



BERICHT

zu Forschungsvorhaben

B 90

- Zwischenbericht Nr.: 1
 Abschlußbericht

für den Zeitraum vom: 15.08.2005 bis: 01.06.2006

Thema / Forschungsziel:

Ist es möglich, durch gezielte Versorgung der Hefe mit Sauerstoff während Propagation oder Anstellens die Hefe in einen physiologischen Zustand zu versetzen, der die Adaptionszeit bei der Angärung verringert und eine geringere Sauerstoffbelastung der Prozesswürze ergibt? Und ergeben sich hieraus Vorteile für die Stabilität des Bieres?

Forschungsstelle:

Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt

Department für Lebensmittel und Ernährung
Lehrstuhl für Technologie der Brauerei II
Alte Akademie 3
85354 Freising - Weihenstephan

Leiter der Forschungsstelle:

Prof. Dr.-Ing. E. Geiger

Projektleiter:

Dipl.-Ing. Sven Schönenberg

Verfasser des Berichtes:

Dipl.-Ing. Sven Schönenberg

Datum:

02.06.2006

Zwischenbericht des laufenden Vorhabens B90

Inhaltverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	2
2 Auszug der Ergebnisse des laufenden Projektes	3
2.1 Problematik der unterschiedlichen Hefephysiologien als Ausgangszustand	3
2.2 Aufbau der Versuchsanlagen und Entwicklung neuer enzymatischer Analytik (AP 2)	5
2.2.1 Aufbau einer neuen Propagationsanlage zur besseren Untersuchung von Prozessbedingungen auf die Physiologie und Gärungseigenschaften der Hefe	5
2.2.2 Entwicklung enzymatischer Tests zur Messung der Enzyme des PDH-Bypasses	6
2.3 Untersuchungen zur Bedeutung des PDH-Bypasses bei der Versorgung der Hefezelle mit Acetyl-CoA bei der Gärung (AP 3)	8
2.4 Aktivitätsverläufe der am PDH-Bypass beteiligten Enzyme bei der Gärung und Propagation (AP 3)	9
2.5 Belüftungsintervalle bei der Propagation zur Steuerung der Hefephysiologie (AP 4)	11
2.6 Einfluss der Würzebelüftung auf die Gärung mit Propagationshefe (AP 3)	12
2.7 Einfluss der Würzebelüftung und Gärung auf die resultierende Geschmackstabilität (AP 5)	14
3 Zur Zeit laufende Versuchsreihen	16
4 Ausblick und geplante Arbeiten	16
5 Kurzbericht / Zusammenfassung	18
6 Literaturverzeichnis	20
7 Anhang	22
A Abbildungsverzeichnis	22
B Abkürzungsverzeichnis	23
C Abbildung Energiestoffwechsel und Schlüsselenzyme der Hefe	23

1 Einleitung

Der Einfluss von Propagation und Gärung als zentrale Prozessschritte bei der Bierbereitung auf Qualität und Stabilität soll im Rahmen dieses Forschungsvorhabens untersucht werden. Denn trotz der hohen Bedeutung der Hefestoffwechsels für die Geruchs- und Geschmacksstabilität sowie die kolloidale Stabilität ist dem Hefemanagement in der Praxis ein zu geringer Stellenwert zugekommen. Neben der Viabilität und Vitalität der Hefe ist die optimale Sauerstoffversorgung im Bereich der Würzebelüftung in Kombination mit einem optimal angepassten physiologischen Zustand für Qualität und Stabilität ausschlaggebend.

Weiter können mit dem Gärungsprozess physiologisch optimal angepasste Hefen die Adaptionzeiten bei der Angärung bei Drauflassverfahren wesentlich verkürzt oder im Idealfall beseitigt werden. Die damit verbundene Verkürzung der Gärdauer hätte Einfluss auf die Tankbelegung, Kühlung und die daraus resultierenden Kosten.

Davon ausgehend ist zum Erreichen des Forschungsziels, **„Ist es möglich, durch gezielte Versorgung mit Sauerstoff während Propagation oder Anstellen die Hefe in einen physiologischen Zustand zu versetzen, der die Adaptionzeit bei der Angärung zu verringert und eine geringere Sauerstoffbelastung der Prozesswürzen ergibt? Und ergeben sich hieraus Vorteile für die Stabilität des Bieres?“**, das Arbeitsprogramm in verschiedene Arbeitspakete (AP) gegliedert worden. Unter AP 1 ist die Einarbeitung, die detaillierte Arbeitsplanung und eine Vertiefung des Literaturstudiums zusammengefasst. Weiter soll in AP 2 der Aufbau und die Bereitstellung der nötigen Versuchsanlagen und Analytik erfolgen. Die daran anschließenden experimentellen Untersuchungen zur Charakterisierung der physiologischen Reaktion der Hefe auf unterschiedliche Sauerstoffversorgung bildet das AP 3. Unter anderem mit aus dem in AP 3 gewonnen Erkenntnissen soll im Folgenden AP 4 ein experimentelles Prozessdesign zur Einstellung des physiologischen Zustandes der Hefe entwickelt werden. Die Analyse der resultierenden Geschmacksstabilität aus den veränderten Prozessbedingungen ist Kernpunkt von AP 5. Die Rahmenarbeiten, zusammengefasst in AP 6, stellen Verwaltungsaufgaben, Projektberichterstattung, Präsentationen und Veröffentlichungen dar.

2 Auszug der Ergebnisse des laufenden Projektes

Zu Beginn wurden die AP 1 und 2 als Grundlage für dieses Forschungsvorhaben bearbeitet. Dazu zählten neben der Vertiefung des Literaturstudiums im Bereich der Hefephysiologie der Aufbau einer neuen Versuchsanlage zur besseren Betrachtung des Einflusses der Prozessparameter auf die Hefe, die Entwicklung neuer enzymatischer Tests und die Einbindung der Probenaufbereitung für die Bestimmung der Alterungskomponenten am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei II. Weiterhin sind im Folgenden erste Ergebnisse zur Charakterisierung des physiologischen Zustandes der Hefe und Ansätze des Prozessdesigns bei der Propagation aus der Bearbeitung der AP 3 und 4 dargestellt. Zusätzlich sind Versuche zur Geschmackstabilität in Zusammenhang mit der Würzebelüftung und Hefephysiologie angelaufen (AP 5).

2.1 Problematik der unterschiedlichen Hefephysiologien als Ausgangszustand

Wie auch schon bei früheren am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei 2 durchgeführten Versuchsreihen kam es auch bei den ersten Versuchen im Rahmen dieses Forschungsvorhabens zu dem allgemeinen Problem von beträchtlichen Unterschieden im physiologischen Ausgangszustand der verwendeten Hefen. Wie die Mittelwerte mit den entsprechenden maximalen Abweichungen der Enzymaktivitäten am Beispiel des PDH-Bypasses in Abbildung 2.1 zeigen, kommt es bei der Ausgangshefe zu Schwankungen um bis 100 %.

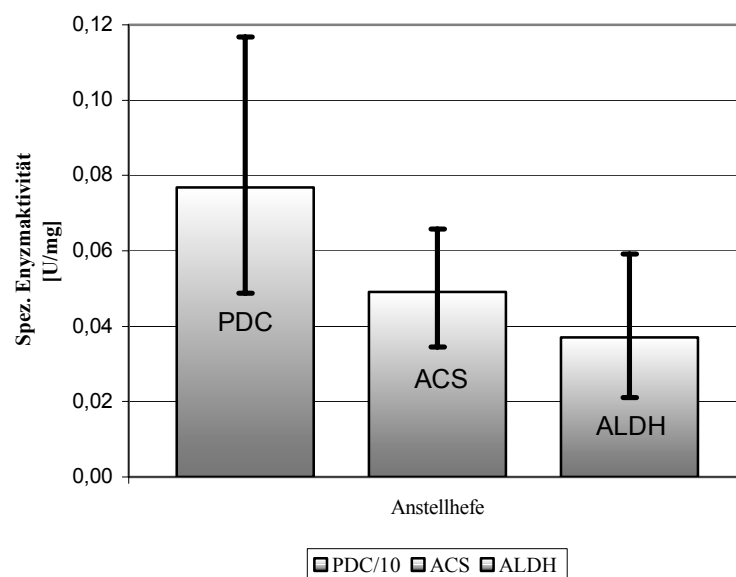


Abbildung 2.1: Schwankungsbreite der Ausgangsaktivitäten der Enzyme in verschiedenen Versuchsreihen

Weiterhin fielen bei vielen Versuchsreihen die hohen Anfangsaktivitäten der Presshefe auf, die u. U. während des Gärprozesses nicht mehr erreicht werden konnten. Auf Grund dessen wurden die Ausgangshefen, deren Bedingungen und die scheinbaren Auswirkungen auf den physiologischen Zustand näher untersucht.

