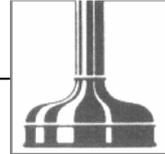

WISSENSCHAFTSFÖRDERUNG
DER DEUTSCHEN BRAUWIRTSCHAFT E.V.



Zusammenfassung

(bitte maximal 10 Seiten)

zu Forschungsvorhaben

B 79

Projekt-Nr.

Thema:

Bildung von Stoffwechselprodukten in Abhängigkeit der Hefevitalität und der Gärparameter unter besonderer Berücksichtigung der Geschmacksstabilität

Forschungsstelle, Projektleiter, Verfasser des Berichtes:

Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, Technische Universität München,

Dr.-Ing. Martin Krottenthaler,

Dipl.-Ing. Frithjof Thiele

Ort, Datum:

Freising, 21.06.2005

bei Interesse kann der vollständige Bericht angefordert werden bei der:

Wissenschaftsförderung der Deutschen Brauwirtschaft e. V. (Wifö)

**z. H. Frau Dr. Hinzmann
Neustädtische Kirchstraße 7a**

Tel.: 030 – 20 91 67-19

Fax: 030 – 20 91 67-97

10117 Berlin

Zusammenfassung

Forschungsprojekt B 79

Frithjof Thiele

Bildung von Stoffwechselprodukten in Abhängigkeit der Hefevitalität und der Gärungsparameter unter besonderer Berücksichtigung der Geschmacksstabilität

Die Bildung der Stoffwechselprodukte der Hefe wird von vielen Faktoren beeinflusst. Zu diesen gehören Parameter wie Gärtemperatur, Stammwürze (osmotischer Druck), Anstelltechnik (Hefegabe, Belüftung), CO₂-Partialdruck und die Geometrie der Gärgefäße. Eine Erhöhung der Gärtemperatur ist im Allgemeinen mit einer deutlichen Zunahme aromarelevanter höherer Alkohole und Ester verbunden. Betrachtet man jedoch einzelne Alkohole, gibt es große Unterschiede. Zudem zeigen verschiedene Untersuchungen unterschiedliche, zum Teil gegenläufige Resultate bei denselben Alkoholen und gleichen Temperaturänderungen.

Bei der Frage welche Faktoren der Gärung die Geschmacksstabilität des Bieres beeinflussen, lassen die Untersuchungen ebenfalls keine eindeutigen Aussagen zu. Lediglich kann festgestellt werden, dass Faktoren, die eine höhere SO₂-Produktion der Hefe zur Folge haben, sich eindeutig positiv auf die Geschmacksstabilität des Bieres auswirken.

Bei allen bisherigen Untersuchungen wurde der Zustand der Hefe gar nicht oder nur unzureichend erfasst. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher der Einfluss der Gärungsparameter unter besonderer Berücksichtigung des physiologischen Zustandes der Hefe untersucht.

Zu diesem Zweck wurde eine Versuchsreihe im Pilotmaßstab (20 l) durchgeführt, bei der die Parameter Stammwürze, Gärtemperatur, Hefegabe und Belüftung variiert wurden. Um den Aspekt der Hefevitalität mit in die Untersuchung einfließen zu lassen, wurden alle durchgeführten Versuche sowohl mit Hefe in sehr gutem physiologischem Zustand, als auch mit Hefe in einem weniger guten Zustand durchgeführt.

Um zu untersuchen, inwieweit sich die gefundenen Zusammenhänge auch auf den großtechnischen Maßstab übertragen lassen, wurde eine weitere Versuchsreihe in einer Brauerei im Maßstab von 3000 hl durchgeführt. Hierbei konnten jedoch nur die Parameter Gärtemperatur, Hefegabe und Belüftung in einem engen Bereich

verändert werden, um den Produktionsprozess nicht zu stark zu beeinflussen. Gerade der Aspekt Hefevitalität konnte in diesem Maßstab nicht variiert werden, es wurde jedoch darauf geachtet, dass nur Hefe in einem guten Zustand verwendet worden ist.

Eine Untersuchung der Zusammenhänge der verschiedenen Gärungsparameter und deren Auswirkung auf die Stoffwechselprodukte stellt aufgrund der vielen Einflussfaktoren einen enormen Aufwand dar. Um diese wichtigen Zusammenhänge trotzdem darstellen zu können, wurde ein spezieller Ansatz gewählt. Mit einer auf mathematisch, statistischen Grundlagen beruhenden Methode kann die Anzahl der Versuche reduziert werden. Das verwendete Verfahren wird als „Response Surface Method“ bezeichnet und ist ein empirischer Ansatz, der auf der statistischen Versuchsplanung beruht. Bei diesem Verfahren werden computergestützt die Parameterkombinationen ermittelt, die notwendig sind um aus den sich ergebenden Resultaten mathematische Modelle der Zusammenhänge ermittelt zu können.

Nach der Durchführung der Versuche wurden die resultierenden Biere analysiert. Dabei wurde neben der klassischen Bieranalyse auch Gärzeit, Schaum, Vicinale Diketone, FAN, höhere Alkohole und Bieraromastoffe analysiert. Um Informationen zur Geschmacksstabilität zu erhalten wurde SO_2 , Lag-Time, Antiradikalisches Verhalten, Antiradikalisches Potential, Reduktionsvermögen (aus letzteren 4 wurde zusätzlich der Stabilitätsindex ermittelt) und die Alterungsindikatoren analysiert. Außerdem wurde eine Alterungsverkostung durchgeführt. Für die Untersuchungen im Produktionsmaßstab wurden die gleichen Analysen bei den resultierenden Bieren durchgeführt.

Ergebnisse

Wie zu erwarten war, stellen die Faktoren Stammwürze und Temperatur für die Gärzeit und bei der Bildung der Stoffwechselprodukte die dominierenden Einflüsse dar. Für die Gärgeschwindigkeit sind die Hefegabe und die Belüftung ebenfalls entscheidend, wobei sich ebenfalls zeigt, dass auch die Hefevitalität einen deutlichen Einfluss auf die Gärzeit hat. Insbesondere ist dieses der Fall bei Bedingungen die für die Hefe ungünstig sind. Also bei hohen Stammwürzen, niedrigen Temperaturen,

niedrigen Belüftungsraten, niedrigen Hefegaben oder Kombinationen aus diesen Parametern. Durch die Verwendung von schwächerer Hefe kommt es zu Gärverzögerungen von bis zu 30 % was insofern überrascht, da die Hefe mit einem ICP-Wert von 5,8 im klassischen Sinne nicht als schlecht gelten kann, da maximal ein Totanteil von ca. 7 % bei der Schwächung der Hefe erreicht wurde. Dieses lässt darauf schließen, dass der physiologische Zustand einen sehr großen Einfluss auf die Gärgeschwindigkeit hat, bevor dieser mit dem klassischen Lebend-Tot-Nachweis erfasst werden kann.

Bei den Stoffwechselprodukten der Hefe müssen verschiedene Stoffgruppen unterschieden und auch getrennt betrachtet werden.

Bei Acetaldehyd, als Beispiel eines Jungbukettstoffes, stellte sich heraus, dass doch zum Teil sehr große Unterschiede in den Bieren zu finden waren, obwohl alle Biere vergleichbar weit vergoren wurden und auch die gleichen Reifungs- und Lagerzeiten eingehalten wurden. Neben den bekannten Einflüssen der Stammwürze zeigt sich jedoch, dass die Belüftung einen sehr großen Einfluss auf die Bildung und den Abbau von Acetaldehyd hat. Hohe Belüftungsraten reduzieren den Acetaldehydgehalt im fertigen Bier erheblich, insbesondere im großtechnischen Maßstab. Einen deutlichen Einfluss hat jedoch wiederum die Hefevitalität. Hefen in einem weniger guten Zustand sind nicht in der Lage Acetaldehyd soweit abzubauen, wie es eine Hefe in guten Zustand vermag.

Dieser deutliche Einfluss der Hefevitalität, wie er für die Gärzeit und die Jungbukettstoffe zu finden ist, kann für die höheren Alkohole und Ester nicht bestätigt werden.

