

# **Gärung und Reifung des Bieres**

**Grundlagen  
Technologie  
Anlagentechnik**

3. überarbeitete Auflage 2020

Prof. Dr. sc. techn. Gerolf Annemüller

Dr. sc. techn. Hans-J. Manger



Im Verlag der VLB Berlin

## 4. Nebenprodukte der Gärung und Reifung und ihre Bedeutung für die Qualität des Bieres

### 4.1 Einführung

Während der alkoholischen Gärung entstehen durch den Stoffwechsel der Bierhefen eine Vielzahl von Nebenprodukten unterschiedlicher chemischer Zusammensetzung, wie vicinale Diketone, Aldehyde, höhere Alkohole, Ester, organische Säuren, Schwefelverbindungen u. a., die das Aroma und damit die sensorischen Qualität eines Bieres wesentlich beeinflussen (siehe Übersicht in Tabelle 27).

*Tabelle 27 Die wichtigsten Aromakomponenten des Bieres und ihre Herkunft*

Herkunft und Bildung	Aromagruppe	Wesentliche Komponenten
Aminosäurestoffwechsel der Hefe oder Kontamination	Vicinale Diketone	Diacetyl, Pentandion
Aminosäurestoffwechsel der Hefe	Höhere Alkohole	Isoamylalkohole, Isobutanol
Energiestoffwechsel der Hefe	Ester	Ethylacetat, Isoamylacetat
Fettsäurestoffwechsel der Hefe, Biologische Säuerung u. Gärungsstoffwechsel der Hefe	Organische Säuren	Capronsäure, Caprylsäure Milchsäure
Schwefelstoffwechsel der Hefe oder Kontamination Eintrag durch Malz	Schwefelverbindungen	H <sub>2</sub> S, Mercaptane Dimethylsulfid
Eintrag durch Malz + Stoffwechsel der Hefe Eintrag durch Wasser	Phenole	4-Vinylguajacol Chlor-Phenole
Zwischenprodukt der alkoholischen Gärung Oxidationsprozesse, verursacht durch Alterung, thermische Belastung, Licht	Carbonyle	Acetaldehyd  Trans-2-Nonenal
Hopfen	Hopfenöle	Linalool, Myrcen

Die Bildungswege dieser Stoffwechselprodukte sind, bedingt durch die Komplexität des Hefestoffwechsels, in ihrer Gesamtheit nicht darzustellen (s.a. Abbildung 4 in Kapitel 2.11). Bisher wurden über 400 Aromaverbindungen, die durch die Hefen gebildet werden, in alkoholischen Getränken nachgewiesen. Man unterteilt die Nebenprodukte in:

- Jungbierbukettstoffe (Aldehyde, vicinale Diketone, Schwefelverbindungen). Sie verleihen dem Bier einen unreinen, jungen, unreifen, unharmonischen Geschmack und Geruch und beeinflussen bei höheren Konzentrationen die Bierqualität negativ.

- Bukettstoffe (höhere Alkohole, Ester, organische Säuren). Sie bestimmen das Aroma des Bieres, und ihr Vorhandensein ist in bestimmten Konzentrationsbereichen Voraussetzung für ein Qualitätsbier.

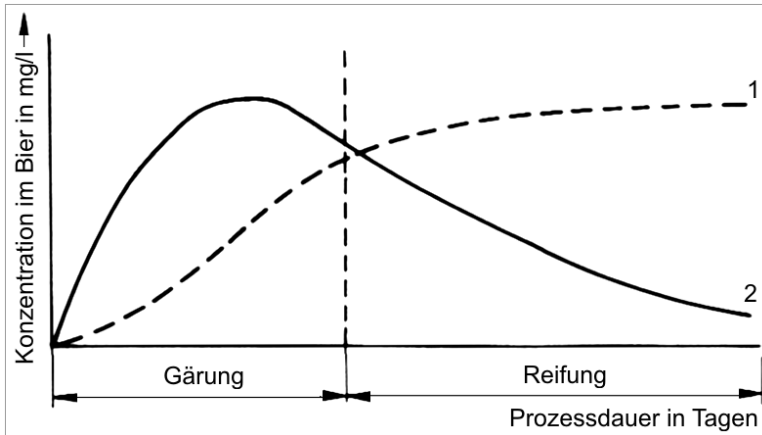


Abbildung 16 Verallgemeinerter Konzentrationsverlauf von Nebenprodukten während der Gärung und Reifung von Bier  
 1 Bukettstoffe 2 Jungbierbukettstoffe

Beide Stoffgruppen unterscheiden sich deutlich in ihrem Konzentrationsverlauf während der Gärung und Reifung des Bieres (Abbildung 16, Abbildung 17). Während die Jungbierbukettstoffe auf biochemischem Wege in weniger gefährliche Nebenprodukte umgewandelt bzw. aus dem Bier entfernt werden können, sind einmal gebildete Bukettstoffe durch normale technologische Maßnahmen aus dem Bier nicht mehr entfernbar. Ein Ziel der Gärung und Reifung besteht darin, die Konzentration an Jungbierbukettstoffen soweit als möglich im Bier zu verringern und die Bukettstoffe in den gewünschten Konzentrationsbereichen anzureichern. Einige Richtwerte für diese Nebenprodukte im fertigen Bier werden in Tabelle 28 aufgeführt.

Die Festlegung von geschmacklichen Richt- und Schwellenwerten bereitet bei vielen Substanzen Schwierigkeiten, da das Ergebnis ihrer Bestimmung in reinen wässrigen Lösungen meist nicht mit dem Geschmacks- oder Geruchseindruck, den sie dem Bier geben, identisch ist. Wechselwirkungen zwischen Aromaträgern können z. B. zu gegenseitigen Verstärkungs- oder Abschwächungseffekten führen. So wird z. B. für untergärrige Biere ein Bukettstoffverhältnis von höheren Alkoholen zu Estern = 3...4 zu 1 angestrebt. Eine Vergrößerung dieses Verhältnisses durch einen Anstieg der Konzentration der höheren Alkohole im Bier führt zu einem „trockneren“ und weniger aromatischen Biercharakter.

Auch die Hopfenaromakomponenten können durch aromatische Gärungsnebenprodukte in ihrem Aromaeindruck abgeschwächt oder auch gefördert werden, wie Hanke [79] konkret nachweisen konnte (siehe Tabelle 29).

Die Beeinflussung dieses Bukettstoffverhältnisses ist durch unterschiedliche technologische Maßnahmen möglich. Der Gehalt an Estern im Bier wird dabei stärker durch die Würzequalität und der Gehalt an höheren Alkoholen dagegen stärker durch die Prozessführung beeinflusst.

## Gärung und Reifung des Bieres

Da weiterhin eine gezielte Steuerung aller für das Bieraroma verantwortlichen Substanzen im Prozess der Gärung und Reifung unmöglich ist, erfolgt die Ausrichtung der Technologie in den einzelnen Prozessstufen auf der Grundlage des derzeitigen Erkenntnisstandes anhand von Leitsubstanzen, deren wichtigste für den Reifungsprozess des Bieres die vicinalen Diketone und ihre Vorstufen sind. Verallgemeinert lässt sich sagen, dass alle Maßnahmen, die bei der Gärung zu einem überzogenen Kohlenhydrat- und Aminosäurenabbau und zu einer übersteigerten Hefevermehrung führen, eine erhöhte intrazelluläre Bildung von Stoffwechselprodukten und eine verstärkte Ausscheidung dieser sensorisch und diätetisch weniger erwünschten Nebenprodukte der alkoholischen Gärung verursachen. Nachfolgend können nur die wichtigsten Nebenproduktgruppen auszugsweise behandelt werden.

**Tabelle 28** Ausgewählte Gärungsnebenprodukte der Biergärung und ihre Richtwerte für untergärige Vollbiere (nach [100], [101])

	Richtwert in ppm	Geschmacks- schwellenwert in ppm	Bildungswege
<b>Bukettstoffe</b>			
2-Methylbutanol-1	10...15	15	1. Ehrlich-Weg mit den Stufen: ○ Desaminierung der Aminosäure, ○ Decarboxylierung der $\alpha$ -Ketosäure u. Reduktion des gebildeten Aldehyds zum höheren Alkohol
3-Methylbutanol-1	30...50	60...65	
Isobutanol	5...10	10...100	
n-Propanol	2...10	2...50	
$\Sigma$ höhere aliphatische Alkohole	70...90		
Aromatischer Alkohol: $\beta$ -Phenylethanol	6...44	100	2. Anabolischer Weg vom Pyruvat über $\alpha$ -Acetolactat
Ethylacetat	15...25	25...30	Energienstoffwechsel der Hefe unter Mitwirkung von Acetyl-Coenzym A
Isoamylacetat	0,5...1,5	1,0...1,6	
$\beta$ -Phenylethylacetat	1...5	3,0	
$\Sigma$ Ester	15...30		
Organische Säuren: Milchsäure	30...530	400	Biologische Säuerung u. Gärungsstoffwechsel der Hefe
Niedere Fettsäuren mit 4...10 C-Atomen	10...18		Bau- und Gärungsstoffwechsel der Hefe
Höhere Fettsäuren mit 12...18 C-Atomen	0...0,5		
<b>Jungbukettstoffe</b>			
Acetaldehyd	< 8	25	Gärungsstoffwechsel der Hefe
Butan-2,3-dion	< 0,05	0,1...0,2	Bei der Aminosäuresynthese Bildung der Acetohydroxysäuren und deren oxidative Decarboxylierung zu vicinalen Diketonen
Pentan-2,3-dion	< 0,02	0,5...0,6	
$\Sigma$ Gesamtdiacetyl = vicinale Diketone + Vorstufen (Acetohydroxysäuren)	< 0,10		

Richtwerte für die Schwefelverbindungen siehe Kapitel 4.4.2.

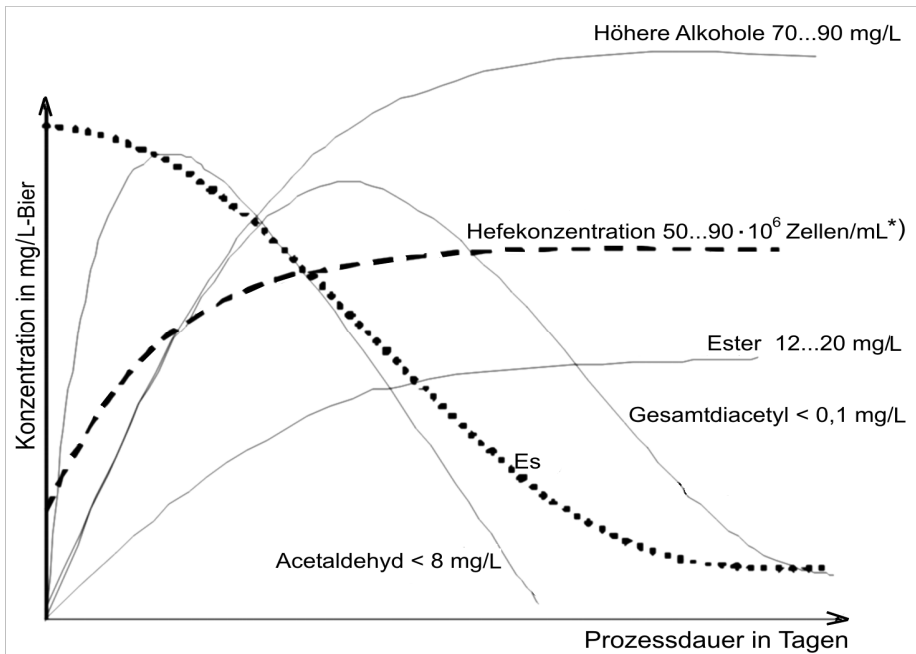


Abbildung 17 Konzentrationsverlauf und Richtwerte von Gärungsnebenprodukten der Biergärung (Bukettstoffe und Jungbukettstoffe) in Beziehung zur Hefevermehrung und Extraktvergärung (Es) eines untergärigen Bieres.  
 \*) Anstellhefekonzentration 10...30 · 10<sup>6</sup> Zellen/mL

Tabelle 29 Geschmacksschwellenwerte von Gemischen aus Hopfenölkomponenten und ausgewählten Gärungsnebenprodukten

Hopfenölkomponente	Zusatz zum Hopfenöl	Geschmacksschwellenwert	
		Reinsubstanz	+ Zusatz
Linalool	-	ca. 27 µg/L	-
	+ 10 mg/L Ethylacetat	-	95 µg/L
	+ 2 mg/L Isoamylacetat	-	67 µg/L
Geraniol	-	ca. 90 µg/L	-
	+ 47 mg/L 2-Phenylethanol	-	149 µg/L
	+ 2 mg Isoamylacetat	-	77 µg/L

Auch Off-Flavour-Komponenten, wie Diacetyl können im geringen Umfang durch die o.g. Hopfenölkomponenten überdeckt werden.

#### 4.2 Biochemismus der vicinalen Diketone im Prozess der Bierherstellung und seine Bedeutung für die Steuerung des Reifungsprozesses

In Untersuchungen über das komplexe Gebiet der *vicinalen Diketone* konnte Folgendes festgestellt werden (zusammenfassende Berichte siehe [102], [103], [104]):

### 4.2.1 Bedeutung der vicinalen Diketone

Die vicinalen Diketone verleihen dem Bier beim Überschreiten der Geschmacksschwellenwerte (siehe Tabelle 28) einen unreinen, süßlichen und je nach Konzentration bis widerlichen Geschmack.

Das Pentan-2,3-dion hat durch den höheren Geschmacksschwellenwert dabei nicht diese Bedeutung wie das Butan-2,3-dion.

Der Abbau der vicinalen Diketone verläuft während des Bierreifungsprozesses parallel zu den anderen Teilvorgängen der Reifung und ist besonders bei beschleunigten kontinuierlichen wie diskontinuierlichen Verfahren, der die Reifungsgeschwindigkeit bestimmende Prozess. Deshalb kann der Gehalt an vicinalen Diketonen (richtiger: Die Summe der vicinalen Diketone und ihrer Vorstufen entspricht dem sogenannten Gesamtdiacetyl) im Fertigbier (Flasche, Fass) als ein wesentliches Kriterium für den Reifungsgrad angesehen werden (chemische Struktur und Begriffserklärung der vicinalen Diketone und ihrer Vorstufen siehe Abbildung 18).

Vorstufen der vicinalen Diketone		Ihre vicinalen Diketone	
$\alpha$ -Acetomilchsäure (2-Acetolactat)	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3 \\    \quad   \\ \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	Butan-2,3-dion (Diacetyl)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3 \\    \quad    \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$
$\alpha$ -Acetohydroxy- buttersäure (2-Acetohydroxy- butyrat)	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2 \\   \\ \text{H}_3\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{COOH} \\    \quad   \\ \text{O} \quad \text{OH} \end{array}$	Pentan-2,3-dion	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{C}-\text{CH}_3 \\    \quad    \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$

Abbildung 18 Vicinale Diketone (VD) des Bieres und ihre Vorstufen

Begriffserklärung: vicinal von vicinales [lat.] = nachbarlich; VD: Diketon mit zwei nebeneinander liegenden bzw. benachbarten Ketogruppen

### 4.2.2 Die drei Stufen des Metabolismus der vicinalen Diketone im Prozess der Bierherstellung

#### 4.2.2.1 Erste Stufe: Bildung der Vorstufen der vicinalen Diketone durch die Hefezellen

Die vicinalen Diketone werden von der Hefe in ihrem Stoffwechsel nicht unmittelbar selbst gebildet, sondern nur ihre Vorstufen (engl.: precursor), zwei Acetohydroxysäuren, die als einzige Vorstufen der vicinalen Diketone angesehen werden müssen. Diese Vorstufen werden in das Bier abgegeben. Sie sind geschmack- und geruchlos, also sensorisch nicht feststellbar! Sie können aber gaschromatografisch bestimmt werden.

