

Die Hefegabe – hilft viel wirklich viel?

WENIGER IST MEHR! | Bei der Herstellung von Bieren unter dem Einsatz von Ale-Hefestämmen kam es im Technikum der Hochschule Weihenstephan-Triesdorf bei 50-Liter-Pilotsuden zu Schwankungen in der sensorischen Qualität. Die Biere wurden zum Teil als „nicht vollmundig“ und „leer“ beschrieben. Eine Vermutung war, dass dies an einer zu hohen Trockenhefemenge lag. Deshalb wurde ein Kleingärverfahren im 0,5-Liter-Maßstab entwickelt, welches erlaubt, mit wenig Aufwand und in kurzer Zeit Aussagen über die Gärung zu gewinnen.

IM ZUGE DIESES Kleingärverfahrens wurde der Verlauf der Gärungen mit unterschiedlichen Trockenhefemengen untersucht und anschließend das Ergebnis verkostet, um eine sensorische Bewertung vorzunehmen. Im Folgenden wird zunächst die Durchführung des Kleingärverfahrens erläutert.

Die seitens des Herstellers für den Hefestamm Safale™ US-05 empfohlene Trockenhefemenge liegt bei 50 bis 80 g/hl. Für die Versuchsreihen wurde von der empfohlenen oberen Menge von 80 g/hl ausgegangen und diese dann jeweils um 50 Prozent reduziert, um mit vertretbarem Versuchsaufwand möglichst umfassende Ergebnisse bezüglich des Einflusses auf den Geschmack bei unterschiedlichen Einsatzmengen an Trockenhefe zu erhalten. Hieraus resultier-



Autoren: Alexander Nees (Foto); Prof. Winfried Ruß; Prof. Martin Krottenthaler, Hochschule Weihenstephan-Triesdorf, Freising

ten die für die jeweiligen Versuchsreihen verwendeten Trockenhefemengen von 80 g/hl, 40 g/hl, 20 g/hl, 10 g/hl und 5 g/hl. Die Trockenhefen stammten vom Unternehmen Fermentis.

Verwendete Würze

Die Würze wurde mit Malzextrakt des Unternehmens Weyermann® und mit Hopfen des Typs Isohop® 30% von Barth-Haas hergestellt. Hierzu wurde die benötigte Menge Extrakt und Wasser mittels Mischungskreuz bestimmt. Um eine für die Versuche ausreichende Menge an Würze zu erzeugen, mussten 6338 g kochendes Wasser mit 4°dH und 1162 g Malzextrakt eingewogen werden. Mithilfe der vom Hersteller angegebenen Formel konnte die Zugabemenge an Hopfen bestimmt werden, um die gewünschten Bittereinheiten von 20 zu erreichen. Der Buchstabe B gibt die gewünschten Bittereinheiten an. Die Zahl 55 steht für eine Bitterstoffausbeute von 55 Prozent. Da der Hersteller eine Ausbeute im Sudhaus von 50

bis 60 Prozent angibt, wurde hier der Mittelwert verwendet. Die berechnete Menge Isohop 30% wurde mit einer Waage der Genauigkeit 0,01 g in ein Becherglas aus Glas eingewogen, quantitativ in die Würze überführt und daraufhin die Würze verrührt. Die noch heiße Würze wurde dann mithilfe einer Kühlspirale auf ca. 30 °C heruntergekühlt. In jeden Erlenmeyerkolben (mit 1000 ml Gesamtvolumen) wurden exakt 600 ml eingefüllt, um ein Übersäumen bei der Gärung sowie bei der Probenahme zu verhindern. Ungefähr 15 Prozent der hergestellten Würze war für die spätere Flaschengärung als Speise vorgesehen und wurde zunächst in die Kühlung gegeben.

Rehydrierung

Die Rehydrierung der Trockenhefe erfolgte mit der produzierten Würze in Reagenzgläsern. Um die Hefe nach dem Rehydrieren quantitativ in den jeweiligen Erlenmeyerkolben überführen zu können, musste aus jedem Erlenmeyerkolben zuvor jeweils eine kleine Menge Würze in ein Becherglas gegeben werden. Dann wurde zu der eingewogenen Trockenhefemenge das Zehnfache an Würze hinzugegeben und das Reagenzglas zehn Sekunden lang geschüttelt, um eine ausreichende Homogenisierung zu erlangen. Bei jedem Reagenzglas wurde die Startzeit notiert, da der Hefebrei laut Hersteller für 30 Minuten ruhen muss, bevor er zum Nährmedium gegeben wird. Nach Ablauf der 30-minütigen Ruhephase musste jedes Reagenzglas mithilfe der vorher in ein Becherglas gegebenen Würze quantitativ in den jeweiligen Erlenmeyerkolben überführt werden.

