



AiF 17698 N

„Etablierung von MALDI Barcodes zur optimierten Auswahl und Anwendung von Brauhefen“

Forschungsstelle I: Technische Universität München
Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW
Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie
Institutsleiter: Prof. Dr. R. Vogel
Projektleiter Dr. Jürgen Behr

Forschungsstelle II: Technische Universität München
Forschungszentrum Weihenstephan
für Brau- und Lebensmittelqualität (BLQ)
Institutsleiter: Prof. Dr. F. Jacob
Projektleiter Dr. Mathias Hutzler

Koordinierung: Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e.V., Berlin
Dr. Erika Hinzmann

Laufzeit: 01.05.2014 – 30.04.2017
Förderung durch das BMWi über die AiF

Ausgangssituation:

Brauereien benötigen einfach handhabbare, aussagekräftige Typisierungsverfahren mit denen sie Brauhefen für ein bestimmtes Brauverfahren bzw. die Herstellung eines Biertyps bestimmen können. Die bisherigen Untersuchungen im AiF-Projekt 16576 haben gezeigt, dass die MALDI-TOF MS Analytik neben der Identifizierung von Spezies auch das Potenzial hat, diese Anforderungen zu erfüllen. Damit können Brauereien eine gezielte Auswahl von Brauhefen treffen und diese optimal für die Herstellung eines bestimmten Biertyps auswählen und neue Biertypen und Brauverfahren wissenschaftsbasiert gestalten.

Forschungsziel:

Es ist das Ziel dieses Projekts, aussagekräftige Marker für die Typisierung von Brauhefen mittels MALDI-TOF MS zu entwickeln, die eine gezielte Zuordnung von Hefestämmen entlang deren Eignung für ein bestimmtes Brauverfahren ermöglichen. Es wird damit auch möglich, neue Hefeisolate schnell einzuordnen und einer zielgerichteten Nutzung zuzuführen.



Die Erkennung und Klassifizierung von Brauhefen soll entlang von braurelevanten Eigenschaften der Hefen (Biomarkern) möglich werden. Hierbei werden mittels hochspezifischen MALDI-TOF MS Biotyping „Fingerabdrücke“ von den Brauhefen erstellt, mittels Bioinformatik verglichen und eine Brauheferferenzdatenbank erstellt. Die angestrebten Forschungsergebnisse sind: 1. Die Charakterisierung von Brauhefen der Gattung *Saccharomyces* mittels MALDI-TOF MS, 2. Der Aufbau einer Referenz Datenbank mit Spektren von Brauhefen für unterschiedliche Biertypen (z. B. Weißbier, Ale, Lager, Alt), 3. Die Entwicklung bioinformatischer Algorithmen, die eine Erkennung von Hefetypen und ggf. Stämmen innerhalb von *S. cerevisiae* und *S. pastorianus* erlauben, 4. Die Ableitung biertypischer Marker, die Rückschlüsse auf eine Anwendbarkeit der Hefen in unterschiedlichen Biertypen erlauben und 5. Die Validierung der Marker durch Einsatz ausgewählter Brauhefen in Pilot-Propagations-, Gär- und Reifungsversuchen für unterschiedliche Biertypen. Durch die Anpassung bestehender Softwaresysteme soll eine für den Anwender (Hefestammsammlungen, Brauerei, analytische KmUs) maßgeschneiderte Applikation erstellt und validiert werden. Somit können kleine Brauereien (KmUs) eine gezielte Auswahl treffen und neue Hefestämme auf Basis einer zielsicheren Klassifizierung entlang ihrer Eignung für bestimmte Brauverfahren oder Biertypen nutzen. Desweiteren können die Vielfalt von Bieren erhöht werden und neue Marktnischen für KmUs erschlossen werden.

Forschungsergebnisse:

Hefen der Gattung *Saccharomyces* wurden erfolgreich mit einer standardisierten Probenaufbereitung per MALDI-TOF MS charakterisiert. Einerseits wurden ober- und untergärrige Hefen zu 100% unterschieden als auch Unterscheidungen zum Bierverderber *Saccharomyces cerevisiae* var. *diastaticus* erreicht. Innerhalb der obergärrigen Hefen wurden Hefen des Typs Weißbier von allen anderen Biertypen unterschieden sowie hohe Differenzen im Bezug der Ale-Hefen ausgemacht. Eine Referenz Datenbank von insgesamt 60 Hefen unterschiedlicher Biertypen (Weißbier, Ale, Alt, Kölsch, Lager) wurde etabliert und mittels Industrie-proben zielsicher auf Biertypen für die Wirtschaft validiert. Diese Datenbank ist zu jederzeit mit neuen Stämmen und weiteren Biertypen erweiterbar. Bioinformatische Algorithmen wurden entwickelt und zur genauen Unterscheidung der Brauhefen herangezogen. Alles in allem konnte keine eindeutige Stammunterscheidung erreicht werden, jedoch zeigte sich eine hervorragende Erkennung innerhalb der Anwendungsbereiche. Zur Gewinnung neuer Hefeisolate wurden 53 unterschiedliche Umweltproben aus verschiedenen Habitaten und Regionen gesammelt. Hierbei wurden durch ein erarbeitetes Isolierungsverfahren 4 Hefen der Art *Saccharomyces cerevisiae* und als Reinkultur isoliert und zur Validierung herangezogen. Durch die Herausarbeitung von Biermarkern wie beispielsweise das phenolic off-flavor Bildungspotenzial, können Hefestämme aufgrund ihres sensorisch resultierenden Aromaprofils klassifiziert und in Biertypen differenziert werden. Durch Evaluierung 28 obergärriger, 7 untergärriger und 4 neuer Hefeisolate in Pilot-Propagations-, Gär- und Reifungsversuchen mit sensorischer Analyse, konnten das mittels MALDI-TOF MS aufgebaute Identifizierungs- und Klassifizierungsmodell (Biertypen-Zuordnung) erfolgreich validiert und optimiert werden. Dabei konnte beim Abgleich der Brauveruche zu MALDI-TOF MS, das Potential von MALDI für Anwendungsklassifizierungen bestätigt werden.