Die Entstehung dieser Vorstufen in der Hefezelle ist insbesondere gebunden an die Pantothersäure- und Aminosäuresynthese aus einfachen Verbindungen des Intermediärstoffwechsels. Ein Ausgangspunkt dieser Synthese ist das bei der Atmung

und Gärung entstehende Zwischenprodukt, die Brenztraubensäure (Pyruvat), siehe Abbildung 19.

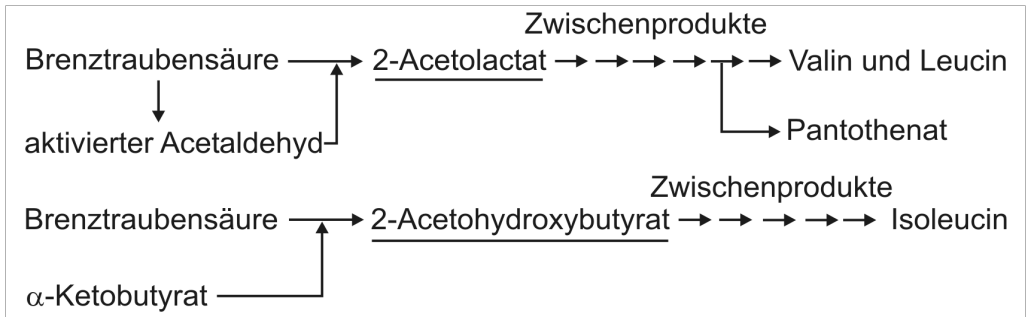


Abbildung 19 Bildungswege der Acetohydroxysäuren

Hohe intrazelluläre Gehalte der Hefe an Valin und Isoleucin (Aminosäurepool der Hefezelle) hemmen die Bildung der Acetohydroxysäuren merklich, erst nach deren Verbrauch steigt der Gehalt der Vorstufen der vicinalen Diketone im Bier an (siehe Abbildung 20).

