0,35 | 4,40 ± 0,01 |
| 3 % Lac – 0,2 % Kultur (1) | 3,50 | 3,92 | 14,50 | 4,35 |
| 3 % Lac – 0,2 % Kultur (2) | 3,25 | 3,88 | 14,00 | 4,36 |
| Ø und s | 3,38 ± 0,18 | 3,90 ± 0,03 | 14,25 ± 0,35 | 4,36 ± 0,01 |
| 3 % Lac – 0,4 % Kultur (1) | 3,00 | 3,95 | 15,00 | 4,41 |
| 3 % Lac – 0,4 % Kultur (2) | 2,75 | 3,96 | 15,50 | 4,38 |
| Ø und s | 2,88 ± 0,18 | 3,96 ± 0,01 | 14,75 ± 0,35 | 4,40 ± 0,02 |

Anhang 3.2: Signifikante Unterschiede in der Anzuchtdauer der Hauptversuche (Einfluss Inokulationsmenge), Signifikanzniveau 5 %, parametrische Daten

| | | 2 % Lac | | 3 % Lac | |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 0,2 % Kultur | 0,4 % Kultur | 0,2 % Kultur | 0,4 % Kultur |
| 2 % Lac | 0,2 % Kultur | | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 0,4 % Kultur | | | ja | n.s. |
| 3 % Lac | 0,2 % Kultur | | | | n.s. |
| | 0,4 % Kultur | | | | |

Anhang 3.3: Signifikante Unterschiede in der Fermentationszeit der Hauptversuche (Einfluss Inokulationsmenge), Signifikanzniveau 5 %, parametrische Daten

| | | 2 % Lac | | 3 % Lac | |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 0,2 % Kultur | 0,4 % Kultur | 0,2 % Kultur | 0,4 % Kultur |
| 2 % Lac | 0,2 % Kultur | | n.s. | n.s. | n.s. |
| | 0,4 % Kultur | | | n.s. | ja |
| 3 % Lac | 0,2 % Kultur | | | | n.s. |
| | 0,4 % Kultur | | | | |

Anhang 3.4: GKZ der Hauptversuche zum Einfluss der Inokulationsmenge

| Probe | Betriebskultur | | Joghurt | |
|-------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] | <i>S. thermophilus</i> [KbE/mL] | <i>L. acidophilus</i> [KbE/mL] |
| 2 % Lac – 0,2 % Kultur (1) | $5,1 \times 10^7$ | $2,0 \times 10^5$ | $5,0 \times 10^7$ | $4,0 \times 10^6$ |
| 2 % Lac – 0,2 % Kultur (2) | $2,3 \times 10^7$ | $1,1 \times 10^5$ | $1,4 \times 10^8$ | $9,0 \times 10^6$ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | $3,7 \times 10^7 \pm 54$ | $1,6 \times 10^5 \pm 41$ | $9,5 \times 10^7 \pm 67$ | $6,5 \times 10^6 \pm 54$ |
| 2 % Lac – 0,4 % Kultur (1) | $6,8 \times 10^7$ | $1,0 \times 10^5$ | $8,0 \times 10^7$ | $2,3 \times 10^7$ |
| 2 % Lac – 0,4 % Kultur (2) | $2,2 \times 10^7$ | $7,0 \times 10^4$ | $1,2 \times 10^8$ | $1,1 \times 10^7$ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | $4,5 \times 10^7 \pm 72$ | $8,5 \times 10^4 \pm 25$ | $1,0 \times 10^8 \pm 28$ | $8,5 \times 10^7 \pm 50$ |
| 3 % Lac – 0,2 % Kultur (1) | $7,6 \times 10^7$ | $7,0 \times 10^4$ | $1,1 \times 10^8$ | $7,0 \times 10^6$ |
| 3 % Lac – 0,2 % Kultur (2) | $2,7 \times 10^7$ | $2,5 \times 10^5$ | $3,2 \times 10^8$ | $3,2 \times 10^6$ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | $5,2 \times 10^7 \pm 67$ | $9,2 \times 10^4 \pm 68$ | $2,2 \times 10^8 \pm 69$ | $5,1 \times 10^6 \pm 53$ |
| 3 % Lac – 0,4 % Kultur (1) | $8,0 \times 10^7$ | $1,8 \times 10^5$ | $2,2 \times 10^8$ | $1,2 \times 10^7$ |
| 3 % Lac – 0,4 % Kultur (2) | $5,6 \times 10^7$ | $2,0 \times 10^5$ | $1,8 \times 10^8$ | $1,0 \times 10^6$ |
| Ø [KbE/mL] und s [%] | $6,8 \times 10^7 \pm 25$ | $1,4 \times 10^5 \pm 7$ | $2,0 \times 10^8 \pm 14$ | $6,5 \times 10^6 \pm 120$ |

Anhang 3.5: pH-Wert im Joghurt nach 48 h bei + 6 °C (Einfluss Inokulationsmenge)

| Probe | pH-Wert im Joghurt nach 48 h bei + 6 °C | | |
|-----------------------------|---|--------------|-------------|
| | 1. Durchgang | 2. Durchgang | Ø und s |
| 2 % Lactose – 0,02 % Kultur | 4,53 | 4,55 | 4,54 ± 0,01 |
| 2 % Lactose – 0,04 % Kultur | 4,51 | 4,54 | 4,53 ± 0,02 |
| 3 % Lactose – 0,02 % Kultur | 4,56 | 4,52 | 4,54 ± 0,02 |
| 3 % Lactose – 0,04 % Kultur | 4,52 | 4,55 | 4,54 ± 0,02 |

Anhang 3.6: Viskositäten der Joghurts (Einfluss Inokulationsmenge)

| Probe | Viskosität [mPa*s] | | | |
|-----------------------------|--------------------|------------|------------|-------------|
| | 1. Messung | 2. Messung | 3. Messung | Ø und s |
| 2 % Lac – 0,02 % Kultur (1) | 18740 | 18660 | 18920 | 18793 ± 124 |
| 2 % Lac – 0,02 % Kultur (2) | 18680 | 18800 | 18960 | |
| 2 % Lac – 0,04 % Kultur (1) | 18620 | 19040 | 18400 | 18780 ± 238 |
| 2 % Lac – 0,04 % Kultur (2) | 18860 | 18780 | 18980 | |
| 3 % Lac – 0,02 % Kultur (1) | 18200 | 17740 | 17240 | 17906 ± 386 |
| 3 % Lac – 0,02 % Kultur (2) | 17860 | 18280 | 18120 | |
| 3 % Lac – 0,04 % Kultur (1) | 18240 | 18400 | 18060 | 18120 ± 176 |
| 3 % Lac – 0,04 % Kultur (2) | 17940 | 18340 | 18280 | |

Anhang 3.7: Signifikante Unterschiede in der Viskosität der Joghurts (Einfluss Inokulationsmenge), Signifikanzniveau 5 %, parametrische Daten

| | | 2 % Lac | | 3 % Lac | |
|---------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 0,2 % Kultur | 0,4 % Kultur | 0,2 % Kultur | 0,4 % Kultur |
| 2 % Lac | 0,2 % Kultur | | n.s. | ja | ja |
| | 0,4 % Kultur | | | ja | ja |
| 3 % Lac | 0,2 % Kultur | | | | n.s. |
| | 0,4 % Kultur | | | | |