Um Hefe in ausreichender Menge und lagerungsbeständig zu Verfügung zu haben, wird die Hefe nach der ersten Gärung aus dem Prozess geerntet, zentrifugiert und anschließend gepresst. Um die Auswirkungen auf die Physiologie zu betrachten, wurden Proben der einzelnen Schritte auf die Unterschiede in den Enzymaktivitäten untersucht worden. Dabei zeigten zwei von drei Messreihen mit der Zunahme der Enzymaktivitäten sämtlicher Schlüsselenzyme eine eindeutige Tendenz (vgl. Abbildung 2.2).

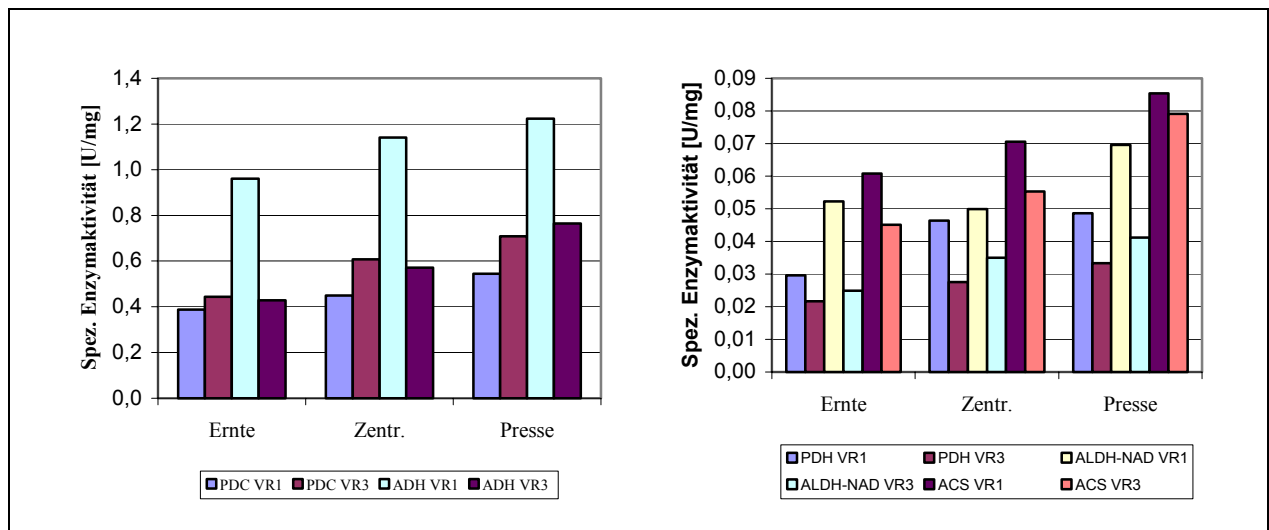


Abbildung 2.2: Veränderung der Enzymaktivitäten in der Zentrifuge und Presse

Das erklärt zwar die gemessenen hohen Enzymaktivitäten der Ausgangshefe für die vorgenommenen Versuchsreihen, wirft jedoch die Frage nach dem Einfluss der Prozessschritte auf die Hefephysiologie auf. Eine Erklärung dafür ist der mögliche Wasserentzug aus der Hefe und der damit verbundene steigende Anteil der Hefetrockensubstanz. Das würde zu einer höheren Proteinmenge bei gleichem Probenvolumen führen und damit nicht gleichermaßen zu einem verbesserten physiologischen Zustand.

Solange die Möglichkeiten, den physiologischen Zustand im Einzelnen zu steuern, nicht gegeben sind, können nur parallel gestaltete Versuchsreihen Aufschluss über die Bedeutung der jeweiligen Prozessparameter geben. Dann wird es möglich sein, die nötigen Erkenntnisse zu sammeln, um im Bereich des Hefemanagements gezielt auf die Qualität und Stabilität des Bieres Einfluss zu nehmen.

2.2 Aufbau der Versuchsanlagen und Entwicklung neuer enzymatischer Analytik (AP 2)

2.2.1 Aufbau einer neuen Propagationsanlage zur besseren Untersuchung von Prozessbedingungen auf die Physiologie und Gärungseigenschaften der Hefe

Die unter Kap. 2.1 dargestellten Ergebnisse waren ausschlaggebend für die Planung und Umsetzung einer neuen Versuchsanlage am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei II. Vor allem die in den jeweiligen Versuchsreihen unterschiedlichen Ausgangsphysiologien der Hefe machen tatsächliche Aussagen über den Einfluss verschiedener Parameter schwierig. Leichte Schwankungen in der Würzezusammensetzung und Anstellkonzentration bei den Hefen machen deutlich, dass auf dieser Basis genaue Untersuchungen auf die Einflussfaktoren, speziell bei der Hefeherführung, im Detail immer Verfälschungen mit sich bringen. Parallele Versuchsbedingungen zur genaueren Betrachtung zum Einfluss der jeweiligen Prozessparameter (Sauerstoffgehalt, N₂- oder CO₂-Atmosphäre bei der Intervallbelüftung der Hefepropagation) sind nun gegeben. Somit können auch Unterschiede in der Würzezusammensetzung bei der Betrachtung einzelner Versuchsreihen ausgeschlossen werden.

Bei der im Rahmen dieses Forschungsvorhabens zusammengestellten Anlage handelt es sich um zwei 10-Liter Fermenter und zwei 10-Liter Gärtanks, die durch einheitlichen Antrieb und identischen Belüftungseinrichtungen sowie exakt gleichen geometrischen Verhältnissen vergleichbare Herführungen ermöglichen. Die Anlage ist u.a. mit einer Sauerstoffmessung zur genauen Bedarfsermittlung ausgerüstet. Im Weiteren ist es nun ebenfalls möglich, den Einfluss der Druckgärung sowohl auf die Hefephysiologie als auch die resultierenden Unterschiede in der Geschmacksstabilität zu analysieren.

Wie die Verläufe von Extraktabbau, ZiS und pH-Wert der parallelen Anlagenteile aus Gärung und Propagation, dargestellt in Abbildung 2.3, zeigen, handelt es sich um nahezu identische Verläufe. Somit ist eine sehr gute Vergleichbarkeit gegeben, bei der die unterschiedlichen Ausgangssituationen der Hefe und der darin begründeten unterschiedlichen Reaktionen auf veränderte Prozessbedingungen, ausgeschlossen werden können.

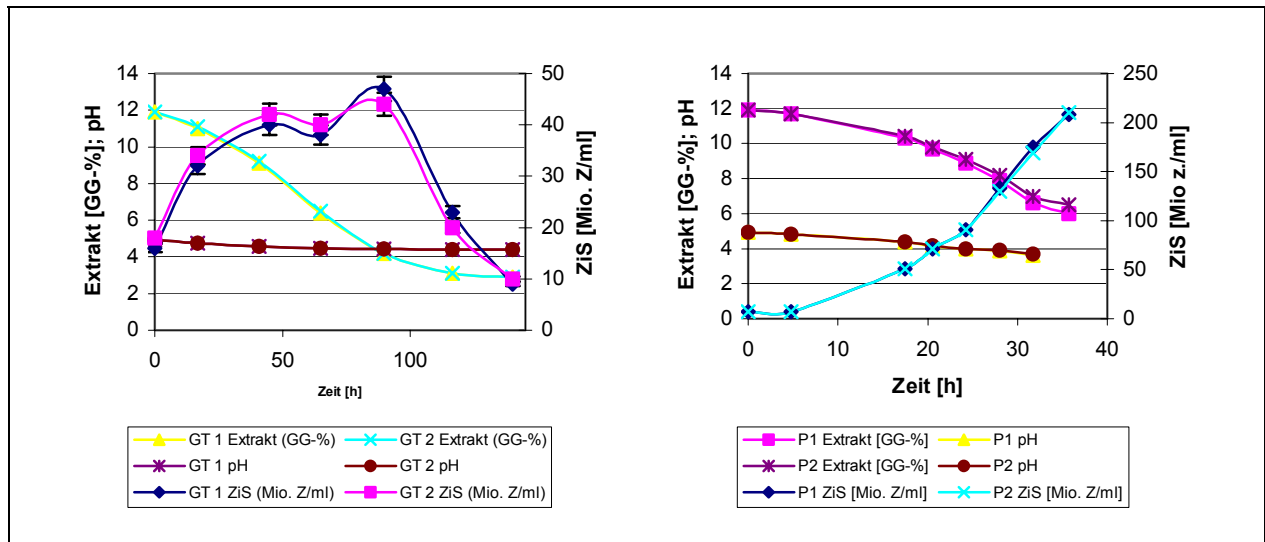


Abbildung 2.3: Vergleichsgärungen und Propagation der neu eingerichteten Versuchsanlage