KORRELATION ZWISCHEN HEFEMENGE UND HEFEZELLZAHL

Hefemenge [g/hl]	5	10	20	40	80
Hefezellzahl [Mio Zellen/ml]	3,8	7,5	16	26	56

Tab. 1

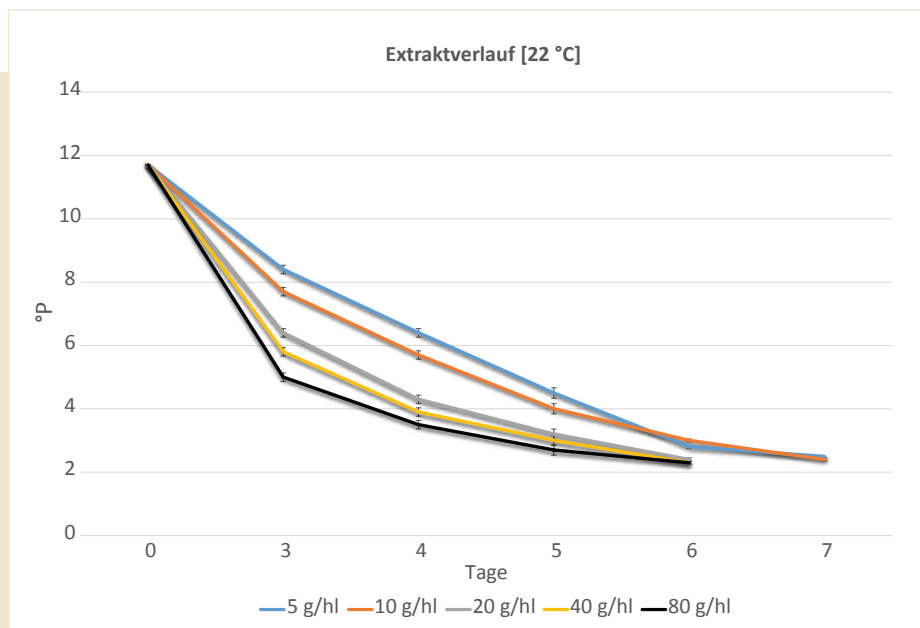


Abb. 1 Extraktverlauf Safale US-05

Belüftung der Würze

Die Belüftung des jeweiligen Erlenmeyerkolbens geschieht durch ein einminütiges Schwenken des Erlenmeyerkolbens. Hierzu musste direkt nach der quantitativen Überführung des Hefebreis die Stoppuhr gestartet und das Schwenken begonnen werden. Damit für alle Kolben die gleichen Bedingungen gelten, muss streng darauf geachtet werden, dass die Erlenmeyerkolben exakt eine Minute lang mit möglichst gleicher Intensität geschwenkt werden.

Erste Probenahme

Die erste Probenahme erfolgte direkt nach der Belüftung. Pro Erlenmeyerkolben wurden drei Proben mit einer Eppendorf-Pipette

mit jeweils 0,5 ml in Eppendorf-Gefäße gegeben. Um die Gärung zu unterbinden, ist eine Kühlung der Proben erforderlich. Dazu können die Eppendorf-Gefäße in Eiswasser (0 °C) gelegt werden, wodurch bei zeitlich verschobenen Messungen Gärungseffekte, die die Messergebnisse beeinflussen könnten, ausgeschlossen werden. Nach der ersten Probenahme wurden die Erlenmeyerkolben mit Aluminiumfolie verschlossen und in die jeweilige Kühltheke gegeben. Die Proben wurden hinsichtlich Hefezellzahl sowie Hefeviabilität gleichzeitig mithilfe einer Thomakammer analysiert. Dazu wird die gleiche Menge an Methyleneblau (0,1%ige Lösung) wie an Probenmenge (0,5 ml) verwendet. Die Eppendorf-Gefäße