Die höheren Alkohole werden in der Regel durch hohe Belüftungsraten gesteigert. Dieses ist deutlicher bei der Versuchsreihe im großtechnischen Maßstab. Das kann seine Ursache auch darin haben, dass es bei dem Befüllen eines Tanks mit zwei Suden zu einem zeitlichen Abstand der Belüftungen des Tankes kommt.

Bei den Estern ist eine Unterscheidung in Essigsäureester und Ethylester zweckmäßig. Wie schon beschrieben zeigen die einzelnen Stoffe zwar sehr individuelle Reaktionen auf die Änderung der Gärungsparameter, jedoch sind die Veränderungen innerhalb dieser Gruppen ähnlich.

Neben dem beschriebenen Einfluss der Stammwürze und der Temperatur spielt die Hefegabe eine wichtige Rolle bei der Bildung der Ester. Das Thema der Esterbildung

wird in der Literatur sehr kontrovers diskutiert. Bei den vorliegenden Versuchen zeichnet sich bei den Essigsäureestern deutlich ab, dass höhere Hefegaben zu höheren Gehalten an Essigsäureestern führen und zwar bei den Pilotversuche und in der Produktion (dieser Zusammenhang ist in der Produktion statistisch jedoch nicht signifikant).

Bei den Verläufen der Ethylester ist jedoch zu beobachten, dass mit höheren Hefegaben geringere Mengen an den Estern gebildet werden und dieses deutlich in beiden Versuchsreihen. Im Pilotmaßstab zeigt eine Änderung der Belüftung kaum Änderung in der Bildung der Ethylester. In der Produktion dagegen hat eine höhere Belüftung eine deutliche Verringerung der Ethylestergehalte zur Folge. Diese Unterschiede sind wahrscheinlich in der mehrfachen Belüftung mit zeitlichen Abständen in der Produktion zu suchen.

Als weiteres wichtiges Stoffwechselprodukt ist Schwefeldioxid zu nennen. SO_2 ist wegen seiner antioxidativen Wirkung und damit wegen seines positiven Einflusses auf die Geschmackstabilität erwünscht. Hier bestätigen die Versuchsreihen deutlich vorangegangene Untersuchungen zur SO_2 -Bildung bei denen festgestellt wurde, dass es neben der Stammwürze insbesondere die Belüftung und die Hefegabe sind, die diesen Parameter beeinflussen. Geringe Belüftung und geringe Hefegabe wirken sich positiv auf die SO_2 -Bildung aus.

Ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung, in wieweit sich die Hefevitalität, aber auch die Gärungsparameter auf die Geschmackstabilität auswirken.

Der Stabilitätsindex, als ein mögliches Beurteilungskriterium, wird aus den Analysen der Lag-Time, des antiradikalischen Verhalten (ARV), des antiradikalischen Potentials (ARP) und dem Reduktionsvermögen errechnet. Damit wird versucht den Beitrag der Stoffe und Stoffgruppen zu erfassen die im Bier eine Alterung verlangsamen können. Der Stabilitätsindex korreliert in diesem Fall, aus darstellbaren Gründen, stark mit dem SO_2 -Gehalt. Daher zeigen sich sehr ähnliche Zusammenhänge.

Bei der Betrachtung der Alterungsverkostung hingegen zeigt sich deutlich, dass die Stammwürze fast keinen Einfluss auf die Alterungsnote und die Akzeptanz hat. Hier spielen die Parameter Hefegabe und Belüftung eine weitaus bedeutendere Rolle.

Eine Übereinstimmung mit den Einflüssen auf den Stabilitätsindex ist, dass sich geringere Hefegaben positiv auswirken. Bei der Belüftung zeigt sich jedoch deutlich, dass sich eine hohe Belüftungsrate zusammen mit einer geringen Hefegabe am günstigsten auf die Alterungsnote und die Alterungsakzeptanz auswirken. Und diese sowohl im Pilot- als auch im Produktionsmaßstab. Der Einfluss der Gärtemperatur ist weniger stark und nur in bestimmten Kombinationen von Hefegabe und Belüftung relevant.

Zusammenfassung

Insbesondere durch den speziellen Ansatz im Pilotmaßstab ist es mit dieser Untersuchung gelungen den Einfluss der untersuchten Parametern auf eine Vielzahl von Stoffwechselprodukten, aber auch auf die Gärzeit und die Geschmackstabilität deutlich abzubilden. Da viele dieser Zusammenhänge in der Literatur sehr kontrovers diskutiert werden, kann diese Untersuchung dazu beitragen einer Klärung näher zu kommen. Interessant hierbei ist auch, dass viele Zusammenhänge auch im Produktionsmaßstab betätigt werden konnten.

Neben der Klärung der allgemeinen Zusammenhänge zeigt diese Untersuchung erstmals auf, wie sich der physiologische Zustand der Hefe auf die Gärung, die Stoffwechselprodukte der Hefe und auf die Geschmackstabilität auswirkt. Gerade durch die Tatsache, dass die Hefevitalität (zumindest in dem untersuchten Bereich) kaum Einfluss auf die höheren Alkohole und Ester hat kann erklären, warum in Brauereien sehr häufig erst über Probleme z. B. mit der Schaumhaltbarkeit festgestellt wird, dass die Qualität der eingesetzten Hefe mangelhaft war. Dass die Hefevitalität jedoch ein wichtiger Parameter ist, zeigt sich dadurch, dass gerade in den ökonomisch bedeutenden Bereichen wie der Gärgeschwindigkeit und dem Diacetylabbau ein großer Einfluss der Hefevitalität zu finden ist.

Auch zeigen die vorliegenden Untersuchungen, dass die Gärungsparameter einen sehr großen Einfluss auf die Geschmackstabilität haben und dass positive Einflüsse nicht ausschließlich durch Kombinationen verursacht werden, die die SO₂-Bildung begünstigen.

Abschlussbericht

Forschungsprojekt B 79

Frithjof Thiele

Bildung von Stoffwechselprodukten in Abhängigkeit der Hefevitalität und der Gärungsparameter unter besonderer Berücksichtigung der Geschmacksstabilität

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	1
1 Einleitung	1
2 Durchgeführte Versuche	2
2.1 Versuche im Pilotmaßstab.....	2
2.2 Versuche im Produktionsmaßstab.....	9
3 Ergebnisse.....	11
3.1 Einfluss der Parameter auf die Gärgeschwindigkeit.....	11
3.2 Einfluss der Parameter auf die Stoffwechselprodukte der Hefe	11
3.3 Einfluss der Parameter auf die Geschmacksstabilität.....	14
4 Zusammenfassung	17

1 Einleitung

Die Bildung der Stoffwechselprodukte der Hefe wird von vielen Faktoren beeinflusst. Zu diesen gehören Parameter wie Gärtemperatur, Stammwürze (osmotischer Druck), Anstelltechnik (Hefegabe, Belüftung), CO₂-Partialdruck und die Geometrie der Gärgefäße. Eine Erhöhung der Gärtemperatur ist im Allgemeinen mit einer deutlichen Zunahme aromarelevanter höherer Alkohole und Ester verbunden. Betrachtet man jedoch einzelne Alkohole, gibt es große Unterschiede. Zudem zeigen verschiedene Untersuchungen unterschiedliche, zum Teil gegenläufige Resultate bei denselben Alkoholen und gleichen Temperaturänderungen¹.

¹ Engan, S. ; Aubert, O.: Relations Between Fermentation Temperature And The Formation Of Some Flavour Components. Proceedings Of The Congress Of The European Brewing Convention, 1977, 591-607.

Bei der Frage welche Faktoren der Gärung die Geschmacksstabilität des Bieres beeinflussen, lassen die Untersuchungen ebenfalls keine eindeutigen Aussagen zu. Lediglich kann festgestellt werden, dass Faktoren, die eine höhere SO₂-Produktion der Hefe zur Folge haben, sich eindeutig positiv auf die Geschmacksstabilität des Bieres auswirken.