2.2.2 Entwicklung enzymatischer Tests zur Messung der Enzyme des PDH-Bypasses

Bei der Betrachtung des Kohlenhydratstoffwechsels (Teilbereich Literaturstudium AP 1) in der Hefe wird deutlich, dass die Hefe nicht nur die Möglichkeit hat, über den Pyruvatdehydrogenase-Komplex bzw. über die Pyruvatdecarboxylase (PDC, E.C. 4.1.1.1) und Alkoholdehydrogenase (ADH E.C. 1.1.1.1) Pyruvat abzubauen (s. Abbildung Anhang C). Die Hefe ist ebenso in der Lage, den Acetaldehyd über die Enzyme Acetaldehyddehydrogenase (ACDH, E.C. 1.2.1.4 und 1.2.1.5) und Acetyl-Coenzym A Synthase (ACS, E.C. 6.2.1.1) über das Intermediärprodukt Acetat zu Acetyl-CoA umzusetzen. Der PDH-Bypass fasst diese Enzyme, die den Reaktionsweg vom Pyruvat über Acetaldehyd zu Acetyl-CoA katalysieren, zusammen.¹ Wobei zwischen einer im Cytosol lokalisierten Mg^{2+} -aktivierten und einer mitochondrialen K^{+} -aktivierten ACDH unterschieden werden kann. Bei der ACS werden in der Literatur ebenfalls zwei unterschiedlich gencodierte Formen unterschieden². Neben der aeroben Form die durch Glucose und Ethanol reprimiert wird, existiert eine durch Ethanol und Glucose exprimierte ACS, die unter den vorliegenden Bedingungen in Bierwürzen von essentieller Bedeutung im Kohlenhydratstoffwechsel der Hefe ist.³

Aus den bisher am Institut gesammelten Ergebnissen über den physiologischen Zustand der Hefe in der Brauerei mit Hilfe von Enzymaktivitätsmessungen hat sich die Bedeutung des PDH-Bypasses bereits angedeutet.⁴ Nicht allein für die Möglichkeit der Energiegewinnung im

¹ Vgl.: Briggs, D., E. et al.: Brewing science and practice, Cambridge: WP limited, S. 429 (2004)

² Vgl.: van den Berg, M. A., et al.: The Journal of Biological Chemistry, Vol. 271, No.46, S. 28953-28959 (1996)

³ Vgl.: van den Berg, M. A., et al.: Eur. J. Biochem, Vol. 231, S. 704-713 (1995), S.704-713 (1995)

⁴ Vgl.: Wellhoener, U.: Dissertation, TU München (in Bearbeitung), (2006)

Citratzyklus ist eine Versorgung der Hefe mit Acetyl-CoA wichtig. Die Lipidbiosynthese, der Aufbau von Aminosäuren, wie z.B. Leucin und Lysin, sowie die Bildung von Keton-Körpern ist abhängig von einer ausreichenden Versorgung der Hefe mit Acetyl-CoA. Speziell die im Cytosol lokalisierte Lipidbiosynthese für eine ausreichende Versorgung der Zelle mit Membran- und Neutrallipiden ist abhängig von der Aktivität des PDH-Bypasses. Da der PDH-Komplex in den Mitochondrien lokalisiert und die Hefe nicht in der Lage ist, Acetyl-CoA durch die Mitochondrienmembran zu transportieren, kann hier nur über die ACS die Zelle ausreichend mit Acetyl-CoA versorgt werden.^{5,6} Somit ist die PDC, die als Schlüsselenzym der Gärung verstanden wurde, auch unter aeroben Bedingungen aktiv, da nur so intakte Zellmembranen bei der Vermehrung und eine ausreichende Versorgung mit Reservelipiden sichergestellt werden können.^{7,8,9} Gleichzeitig kommt dem PDH-Bypass in Zusammenhang mit dem Crabtree-Effekt zusätzlich Bedeutung zu, da die Atmungskette, im Speziellen die Cytochromoxidase, durch die in Bierwürze vorliegenden Zuckerkonzentrationen gehemmt wird.¹⁰

Die dem Acetyl-CoA zukommende Schlüsselstellung für die Hefephysiologie machte eine genauere Untersuchung dieses Knotenpunktes im Kohlenhydratstoffwechsels nötig, um Aussagen über den physiologischen Zustand der Hefe im Bierbereitungsprozess zu machen. Die Erfassung des PDH-Bypasses als weitere enzymatische Analytik zur Beschreibung des physiologischen Zustandes der Brauereihefe war somit ein erster Schritt zum besseren Verständnis der Hefe und gleichzeitig eine Möglichkeit, den Einfluss von Prozessbedingungen besser bewerten zu können.

Mit Hilfe aus der Literatur zusammengestellten Reaktionsansätzen ist es gelungen, diese Enzymaktivitätsmessung reproduzierbar zu etablieren.¹¹ Bei der Aktivitätsbestimmung der ACS handelt es sich dabei um eine gekoppelte Enzymreaktion, bei der die Umsetzung von NAD^+ zu NADH photometrisch gemessen wird. Dabei bilden 100 μmol Tris-HCl, 10 μmol L-Malat, 0,2 μmol Coenzym A, 8 μmol ATP, 1 μmol NAD^+ , 100 μmol MgCl_2 , 3 U Malatdehydrogenase und 0,4 U Citrat-Synthase den Testansatz. Gestartet wird die Messung durch Zugabe von 100 μmol K^+ -acetat als Substrat. Bei der Messung der ACDH kann zusätzlich zwischen den beiden Enzymen zur Umsetzung von Acetaldehyd mit Hilfe von NAD^+ und NADP^+ als

⁵ Vgl.: Remize, F., et al.: Applied and Environmental Microbiology, Vol. 66, No. 8, S. 3151-3159 (2000)

⁶ Vgl.: Pronk, J.: Yeast, Pyruvat Metabolism in *S. cerevisiae*, Vol. 12, S. 1607-1633 (1996)

⁷ Vgl.: Postma, E., et al.: Applied and Environmental Microbiology, Vol. 55, No. 2, S. 468-477 (1989)

⁸ Vgl.: Flikweert, M. T., et al.: Yeast, Vol. 12, S. 247-257 (1996)

⁹ Vgl.: Tenge, C.: Praxishandbuch der Brauerei, Kap 2, S.20 (2006)

¹⁰ Vgl.: Annemüller, G., et al.: Die Hefe in der Brauerei, Berlin, VLB, S. 197 und 209 (2005)

¹¹ Vgl.: Wang, X., et al.: Journal of Bacteriology Vol. 180, No.4, S. 822-830 (1998)

Wasserstoffakzeptor unterschieden werden. Der Testansatz setzt sich aus 1000 μmol KPO_4 -Puffer, 150 μmol Pyrazol, 4 μmol Dithiothreitol, 100 μmol KCl , 4 μmol NAD^+ bzw. NADP^+ und 1 μmol Acetaldehyd als Startersubstanz zusammen.

2.3 Untersuchungen zur Bedeutung des PDH-Bypasses bei der Versorgung der Hefezelle mit Acetyl-CoA bei der Gärung (AP 3)

Anhand der ersten Messungen der Enzymaktivitäten der ACDH und ACS wurde bereits die Bedeutung des PDH-Bypasses für die Bereitstellung des Acetyl-CoA für die Hefe im Bierbereitungsprozess deutlich und bietet damit einen tieferen Einblick in die Physiologie der Hefezelle. Da es sich bei den gemessenen Aktivitäten um spezifische Enzymaktivitäten handelt, können diese direkt auf die Stoffumsetzung in der Hefezelle bezogen werden. Wie aus den Graphen der Abbildung 2.4 zu entnehmen ist, werden bei der Hefe nur etwa bis zu 20 % des benötigten Acetyl-CoA über die PDH während der Gärung bereitgestellt, was unter den in der Brauerei gegebenen Bedingungen eine Art Basisversorgung darstellt. Der Rest der benötigten Menge, besonders der vermehrte Bedarf beim Eintritt in die Log-Phase der Hefe, wird bis zu 80 % über den PDH-Bypass, speziell über die ACS, bereitgestellt. Weiterhin konnte bei ersten Probegärungen im 20 l-Maßstab festgestellt werden, dass eine Aktivitätszunahme des PDH-Bypasses mit der Hefevermehrung während der Gärung gekoppelt ist (vgl. 2.4).