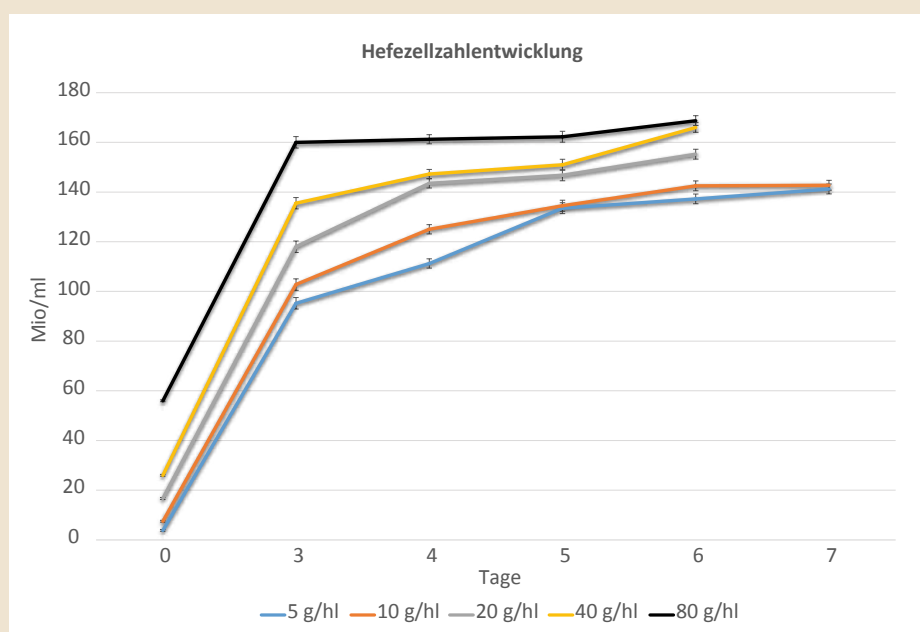


Abb. 2 Hefezellzahlentwicklung Safale US-05

wurden verschlossen und exakt eine Minute geschüttelt. In einer Dreifachbestimmung mithilfe eines Zeiss Lichtmikroskops wurden vier Großfelder im Hellfeld in einer Diagonalen ausgezählt.

Durchgeführte Analysen

Nach drei Tagen der Gärung wurde der Extraktgehalt des jeweiligen Erlenmeyerkolbens jeweils täglich bestimmt. Dies geschah mithilfe eines Density-Meters (DMA-35) von Anton Paar. Hierzu wurden Probenmengen von 10 ml entnommen und mittels eines Faltenfilters filtriert, um das vorhandene Kohlendioxid zu entfernen, da das Messergebnis durch CO₂ beeinflusst wird. Das hierbei entstandene Filtrat wurde in einem Becherglas aufgefangen. Sobald genügend Filtrat vorhanden war, konnte die Probe analysiert werden.

Des Weiteren wurden täglich die Hefezellzahl und der Anteil an lebenden und toten Hefezellen mittels Methyleneblaufärbung bestimmt. Vor der Analyse wurde der jeweilige Erlenmeyerkolben durch Schwenken homogenisiert. Die Bestimmung erfolgte durch das Auszählen mit einer Thoma-Zählkammer (Marienfeld) von vier Großfeldern in Dreifachbestimmung. Sofern eine Verklumpung der Hefezellen zu erkennen war, musste eine Verdünnung mit Wasser erfolgen, um die Zellen zu vereinzeln. Auch hier wurde die gleiche Menge an Methyleneblau wie Probenmenge hinzugegeben. Mithilfe von Pasteurpipetten aus Glas konnte die Thomakammer zwischen Deckglas und Zählkammer befüllt werden. Die Bestimmung erfolgte unter einem Lichtmikroskop bei 400-facher Vergrößerung. Um das Auszählen zu erleichtern, wurden zwei manuell betätigte Counter verwendet, da die lebenden und die toten Zellen simultan auszuzählen waren. Die hierbei erhaltenen Werte wurden in eine vorgefertigte Excel-Datei eingetragen und anschließend die Hefezellzahl pro Milliliter und der Totanteil in Prozent automatisch berechnet.