Bei allen bisherigen Untersuchungen wurde der Zustand der Hefe gar nicht oder nur unzureichend erfasst. Im Rahmen dieser Arbeit wurde daher der Einfluss der Gärungsparameter unter besonderer Berücksichtigung des physiologischen Zustandes der Hefe untersucht.

Zu diesem Zweck wurde eine Versuchsreihe im Pilotmaßstab (20 l) durchgeführt, bei der die Parameter Stammwürze, Gärtemperatur, Hefegabe und Belüftung variiert wurden. Um den Aspekt der Hefevitalität mit in die Untersuchung einfließen zu lassen, wurden alle durchgeführten Versuche sowohl mit Hefe in sehr gutem physiologischem Zustand, als auch mit Hefe in einem weniger guten Zustand durchgeführt.

Um zu untersuchen, inwieweit sich die gefundenen Zusammenhänge auch auf den großtechnischen Maßstab übertragen lassen, wurde eine weitere Versuchsreihe in einer Brauerei im Maßstab von 3000 hl durchgeführt. Hierbei konnten jedoch nur die Parameter Gärtemperatur, Hefegabe und Belüftung in einem engen Bereich verändert werden, um den Produktionsprozess nicht zu stark zu beeinflussen. Gerade der Aspekt Hefevitalität konnte in diesem Maßstab nicht variiert werden, es wurde jedoch darauf geachtet, dass nur Hefe in einem guten Zustand verwendet worden ist.

2 Durchgeführte Versuche

2.1 Versuche im Pilotmaßstab

Zunächst ging es darum, wie der physiologische Zustand der Hefe beurteilt werden kann. Hier hatte die vorhergehende Untersuchung zur Beurteilung der Methoden der Vitalitätsbestimmung ergeben, dass die Messung des Intrazellulären pH-Wertes die zuverlässigste Methode darstellt. Zur Verminderung des Aufwandes wurde für die weiteren Untersuchungen die verkürzte Version dieser Methode gewählt (SICP), die am Lehrstuhl modifiziert wurde.

Eine Untersuchung der Zusammenhänge der verschiedenen Gärungsparameter und deren Auswirkung auf die Stoffwechselprodukte stellt aufgrund der vielen Einflussfaktoren einen enormen Aufwand dar. Für eine Untersuchung mit den Parametern Stammwürze, Temperatur, Hefegabe und Belüftung mit jeweils 4 bzw. 3 Stufen müssten für ein vollständiges Darstellen der Zusammenhänge, 192 Versuche durchgeführt werden. Zur Darstellung des Einflusses der Hefevitalität müssten, wie schon beschrieben, alle Versuche sowohl mit guter Hefe als auch mit weniger guter Hefe durchgeführt werden. Eine Untersuchung in diesem Umfang ist nicht zu realisieren. Um diese wichtigen Zusammenhänge trotzdem darstellen zu können, wurde ein anderer Ansatz gewählt. Mit einer auf mathematisch, statistischen Grundlagen beruhenden Methode kann die Anzahl der Versuche auf 21 reduziert werden, d. h. bei Betrachtung der Hefevitalität sind 42 Versuche notwendig. Um den Aspekt Geschmackstabilität im abgefüllten Bier ebenfalls untersuchen zu können, war es notwendig einen Maßstab von mindestens 20l zu wählen. 42 Gärungen mit entsprechenden Untersuchungen stellen immer noch einen großen Aufwand dar, der jedoch durchführbar ist. Das verwendete Verfahren wird als „Response Surface Method“ bezeichnet und ist ein empirischer Ansatz, der auf der statistischen Versuchsplanung beruht. Bei diesem Verfahren werden computergestützt die Parameterkombinationen ermittelt, die notwendig sind um aus den sich ergebenden Resultaten mathematische Modelle der Zusammenhänge ermittelt zu können.

Bei der Untersuchung wurde der Hefestamm Hebru verwendet. Dieser zeichnet sich durch ein hohes SO₂-Bildungsvermögen aus. Er zeigt jedoch nur sehr schwache Gärleistungen bei Temperaturen unter 12 °C. Die verwendete Hefe wurde direkt aus der großtechnischen Produktion genommen. Die Hefe im guten Zustand hatte SICP - Werte von 6,4 bis 6,7 und damit war sie in einem hervorragenden Zustand. Für die korrespondierenden Versuche mit Hefe eines schlechteren Zustandes, wurde Hefe der gleichen Charge verwendet, diese wurde jedoch zwischenzeitlich bei 14 °C 3 bis 5 Tage gelagert bis sie einen SICP - Wert von ca. 5,8 erreicht hatte. Dieser Wert ist laut Imai, dem Entwickler der ICP - Methode, als Grenzwert für die Verwendbarkeit der Hefe zu sehen. Die Hefe ist dabei nicht notwendigerweise, nach klassischen Kriterien, in einem schlechten Zustand. Der Lebend-Tot-Anteil der Hefen war im schlechtesten Fall bei ca. 7 %, was immer noch annähernd die Forderung von maximal 5 % toten Zellen für die Anstellhefe erfüllt. Trotzdem ergaben sich zum Teil erheblich langsamere Gärungen.

Für die Versuchsplanung wurden die nachstehenden Bereiche ausgewählt:

Parameter	Minimalwert	Maximalwert
Stammwürze % GG	8	16
Hefegabe Mio. / ml	7	23
Gärtemperatur °C	8	16
Belüftung mg O ₂ / l	4	8
Hefevitalität ICP- Wert	Hoch (>6,2)	Niedrig (5,6-5,8)

Die Planung der einzelnen Versuche erfolgte mit der Software Design Expert 6.0. Zur Reduzierung der Versuchsanzahl wurde das Central Composite Design der Planungsvariante Response Surface verwendet. Jeder numerische Faktor wird dabei über 5 Werte verändert. Plus und minus Wert eines vom Programm bestimmten Wertes Alpha, die geplanten maximal und minimal Werte (Faktorielle Punkte) und eines Zentralpunktes (in dem Fall so gewählt das er gängigen Bedingungen entspricht (12% Extrakt, 12 Mio./ml, 12 °C, 6 mg/l)). Dieser Zentralpunkt wird mehrfach zu verschiedenen Zeitpunkten wiederholt (in diesem speziellen Fall 5-mal) um auch die statistische Sicherheit des Versuchsansatzes bestimmen zu kommen. Durch die Verwendung des Kategoriefaktors Vitalität (hoch und niedrig) werden die sich ergebenden Versuchen (siehe Tabelle 1) sowohl mit Hefe hoher Vitalität als auch mit Hefe geringerer Vitalität wiederholt.

Tabelle 1: Durchgeführte Versuche. Die Parameterkombinationen wurden sowohl mit Hefe in gutem Zustand, als auch mit Hefe eines schlechteren Zustandes durchgeführt. Die Zentralpunkte sind grau unterlegt.

Versuch	Stammwürze [%]	Hefegabe [Mio./ml]	Gärtemp. [°C]	Belüftung [mg/l]
1	5,3	15	12	6
2	8	23	8	8
3	8	7	16	4
4	8	23	16	8
5	8	7	8	4
6	12	1,5	12	6
7	12	28,5	12	6
8	12	15	5,3	6
9	12	15	18,7	6
10	12	15	12	2,6
11	12	15	12	9,4
12	12	15	12	6
13	12	15	12	6
14	12	15	12	6
15	12	15	12	6
16	12	15	12	6
17	16	23	16	4
18	16	23	8	4
19	16	7	16	8
20	16	7	8	8
21	18,7	15	12	6

Die unterschiedlichen Würzen wurden aus einer Betriebswürze gewonnen. Dazu wurde die heiße Ausschlagwürze in vorbereitete Kegs abgefüllt bei denen bei niedrigeren Zielstammwürzen entsprechende Mengen Wasser vorgelegt worden war und bei höheren Zielstammwürzen Malzextrakt der Firma Weyermann.

Zur Einstellung der Belüftung wurden die Gärsäulen mit der Würze gefüllt und von unten mit steriler Luft begast, bis bei kontinuierlicher Sauerstoffmessung der gewünschte Sauerstoffgehalt erreicht war.