Wirtschaftliche Bedeutung:

Aktuell bieten viele kleine und mittlere Brauereien innovative Biere an, die durch gezielte Variation der Rohstoffe hergestellt werden. Hier spielt die Hefe neben dem Hopfen eine zentrale Rolle. Das Potenzial der Hefevielfalt und der damit verbundenen Aromavielfalt – v. a. im obergärrigen Bereich – ist bei Weitem noch nicht ausgeschöpft. Einige Brauereien füh-



ren schon ihre eigene Hefestammsammlung und erweitern diese stetig mit „neuartigen, exotischen“ Hefestämmen, die für innovative Produkte eingesetzt werden können. Es ist bekannt, dass der größte Anteil der aromaaktiven Substanzen durch den Hefestoffwechsel in das Bier eingebracht wird und dass Hefestämmen sehr in ihrem Aromaspektrum variieren. Eine Methode, die einen Hefestamm schnell und einfach charakterisiert und bestimmten Einsatzfeldern (mögliche Biertypen) zuordnet, existierte bislang nicht. Die Charakterisierung über MALDI-TOF MS hat das Potenzial, „neuartige“ Hefestämmen einem vorselektierten Praxiseinsatzgebiet zuzuführen, somit die gegenwärtigen Innovationstrends und -effekte zu unterstützen und ggf. verzögert sogenannte Multiplikatoreffekte zu generieren.

Veröffentlichungen:

Meier-Dörnberg, T., Schneiderbanger, H., Michel, M., Hutzler, M., Jacob, F., „Hefe als neuer Geschmacksmotor der Brauindustrie – Charakterisierung unterschiedlicher Hefestämmen für den industriellen Einsatz-“, *Der Weihenstephaner* 1, Jgh.84, 2016, S.22-25

Tim Meier-Dörnberg, Maximilian Michel, Ronald Steven Wagner, Fritz Jacob, Mathias Hutzler „Genetic and phenotypic characterization of different top-fermenting *Saccharomyces cerevisiae* ale yeast isolates“, *BrewingScience* 70, January/February 2017, S. 9-25

Lauterbach, A., Usbeck, JC, Behr, J, Vogel, RF, „ MALDITOF MS enables the classification of brewing yeasts of the genus *Saccharomyces* to major beer styles“, *PlosOne*, August 2017, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181694>

Veranstaltungen:

3. Seminar Hefe und Mikrobiologie, Weihenstephan, 2015:

Lauterbach, A.: „MALDI-TOF Analytik in der Brau- und Getränkemikrobiologie“

Meier-Dörnberg, T.: „Praxisrelevante Charakterisierung von *Saccharomyces* Hefen“

4. Seminar Hefe und Mikrobiologie, Weihenstephan, 2016:

Lauterbach, A.: „The identification of beer spoiling microorganisms and characterization of brewing yeasts by MALDI-TOF MS“

Meier-Dörnberg, T.: „*Saccharomyces* Brauereihefen – Vielfalt und Einsatz“

5. Seminar Hefe und Mikrobiologie, Weihenstephan, 2017:

Lauterbach, A.: „The identification of beer spoiling microorganisms and characterization of brewing yeasts by MALDI-TOF MS“

Meier-Dörnberg, T.: „*Saccharomyces* Brauereihefen – Vielfalt und Einsatz“

Lauterbach, A., Meier-Dörnberg, T., Hutzler, M., Behr, J., Vogel, F.: „The potential of MALDI-TOF MS for sensotyping of brewing yeasts“. Vortrag WBC 2016, 13-17.08.16, Denver, Colorado, USA

Meier-Dörnberg, T., Michel, M., Wagner, R.S., Jacob, F., Hutzler, M. : „Genetic and phenotypic characterization of different top-fermenting *Saccharomyces cerevisiae* ale yeast isolates“. Vortrag 36th European Brewery Convention 2017, 16.05.2017, Ljubljana, Slovenia



Weitere Informationen:

Technische Universität München
Wissenschaftszentrum Weihenstephan WZW
Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie
Weihenstephaner Steig 16, 85354 Freising
Tel.: +49 8161 71 3663, Fax.: +49 8161 71 3327
E-Mail: rudi.vogel@wzw.tum.de

Technische Universität München
Forschungszentrum Weihenstephan
für Brau- und Lebensmittelqualität (BLQ)
Alte Akademie 3, 85354 Freising
Tel.: +49 8161 71 5170, Fax.: +49 8161 71 4181
E-Mail: F.Jacob@wzw.tum.de

Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e.V.
Neustädtische Kirchstr 7A, 10117 Berlin
Tel.: +49 30 209167-19, Fax: +49 30 209167-97
E-Mail: hinzmann@brauer-bund.de
<http://www.wifoe.org>

Das o.g. Projekt der Industriellen Gemeinschaftsforschung der Forschungsvereinigung Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e.V. (Wifö) wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages