

Aromaprofile ausgewählter Weizenbier-Hefestämme

PROFILGEBEND | Das Aromaprofil eines Bieres ist von einer Reihe von Faktoren abhängig. Der größte Teil der wertgebenden Aromakomponenten wird während der Gärung durch die Hefe gebildet. Bedauerlicherweise wird die Bedeutung der Hefe oftmals unterschätzt, und sie wird häufig nur als „Mittel zum Zweck“ betrachtet. Besonders im obergärigen Bereich spielt die Wahl des Hefestamms für die Bildung von Estern, höheren Alkoholen und anderen Aromakomponenten eine entscheidende Rolle. Jeder Hefestamm besitzt ein eigenes Genom und somit unterschiedliche Fähigkeiten zur Aromastoffsynthese. Um das zu erwartende Aromaprofil eines Weizenbieres einschätzen zu können, wurden am Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmitteltechnologie verschiedene Weizenbier-Hefestämme unter standardisierten Bedingungen auf ihr Gärverhalten sowie ihre Aromastoffbildung getestet.

KAUM EIN BIERTYP kann so mannigfaltige Geschmacksausprägungen besitzen wie Weizenbier. Im Allgemeinen werden vier Typen von Weizenbieren unterschieden. Zum einen gibt es den hefigen Typ, welcher sich durch eine frische Hefenote auszeichnet. Die genaue Zusammensetzung

dieses Aromas ist bislang nicht bekannt, jedoch werden eine Reihe von Estern und diverse Schwefelverbindungen dafür verantwortlich gemacht. Der so genannte phenolische Weizenbier-Typ besitzt eine ausgeprägte Gewürznelken-Note, welche in erster Linie durch 4-Vinylguajakol her-

vorgerufen wird. Der fruchtig-estrigere Typ ist vor allem durch die Ester Isoamylacetat und Ethylacetat charakterisiert und kann je nach Ausprägung einen leicht lösungsmittelartigen bis bananigen Geschmack hervorrufen. Der so genannte neutrale Typ besitzt, wie der Name bereits sagt, keine besondere Ausprägung und schmeckt lediglich leicht obergärig [2].

Je nach gewünschtem Weizenbier-Typ sollten demnach die Leitkomponenten in unterschiedlichen Konzentrationen im Bier vorliegen. Die Produktion dieser Komponenten kann technologisch z.T. gesteuert werden, da die Bildungswege dieser aromaintensiven Stoffe bestens bekannt sind. 4-Vinylguajakol wird zum größten Teil aus der im Malz enthaltenen Ferulasäure mit Hilfe des Enzyms Ferulasäuredecarboxylase gebildet [14]. Die Konzentration dieser Komponente im fertigen Bier ist also von der Menge an freier Ferulasäure in der Würze und der Enzymausstattung der Hefe abhängig. Im Gegensatz zu 4-Vinylguajakol entsteht der „Bananen-Ester“ Isoamylacetat aus Isoamylalkohol und Acetyl-CoA, während für die Synthese von Ethylacetat Ethanol an Stelle von Isoamylalkohol als Substrat benötigt wird. Die Reaktionsmechanismen der beiden Acetatester werden in der Hefezelle von Alkohol-Acetyl-Transferasen



Autoren: Dipl.-Ing. Hubertus Schneiderbanger (Foto), M. Strauß, Dr.-Ing. Matthias Hutzler und Dr.-Ing. Fritz Jacob, Forschungszentrum Weihenstephan für Brau- und Lebensmittelqualität, TU München, Freising