Verkostung

Sobald die Gärung als beendet betrachtet wurde, erfolgte die Umfüllung von Erlenmeyerkolben in Flaschen. Hierbei musste auf eine hygienische Arbeitsweise geachtet werden. Die Flaschen waren deshalb vor der Befüllung auf etwaige Verunreinigungen zu prüfen und gegebenenfalls zu reinigen. Mithilfe der am ersten Tag entnommenen und

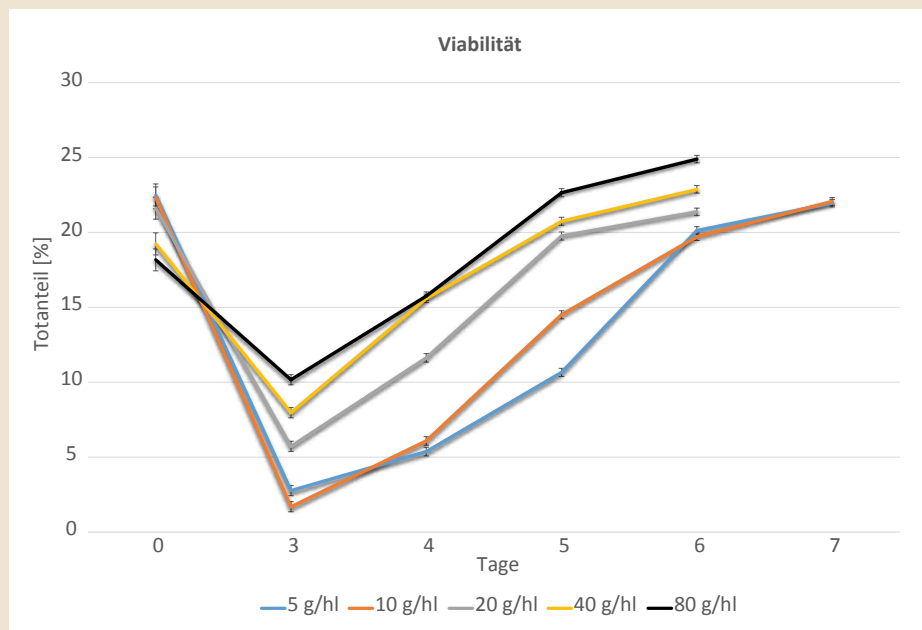


Abb. 3 Viabilität Safale US-05

in der Kühltheke gelagerten Würze erfolgte eine Flaschengärung. Nach Ballingformel, die besagt, dass aus 2,0665 g Extrakt einer unvergorenen Anstellwürze durchschnittlich 1,0 g Alkohol sowie 0,9565 g Kohlendioxid und 0,11 g Hefe entstehen, wurde ein Kohlendioxidgehalt von 5 g/l eingestellt. Nach exakt einer Woche Nachgärung, bei gleicher Temperatur wie die Hauptgärung, und mindestens einer Woche Lagerung bei 0 °C, wurden die Proben – aufgrund der geringen Probenmenge und der daraus resultierenden geringen Anzahl an Verkostern – in einer einfach beschreibenden Verkostung bewertet.

Die Durchführung des Kleingärverfahrens finden Sie in Tabelle 2.

Ergebnisse mit Hefestamm Safale US-05

In den Abbildungen 1 bis 3 werden Versuchsgärungen der obergärigen Safale™ US-05 vorgestellt. Die empfohlene Dosagemenge zum Anstellen liegt laut Hersteller bei 50 bis 80 g/hl. Untersucht wurden Dosagemengen von 5 g/hl, 10 g/hl, 20 g/hl, 40 g/hl und 80 g/hl, um den Einfluss der Hefemenge beim Anstellen zu beobachten.

Die Reproduzierbarkeit der Kleingärungen ist gegeben, was aus den Fehlerbalken in den Abbildungen, die auf fünf Wiederholungen und einem Signifikanzniveau von 95 Prozent ($\alpha=0,05$) beruhen, eindeutig hervorgeht. Anhand des Extraktverlaufes ist ersichtlich, dass bei Anfangsmengen

der Hefedosage von 5 g/hl und 10 g/hl die Gärung bis zum Erreichen der Endphase der Hauptgärung bei höheren Hefedosagemengen einen Tag länger dauert. Ab einer Hefedosage von 20 g/hl verläuft die Gärung schneller und wird einen Tag früher beendet. Die Hefedosage von 20 g/hl entspricht ungefähr der in der Literatur empfohlenen Hefezellzahl zum Anstellen von 15 Millionen Hefezellen pro Milliliter [1].

