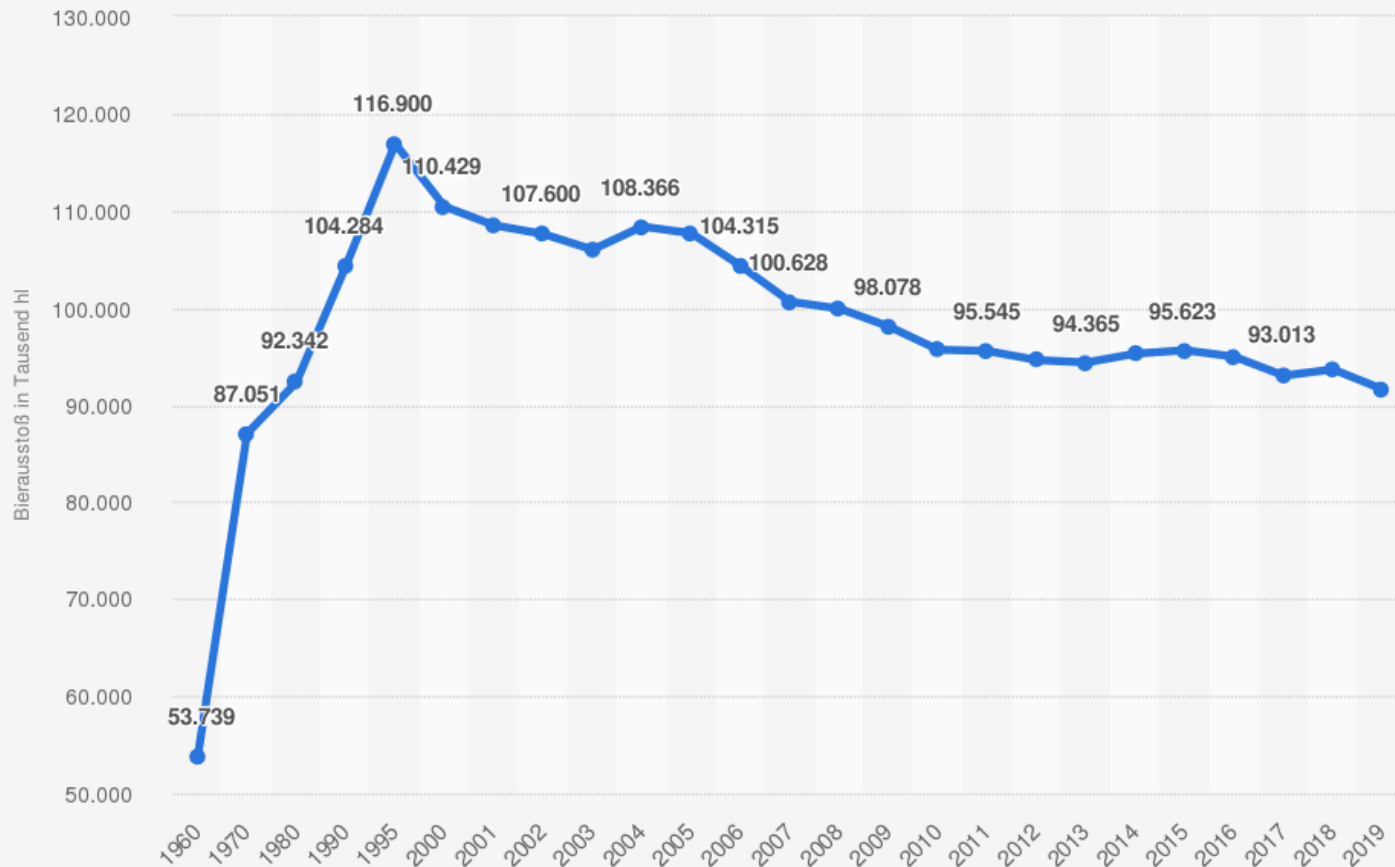


Spezialhefen für alkoholfreie- und arme Biere

Special yeasts for non- and low-alcoholic beers

Dr.-Ing. Mathias Hutzler
Yvonne Methner

Bierausstoß in Deutschland in den Jahren 1960 bis 2019 (in 1.000 Hektoliter)



Quellen

Deutscher Brauer-Bund; Statistisches Bundesamt
© Statista 2020

Weitere Informationen:

Deutschland; Vor 1992: Biersteuerstatistik des StBA; ab 1993
Erhebungen der Mitgliedsverbände des DBB; seit 2007 Berechnung
des DBB

**Produktion von alkoholfreiem Bier in Deutschland in den Jahren 2005 bis 2019
(in 1.000 Hektoliter)**



Quelle
Statistisches Bundesamt
© Statista 2020

Weitere Informationen:
Deutschland; Alkoholgehalt von 0,5 %vol oder weniger

Hefe – die entscheidende jedoch unbekannte Größe



← Hefe ≈ 5 g

← Wasser ≈ 400 g

← Hopfen $\approx 0,6$ g

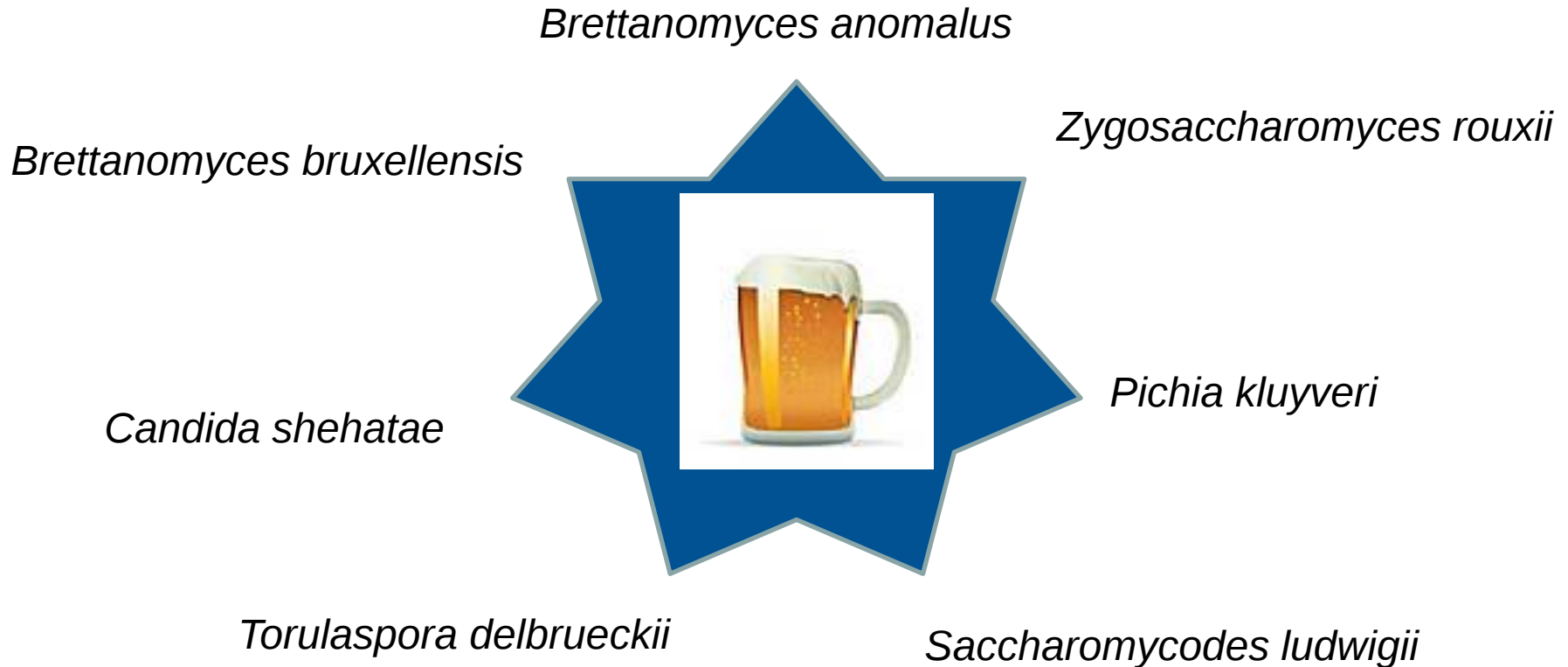
← Malz ≈ 85 g



Blackbox Hefe

$\geq 80\%$ der aromaaktiven Substanzen

Abbildung: Anteilig enthaltenen Rohstoffe pro Glas im Hellen, Quelle: <http://www.bayrisch-bier.de/bier-wissen/lagerhell-und-export/>