Abb. 1
Mikroskopische Ansicht des Hefestammes TUM 68
Foto: TUM 68° FZW BLQ



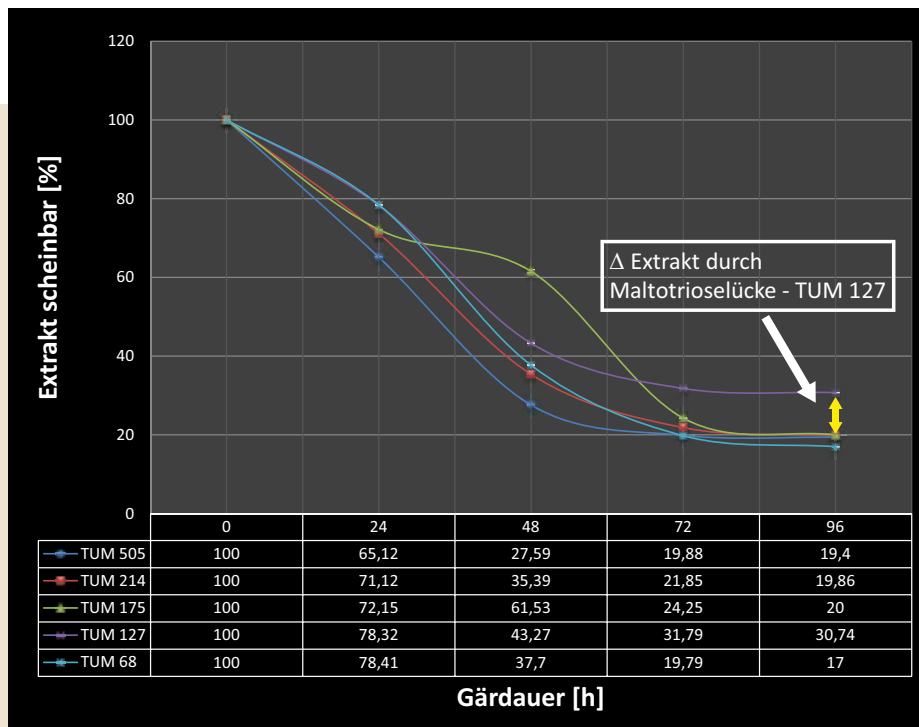


Abb. 2 Extraktabbau im Verlauf der Gärung

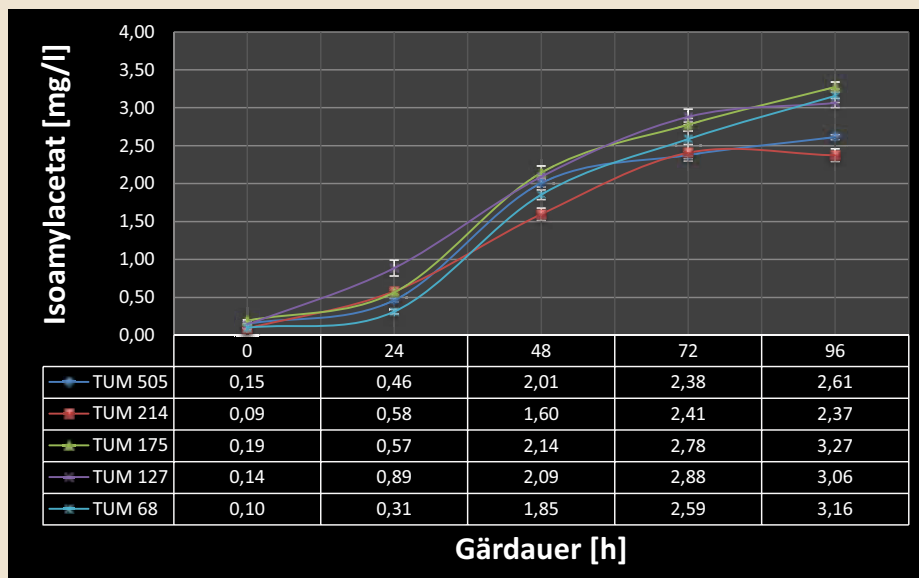


Abb. 3 Isoamylacetat-Bildung im Verlauf der Gärung

katalysiert [11, 12, 15]. Auch bei der Bildung von Acetatestern spielt die Enzymaktivität der Alkohol-Acetyl-Transferasen neben dem Vorhandensein der Substrate die Hauptrolle für die Synthese dieser Aromakomponenten. Die Enzymaktivität der Hefezelle ist hierbei zum einen von der genetischen „Ausstattung“ der Hefe abhängig und zum anderen von äußeren Faktoren.

Es ist beispielsweise hinlänglich bekannt, dass eine starke Belüftung der Hefe während der Propagation oder beim Anstellen bei der Weizenbier-Produktion zu einer verminderten Esterbildung führt. Grund hierfür ist der negative Einfluss des Sauerstoffs, der die Enzymaktivität der Alkohol-Acetyl-Transferasen hemmt [5, 9].

Darüber hinaus gibt es eine Reihe von weiteren Faktoren, die direkten oder indirekten Einfluss auf die Aromastoffbildung nehmen können: die Würzezusammensetzung (Freier Amino-Stickstoff (FAN), Zuckerspektrum, Stammwürzegehalt etc.), die Hefephysiologie, die Gärtemperatur, die Tankgeometrie und die damit verbundenen Konvektionsströmungen, die Druckverhältnisse (CO_2 -Partialdruck) und einige weitere [1, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 13]. Aufgrund der Vielzahl an Einflussfaktoren verhält sich ein Hefestamm von Brauerei zu Brauerei z.T. sehr unterschiedlich. Deshalb ist es auch nur schwer möglich, eine Aussage über das zu erwartende Aromaprofil eines Hefestammes zu tätigen.

Versuchsbedingungen und -durchführung

Unter standardisierten Bedingungen können die grundsätzlichen Eigenschaften von verschiedenen Hefestämmen untereinander verglichen werden. Um eine Einschätzung über das „Aromapotenzial“ dieser Hefen treffen zu können, wurden am Forschungszentrum die fünf in der Brauereipraxis beliebtesten Weizenbier-Hefestämmen untersucht. Hierbei kamen die Hefestämmen TUM 68 (Abb. 1), TUM 127, TUM 175, TUM 214 und TUM 505 zum Einsatz. Alle Versuchsgärungen wurden im 50-l-Maßstab und in Dreifachversuchen durchgeführt, um eine möglichst repräsentative Aussage zu erhalten. Die verwendete Würze wurde auf alle wichtigen Parameter wie Zuckerzusammensetzung, Aminosäurespektrum sowie Extrakt und pH-Wert untersucht, um stets gleiche Bedingungen für die Gärversuche zu gewährleisten. Die Gärungen wurden definiert 96 h bis zum Erreichen des Endvergärungsgrades und isotherm bei 20 °C geführt. Die Anstellzellzahl betrug hierbei 10 Mio Zellen/ml.

Während der Versuchsgärungen wurde ein breites Spektrum an Analysen durchgeführt. Neben den Gärparametern pH-Wert, Extraktabbau und Zellen in Schwebel wurden auch der Zuckerabbau, die Aminosäure-Verstoffwechslung, das Gärungsnebenprodukt-Spektrum sowie der Diacetylgehalt untersucht. Alle Biere wurden im Anschluss nach dem bekannten DLG-Schema sowie mittels einer beschreibenden Verkostung bewertet. Dieser Artikel soll einen Überblick über die ausgeführten Untersuchungen geben. Umfangreichere Informationen sind auf der Homepage des Forschungszentrums zu finden.

Extraktabbau in den Gärverläufen

In Abbildung 2 ist der Extraktabbau in den Gärverläufen dargestellt. Es zeigte sich, dass nach einer Gärdauer von 96 h drei der vier untersuchten Hefestämmen auf einem ähnlich hohen Niveau lagen. Der zügigste Extraktabbau war bei Hefestamm TUM 505 zu beobachten. Auffällig ist, dass der Hefestamm TUM 127 trotz guter Hefevermehrungsrate und guter Vitalität bzw. Viabilität nicht in der Lage war, den gewünschten Endvergärungsgrad zu erreichen. Es stellte sich heraus, dass dieser Hefestamm scheinbar nicht in der Lage ist, relevante Mengen an Maltotriose zu verwerten. Der Extraktge-

halt blieb in dem mit TUM 127 produzierten Bier durch diese „Maltotriose-lücke“ im Vergleich zu den anderen Bieren etwas erhöht. Auch wenn die Extrakt-Ausbeute in diesem Fall niedriger lag, so war das mit diesem Hefestamm produzierte Bier jedoch besonders vollmundig und wurde ebenfalls bei der sensorischen Überprüfung sehr gut bewertet.

■ Aromastoffbildung

Neben den Parametern Extraktabbau, pH-Wert-Verlauf und anderen wurde ein besonderes Augenmerk auf die Aromastoffbildung gelegt. Aus diesem Grund wurde der Verlauf der Aromabildung über die gesamte Gärdauer beobachtet (alle 24 h eine Probenahme). So ist – im Gegensatz zu den üblichen Anfangs-/Endwert-Illustrationen – die Entwicklung der verschiedenen Gärungsnebenprodukte anschaulich darzustellen. Wie in Abbildung 3 zu sehen ist, werden die Acetatester erst nach 24 h verstärkt gebildet. Der Gehalt dieser Ester steigt bis zum Ende der Gärung kontinuierlich an. Bei Betrachtung der Synthesewege der Acetatester wird der Grund für die zunächst zögerliche Bildung deutlich. Es wird ersichtlich, dass für die Bildung von Isoamylacetat als Substrat zunächst der höhere Alkohol Isoamylalkohol vorhanden sein muss. Des Weiteren bieten diese Untersuchungen damit den schlüssigen Erklärungsansatz, warum sehr rasche Gärungen (48 - 72 h) in der Brauereipraxis oftmals zu wenig fruchtigen und aromaschwachen Bieren führen. Die Bildung der Acetatester benötigt eine gewisse Anlaufphase und steigt in der Regel bis zum Erreichen des Endvergärungsgrads an. Beträgt die Gärdauer jedoch nur 2,5 Tage, ist die Zeit für die Esterbildung relativ knapp bemessen. Allerdings ist zu erwähnen, dass die Acetatesterbildung nicht unendlich zu steigern ist und nach einer gewissen Zeit stagniert. Darüber hinaus bleiben die Ester üblicherweise nicht in ihren maximalen Konzentrationen im Bier, sondern werden z.T. im Verlauf der Lagerung und später während der Bieralterung wieder abgebaut.