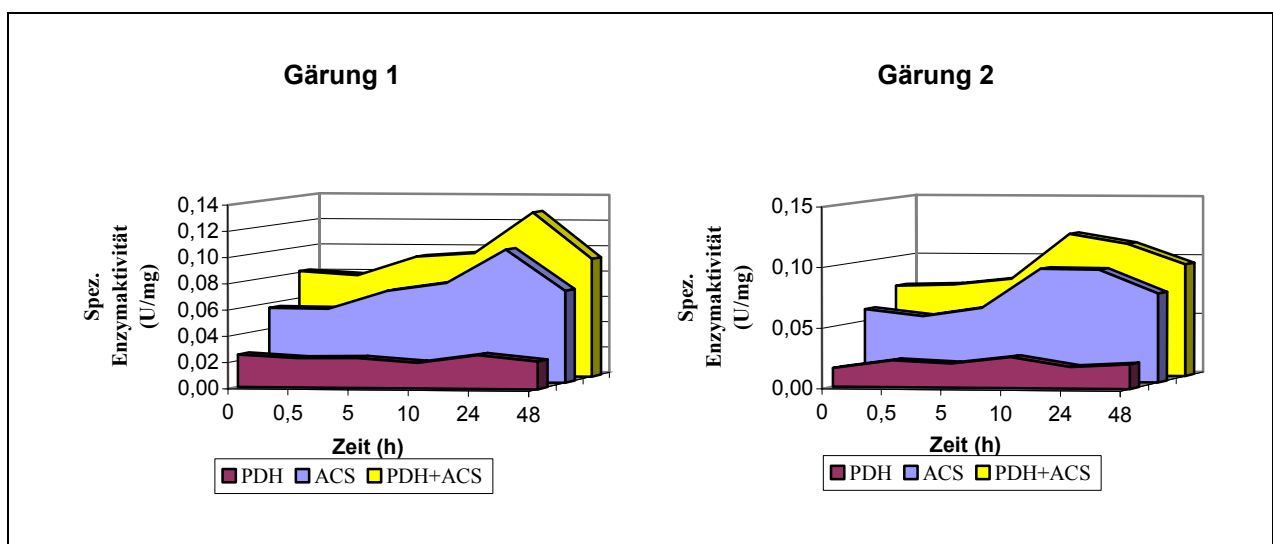


Abbildung 2.4: Anteile von PDH und ACS bei der Bereitstellung von Acetyl-CoA innerhalb der Hefe

2.4 Aktivitätsverläufe der am PDH-Bypass beteiligten Enzyme bei der Gärung und Propagation (AP 3)

Bei den vorgenommenen Versuchen wurden speziell die Enzymaktivitäten der ACDH und ACS betrachtet. Diese zeigten, wie in den Abbildungen 2.5 und 2.6 zu sehen, zu Beginn der Gärung in den ersten 24 h einen deutlichen Anstieg. Das innerhalb der Zellen bereitgestellte Acetyl-CoA wird anschließend, wie es die Entwicklung der ZiS zeigt, von der Hefe zum Aufbau von Biomasse genutzt. Die im Folgenden zu beobachtende Abnahme in den Aktivitäten der Enzyme ist durch den Abbau von Pyruvat zu Acetaldehyd durch die PDC zu erklären. Durch den hohen glykolytischen Fluss innerhalb der Hefezelle kommt es zu einer Zunahme im Acetaldehydpool, was zu einer Abnahme der Aktivität der ACDH auf Grund ihres niedrigen K_m -Wertes führt. Eine weitere Erklärung wäre eine Produkthemmung des PDH-Bypasses, wie es bei der PDH beschrieben ist, durch die Anhäufung von Acetyl-CoA in der Hefe.

Im Anschluss an die Aktivitätsabnahme der ACDH kommt es vermutlich durch eine Verringerung in der Substratkonzentration von Acetat zu einem Abfall der ACS-Aktivität. Die Hefezellzahlentwicklung läuft den Enzymaktivitäten um einige Stunden nach, was mit einer auf die Bereitstellung von Acetyl-CoA folgenden Induktion der Vermehrung erklärt werden könnte. Mit zunehmender Hefezellzahl kommt es zu einer erneuten Zunahme der ACDH-Aktivität, was zum einen durch die Ausschleusung von Acetaldehyd, zum anderen in einer Induktion des PDH-Bypasses durch das Sinken des Acetyl-CoA Pools begründet sein kann.

Im weiteren Verlauf der Gärung ist bei den ZiS eine konstant hohe Aktivität der ACDH und eine konstante Aktivität der ACS zu beobachten, was zu einer ständigen Erneuerung der sich in Schwebelage befindenden Hefe in der stationären Phase führt. Die Aktivität der bereits abgesetzten Hefezellen wird hier nicht mehr erfasst. Die gefundenen fast identischen Maxima der ACDH- und ACS-Aktivität bei ca. 0,045 U/mg für die Umsetzung von Acetaldehyd zu Acetat und 1 U/mg für die Bereitstellung von Acetyl-CoA aus Acetat bei den unterschiedlichen Gärungen könnte eine Art Sättigungsgrenze des Bypasses darstellen.

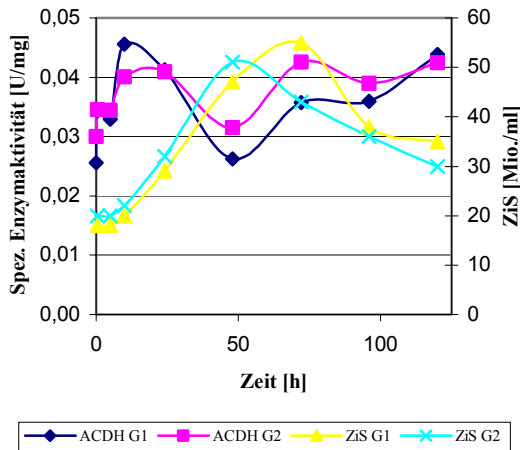


Abbildung 2.5: Verlauf der Enzymaktivitäten der ACDH und ZiS bei der Gärung

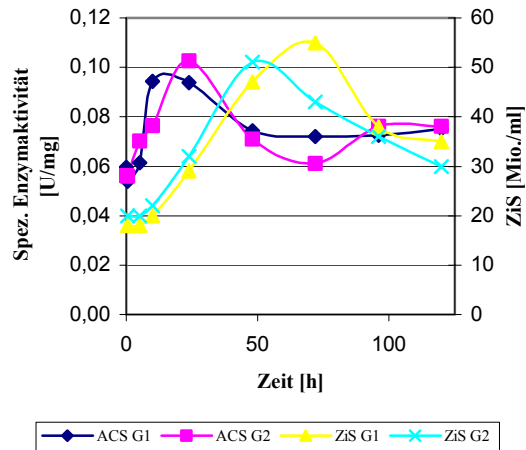


Abbildung 2.6: Verlauf der Enzymaktivitäten der ACS und ZiS bei der Gärung in

Wie bei Messungen der Enzymaktivitäten von PDH, PDC und ADH zeigten auch die Ergebnisse der Aktivitätsmessungen von ACDH und ACS fallende Kurvenverläufe über die Dauer der Propagation (vgl. Abbildung 2.7 und 2.8). Das zeigt ebenfalls, dass auf Grund der „aeroben“ Bedingungen der glykolytische Fluss innerhalb der Hefezellen scheinbar verringert wird, da ein ausreichender Energiegewinn in der Hefe unter diesen Bedingungen erfolgen kann.¹² Eine Hefe mit so ausgerichtetem Stoffwechsel adaptiert sich an die veränderten Milieu-Bedingungen bei der Gärung langsam und führt zu längeren Angärzeiten, da zu Beginn der Gärung erst eine erneute Enzyminduktion stattfinden muss. D.h. Ziel ist es, die Hefe durch technologische Maßnahmen bereits vor der Gärung darauf einzustellen (s. Kap. 2.5).