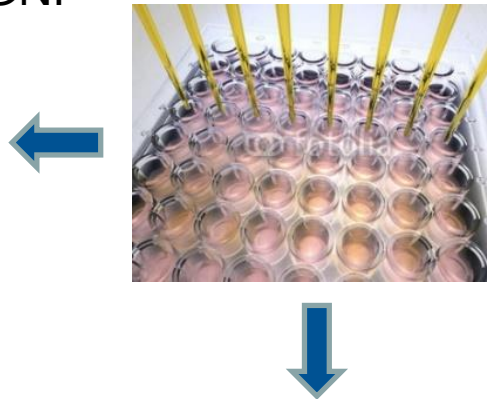


Quelle: Review: Pure non-Saccharomyces starter cultures for beer fermentation with a focus on secondary metabolites and practical applications (2016) Maximilian Michel, Tim Meier-Dörnberg, Fritz Jacob, Frank-Jürgen Methner, R. Steven Wagner and Mathias Hutzler, Institute of Brewing and Distilling, Page 569-587



Screening (Phänotypische Charakterisierung)

- Verstoffwechselung von Glucose, Fructose, Saccharose, Maltose, Maltotriose
- Ethanolresistenz
- Hopfenresistenz
- GNP



Yeast strain	Sugars					Hops	Ethanol					POF	Ethanol content					Esters					Acids			Higher Alcohols					Speed																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																													
	Glucose	Fructose	Sucrose	Maltose	Maltotriose	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol	100% Ethanol</

Maltose-negative Nicht-*Saccharomyces* Hefestamm



Scale up



Vermehrte Nutzung von Nicht-*Saccharomyces* Hefen



Vielfalt nahezu unbegrenzt

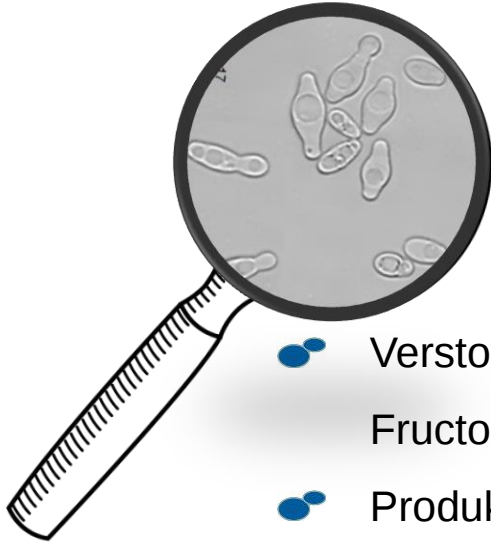


- Studie VTT Finnland 2006: 46 verschiedene Hefearten von Malzoberfläche isoliert

Laitila A. et al. (2006) Yeasts in an industrial malting ecosystem. J Ind Microbiol Biotechnol

- Nicht-*Saccharomyces* Hefen aus anderen Bereichen (z. B. Wein)
- *Saccharomyces ludwigii* zur Herstellung alkoholarmer/-freier Biere