Wie auch bei der Bildung von Isoamylacetat beginnt die Bildung von 4-Vinylguajakol mit Ausnahme des Hefestamms TUM 68 erst nach einer kurzen Verzögerungsphase. Auch für diese Synthese müssen zunächst Enzyme wie die Ferulasäure-Decarboxylase gebildet werden. Wie in Abbildung 4 zu erkennen ist, erreicht der Hefestamm TUM 175 nach einer Gärdauer von 96 h unter den Versuchsbedingungen die höchste

Konzentration an 4-Vinylguajakol. Den geringsten Gehalt an 4-Vinylguajakol bildete der Hefestamm TUM 505.

Auf der Basis unterschiedlicher Untersuchungsparameter sowie der Ergebnisse der DLG- und auch der beschreibenden Verkostung konnten Kenndatenblätter für diese fünf Hefestämme erstellt werden. Exemplarisch ist in Tabelle 1 ein Auszug des Kenndatenblattes des Hefestamms TUM 68 dargestellt. Aus diesem geht u. a. hervor, welchen Vergärungsgrad dieser Stamm

erreichte, wie hoch das Maximum des Zellwachstums unter den gegebenen Bedingungen war, und wie hoch die Mengen an gebildeten Aromakomponenten nach der Gärung lagen. Im Detaildatenblatt sind darüber hinaus stammspezifische DNA-Fingerprints und PCR-Spezies-Identifikationen aufgeführt. Die Hefedatenblätter sind unter <http://www.blq-weihenstephan.de/hefezentrum/mikroorganismen.html> einzusehen. Natürlich ist zu berücksichtigen, dass diese Werte sich speziell auf die

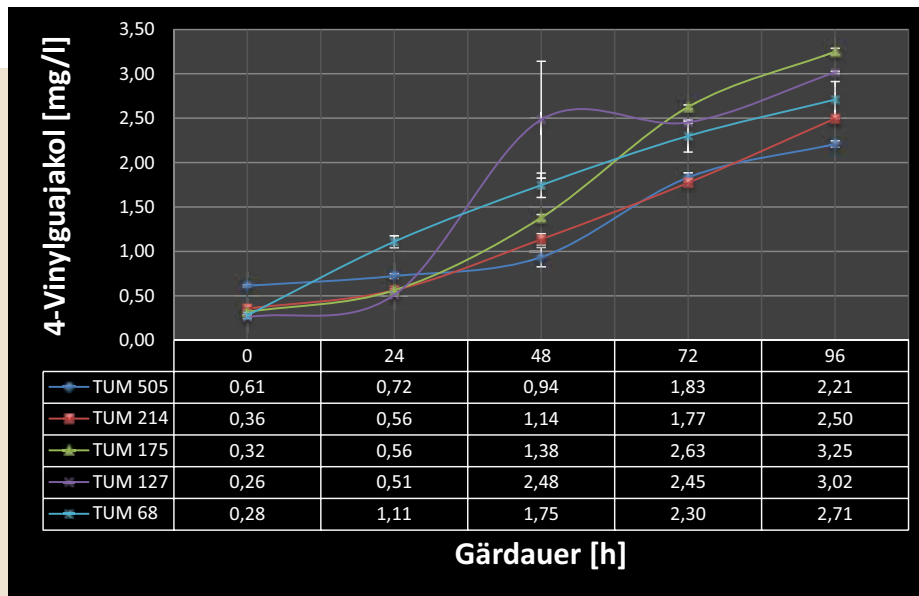


Abb. 4 4-Vinylguajakol-Bildung im Verlauf der Gärung

Versuchsbedingungen am Forschungszentrum beziehen und unter anderen Bedingungen voraussichtlich variieren werden. Es ist jedoch sehr gut möglich, die Hefestämme untereinander zu vergleichen und abzuschätzen, wie das zu erwartende Aromaprofil unter anderen Bedingungen ausfallen könnte. ■

Literatur

1. Anderson, R. G.; Kirsop, B.H.: „The control of volatile ester synthesis during the fermentation of wort of high specific gravity“. Journal of the Institute of Brewing, Vol. 80, Nr. 1, 1974, S. 48-55.