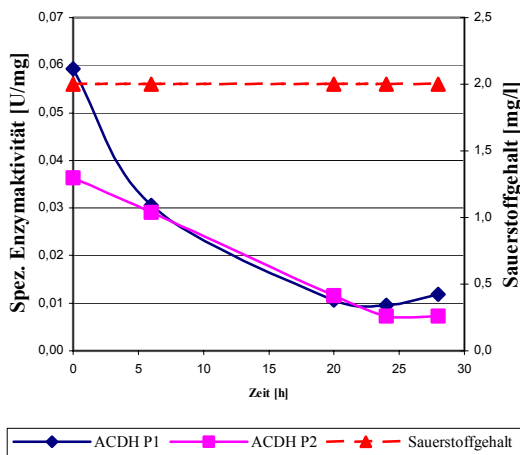


Abbildung 2.7: Verlauf der Enzymaktivitäten der ACDH bei der Propagation

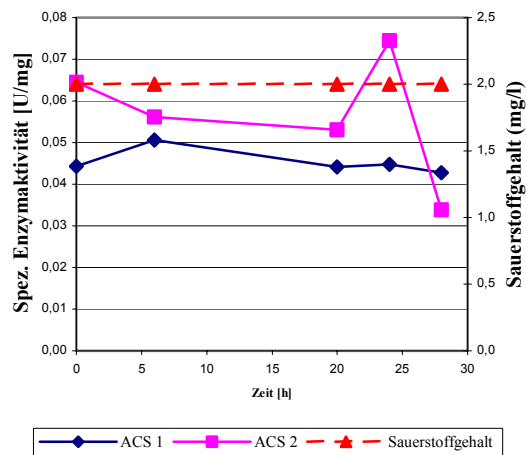


Abbildung 2.8: Verlauf der Enzymaktivitäten der ACS bei der Propagation

¹² vgl.: Wellhoener, U.: Dissertation, TU München (in Bearbeitung), (2006)

2.5 Belüftungsintervalle bei der Propagation zur Steuerung der Hefephysiologie (AP 4)

Die Ergebnisse aus den Messungen der Enzymaktivitäten schafften einen Ansatzpunkt zur möglichen Verbesserung der Hefephysiologie in Hinblick auf verkürzte Adaptionzeiten im Bereich der Angärung und somit eine schnellere Gärung bei gleichzeitiger Schonung von relevanten Würzeinhaltsstoffen, durch eine Verringerung bzw. Unterlassung der Würzebelüftung für eine verbesserte Geschmacksstabilität. Die Hefe ist bereits während der Hefeherführung auf die entscheidende Phase der Gärung vorzubereiten, in dem bei der Hefeherführung die zur raschen Gärung erforderlichen Merkmale stimuliert werden. Dies sollte mit Hilfe von anaeroben Phasen im Hefeherführungsprozess und der damit verbundenen Ausprägung der gärungsphysiologischen Eigenschaften der Hefe erfolgen. Damit jedoch nicht die Biomassegewinnung übermäßig durch bereits stattfindende Gärung beeinträchtigt wird, wurde mit Hilfe von Stickstoff die entstandene Kohlensäure ausgetrieben, da bereits ab einer CO₂-Konzentration von 1 g/l die Hefevermehrung gehemmt wird.¹³

Die ersten Ergebnisse haben gezeigt, dass der Hefestoffwechsel erst mit Verzögerung auf die veränderten Milieu-Bedingungen der anaeroben Phase reagiert. Ähnlich wie unter konventionellen Gärungsbedingungen in der Angärphase zeigt die Hefe erst bei Intervallen von 8 Stunden einen deutlichen Einfluss bei der Umstellung ihrer Physiologie. Dies kann sowohl durch die trotz Stickstoffeinbringung noch in der Würze vorhandene Konzentration an Sauerstoff oder durch eine mögliche Depot-Haltung der Hefe an Sauerstoff oder anderen wichtigen Metaboliten der Fall sein, was zusätzlich eine Stimulierung der Gärungsphysiologie der Hefe nötig macht. Gleichzeitig muss die nötige Enzym- und Stoffwechselinduktion erst von der Genom- und Transkriptionsebene zur Proteinbiosynthese eingeleitet werden. Wie in Abbildung 2.9 am Kurvenverlauf der ACS zu sehen ist, lässt sich die Produktion von Acetyl-CoA mit Hilfe von Begasungsintervallen stimulieren. Eine so mit Acetyl-CoA, als Grundlage für die Zellvermehrung, ausgestattete Hefe, die gleichzeitig einen hohen Stoffumsatz und Gärleistung zeigt, kann auch über mehrere Führungen in der Brauerei gute Ergebnisse ohne zusätzliche Würzebelüftung liefern.

¹³ vgl.: Annemüller, G.: Die Hefe in der Brauerei, Berlin, VLB, S. 231 (2005)

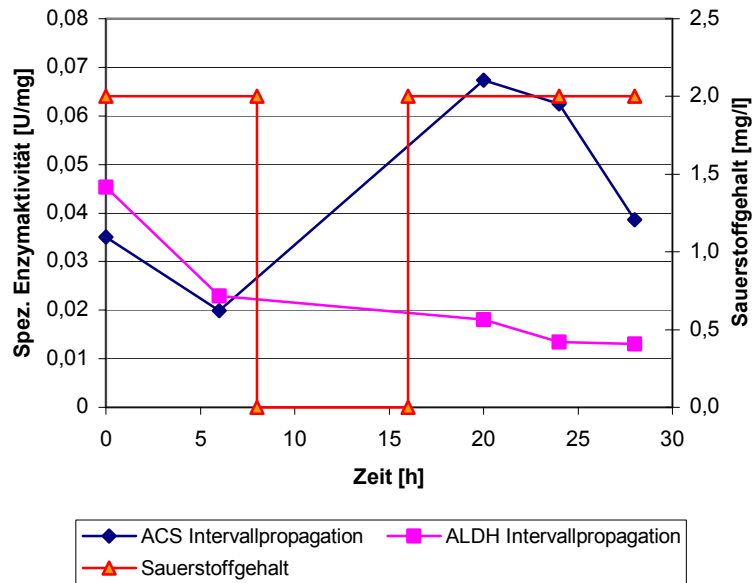


Abbildung 2.9: Einfluss des achtstündigen Intervalls auf die Enzyme des PDH-Bypasses der Hefe

Wie in früheren Versuchen am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei II gezeigt, können diese Prozessbedingungen, wie flusszytometrische Messungen der DNA-Verteilung belegen, zusätzlich zu einer Synchronisation der Hefepopulation beitragen.¹⁴ Der einheitlichen Wachstumsphase einer Hefepopulation werden ebenfalls positive Einflüsse auf die Gärzeiten zugeschrieben.¹⁵

2.6 Einfluss der Würzelbelüftung auf die Gärung mit Propagationshefe (AP 3)

Im Anschluss an die Versuche mit Intervallbelüftung bei der Propagation wurden die so hergeführten Hefen auf ihre Gäreigenschaften hin untersucht. Dazu wurde in belüfteten und unbelüfteten Würzen nach dem konventionellen Batch-Verfahren angestellt und auf Hefezellzahl, Extrakt und pH hin untersucht. Dabei ergaben sich eindeutige Tendenzen zu Gunsten der Gärungen in unbelüfteten Würzen. Insbesondere die Gärgeschwindigkeit aller Versuchsreihen macht deutlich, wie mit gezielter Hefeherführung im Bereich des Gärkellers Kapazitäten geschaffen werden können. Die GNP der einzelnen Gärungen ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Gärungen. Die in den Abbildungen 2.10 und 2.11 gezeigten Gärleistungen der einzelnen Versuchsreihen machen deutlich, dass die Adaptionzeit und der Beginn der Gärtätigkeit der Hefe in unbelüfteten Würzen verkürzt werden

¹⁴ Vgl.: Schöenberg, S.: Semesterarbeit am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei II, S. 34 (2004)

¹⁵ Vgl.: Thiele, F., et al.: Brauwelt, Nr. 50, S. 1594-1598 (2005)

kann. Zwar kam es erwartungsgemäß bei den unbelüfteten Gärungen zu einer geringeren Hefevermehrung, aber der VG wurde bis zu 20 h früher erreicht. Gleichzeitig war es die im Vorfeld mittels Intervallbelüftung hergeführte Hefe, die die zügigste Gärung und die höchsten Gärleistungen über die gesamte Gärdauer zeigte.