TUM Hefen® -*Saccharomyces ludwigii*-



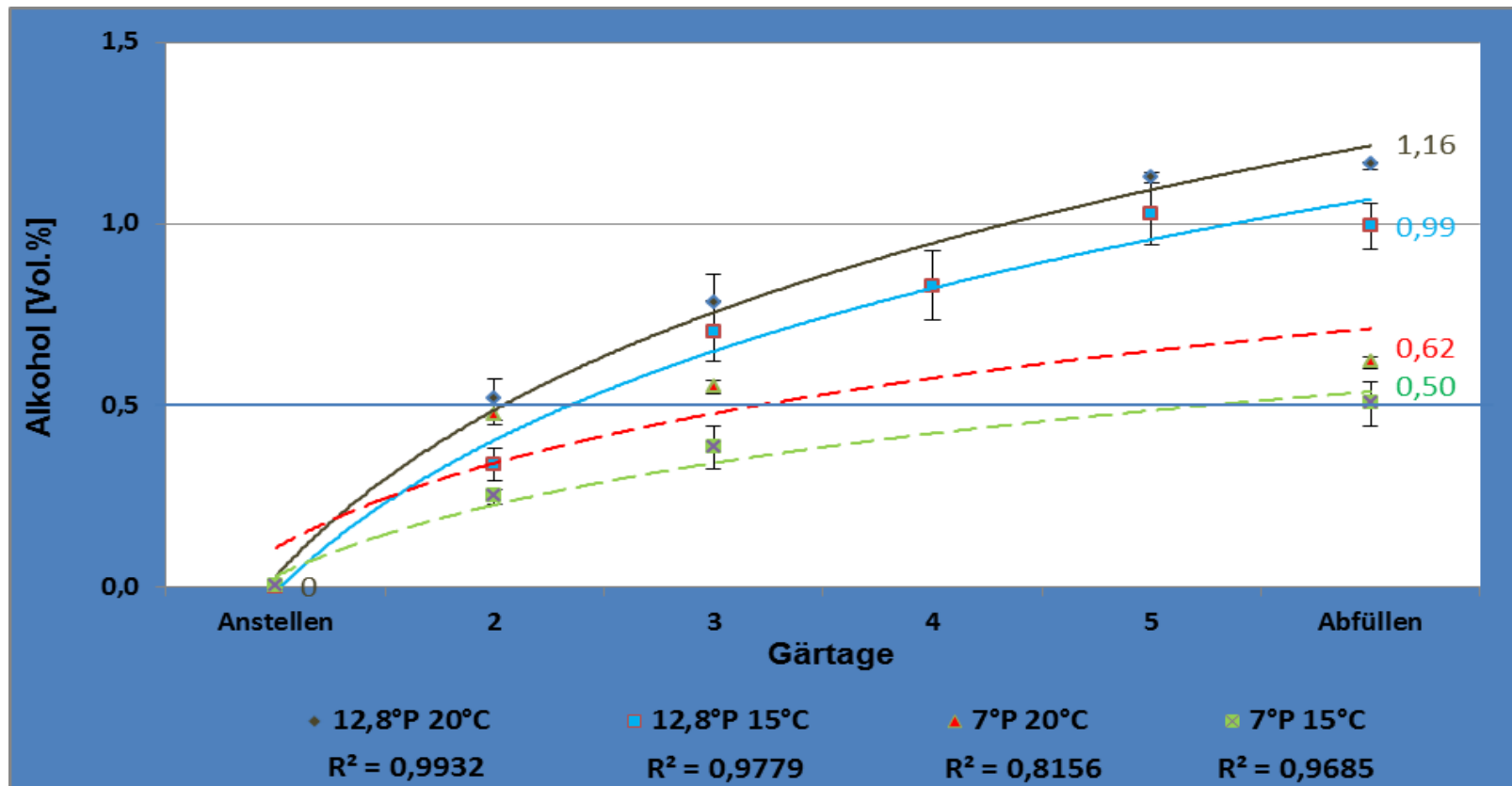
Charakterisierung von *Saccharomyces ludwigii*

- Verstoffwechselt nur Glucose, Fructose und Saccharose
- Produktion alkoholarmer und –freier Biere je nach Stammwürzegehalt
- Gärtemperaturen 15-20 ° C
- Alkoholgehalt < 0,5 Vol.% bei Stammwürze von ca. 7 ° P, je nach Zuckerzusammensetzung und Maischverfahren
- Kein Mehraufwand
- Abgrenzung zu kommerziellen alk.freien Bieren → besonderer sensorischer Gesamteindruck
- fruchtig-honigartiges Aromabild
- Harmonisiert mit Hopfenaromen

Maischen, Gären und Hefemanagement mit TUM SL 17

- Hexosen ca. 7 % der Kohlenhydrate und Saccharose ca. 4 % der Kohlenhydrate in Bierwürze
- Hexosen, z. T. während des Maischprozesses bei $T = \text{ca. } 55^{\circ}\text{C}$ (Enzymoptimum in Würze) gebildet
- Höhere Einmaischtemperaturen z. B. 65°C reduzieren Hexosenbildung → Steuerung des Alkoholgehaltes möglich
- Hefereinzucht → analog zu ober- und untergärigen Bierhefen (ca. 20°C) → Propagation in einem Verhältnis von 1 : 5 (Volumen Hefesuspension : Volumen Bierwürze) bis erforderliches Hefevolumen vorliegt → etwa 3-5 Tage.
- Zielvolumen mit 0,5 l Hefesuspension pro hl anstellen (oder ca. 6-10 Mio. Zellen pro ml)
- 5 Tage Hauptgärung und 2 Tage Reifung bei 15°C (je nach Biertyp und Zielsetzung)
- Abkühlen auf 1°C , halten für 2 Tage, Filtration und ggf. EK-Filtration
- Ggf. auf 0,5 % CO_2 aufkarbonisieren
- Falls keine EK- Filtration → thermische Stabilisierung obligatorisch (KZE, Pasteurisation)
- Anmerkungen:
- Fermentation kann semi-kontinuierlich gestaltet werden, d. h. 25 % des Jungbieres nach Hauptgärung verweilen im Tank und werden mit 75 % frischer Würze aufgefüllt.