2. Back, W.: „Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie“, Nürnberg, Fachverlag Hans Carl, 2005.
 3. Engan, S.: „Wort Composition and Beer Flavour.1. Influence of some Amino Acids on Formation of higher Aliphatic Alcohols and Esters“, Journal of the Institute of Brewing, Vol. 76, Nr. 3, 1970, S. 254-261.
 4. Engan, S.: „Wort Composition and Beer Flavor.2. Influence of different Carbohydrates on Formation of some Flavor Components during Fermentation“, Journal of the Institute of Brewing, Vol. 78, Nr. 2, 1972, S. 169-173.

5. Fujii, T.; Koayashi, O.; Yoshimoto, H.; Furukawa, S.; Tamai, Y.: „Effect of Aeration and Unsaturated Fatty Acids on Expression of the *Saccharomyces cerevisiae* Alcohol Acetyltransferase Gene“, Applied and Environmental Microbiology, 63, 1997, S. 910-915.
 6. Fujiwara, D.; Yoshimoto, H.; Sone, H.; Harashima, S.; Tamai, Y.: „Transcriptional co-regulation of *Saccharomyces Cerevisiae* alcohol acetyltransferase gene ATF1 and D-9 fatty acid desaturase gene OLE1 by unsaturated fatty acids“, 1998, Yeast, 14: 711-721.
 7. Kruger, L.: „Yeast metabolism and its effect on flavour: Part 2“, Brewers' Guardian, 1998, S. 27-30.
 8. Kruger, L.; Pickerell, A. T. W.; Axcell, B.: „The Sensitivity of different brewing Yeast Strains to Carbon-Dioxide inhibition – Fermentation and Production of Flavor-Active Volatile Compounds“, Journal of the Institute of Brewing, Vol. 98, Nr.2, 1992, S. 133-138.
 9. Mason, A. B.; Dufour, J. P.: „Alcohol acetyltransferases and the significance of ester synthesis in yeast, Yeast, Vol. 16, Nr. 14, 2000, S. 1287-1298.
 10. Narziß, L.; Miedaner, H.; Lustig, S.: „Vor- und Nachteile der Gärung in Großbehältern“, BRAUWELT Nr. 33, 1979, S. 1165-1171.
 11. Nordström, K.: „Formation of Ethyl Acetate in Fermentation with Brewer's Yeast“, Journal of the Institute of Brewing, Vol. 63, Nr. 2, 1963, S. 142-153.
 12. Nordström, K.: „Formation of Esters from Alcohols by Brewer's Yeast“, Journal of the Institute of Brewing, Vol. 70, Nr. 4, 1964, S. 328-336.
 13. Saerens, S. M. G.; Delvaux, E.; Verstrepen, K. J.; Van Dijck, P.; Thevelein, J. M.; Delvaux, F. R.: „Parameters affecting ethyl ester production by *Saccharomyces cerevisiae* during fermentation“, Applied and Environmental Microbiology, Vol. 74, Nr. 2, 2008, S. 454-461.
 14. Vanbeneden, N.: „Decrease of 4-Vinylguaiacol during Beer Aging and Formation of Apocynol and Vanillin in Beer“, Agricultural and Food Chemistry, 56, 2008, S. 11983-11988.
 15. Verstrepen, K. J.; Derdelinckx, G.; Delvaux, F.R.: „Esters in beer-part 1: The fermentation process: more than ethanol formation“, Cerevisia, Vol. 28, Nr. 3, 2003, S. 41-49.

KENNDATENBLATT FÜR HEFESTAMM TUM 68

Untersuchungsparameter TUM 68	Ergebnis
Vergärungsgrad	83 %
Δ pH (pH-Abnahme)	1,0
Zellen in Schwebelphase Maximalwert	39,67 Mio/ml
Δ FAN	131,1 mg FAN/l
Zuckerabnahme während der Gärung	79,54 g/l → 0,77 g/l
Isoamylacetat nach 96 Stunden	3,16 mg/l
Ethylacetat nach 96 Stunden	30,16 mg/l
4-Vinylguajakol nach 96 Stunden	2,71 mg/l
Isoamylalkohole nach 96 Stunden	63,91 mg/l
Diacetyl nach 96 Stunden	0,51 mg/l
Gesamtnote DLG	4,45
beschreibende Verkostung:	Geruch: rein, angenehm obergärig, angenehmes Nelkenaroma, Spur Banane Geschmack: rein, angenehm obergärig, angenehmes Nelkenaroma, Spur Banane, vollmundig, rezent, mild, im Abtrunk harmonisch

Tab. 1