Nach der Durchführung der Versuche wurden die resultierenden Biere analysiert. Dabei wurde neben der klassischen Bieranalyse auch Gärzeit, Schaum, Vicinale Diketone, FAN, höhere Alkohole und Bieraromastoffe analysiert. Um Informationen zur Geschmacksstabilität zu erhalten wurde SO₂, Lag-Time, Antiradikalisches Verhalten, Antiradikalisches Potential, Reduktionsvermögen (aus letzteren 4 wurde zusätzlich der Stabilitätsindex ermittelt) und die Alterungsindikatoren analysiert. Außerdem wurde eine Alterungsverkostung durchgeführt.

Nach dem Eingeben der Ergebnisse in die Versuchsplanungssoftware wurde für jeden analysierten Parameter ein mathematisches Modell der Zusammenhänge ermittelt. Diese Modelle können nun von ihrer Aussagekraft sehr unterschiedlich sein. Dabei dienen unterschiedliche statistische Tests und Parameter zur Beurteilung der Modelle. Beispielhaft seien hier der Ausreißertest (siehe Abb. 1) und der Vergleich der R^2 der gefundenen Werte mit denen des Modells (siehe Abb. 2) anhand bestimmter Parametern dargestellt.

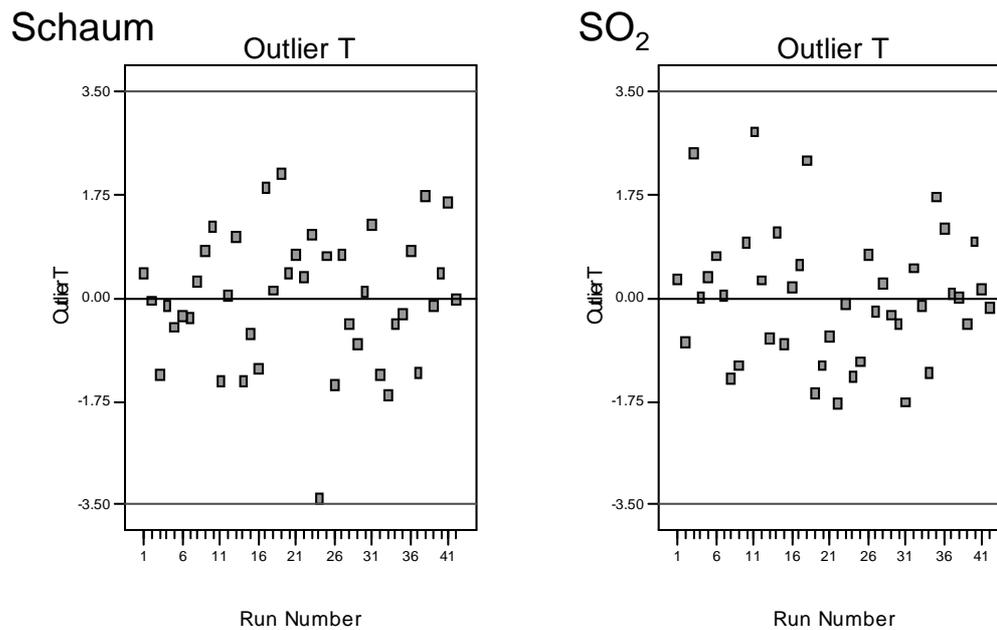


Abb. 1: Graphische Darstellung eines Ausreißertests an zwei Beispielen

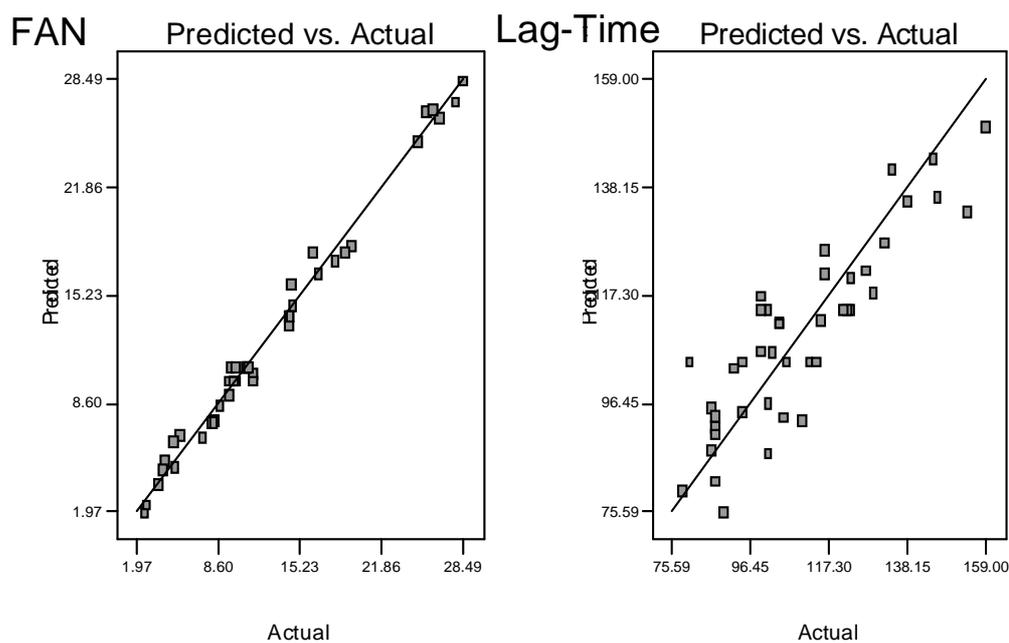
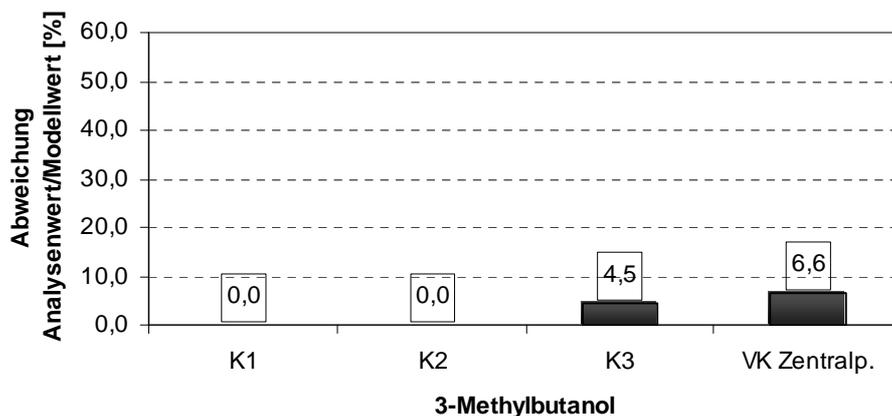
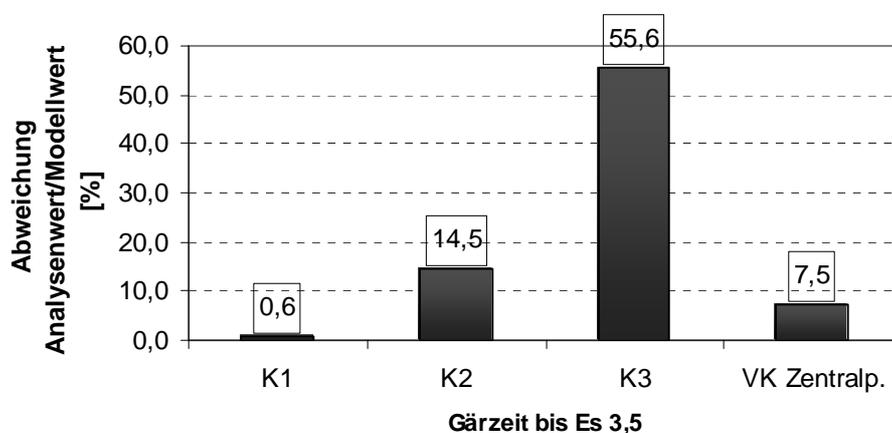


Abb. 2: Graphische Darstellung der Modellwerte gegen die Analysenwerte

Mit diesen Tests wird jedoch nur die statistische Güte des Modells überprüft. Da diese mathematischen Modelle, die aus lediglich 42 Versuchen gebildet wurden, nun die gesamten komplexen Zusammenhänge der Gärungsparameter Stammwürze, Gärtemperatur, Hefegabe, Belüftung und Hefevitalität darstellen, stellt sich die Frage, inwieweit diese mit der Realität übereinstimmen. Um das zu überprüfen wurden Kontrollversuche mit Kombinationen der Gärparameter durchgeführt, die im Rahmen der Versuchsreihen nicht verwendet wurden. Die ermittelten Ergebnisse wurden dann mit dem Werten aus dem Modell verglichen. In der Abbildung 3 sind einige Beispiele dargestellt.