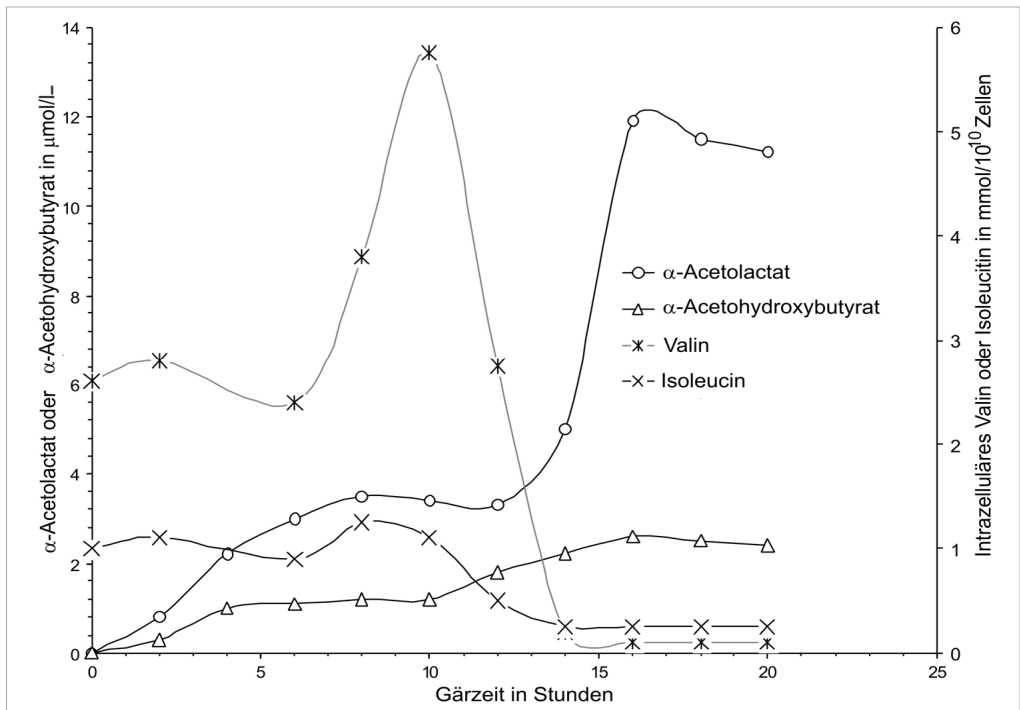


Abbildung 20 Der Zusammenhang zwischen dem intrazellulären Aminosäuregehalt der Hefe (Valin, Isoleucin) und der Bildung der Vorstufen der vicinalen Diketone (nach [138])

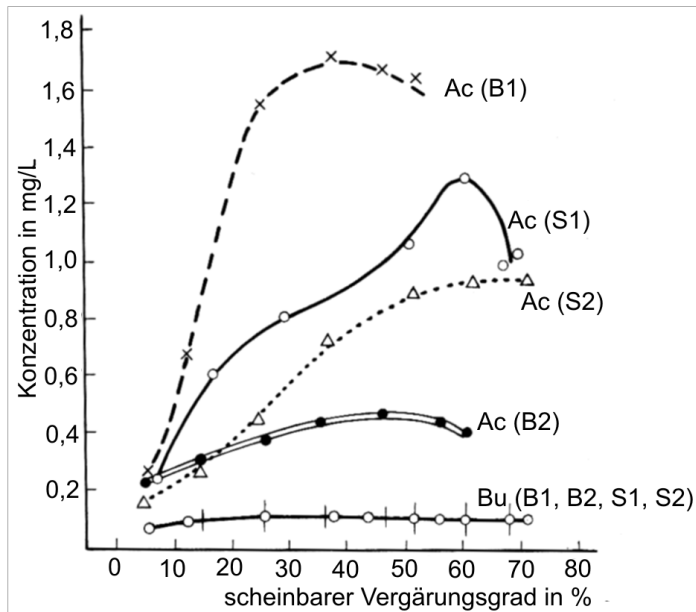


Abbildung 21 Einfluss des Hefestammes auf die Bildung von 2-Acetylactat nach [102]  
**B1** Bruchhefe 1 **B2** Bruchhefe 2 **S1** Staubhefe 1 **S2** Staubhefe 2  
**Ac** 2-Acetylactatkonzentration **Bu** Butan-2,3-dionkonzentration

Nach den bisherigen Erkenntnissen ist die Menge der während der Gärung gebildeten Acetohydroxysäuren von folgenden Faktoren abhängig:

### 1. Hefestamm

Der Zeitpunkt der Bildung und die Konzentration der Acetohydroxysäuren im Jungbier scheint ein spezifisches Merkmal des jeweiligen Hefestammes zu sein, wie die Untersuchungsergebnisse von *Mändl*, *Geiger* und *Piendl* [102] zeigen (Abbildung 21).

Deutliche Unterschiede wurden bei den geprüften Hefestämmen in der 2-Acetylhydroxybutyratbildung festgestellt. Hier ist zu beachten, dass sich die Hefestämmen bei verschiedenen Würzen sehr unterschiedlich verhalten und eine Prüfung eines Hefestammes nur in der vorgesehenen Betriebswürze eine gesicherte Aussage liefert.

Es wurden bereits Hefemutanten isoliert, die keine 2-Acetylactatsynthese besaßen und damit keine Butan-2,3-dionbildung bei der Gärung verursachen. Wegen anderer Mängel (geringere Gärleistung, abartiger Biergeschmack) konnten derartige Mutanten bisher in die Praxis nicht eingeführt werden. Richtiger sollte hier nicht mehr von Diketonbildungsvermögen des Hefestammes, sondern von der Eignung eines Hefestammes zur Bildung von Acetohydroxysäuren gesprochen werden.