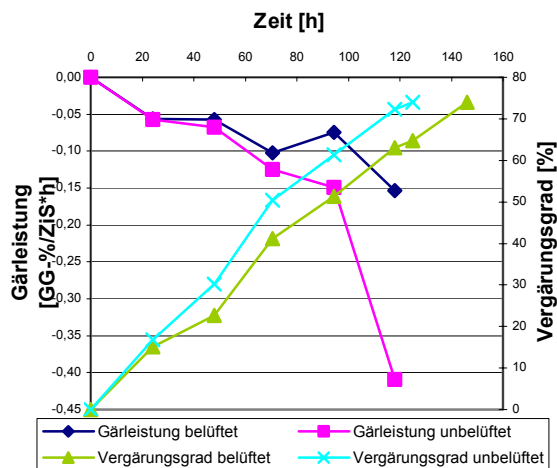


Abbildung 2.10: Gärleistung und VG einer konventionell propagierten Hefe in belüfteter und unbelüfteter Würze

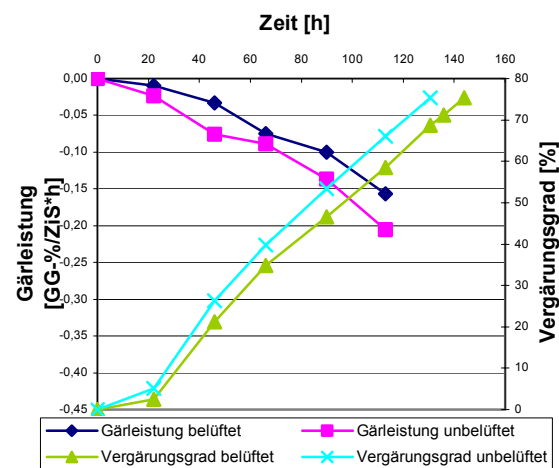


Abbildung 2.11: Gärleistung und VG einer intervallbelüfteten Propagatorhefe in belüfteter und unbelüfteter Würze

In einer weiteren Versuchsreihe wurde ein Drauflassverfahren simuliert, um den negativen Einfluss des Sauerstoffes auf die reduktiven Würzebestandteile und der damit verbunden geringeren Alterungsstabilität zu untersuchen¹⁶. Die reduktiven Würzebestandteile oder vielmehr das Redoxpotential der Biere kann Aufschluss über die oxidative Belastung geben und wird als Stromverhältnis zum reduzierenden Potential von Vit. C gemessen. Bei den Drauflassverfahren wurde direkt mit Presshefe gearbeitet, ohne diese vorab zu propagieren oder zu belüften. Diese Hefe zeigte erwartungsgemäß bessere Gärzeiten und höhere Vermehrungsraten in belüfteten als in unbelüfteten Würzen. Die Gärzeit in der unbelüfteten Würze war um ca. 2 Tage verlängert. Der VG der unbelüfteten Sude lag bei der Lagerung gegenüber den belüfteten Suden um 2 % niedriger. Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass eine gezielt hergeführte Hefe auch in Fed-Batch-Verfahren zur schnelleren Adaption und zu zügigeren Gärungen im Stande sein sollte. Die Analyse der Geschmacksstabilität und des Sauerstoffeinflusses auf die Biere sind in Kap. 2.7 zusammengefasst.

¹⁶ Vgl.: Peters, U.: Brauwelt, Nr. 22/23, S. 839-841 (2001)

2.7 Einfluss der Würzelbelüftung und Gärung auf die resultierende und Geschmackstabilität (AP 5)

Im Gegensatz zu den Verkostungen der einzelnen Versuchsbiere im Batch-Verfahren, die nur geringfügige Unterschiede mit der Tendenz zu den unbelüfteten Gärungen aufwiesen, zeigten sich beim Drauflassverfahren deutlichere Tendenzen zu den unbelüfteten Bieren. Speziell in der Alterungsverkostung wurden diese besser bewertet (vgl. Abbildung 2.12 bis 2.15). Zum einen wurden die so hergestellten Biere nach DLG, zum anderen nach dem neu am Forschungszentrum für Brau- und Lebensmittelqualität entwickeltem Schema zur Beurteilung der sensorischen Eindrücke verkostet.

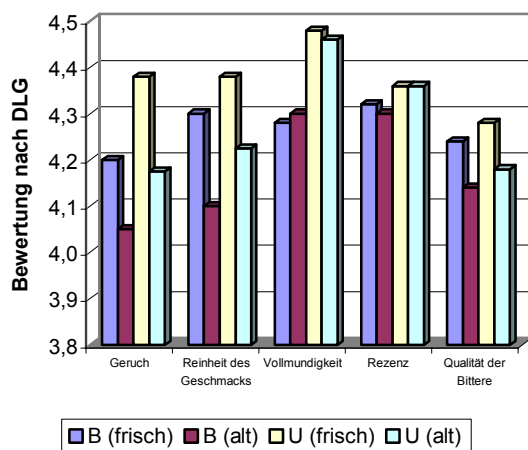


Abbildung 2.12: Verkostung der Biere des Drauflassverfahrens nach DLG

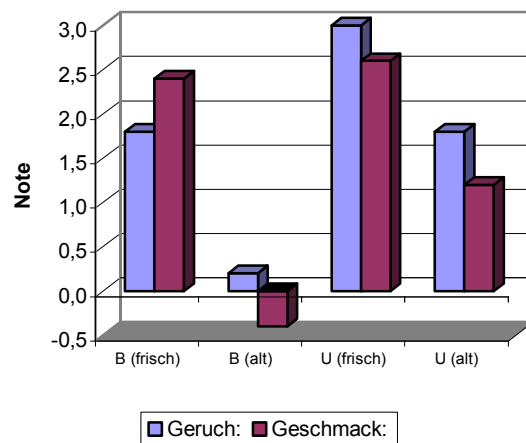


Abbildung 2.13: Summe der sensorischen Eindrücken bei der Verkostung der Biere des Drauflassverfahrens

Wie die in Abbildung 2.13 dargestellte Summe der sensorischen Eindrücke bei den forciert gealterten Bieren zeigt, war bei den Unbelüfteten eine bessere Geruchs- und Geschmacksstabilität festzustellen. Zudem sind die frischen Biere aus den unbelüfteten Gärungen im Bereich der Vollmundigkeit besser bewertet worden, was mit dem niedrigeren VG erklärt werden kann (vgl. Abbildung 2.14). Die Abbildung 2.15 stellt die Summe der negativen sensorischen Eindrücke und den allgemeinen Eindruck der verkosteten Biere dar. Somit sind in diesem Falle höhere Bewertungen (Schulnotenprinzip) schlechter zu beurteilen.

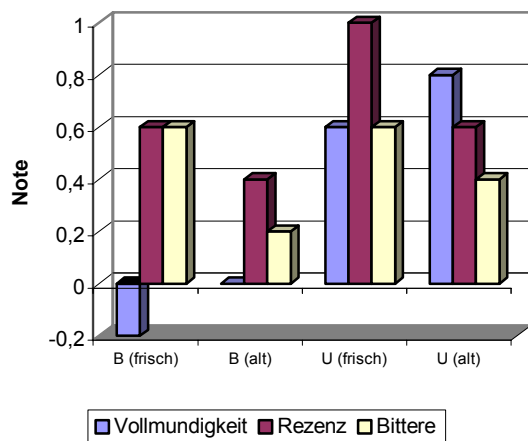


Abbildung 2.14: Allgemeine sensorische Eindrücke bei der Verkostung der Biere des Drauflassverfahrens

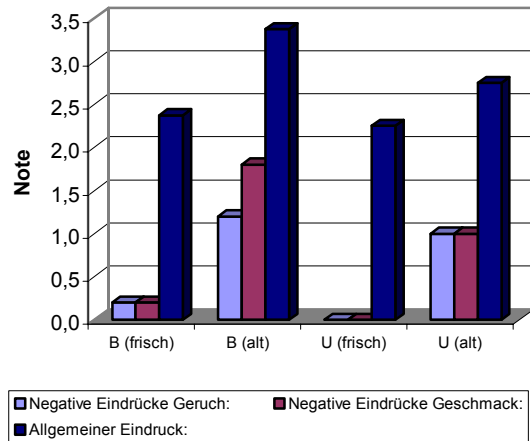


Abbildung 2.15: Summe der negativen sensorischen Eindrücke und allgemeiner Eindruck bei der Verkostung der Biere des Drauflassverfahrens

Die Verkostungsergebnisse spiegeln das erwartungsgemäß leicht höhere Redoxpotential der unbelüfteten Bieren mit $SV = 2,38$ gegenüber $2,17$ wieder. Die SO_2 -Bestimmung ergab ebenfalls höhere Werte der unbelüfteten Sude von 14 mg/l gegenüber 4 mg/l , was sich positiv auf die Alterungsstabilität auswirkte.