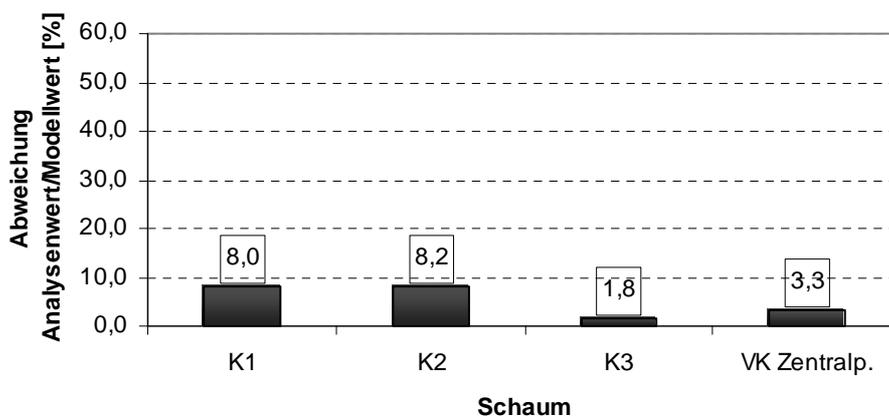
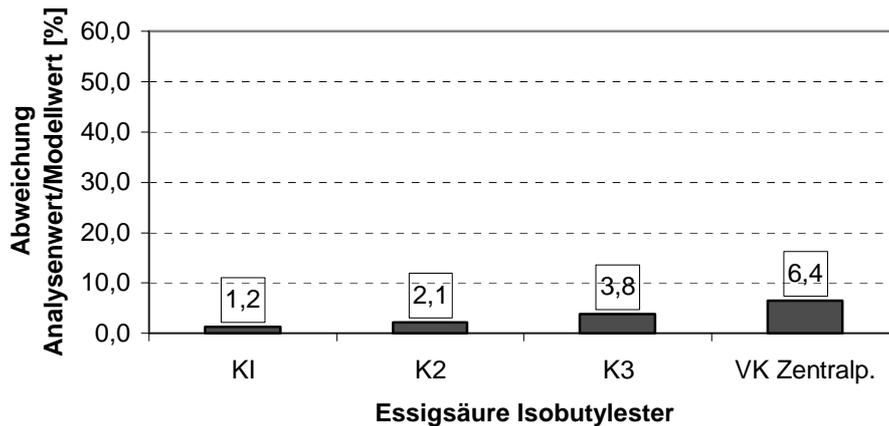


Abb. 3: Darstellung der prozentualen Abweichungen der drei Kontrollversuche gegenüber den Modellwerten. Im Vergleich ist der Variationskoeffizient der 5 Zentralpunkte dargestellt.

In den Diagrammen wurden neben den prozentualen Abweichungen der Kontrollversuche von den Modellwerten auch noch die Variationskoeffizienten der 5 Zentralpunkte angegeben damit ein Beurteilungskriterium vorliegt. Bei der Betrachtung der Beispiele zeigen sich bei den Werten für die Gärzeit erhebliche Differenzen zwischen Modell und Realität. Während bei 3-Methylbutanol (Beispiel für eine Headspace GC-FID Analyse) und bei Essigsäure-Isobutylester (Beispiel für eine Wasserdampfdestillation GC-FID Analyse) die Werte deutlich unter den Variationskoeffizienten der Zentralpunkte liegen. Damit könnte argumentiert werden, dass das Modell für die Gärzeit nicht passt, auch wenn die statistischen Parameter zeigen, dass es sich um ein sehr sicheres Modell handelt. Jedoch sollte erwähnt sein, dass die realen Gärzeiten durch die unterschiedlichen Bedingungen (insbesondere der Stammwürze und der Temperatur) zwischen 18 und 526 h lagen. Aufgrund der zum Teil extrem langen Gärungen ist statistisch ein Unterschied von 10 bis 20 h nicht sehr relevant. Daher weist das Modell im Bereich der kurzen Gärungen einen

größeren Fehler aus, der sich dann auch noch prozentual stärker bemerkbar macht. Der Versuch K3, der bei 15 °C vergoren wurde (tatsächliche Gärzeit 54 h; Abweichung 30 h) zeigt eine erheblich höhere prozentuale Abweichung als K2 (Gärtemperatur 13 °C; Gärzeit 110 h; Abweichung 17 h). Bei K1 (Gärtemperatur 9 °C; Gärzeit 161 h; Abweichung 1 h) stimmen Modell und Realität sehr gut überein. Daraus kann geschlossen werden, dass das Modell für die längeren Gärzeiten durchaus verwendet werden kann.

Ähnliche Abweichungen wie in der Abb. 3 für den Schaum dargestellt sind, sind bei einigen Analysenwerten zu finden. Sie weichen nicht extrem von den Modellwerten ab, aber einige Werte sind doch deutlich außerhalb des Variationskoeffizienten der Zentralpunkte. Das heißt nicht, dass die Modelle falsch sind, jedoch müssen die Ergebnisse mit gewisser Vorsicht interpretiert werden. Wie zu erwarten war, kommen natürlich auch Modelle vor, die entweder in sich schon statistisch ungenügend sind oder gar nicht mit den Kontrollversuchen übereinstimmen. Hier kann davon ausgegangen werden, dass diese Werte durch andere Einflüsse dominiert werden als die verwendeten Gärungsparameter.

2.2 Versuche im Produktionsmaßstab

Da es bei Versuchen im Produktionsmaßstab offensichtlich nur zu geringen Veränderungen im Geschmacksprofil kommen darf, genauso wenig wie zu übermäßig langen Gärzeiten, sind erhebliche Variationen der Gärungsparameter nicht möglich. Auch ist keine gezielte Beeinflussung der Hefequalität möglich. Jedoch können auch geringere Veränderungen der Gärparameter wertvolle Informationen liefern, wie sich die Stoffwechselprodukte der Hefe bei Variation der Gärparameter ändern. Um die Untersuchung nicht zu umfangreich zu gestalten und damit auch Probleme mit der Durchführung zu minimieren, wurden die zu untersuchenden Parameter auf Hefegabe, Temperatur und Belüftung beschränkt. Dazu wurde eine faktorielle Versuchsplanung über zwei Stufen gewählt. Um noch einige zusätzliche Informationen über den Verlauf zwischen den Extremwerten und über die Statistik zu erhalten wurden noch Zentralversuche im Doppelansatz durchgeführt. Die Versuchsplanung sah wie folgt aus:

Bedingungen für die Zentralpunkte:

Hefegabe	15 Mio. Zellen / ml
Temperatur	14 °C
Belüftung	beide Sude oder ein Sud belüftet

Variation der Versuche:

	Max	Min
Hefegabe	20	10 Mio Zellen / ml
Temperatur	15	13 °C
Belüftung	1 Sud	2 Sude

Die 2 Level faktorielle Versuchsplanung mit Zentralpunkten ergab folgende Versuche:

Versuch	Temperatur [°C]	Hefegabe [Mio./ml]	Belüftung
1	13.00	10.00	2Sude
2	13.00	20.00	2Sude
3	13.00	10.00	1Sud
4	13.00	20.00	1Sud
5	14.00	15.00	2Sude
6	14.00	15.00	1Sud
7	14.00	15.00	1Sud
8	14.00	15.00	2Sude
9	15.00	10.00	1Sud
10	15.00	20.00	2Sude
11	15.00	20.00	1Sud
12	15.00	10.00	2 Sude

Da es in der Brauerei nicht möglich war, die Versuche im einzelnen ohne Verschneiden bis zum fertigen Bier isoliert zu führen, wurde nach der Hauptgärung und der Reifung ein gereinigtes Keg mit dem Jungbier gefüllt. Dieses wurde 2 Wochen bei 0 °C gelagert und anschliessend filtriert und abgefüllt.

