

**Zeitschrift:** Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

**Herausgeber:** Bundesamt für Gesundheit

**Band:** 85 (1994)

**Heft:** 5

**Artikel:** Mikrobiologie der Brotteigherstellung. Teil V, Vermehrung von Backhefe in Weizenmehlmedien = Microbiology of dough preparation. Part V, Growth of baker's yeast on hydrolysed wheat-meal

**Autor:** Merseburger, Tobias / Ehret, Aloise / Geiges, Otto

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982774>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 17.01.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

## Mikrobiologie der Brotteigherstellung

### V. Vermehrung von Backhefe in Weizenmehlmedien

Microbiology of Dough Preparation  
V. Growth of Baker's Yeast on Hydrolysed Wheat-Meal

*Key words:* Baker's yeast, Bread, Wheat-dough

*Tobias Merseburger*<sup>1</sup>, *Aloise Ehret*<sup>2</sup>, *Otto Geiges*<sup>3</sup> und *Willhelm Schmidt-Lorenz*<sup>4</sup>

### Einleitung

Die früher ausschliesslich mit Sauerteig oder Hebel durchgeführte Teiglockerung wurde durch die Anwendung von Presshefe und neuerdings auch von Trockenhefe fast völlig ersetzt. Die neue, schnelle Art der Teigbereitung ermöglicht es, Brote mit gleichmässiger Qualität und grossem Volumen zu erzeugen. Der Preis dafür sind Einbussen an Geschmack, Geruch und Haltbarkeit der Brote.

Zur Press- und Frischhefeproduktion wird heute meist Melasse, der verschiedene Nährsalze, Vitamine und Aminosäuren zugegeben werden, verwendet (1). Das Melassemedium wird gewählt, weil mit ihm sehr billig Hefen produziert werden können. Durch Zusatzstoffe und geeignete Technologien wird versucht, Hefen mit möglichst guten Triebeigenschaften und kurzen Produktionszeiten zu erhalten. Bisher wurden bereits zahlreiche weitere sogenannte natürliche Medien beschrieben wie enzymatisch aufgeschlossene Kartoffeln (2), verkleisterte Stärke (3), Molke (4) und Palmwein (5). Daneben gibt es einige Patente, die eine Hefeproduktion auf Weizenmehlbasis vorschlagen, weil dadurch ein besserer Geschmack des Brotes erreicht werden soll (6, 7). Diese Verfahren sind aber sehr arbeitsaufwendig, und die Gärzeiten sind für eine rationelle Teigbereitung zu lang. Sie haben sich deshalb in der Praxis nicht durchsetzen können.

<sup>1</sup> Givaudan-Roure Flavors AG, 8600 Dübendorf

<sup>2</sup> Agrano AG, 4123 Allschwil

<sup>3</sup> Ingenieurschule, 8820 Wädenswil

<sup>4</sup> ETH-Zentrum, 8092 Zürich

Im Rahmen dieser Arbeit wurde versucht, ein Präparat auf der Basis von enzymatisch aufgeschlossenem Weizenvollkornmehl zu entwickeln, welches so einfach wie Presshefe einsetzbar ist und die Herstellung von Weizenmehlbrot mit der Qualität traditionell zubereiteter Brote ermöglicht. In einem ersten Schritt sollte geprüft werden, ob durch Einsatz von reinen Hefe-Flüssigkulturen das Aroma der Brote ohne Einbusse an Volumen verbessert werden kann. Der Aufschluss der verwendeten Weizenmehlmedien mit verschiedenen Enzymen und die Steuerung der Hefeproduktion wurden geprüft. Anschliessend wurde untersucht, ob durch Zentrifugieren oder Nachbelüften der produzierten Flüssighefe die sensorische Qualität der daraus hergestellten Brote weiter verbessert werden konnte.

## Material und Methoden

### *Mikroorganismen*

Bei allen Versuchen wurde der Hefestamm Nr. 250, der im Laboratorium für Lebensmittelmikrobiologie der ETH Zürich aus einem nach dem Hebelverfahren mit Spontangärung hergestellten Weizenbrotteig isoliert und als *Saccharomyces cerevisiae* ssp. *steineri* identifiziert worden war, eingesetzt. Die Stammkulturen wurden in Röhrchen mit Schraubdeckel auf Malzextraktagar bei 4 °C aufbewahrt und halbjährlich überimpft. Die morphologischen und biochemischen Eigenschaften dieser Hefe wurden bereits publiziert (8).