Bei den ersten Analysen der Alterungskomponenten aus den Batch-Verfahren ergaben sich auf die Gesamtheit gesehen bis jetzt keine eindeutigen Ergebnisse und müssen in weiteren Versuchsreihen getestet werden. Trotz der größtmöglichen Vergleichbarkeit der Prozessbedingungen und Würzen fällt jedoch auf, dass die Hefe selbst scheinbar einen größeren Einfluss als die unterschiedliche Belüftung auf die Alterungskomponenten und Stabilität der hergestellten Biere hat. So z.B. ergab sich, wie aus der Literatur bei Versuchen mit unterschiedlich hohen Belüftungsintensitäten zu folgern wäre, keine Tendenz zu höheren Werten für 2-Furfural und γ -Nonalacton bei den belüfteten Bieren.¹⁷ Die Analysenergebnisse der Alterungskomponenten der Drauflassverfahren stehen noch aus.

¹⁷ Vgl.: Lustig, S.: Dissertation am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei I, S. 153 (1994)

3 Zur Zeit laufende Versuchsreihen

Ein Teil der o.g. Versuchsreihen ist noch nicht vollständig abgeschlossen. So liegen die Ergebnisse und Auswertungen der flusszytometrischen Proben bei der Propagation und der Drauflassverfahren sowie deren Ergebnisse der Alterungskomponenten noch nicht vor. Des Weiteren laufen zur Zeit Versuche im Bereich der Hefepropagation, die unter Einbeziehung der flusszytometrischen Daten bestätigen sollen, dass eine hohe Aktivität des PDH-Bypasses, den aus brautechnologischer Sicht gewünschten physiologischen Zustand der Hefe darstellt. Dieser Zustand ist mit einem hohen glykolytischen Fluss zur raschen Gärung und einem hohen Niveau des Acetyl-CoA-Pools für eine gute Ausstattung der Hefe an Membranlipiden und ausreichenden Mengen an Speicherstoffen (Neutrallipide und Aminosäuren) verbunden. Ebenso stehen noch Ergebnisse zur Untersuchung des Einflusses der Flotation auf den physiologischen Zustand der Hefe und das resultierende Redoxpotential aus.

Ebenfalls werden z. Zt. bei unterschiedlichen Entnahmezeitpunkten während der Propagation der physiologische Zustand aufgezeichnet. Anschließende Drauflassverfahren mit Belüftungsvarianten sollen die Auswirkungen auf die Alterungsstabilität darlegen, da sich der genau definierte Entnahmezeitpunkt in einer gut ausgestatteten Hefe widerspiegelt. Zusätzlich haben Versuche zur Hefeherführung mit niederen Stammwürzen begonnen. Dies soll zur Herabsetzung der Repressionsphase durch Glucose und einer somit verbesserten Zellvermehrung beitragen.

Parallel zu der vorhandenen Analytik zur Beurteilung des physiologischen Zustands wird z. Z. in Zusammenarbeit mit dem Lehrstuhl für mikrobielle Ökologie die FTIR-Spektroskopie als zusätzliche Möglichkeit zur Betrachtung der Hefe untersucht. Dabei wird ein komplettes Spektrum der Lipide, Kohlenhydrate, Proteine und Nukleinsäuren der Hefezelle aufgenommen und versucht, mögliche Unterscheide im physiologischen Zustand der Hefe über den Brauprozess sichtbar zu machen.

4 Ausblick und geplante Arbeiten

Die Verknüpfung von Hefeherführung und Schonung der relevanten Würzeinhaltsstoffe zur schnelleren Gärung und Verbesserung der Geschmacksstabilität sollten die nächsten Schritte in diesem Forschungsvorhaben sein (vgl. Kap. 2.5). Ein Hauptaugenmerk wird auf die genauere Betrachtung der Belüftung bzw. Begasungsintervalle bei der Hefepropagation und die Ermittlung der optimal resultierenden Gärdauer sowie die Bestimmung der optimalen Gärungsphysiologie

der Hefe gelegt werden. Dabei soll der physiologische Zustand ebenfalls über mehrere Führungen beobachtet und die erwarteten Vorteile bestätigt werden.

Weiterhin soll eine Verbindung zwischen der Hefephysiologie, den Alterungskomponenten und der Geschmacksstabilität gefunden werden. Diese gewonnen Erkenntnisse sollen dann in das Prozessdesign integriert werden, um eine Verbesserung der Qualität und Stabilität auf Basis der Hefetechnologie zu erreichen. Mit der neu eingerichteten Versuchsanlage sollen hier die nötigen Parameter ermittelt werden.

Dies soll vor allem durch die flusszytometrische und enzymatische Betrachtung der Hefephysiologie in Kombination mit Verkostung und analytischer Betrachtung der Alterungskomponenten verfolgt werden. Nicht zuletzt soll im weiteren Forschungsvorhaben der Einfluss von CO₂ auf die Hefevermehrung bei der Propagation und der Einfluss der Druckgärung auf die Hefephysiologie sowie Geruchs- und Geschmacksstabilität untersucht werden.

5 Kurzbericht / Zusammenfassung

Dem Hefemanagement in der Brauerei kommt trotz seiner hohen Bedeutung für den zentralen Prozess der Gärung bei der Bierbereitung nach wie vor ein zu geringer Stellenwert zu. Die Hefe mit ihren Stoffwechselprodukten und der Sauerstoffeintrag bei der Würzebelüftung haben großen Anteil an der Geschmacksstabilität, sowie der kolloidalen Stabilität. Somit ist ein optimal angepasster physiologischer Zustand der Hefe Voraussetzung für eine Reduzierung der Würzebelüftung, der daraus resultierenden Schonung von reduktiven Würzebestandteilen und eine verkürzte Adaptionszeit in der Angärphase. Ziel dieses Forschungsvorhabens ist es somit gute gärungsphysiologische mit vermehrungsphysiologischen Eigenschaften zu verknüpfen. Die daraus entstehenden Vorteile sind die Verkürzung der Gärzeiten durch schnellere Adaption, sowie besser Qualitäts- und Stabilitätsvoraussetzungen in der Brauerei durch den optimalen Einsatz von Hefe und Sauerstoff.

Der physiologische Bedarfzustand der Hefe konnte bis jetzt nicht eindeutig beschrieben und analytisch festgehalten werden. Damit verbunden ist das allgemeine Problem eine konstante Ausgangshefe zu Verfügung zu haben (vgl. Kap. 2.1). Diese Voraussetzungen machte den Neuaufbau einer Propagations- und Gäranlage am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei II nötig. Bei der Umsetzung ist auf die Möglichkeit paralleler Prozessführung besondere Wert gelegt worden. Durch identische Voraussetzungen können nun die Prozessparameter, ohne Einfluss von Unterschieden der Hefephysiologie, der Würzezusammensetzung und Anstellkonzentration untersucht werden (vgl. Kap. 2.2).

Auf Grundlage vorrangigener Versuchsreihen und einem intensiven Literaturstudium ist der PDH-Bypass als wichtiger Stoffwechselweg innerhalb des Kohlenhydratstoffwechsels für den physiologischen Zustand der Hefe erarbeitet worden. Mit Hilfe der Literatur ist die reproduzierbare Aktivitätsmessung der am PDH-Bypass beteiligten Enzyme Pyruvatdehydrogenase (PDC), Acetaldehyddehydrogenase (ACDH) und Acetyl-Coenzym A Synthase (ACS) am Lehrstuhl etabliert worden. Besonderes Augenmerk muss hier auf die anaerobe Form der ACS, die unter Gärungsbedingungen durch Glucose und Ethanol expremiert wird, gelegt werden. Sie generiert bis zu 80 % des Acetyl-CoA in der Hefezelle. Das im Hefestoffwechsel eine Schlüsselstellung einnehmenden Acetyl-CoA ist von großer Bedeutung bei der Erfassung des physiologischen Zustandes. Die Lipidbiosynthese, für eine ausreichende Versorgung der Zellen mit Membran- und Neutralipiden, sowie die Bildung von Aminosäuren und Keton-Körpern ist abhängig von einer guten Versorgung der Zelle mit Acetyl-CoA. Die im Cytosol lokalisierte Lipidbiosynthese macht die Bedeutung der ACS, als Teil des PDH-Bypasses, sichtbar. Den nur die cytosolisch lokalisierte ACS kann hier Acetyl-CoA zu

Verfügung stellen. Das vom Pyruvatdehydrogenase-Komplex in den Mitochondrien produzierte Acetyl-CoA kann nicht durch die Membran ins Cytosol transportiert werden.