Der Umfang der Analysen entspricht dem der Untersuchungen im Pilotmaßstab.

3 Ergebnisse

3.1 Einfluss der Parameter auf die Gärgeschwindigkeit

Neben den Faktoren Stammwürze und Temperatur, die offensichtlicher Weise einen sehr starken Einfluss auf die Gärzeit haben zeigen auch die Hefegabe und die Belüftung die zu erwartenden Einflüsse auf die Gärzeit. Hohe Belüftungen und hohe Hefegaben beschleunigen die Gärung und dieses zum Teil sehr deutlich. Interessant sind hierbei auch die Interaktionen der Parameter die jedoch aufgrund der Komplexität hier nicht dargestellt werden können.

Im Pilotmaßstab zeigt sich, dass auch die Hefevitalität einen deutlichen Einfluss auf die Gärzeit hat. Insbesondere ist dieses der Fall bei Bedingungen die für die Hefe ungünstig sind. Also bei hohen Stammwürzen, niedrigen Temperaturen, niedrigen Belüftungsraten, niedrigen Hefegaben oder Kombinationen aus diesen Parametern. Aufgrund der längeren Gärzeit durch diese Bedingungen kann davon ausgegangen werden, dass das Modell tatsächlich weitgehend mit der Realität übereinstimmt, was wie beschrieben bei kurzen Gärzeiten nicht der Fall ist. Durch die Verwendung von schwächerer Hefe kommt es zu Gärverzögerungen von bis zu 30 % was insofern überrascht, da die Hefe mit einem ICP-Wert von 5,8 im klassischen Sinne nicht als schlecht gelten kann, da maximal ein Totanteil von ca. 7 % bei der Schwächung der Hefe erreicht wurde. Dieses lässt darauf schließen, dass der physiologische Zustand einen sehr großen Einfluss auf die Gärgeschwindigkeit hat, bevor dieser mit dem klassischen Lebend-Tot-Nachweis erfasst werden kann.

3.2 Einfluss der Parameter auf die Stoffwechselprodukte der Hefe

Bei den Stoffwechselprodukten der Hefe müssen verschiedene Stoffgruppen unterschieden und auch getrennt betrachtet werden. Bei Diacetyl lassen sich die bekannten Zusammenhänge bestätigen. Dominierend ist die Stammwürze mit hohen Diacetylwerten bei hohen Extraktgehalten. Höhere Gärtemperaturen und hohe Belüftungsraten begünstigen den Abbau von Diacetyl. Im Pilotmaßstab zeigt sich, dass Hefe eines besseren physiologischen Zustandes in der Lage ist, Diacetyl schneller abzubauen. Die Zusammenhänge, die bei Diacetyl gefunden wurden, sind jedoch statistisch gesehen sehr unsicher.

Ein weiter Jungbukettstoff ist Acetaldehyd. Hier wurden die Werte im fertig abgefüllten Bier bestimmt. Dabei stellte sich heraus, dass doch zum Teil sehr große Unterschiede

in den Bieren zu finden waren, obwohl alle Biere vergleichbar weit vergoren wurden und auch die gleichen Reifungs- und Lagerzeiten eingehalten wurden. Wie beim Diacetyl ist der dominanteste Einfluss die Stammwürze. Daneben zeigt sich jedoch, dass die Belüftung einen sehr großen Einfluss auf die Bildung und den Abbau von Acetaldehyd hat. Hohe Belüftungsraten reduzieren den Acetaldehydgehalt im fertigen Bier erheblich, insbesondere im großtechnischen Maßstab. Temperatur und Hefegabe zeigen keine so deutlichen Einflüsse, wobei bestätigt werden kann, dass höhere Gärtemperaturen den Abbau fördern. Einen deutlichen Einfluss hat jedoch wiederum die Hefevitalität. Hefen in einem weniger guten Zustand sind nicht in der Lage Acetaldehyd soweit abzubauen wie es eine Hefe in gutem Zustand vermag.

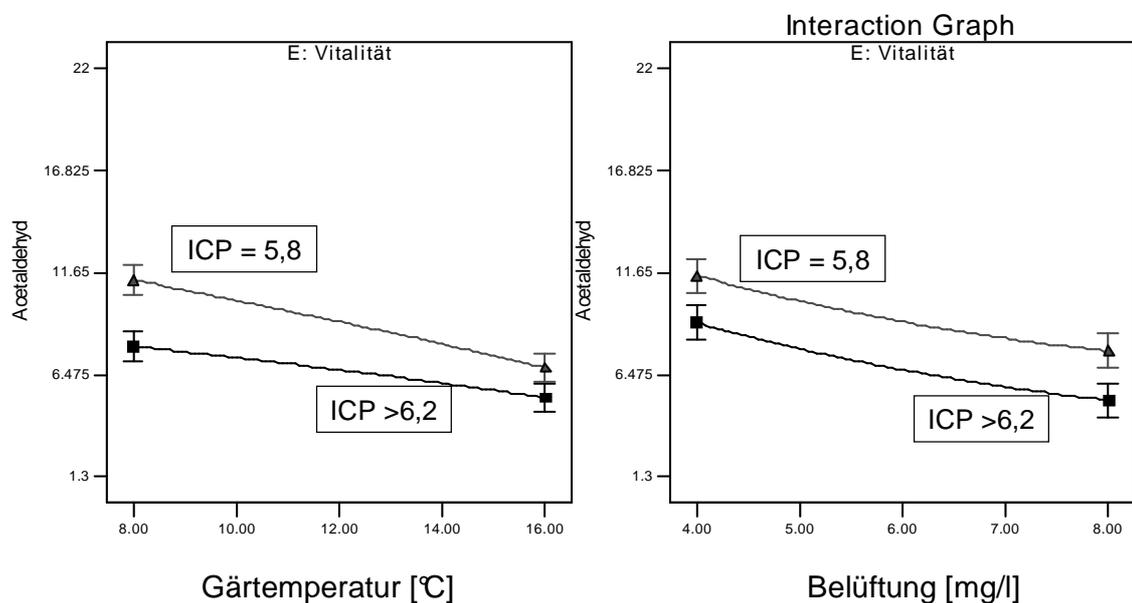


Abb. 4: Einfluss der Hefevitalität und anderer Parameter auf den Gehalt von Acetaldehyd im fertigen Bier im Pilotmaßstab

Dieser deutliche Einfluss der Hefevitalität, wie er für die Gärzeit und die Jungbukettstoffe zu finden ist, kann für die höheren Alkohole und Ester nicht bestätigt werden. Auf diese Stoffgruppen kann im Detail hier nicht eingegangen werden, da hier eine umfangreiche Anzahl von höheren Alkohole und Ester analysiert wurde und diese zum Teil sehr individuell durch die Gärungsparameter beeinflusst werden. Die gefundenen Modelle sind in den meisten Fällen sowohl statistisch, als auch in ihrer Übereinstimmung mit den Kontrollversuchen als gut zu bezeichnen.

Was im Allgemeinen bestätigt werden kann, ist dass höhere Gärtemperaturen und höhere Stammwürzen bei der überwiegenden Anzahl der Stoffe zu ansteigenden

Gehalten von höheren Alkoholen und Estern führen und dass es sich dabei um die dominierenden Faktoren handelt.

Die höheren Alkohole werden in der Regel durch hohe Belüftungsraten gesteigert. Dieses ist deutlicher bei der Versuchsreihe im großtechnischen Maßstab. Das kann seine Ursache auch darin haben, dass es bei dem Befüllen eines Tanks mit zwei Suden zu einem zeitlichen Abstand der Belüftungen des Tankes kommt.