Alkohol-Bildungsverlauf während der Hauptgärung:



Mit einer Stammwürze von 7 ° P und einer Hauptgärung bei 15 ° C isotherm erhält man folgende Werte:

Bieranalyse

AV° s %	12,0
EV° s %	13,0
Alkoholgehalt % [V/V]	0,44
Bittereinheiten	23,3
pH	4,80

Gärungsnebenprodukte in mg/l

Diacetyl	0,03
2,3-Pentandion	0,01
Acetaldehyd	2,1
Etylacetat	0,1
n-Propanol	1,5
Isobutanol	6,3
Isoamylalkohole	13,1

TUM SL17 (*S. ludwigii*) vs. Ø 20 Weizenbiere <0,5 Vol.% Alc.

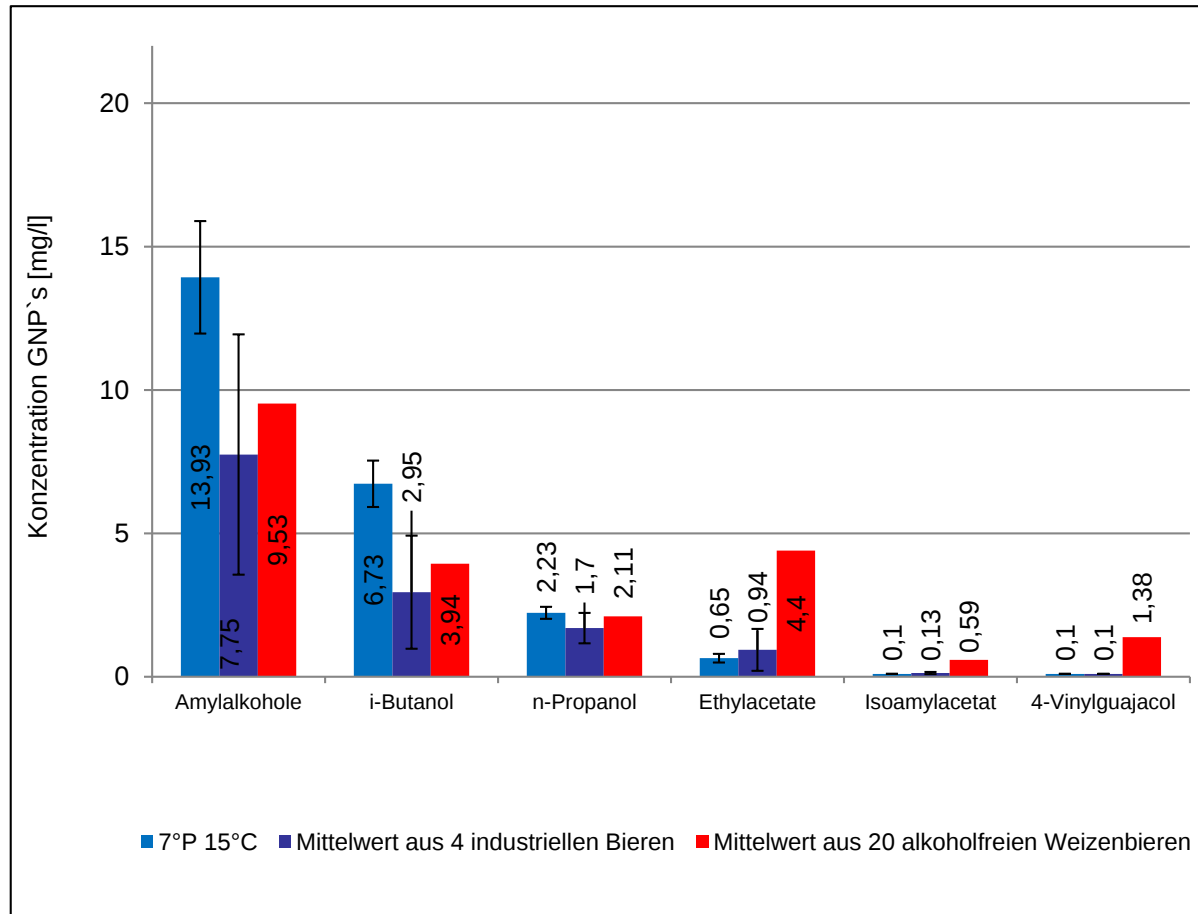


Abbildung: Vergleich der Gärungsnebenprodukte eines durchschnittlichen alkoholfreien Weizenbieres und der mittels *S. ludwigii* hergestellten alkoholfreien Weizenbieres

Saccharomyces ludwigii

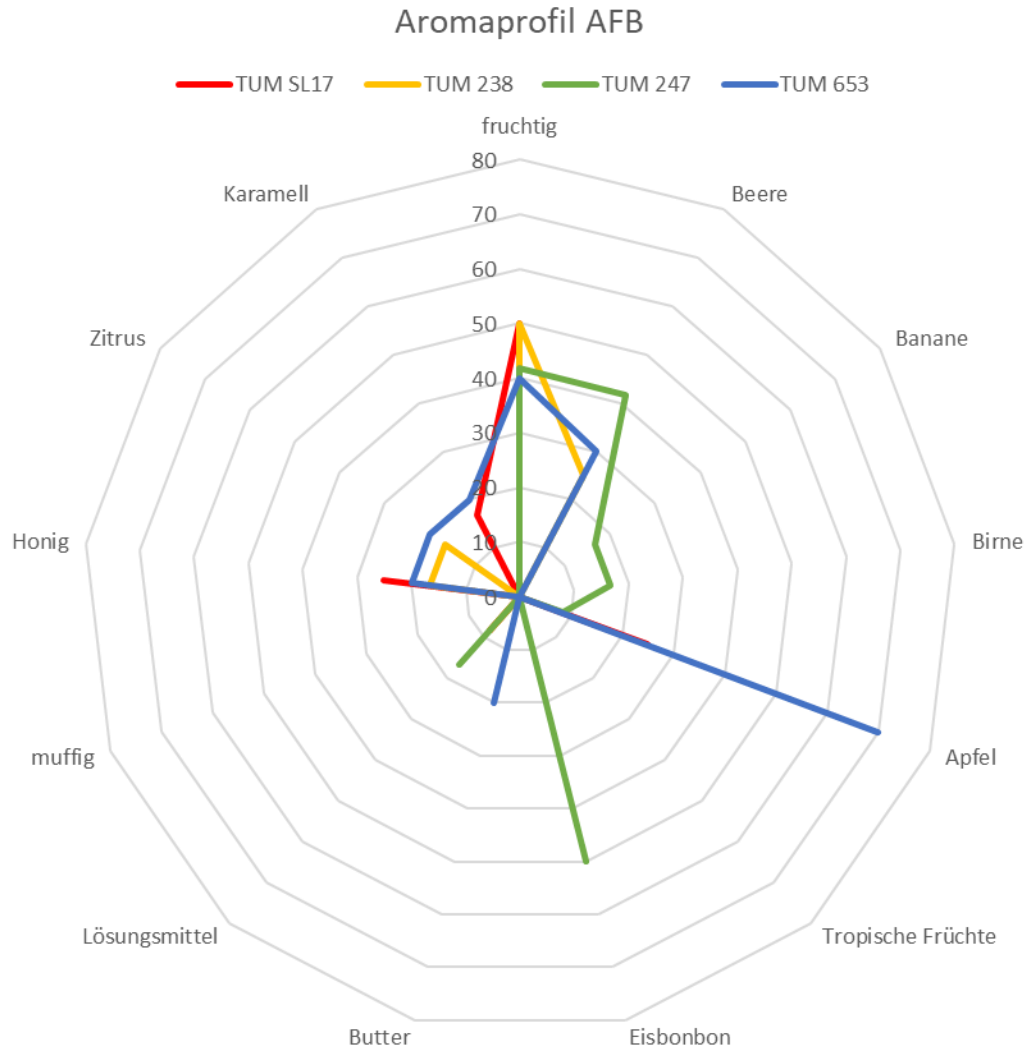
Vorteile:

- Weniger „Würze-Flavour“ als bei gestoppten Gärungen o.ä.
- Keine oder nur sehr geringe Anschaffungskosten für notwendige Anlagen
- Laufende Kosten äußerst gering
- Keine große technologische Umstellung in der Brauerei notwendig

Nachteile und Schwierigkeiten:

- „Gutes Wachstum“ von Würzebakterien möglich, da keine Alkohol-Barriere
- Kreuzkontaminationen mit Kulturhefen sind leicht möglich
- Wilde Hefen können sich wesentlich leichter entwickeln: Äußerst sauberes Arbeiten ist Grundvoraussetzung!!!
- KZE oder Pasteurisation sind erforderlich

Produktion alkoholfreier Biere mittels Nicht-*Saccharomyces* Hefen



Hefe Abkürzung	Summe DLG
SL17	4,18
238	4,13
247	4,45
653	4,42

TUM SL17: *S. ludwigii*
TUM 238: *C. misumaiensis*
TUM 247: *C. saturnus*
TUM 653: *K. marxianus*

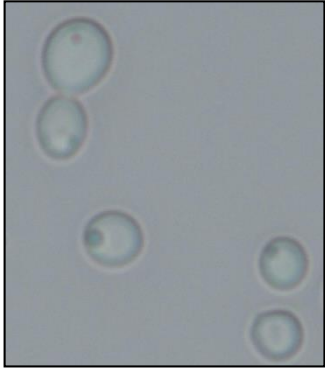
TUM Hefen® -Spezialhefen für die besondere Note-



Charakterisierung von *Cyberlindnera misumaiensis* TUM 238

- Produktion alkoholarmer und –freier Biere je nach Stammwürzegehalt
- Gärtemperatur 20 ° C
- Alkoholgehalt deutlich < 0,5 Vol.% bei Stammwürze von ca. 7 ° P, je nach Zuckerzusammensetzung und Maischverfahren kann Stammwürze angehoben werden
 - verstärkte Vollmundigkeit, intensiveres Aroma
- Bier-pH 4,6 – 5,0 → Einsatz von Sauergut empfohlen
- Erfrischendes, abgerundetes süß-säuerlich, fruchtiges Aroma
- Erinnert an Stachelbeere und Kernobst

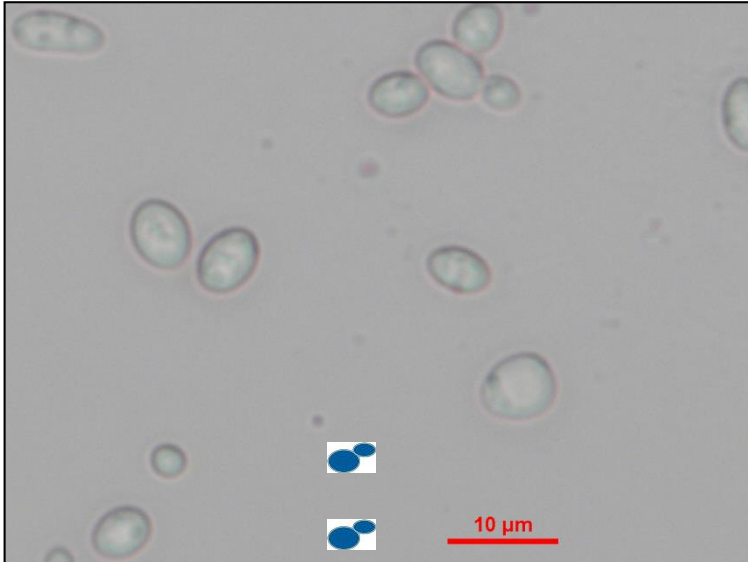
TUM Hefen® -Spezialhefen für die besondere Note-



Charakterisierung von *Cyberlindnera saturnus* TUM 247

- Produktion alkoholarmer und –freier Biere je nach Stammwürzegehalt
- Gärtemperaturen 20-27 ° C
 - Aromaausprägung intensiviert sich mit zunehmender Gärtemperatur
- Alkoholgehalt < 0,5 Vol.% bei Stammwürze von ca. 7 ° P, je nach Zuckerzusammensetzung und Maischverfahren
- pH-Sturz nicht ausreichend → Einsatz von Sauergut empfohlen
- Aromatisch-fruchtiger Charakter
- Erinnert an Banane, Birne, Eisbonbon, Beeren