Die Vermehrungsversuche erfolgten in flüssigen Kulturmedien, die als Kohlenstoffquelle ausschliesslich Glucose oder enzymatisch aufgeschlossenes Weizenvollkornmehl enthielten. Der Weizen wurde auf einer Steinmühle in einem Durchgang zu einem Vollkornmehl vermahlen. Dieses wird im folgenden immer als Mehl bezeichnet.

Die Weizenkeime wurden direkt von einer Mühle bezogen und waren nicht nachbehandelt. Das Mehl und die Weizenkeime lagerten höchstens einen Monat lang bei 4 °C im Kühlraum. Die Zusammensetzung und Benennung der verwendeten Medien ist in Tabelle 1 aufgeführt. Die Mehlmedien wurden mit den folgenden Enzymen aufgeschlossen:

*α-Amylase*: Amigase<sup>R</sup>GM, ein *Aspergillus niger*-Enzym (Gist-Brocades, Seclin, Frankreich)

*Glucoamylase*: Dex-10<sup>R</sup>, ein *Bacillus subtilis*-Enzym (Gist-Brocades, Seclin, Frankreich)

*Pankreasprotease*: Corolase<sup>R</sup>PP (Röhm GmbH, Darmstadt, Deutschland)

*Papainprotease*: Corolase<sup>R</sup>L10 (Röhm GmbH, Darmstadt, Deutschland).

Für die Backversuche wurde neben den produzierten Hefepräparaten auch kommerzielle Backhefe verwendet (Presshefefabrik Stettfurt, Schweiz). Sie wurde einerseits als flüssiges Rohprodukt (Hefemilch) und andererseits als festes Endprodukt nach dem Waschen und Abpressen eingesetzt (Presshefe).

## Zubereitung der Weizenmehlmedien

Der amylolytische und proteolytische Aufschluss des Weizenmehlmediums erfolgte wie in Tabelle 1 beschrieben in einem oder mehreren der in Abbildung 1 dargestellten Verfahrensschritten. Die fertigen sterilisierten Medien wurden während höchstens drei Wochen bei 4 °C im Kühlraum gelagert.

### Hefevorkulturen

Die Hefen wurden vor dem Einsatz in der Fermentationsanlage über zwei Vermehrungsstufen in Erlenmeyerkolben mit Schikanen, deren Volumina fünfmal grösser gewählt wurde als das des eingefüllten Mediums, in einem Klimaschüttel-

Tabelle 1. Zusammensetzung und Bezeichnung der Nährmedien

Medium	Vollweizen-Salz-Medium	Vitamin-Salz-Medium	Hefeextrakt-Salz-Medium	Weizen-Keim-Medium	Weizenmehl-Medium	Glucose-lösung
Leitungswasser	1,0 l	1,0 l	1,0 l	5,0 l	1,0 l	1,0 l
Glucose						120,0 g
Mehl	120,0 g				200,0 g	
Weizenkeime	10,0 g			180,0 g		
Hefeextrakt (BBL 11929)	1,2 g		1,8 g			
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	16,0 g	24,0 g	25,0 g			
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		7,8 g				
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	2,6 g		5,0 g			
KCl		6,5 g				
MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O	1,0 g	1,8 g	1,5 g			
CaCl <sub>2</sub> · 2 H <sub>2</sub> O		1,2 g				
CuSO <sub>4</sub> · 5 H <sub>2</sub> O		9,3 mg				
FeCl <sub>3</sub> · 6 H <sub>2</sub> O		57,6 mg				
ZnSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O		36,0 mg				
MnSO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O		42,0 mg				
Biotin		0,1 mg				
Inositol		240,0 mg				
Ca-Pantothenat		120,0 mg				
Thiamin		24,0 mg				
Pyridoxin		6,0 mg				
α-Amylase	+	-	+	+	+	-
Glucoamylase	-	-	+	-	+	-
Proteasen	-	-	-	+/-	+/-	-