Bei den Estern ist eine Unterscheidung in Essigsäureester und Ethylester zweckmäßig. Wie schon beschrieben zeigen die einzelnen Stoffe zwar sehr individuelle Reaktionen auf die Änderung der Gärungsparameter, jedoch sind die Veränderungen innerhalb dieser Gruppen ähnlich. Auch lassen sich für diese Gruppen gut funktionierende Modelle bilden.

Neben dem beschriebenen Einfluss der Stammwürze und der Temperatur spielt die Hefegabe eine wichtige Rolle bei der Bildung der Ester. Das Thema der Esterbildung wird in der Literatur sehr kontrovers diskutiert. Bei den vorliegenden Versuchen zeichnet sich bei den Essigsäureestern deutlich ab, dass höhere Hefegaben zu höheren Gehalten an Essigsäureestern führen (siehe Abb. 5) und zwar bei den Pilotversuche und in der Produktion (dieser Zusammenhang ist in der Produktion statistisch jedoch nicht signifikant).

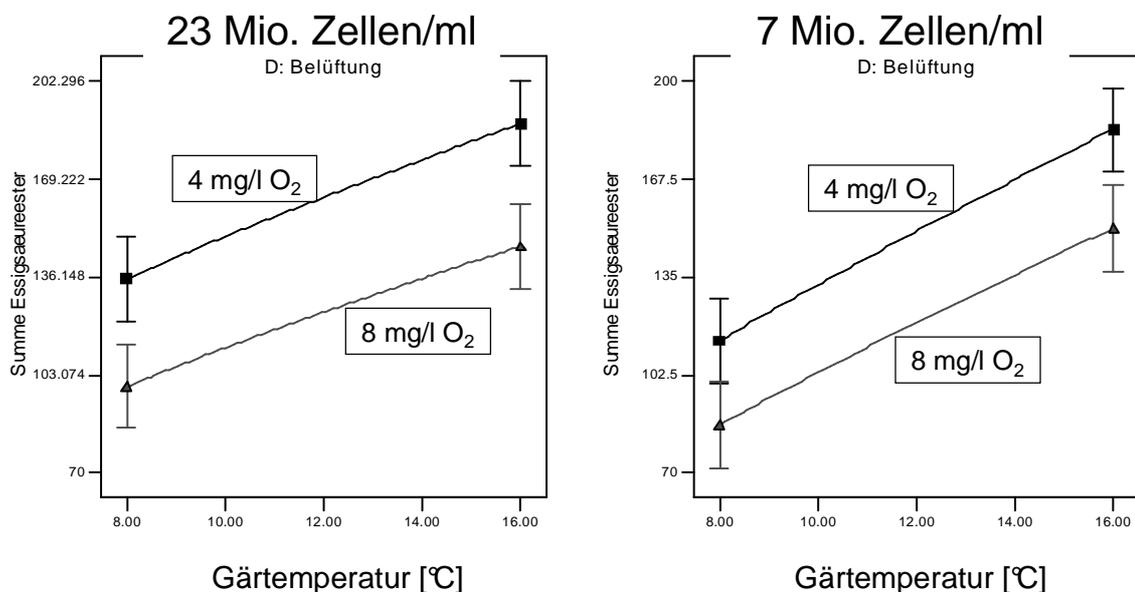


Abb. 5: Einfluss Gärtemperatur und der Belüftung bei 23 Mio. Zellen/ml und 7 Mio. Zellen/ml Hefegabe auf die Summe der Essigsäureester im Pilotmaßstab

Dieses kann damit mit der Theorie begründet werden, dass Acetyl-CoA für die Estersynthese eine wichtige Rolle spielt. Bei hohen Hefegaben kommt es zu einer geringeren Vermehrung und damit wird weniger Acetyl-CoA für die Fettsäuresynthese benötigt und steht damit für die Estersynthese zur Verfügung. Bestätigt wird dies durch einen positiven Einfluss von geringen Belüftungsraten auf die Bildung von Essigsäureestern, da geringere Sauerstoffmengen ebenfalls zu einer geringeren Vermehrung führen und damit die Esterbildung positiv beeinflussen. Bei den Verläufen der Ethylester ist jedoch zu beobachten, dass mit höheren Hefegaben geringere Mengen an den Estern gebildet werden und dies deutlich in beiden Versuchsreihen. Im Pilotmaßstab zeigt eine Änderung der Belüftung kaum Änderung in der Bildung der Ethylester. In der Produktion dagegen hat eine höhere Belüftung eine deutliche Verringerung der Ethylestergehalte zur Folge. Diese Unterschiede sind wahrscheinlich in der mehrfachen Belüftung mit zeitlichen Abständen in der Produktion zu suchen.

Als weiteres wichtiges Stoffwechselprodukt ist Schwefeldioxid zu nennen. SO_2 ist wegen seiner antioxidativen Wirkung und damit wegen seines positiven Einflusses auf die Geschmackstabilität erwünscht. Hier bestätigen die Versuchsreihen deutlich vorangegangene Untersuchungen zur SO_2 -Bildung bei denen festgestellt wurde, dass es neben der Stammwürze insbesondere die Belüftung und die Hefegabe sind, die diesen Parameter beeinflussen. Geringe Belüftung und geringe Hefegabe wirken sich positiv auf die SO_2 -Bildung aus. In den Pilotversuchen konnten mit der Kombination von hoher Stammwürze, geringer Belüftung und Hefegabe SO_2 -Werte von über 30 mg/l erreicht werden. Werte in diesem Bereich sind jedoch nur mit einem Hefestamm möglich, der ein hohes SO_2 -Bildungsvermögen hat wie der Stamm Hebru.

3.3 Einfluss der Parameter auf die Geschmackstabilität

Ein wichtiger Aspekt der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung, in wieweit sich die Hefevitalität, aber auch die Gärungsparameter auf die Geschmackstabilität auswirken. Zur Untersuchung dieser Zusammenhänge wurden der Stabilitätsindex und die Alterungsindikatoren ermittelt und es wurden Verkostungen der fertigen Biere im frischem und forciert gealtertem Zustand durchgeführt.

Der Stabilitätsindex wird aus den Analysen der Lag-Time-Bestimmung, des antiradikalischen Verhalten (ARV), des antiradikalischen Potentials (ARP) und dem Reduktionsvermögen errechnet. Damit wird versucht den Beitrag der Stoffe und Stoffgruppen zu erfassen die im Bier eine Alterung verlangsamen können.

Wie viele Untersuchungen schon gezeigt haben ist die Lag-Time hoch korreliert mit dem SO₂-Gehalt. Dieses kann auch in dieser Untersuchung bestätigt werden. Sowohl der Vergleich der tatsächlich gefundenen Werte als auch der Vergleich der Modelle spiegelt diese Korrelation wider.

Das ARP und das Reduktionsvermögen sind in der vorliegenden Untersuchung durch die Stammwürze dominiert. Insbesondere das Reduktionsvermögen im Pilotmaßstab wird fast ausschließlich durch die Stammwürze bestimmt. Eine mögliche Erklärung hierfür ist darin zu suchen, dass das Reduktionsvermögen insbesondere durch die Melanoidine bestimmt wird. Bei der Untersuchung im Pilotmaßstab wurden die unterschiedlichen benötigten Würzen aus ein und derselben Würze durch Wasser- oder Malzextraktzugabe hergestellt und sollten daher auf den einzelnen Stammwürzestufen keine Unterschiede in den Melanoidinen aufweisen.

Der Stabilitätsindex korreliert in diesem Fall stark mit dem SO₂-Gehalt (siehe Abbildung 6).