Erste Ergebnisse der Enzymaktivitätsmessung belegen die Bedeutung des PDH-Bypasses unter den in Bierwürzen bestehenden Milieu-Bedingungen. Bereits vor Eintreten in die log-Phase der Vermehrung ist ein deutlicher Anstieg der Aktivitäten zu beobachten. Die dadurch zur Verfügung gestellte Menge von Acetyl-CoA ist verknüpft mit der Bildung von Lipiden und Aminosäuren und kann als Indikator für ein beginnendes Hefewachstum gesehen werden (vgl. Kap. 2.3 und 2.4). Da die Hefe bei der konventionellen Herführung unter aeroben Bedingungen trotz des Crabtree-Effektes eine Senkung der Enzymaktivitäten und des glykolytischen Flusses zeigt, ist es von Bedeutung die nötigen Stoffwechselwege für eine rasche Adaption und eine ausreichende Hefevermehrung bei der Gärung gezielt zu stimulieren. Auf Grund dessen wurde bei der Propagation der Hefe systematisch mit anaeroben Intervallen gearbeitet (vgl. Kap. 2.5).

Im Anschluss wurden erste Gärversuche mit propagierten Hefen im Batch-Verfahren und Erntehefen in Drauflassverfahren in belüfteten und unbelüfteten Würzen unternommen. Es zeigten sich bei den Gärzeiten auf Grund einer kürzeren Adaptionszeit und höheren Gärleistungen in den Batch-Verfahren eindeutige Vorteile beim Einsatz unbelüfteter Würzen. Die Gärzeiten konnten, speziell bei den mit intervallbelüfteten Propagatorhefen angestellten Gärungen, gegenüber den belüfteten Würzen um bis zu 20 h verkürzt werden (vgl. Kap. 2.6).

Bei den mit Erntehefe angestellten Versuchen blieben die unbelüfteten Hefe erwartungsgemäß bei der Hefezellzahl, der Gärgeschwindigkeit und dem Vergärungsgrad hinter den belüfteten zurück. Die Reduzierung des Sauerstoffes und die somit geringere oxidative Belastung der unbelüfteten Würzen machte sich jedoch positiv in der Alterungsverkostung bemerkbar. Aufgrund des leicht höheren Redoxpotentials und der höheren SO_2 -Konzentrationen wiesen diese eine bessere Geschmacksstabilität auf (vgl. Kap. 2.7).

Somit muss der optimale physiologische Bedarfzustand der Hefe mit einem hohen glykolytischen Fluss und einer hohen Aktivität des ACS, für eine gute Ausstattung der Hefe weiter untersucht werden. Denn nur so kann die Hefetechnologie, mit den Vorteilen einer zügigen Gärung und einer Verringerung der oxidativen Belastung der Würze, für eine Verbesserung der Qualität und Stabilität ausgerichtet werden.

6 Literaturverzeichnis

- Annemüller G. , et al.: Die Hefe in der Brauerei, Berlin: Verlag der VLB, S. 214, 228-231, (2005)
- Briggs, D.E., et al.: Brewing, science and practice, Cambridge: WP limited, S. 429, (2004)
- Filkweert, M. T., et al.: Pyruvat Decarboxylase: An Indispensable Enzyme for Growth of *Saccharomyces cerevisiae* on Glucose. *Yeast*, Vol. 12, S. 247-257, (1996)
- Lustig, S.: Das Verhalten flüchtiger Aromastoffe bei der Lagerung von Flaschenbier und deren technologische Beeinflussung beim Brauprozess. Dissertation, TU München, S. 153, (1994)
- Peters, U.: Einfluss von Sauerstoff im Brauprozess auf die Geschmacksstabilität. *Brauwelt* Nr. 22/23, S. 839-841, (2001)
- Postma, E. et al.: Enzymatic Analysis of the Crabtree Effect in Glucose-Limited Chemostat Cultures of *Saccharomyces cerevisiae*, *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 55, No. 2, S. 468-477, (1989)
- Pronk, J. T., et al.: Pyruvate Metabolism in *S. cerevisiae*, *Yeast*, Vol. 12, S. 1607-1633, (1996)
- Remize, F., et al.: Engineering of the Pyruvate Dehydrogenase Bypass in *Saccharomyces cerevisiae*: Role of the Cytosolic Mg^{2+} and Mitochondrial K^+ Acetaldehyde Dehydrogenases Ald6p and Ald4p in Acetate Formation during Alcoholic Fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 66, No. 8, S. 3151-3159, (2000)
- Tenge, C.: Hefe und Hefeherführung. *Praxishandbuch der Brauerei*, Kap. 2, S.20, (2006)
- Thiele, F., Back, W.: Die Assimilationstechnik als Basis für ein optimales Hefemanagement. *Brauwelt* Nr. 50, S.1594-1598, (2005)
- Van den Berg, M. A., Steensma, H. Y.: ACS2, *Saccharomyces cerevisiae* gene encoding acetyl-coenzyme A synthetase, essential for growth on glucose. *Eur. J. Biochem.*, Vol. 231, S. 704-713 (1995)

Van den Berg, M. A., et al.: The Two Acetyl-coenzyme A Synthetases of *Saccharomyces cerevisiae* with Respect to Kinetic Properties and Transcriptional Regulation. *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 271, No. 46, S. 28953-28959, (1996)

Wellhoener, U.: Beurteilung des physiologischen Zustandes von Brauereihefe mittels Aktivitätsmessungen von Schlüsselenzymen bei Propagation und Gärung, Dissertation, TU München (in Bearbeitung), (2006)

Wang, X., et al.: Molecular Cloning, Characterization, and Potential Roles of Cytosolic and Mitochondrial Aldehyde Dehydrogenases in Ethanol Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Bacteriology*, Vol. 180, No. 4, S. 822-830, (1998)

7 Anhang

A Abbildungsverzeichnis

	Seite
Abbildung 2.1: Schwankungsbreite der Ausgangsaktivitäten der Enzyme in verschiedenen Versuchsreihen	3
Abbildung 2.2: Veränderungen der Enzymaktivitäten in der Zentrifuge und Presse	4
Abbildung 2.3: Vergleichsgärungen und Propagation der neu eingerichteten Versuchsanlage am Lehrstuhl für Technologie der Brauerei II	6
Abbildung 2.4: Anteile von PDH und ACS bei der Bereitstellung von Acetyl-CoA innerhalb der Hefe	8
Abbildung 2.5: Verlauf der Enzymaktivitäten der ACDH und ZiS bei der Gärung	10
Abbildung 2.6: Verlauf der Enzymaktivitäten der ACS und ZiS bei der Gärung	10
Abbildung 2.7: Verlauf der Enzymaktivitäten der ACDH bei der Propagation	10
Abbildung 2.8: Verlauf der Enzymaktivitäten der ACS bei der Propagation	10
Abbildung 2.9: Einfluss des achtstündigen Intervalls auf die Enzyme des PDH-Bypasses der Hefe	12
Abbildung 2.10: Gärleistung und VG einer konventionell propagierten Hefe in belüfteter und unbelüfteter Würze	13
Abbildung 2.11: Gärleistung und VG einer intervallbelüfteten Hefe in belüfteter und unbelüfteter Würze	13
Abbildung 2.12: Verkostung der Biere des Drauflassverfahrens nach DLG	14
Abbildung 2.13: Summe der sensorischen Eindrücke bei der Verkostung der Biere des Drauflassverfahrens	14
Abbildung 2.14: Allgemeine sensorische Eindrücke bei der Verkostung der Biere des Drauflassverfahrens	15
Abbildung 2.15: Summe der negativen sensorischen Eindrücke und allgemeiner Eindruck bei der Verkostung der Biere des Drauflassverfahrens	15

B: Abkürzungsverzeichnis

Acetyl-CoA	Acetyl-Coenzym A
ACS	Acetyl-Coenzym A Synthase
ADH	Alkoholdehydrogenase
ALDH	Acetaldehyddehydrogenase
PDC	Pyruvatdecarboxylase
PDH	Pyruvatdehydrogenase
U/mg	Spezifische Enzymaktivität [$\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{mg})$]
ZiS	Zellen in Schwebelösung

C: Abbildung Energiestoffwechsel und Schlüsselenzyme der Hefe