### 2. Hefegabe

Eine Erhöhung der Hefegabe kann bei druckloser Gärung zu einer stärkeren Bildung der Acetohydroxysäuren führen. Höhere Hefegaben fördern aber auch durch eine intensivere Gärung einen frühzeitigeren, schnelleren Abbau der vicinalen Diketone und ihrer Vorstufen im Bier.



### 3. Sauerstoffeinfluss

Sauerstoffeinfluss nach dem Anstellen der Würze mit Hefe führt je nach Eintragsmenge und Zeitpunkt des Eintrages zur erhöhten Bildung der Acetohydroxysäuren durch die Hefe.

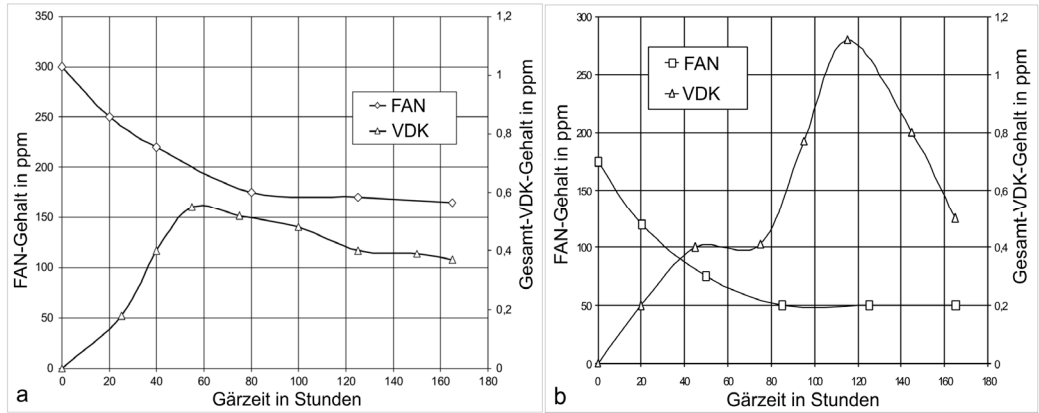


Abbildung 22 Einfluss des  $\alpha$ -Aminostickstoffgehaltes der Anstellwürzen (FAN) auf den Gesamtgehalt an vicinalen Diketonen (Gesamt-VDK) nach [138].  
**a** Hoher FAN-Gehalt      **b** Niedriger FAN-Gehalt

### 4. Würzezusammensetzung

Besonders der Gehalt der Würze an direkt assimilierbaren Stickstoffverbindungen ist eine wesentliche Einflussgröße. Bei einem Mangel an  $\alpha$ -Aminostickstoff wird die Bildung von Acetohydroxysäuren übermäßig angeregt, besonders bei einem intensiven Drauflassverfahren und einer verstärkten Hefevermehrung (siehe Abbildung 22).

### 5. Gärtemperatur und Druck

Der Einfluss auf den Gesamtdiacetylgehalt in der Gärphase ist davon abhängig, ob durch eine höhere Gärtemperatur die Hefevermehrung angeregt wird, oder durch eine kombinierte Drucksteigerung sie gebremst wird. Jede Steigerung der Hefevermehrung führt insbesondere bei FAN-armen Würzen zu überhöhten Gesamtdiacetyl-Werten in der Hauptgärphase. Die Konzentration der Vorstufen werden bei warmer Gärführung schneller und teilweise auch deutlich mehr gebildet, aber auch wieder schneller abgebaut, wie die Versuchsergebnisse in Abbildung 23 erkennen lassen.

Eine Druckerhöhung in der Gärphase erhöht den  $\text{CO}_2$ -Gehalt im gärenden Bier und drosselt dadurch die Hefevermehrung. Als Folge davon sinkt das Maximum der Gesamtdiacetylkonzentration im gärenden Bier mit steigendem Druck und  $\text{CO}_2$ -Gehalt in der Gärphase (siehe Abbildung 24).