TUM Hefen® -Spezialhefen für die besondere Note-



Charakterisierung von *Kluyveromyces marxianus* TUM 653

Produktion alkoholarmer und –freier Biere je nach
Stammwürzegehalt

Gärtemperatur 20 ° C

-
- Alkoholgehalt < 0,5 Vol.% bei Stammwürze von ca. 7 ° P, je nach
Zuckerzusammensetzung und Maischverfahren
- pH-Sturz nicht ausreichend → Einsatz von Sauergut empfohlen
- Fruchtige Aromaeigenschaften
- Erinnt an Apfel und Waldbeeren

- Screening aus großem Pool an unterschiedlichsten Nicht-*Saccharomyces* Hefen
- Maltose-negative Hefen für Gärversuche und Scale up
- Abhängig vom gewünschten Aromaprofil Einsatz verschiedenster Maltose-negativer Hefen zur Herstellung alkoholfreier Biere:
 - TUM SL17: fruchtig, Honig
 - TUM 238: fruchtig, Steinobst
 - TUM 247: fruchtig, Eisbonbon, Banane, Birne, Beeren
 - TUM 653: fruchtig, Apfel, Waldbeeren

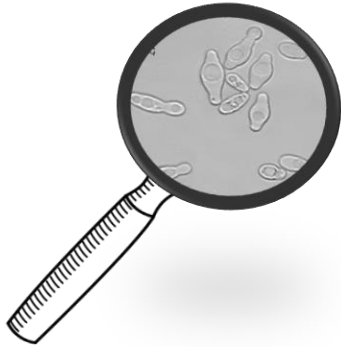
Variation von:

- Malzsorten (hell, dunkel, etc.)
- Hopfensorten (Bitter- und Aromahopfen)
- verschiedene Hefestämme und deren Gärparameter:
 - Stammwürze
 - Temperatur
 - Hefeanstellzahl
 - Sauerstoffbelüftung
- Ausmischen verschiedener Biere



Unter Berücksichtigung weiterer
Kombinationsmöglichkeiten von
Schüttung, Hopfengabe und Hefeeinsatz

**ist die resultierende Biervielfalt
nahezu grenzenlos**



„Hefe
-Geschmacksmotor der Brauindustrie-“

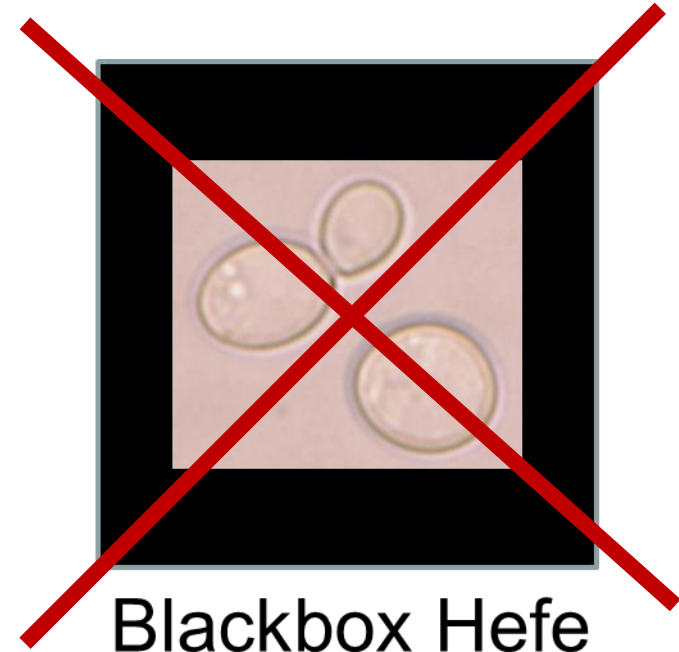
Dr.-Ing. Mathias Hutzler

Alte Akademie 3
85354 Freising-Weihenstephan

Telefon: +49 (0) 8161 / 71- 3100

Telefax: +49 (0) 8161 / 71- 4181

E-Mail: m.hutzler@tum.de
www.blq-weihenstephan.de



Blackbox Hefe