Abbildung 2 zeigt den Hefezellzahlverlauf. Je mehr Hefe gegeben wurde, desto weniger Vermehrung konnte beobachtet werden. Bei einer Gabe von 80 g/hl (ca. 56 Mio Hefezellen/ml) konnte ab dem dritten Gärtag praktisch keine Vermehrung mehr festgestellt werden. Je geringer die Gabe der Hefe beim Anstellen, desto geringer ist die maximale Hefezellzahl am Ende der Hauptgärung. Durch die geringe Hefezellzahl kann sich die Dauer bis zum Erreichen der Endphase der Gärung zwar leicht erhöhen, allerdings zeigt sich anhand der Messwerte und der Mengeneempfehlungen in der allgemeinen Literatur, dass der Hersteller einen Sicherheitsfaktor von 3 - 4 bei der Hefemengengabe vorsieht, um etwaige Gärstörungen zu unterbinden.

Die Abbildung 3 zeigt die Viabilität, also den Anteil toter Zellen in Prozent, der über eine Methylenblaufärbung ermittelt wurde.

Die Kurven spiegeln den physiologischen Zustand der Hefepopulation während der Gärung wider. Infolge der Belüftung und der daraus resultierenden Atmung mit einer

Energieausbeute von 36 ATP (Adenosintriphosphat) pro mol Glucose erfolgt eine starke Vermehrung der Hefe, was letztendlich zu einer Verjüngung der Population führt, wobei sich das auch in einem geringeren Anteil an toten Zellen widerspiegelt. Im Mittelfeld liegt die von der Literatur empfohlene Dosage von 15 Millionen Hefezellen pro Milliliter (20 g/hl).

Grundsätzlich zeigt sich, dass eine geringere Hefezellzahl beim Anstellen einen geringeren Anteil an toten Hefezellen während der Gärung und auch während der nachfolgenden Prozessschritte der Nachgärung und Lagerung nach sich zieht. Somit kann durch Verringerung der Hefezellzahl beim Anstellen einer möglicherweise folgenden Qualitätsverschlechterung, verursacht durch Autolyse, entgegengewirkt werden [2].

Verkostung

Anhand der Verkostung war eindeutig zu erkennen, dass die Biere mit geringerer Hefegabe besser bewertet beziehungsweise als angenehmer empfunden wurden. Bei dem untersuchten Hefestamm Safale™ US-05 wurde mit zunehmender Anstellhefemenge eine stärkere Bittere und eine Verringerung der Vollmundigkeit wahrgenommen.

Zusammenfassung

Bei der Verwendung von Trockenhefe muss auf viele Aspekte geachtet werden, um eine reibungslose Gärung zu erzielen, denn ein guter Gärverlauf ist zumeist ein Garant für wohlschmeckende Biere.

Es wurde ein Kleingärverfahren entwickelt, um Gärungsverläufe genau zu untersuchen. Außerdem erfolgte anschließend eine sensorische Prüfung. Es zeigte sich, dass eine Verringerung der Trockenhefemenge zu einer sensorischen Verbesserung führen kann. Dieses Verfahren lässt sich auch in der Praxis einsetzen, damit ist es Brauereien möglich, die Hefegabe produktspezifisch an die sensorischen Erwartungen ihrer Kunden anzupassen. Das Verfahren eignet sich zur Bewertung von Rohstoffen, Technologien sowie für Produkt-Neuentwicklungen. ■

Literaturverzeichnis

1. Narziß, L.: Abriss der Bierbrauerei, Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2013.
2. Back, W.: Ausgewählte Kapitel der Brauereitechnologie, Fachverlag Hans Carl, Nürnberg, 2008.