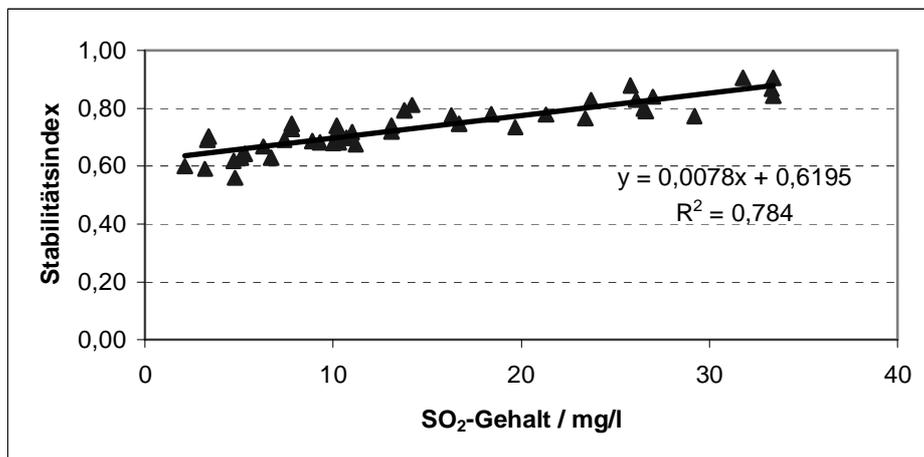


Abb. 6: Korrelation zwischen dem Stabilitätsindex und dem SO₂-Gehalt im Pilotmaßstab

Daher zeigen sich sehr ähnliche Zusammenhänge. Zum einen wirkt sich eine zunehmende Stammwürze positiv auf den Stabilitätsindex aus. Zum anderen kann mit den Gärparametern Belüftung und Hefegabe der Stabilitätsindex beeinflusst werden. Dabei wirken sich eine geringe Belüftung und eine niedrige Hefegabe positiv aus.

Bei der Betrachtung der Alterungsverkostung hingegen zeigt sich deutlich, dass die Stammwürze fast keinen Einfluss auf die Alterungsnote und die Akzeptanz hat. Hier spielen die Parameter Hefegabe und Belüftung eine weitaus bedeutendere Rolle. Eine Übereinstimmung mit den Einflüssen auf den Stabilitätsindex ist, dass sich geringere Hefegaben positiv auswirken. Bei der Belüftung zeigt sich jedoch deutlich, dass sich eine hohe Belüftungsrate zusammen mit einer geringen Hefegabe am günstigsten auf die Alterungsnote und die Alterungsakzeptanz auswirken. Und diese sowohl im Pilot- als auch im Produktionsmaßstab (siehe Abb. 6).

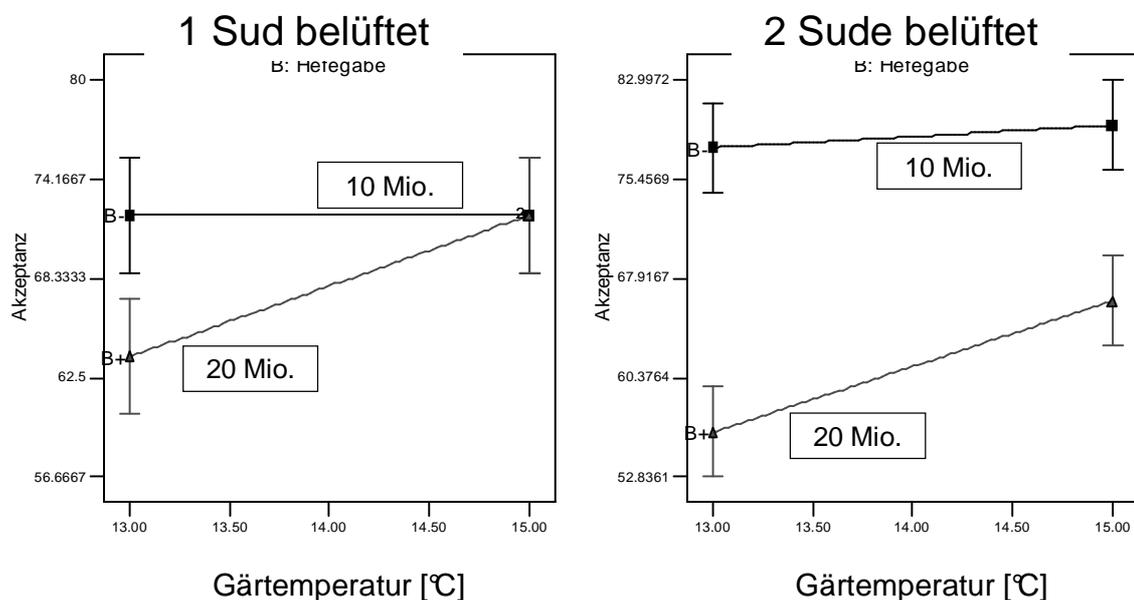


Abb. 6: Einfluss der Gärtemperatur und der Hefegabe auf die Alterungsakzeptanz im Produktionsmaßstab bei der Belüftung eines von zwei Suden/Tank und beiden Suden/Tank

Der Einfluss der Gärtemperatur ist weniger stark und nur in bestimmten Kombinationen von Hefegabe und Belüftung relevant.

Bei den Alterungsindikatoren zeigt sich ein ähnliches Bild, wobei die Kombination der geringen Hefegabe mit viel Luft sich nicht so deutlich positiv auswirkt, wie bei der Verkostung. Im großtechnischen Maßstab zeigt sich der Vorteil dieser Kombination noch stärker als im Pilotmaßstab.

4 Zusammenfassung

Zum einen wurde in diesem Projekt eine Versuchsreihe im Maßstab von 20 l durchgeführt, bei der die Veränderung der Parameter Stammwürze, Gärtemperatur, Hefegabe, Belüftung und Hefevitalität vorgenommen wurde. Um bei Variation so vieler Parametern noch eine durchführbare Versuchsanordnung zu erhalten, wurde ein mathematisch statistischer Versuchsansatz gewählt, bei dem, über die Ergebnisse von vorgegebenen Parameterkombinationen, mathematische Modelle für die Zusammenhänge gebildet werden.

Die zweite Versuchsreihe wurde im Produktionsmaßstab (3000 hl) durchgeführt. In dieser Versuchsreihe war es nicht möglich die Hefevitalität zu variieren und die durchgeführten Veränderungen der Parametern Gärtemperatur, Hefegabe und Belüftung wurden geringer gewählt, damit es nicht zu extremen Veränderungen in den resultierenden Verkaufsbieren kommen konnte.

Insbesondere durch den speziellen Ansatz im Pilotmaßstab ist es mit dieser Untersuchung gelungen den Einfluss der untersuchten Parametern auf eine Vielzahl von Stoffwechselprodukten, aber auch auf die Gärzeit und die Geschmackstabilität deutlich abzubilden. Da viele dieser Zusammenhänge in der Literatur sehr kontrovers diskutiert werden, kann diese Untersuchung dazu beitragen einer Klärung näher zu kommen. Interessant hierbei ist auch, dass viele Zusammenhänge auch im Produktionsmaßstab betätigt werden konnten.

Neben der Klärung der allgemeinen Zusammenhänge zeigt diese Untersuchung erstmals auf, wie sich der physiologische Zustand der Hefe auf die Gärung, die Stoffwechselprodukte der Hefe und auf die Geschmackstabilität auswirkt. Gerade durch die Tatsache, dass die Hefevitalität (zumindest in dem untersuchten Bereich) kaum Einfluss auf die höheren Alkohole und Ester hat kann erklären, warum in Brauereien sehr häufig erst über Probleme z. B. mit der Schaumhaltbarkeit festgestellt wird, dass die Qualität der eingesetzten Hefe mangelhaft war. Dass die Hefevitalität jedoch ein wichtiger Parameter ist, zeigt sich dadurch, dass gerade in den ökonomisch bedeutenden Bereichen wie der Gärgeschwindigkeit und dem Diacetylabbau ein großer Einfluss der Hefevitalität zu finden ist.

Auch zeigen die vorliegenden Untersuchungen, dass die Gärungsparameter einen sehr großen Einfluss auf die Geschmackstabilität haben und dass positive Einflüsse nicht ausschließlich durch Kombinationen verursacht werden, die die SO₂-Bildung begünstigen.