ARBEITSANWEISUNG KLEINGÄRVERFAHREN

	Methoden	Material
1.	Würze herstellen und davon ca. 15% Würze für die Nachgärung in Kühlung (0 °C) bereitstellen.	Wasser 4°dH (6338 g), Malzextrakt (1162 g), entspricht 12°P, Weyermann, Waage: 0,5 g ISOHOP® 30 % (0,87 g), entspricht 20 BE, Barth-Haas, Laborwaage: 0,01 g, Becherglas Density-Meter DMA 35, Anton Paar
2.	600 ml Würze in Erlenmeyerkolben (1 l) füllen.	Laborwaage: 0,01g, Erlenmeyerkolben (1 l)
3.	Hefe in Reagenzgläsern mit Würze gemäß Herstellerangaben rehydrieren.	Hefestämme (Fermentis): - Saflager™ W34/70 - Safale™ S04 - Safale™ US-05 Reagenzgläser, Bechergläser
4.	Rehydrierte Hefe in den jeweiligen Erlenmeyerkolben überführen mit folgenden Anfangskonzentrationen: - Saflager™ W34/70 (120g/hl, 60g/hl, 30g/hl, 15g/hl), - Safale™ US-05 (80g/hl, 40g/hl, 20g/hl, 10g/hl, 5g/hl), - Safale™ S04 (80g/hl, 40g/hl, 20g/hl, 10g/hl, 5g/hl).	Eppendorf-Pipette(100-1000µl), Becherglas
5.	Erlenmeyerkolben eine Minute zur Hefebelüftung schwenken.	Stoppuhr
6.	Pro Erlenmeyerkolben 3 Proben mit jeweils 0,5 ml in Eppendorf-Gefäße geben. Um die Gärung zu unterbinden, können die Eppendorf-Gefäße in Eiswasser(0 °C) gelegt und später gemessen werden.	Eppendorf-Pipette(100 - 1000 µl), Eppendorf-Gefäße (1,5 ml)
7.	Erlenmeyerkolben mit Aluminiumfolie verschließen und in Kühltheke mit gewünschter Temperatur stellen.	Aluminiumfolie, Kühltheke
8.	Hefezellzahl und Hefeviabilität gleichzeitig aus den zuvor vorbereiteten Eppendorf-Gefäßen bestimmen. Dazu wird die gleiche Menge an Methylenblau wie an Probenmenge (0,5ml) verwendet. Eppendorf-Gefäß verschließen und exakt eine Minute schütteln.	Hellfeld-Mikroskop, Thomakammer, Methylenblau (0,1 %), Pasteurpipetten, Stoppuhr
9.	Pro Eppendorf-Gefäß vier Großfelder in einer Diagonalen auszählen.	Counter
10.	Im Laufe der Gärung tägliche Bestimmung des Extraktgehaltes. Dabei 10ml Probe aus dem Erlenmeyerkolben entnehmen, filtrieren und anschließend Extrakt im Filtrat messen.	Faltenfilter, Trichter, Becherglas, Pipette (10ml), Density-Meter DMA 35
11.	Ebenfalls tägliche Bestimmung der Hefezellzahl und Hefeviabilität. Erlenmeyerkolben eine Minute durch Schwenken homogenisieren. 3 Proben pro Erlenmeyerkolben mit Eppendorf-Pipette(100 - 1000 µl) entnehmen und in Eppendorf-Gefäße geben. Je nach erforderlicher Verdünnung Wasser hinzufügen, und die gleiche Menge an Methylenblau hinzufügen wie die entnommene Probenmenge. Nach Zugabe von Methylenblau das Eppendorf-Gefäß verschließen und exakt eine Minute schütteln. Probe entnehmen und auf Thomakammer auftragen und innerhalb von 5 Minuten auszählen.	Hellfeld-Mikroskop, Thomakammer, Wasser, Methylenblau (0,1%), Pasteurpipetten, Stoppuhr, Counter
12.	Am Ende der Gärung werden 450 ml des jeweiligen Erlenmeyerkolbens in Flaschen abgefüllt. Vorher Probe durch Schwenken homogenisieren. Es wird eine Flaschengärung durchgeführt. Als Speise dient die am ersten Tag entnommene Würze. Mit Hilfe der Ballingformel einen CO ₂ -Gehalt von 5 g/l einstellen. Errechneten Wert in die Flasche einwiegen, Flasche verschließen.	0,5-l-NRW-Flasche, Kronenkorken, Ballingformel, Verschließer, Würze, Trichter, Laborwaage: 0,01 g
13.	Eine Woche Nachgärung bei gleicher Temperatur der Hauptgärung.	Kühltheke
14.	In einer Kühltheke für mindestens eine Woche bei 0°C umlagern.	Kühltheke (0 °C)
15.	Bieranalytik und Sensorik.	Vorgefertigte Verkostungs-Tabellen

Tab. 2