Der entsprechende enzymatische Aufschluss wurde durchgeführt (+) bzw. nicht durchgeführt (-)

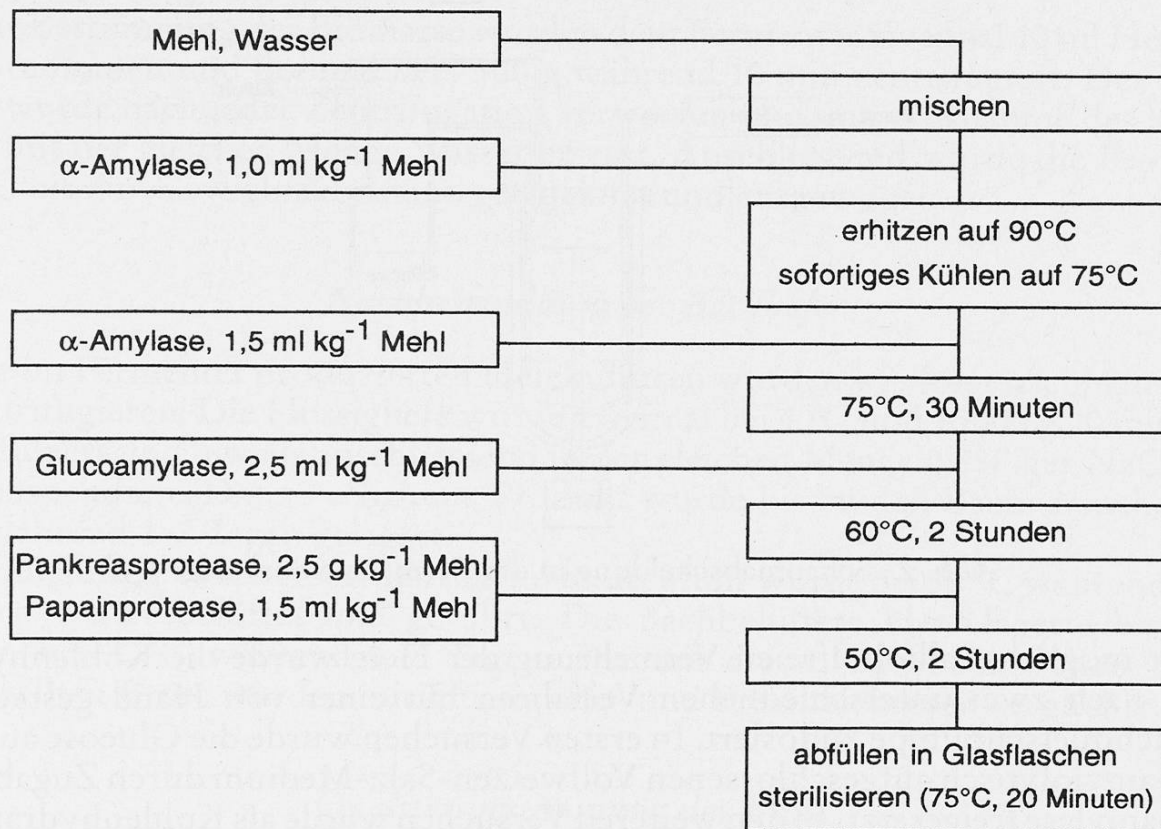


Abb. 1. Enzymatischer Aufschluss der Weizenmehlmedien

schränk (Clim-O-Shake, System Kühner, Basel, Schweiz) bei 30 °C und 170 U min<sup>-1</sup> kultiviert. Zur ersten Vorkultur wurden zwischen 100 und 200 ml einer 50%igen Lösung des Weizenmehlmediums in Wasser eingesetzt und ausgehend von der Stammkultur mit einer Öse angeimpft. Die zweite Vorkultur erfolgte mit dem gleichen Medium und wurde mit 10% ihres Endvolumens beimpft. Die Hauptkultur wurde mit einem Zehntel des Anfangsinhalts des Fermenters mit der zweiten Vorkultur beimpft. Die Bebrütungszeit für die erste Vorkultur betrug 24 und für die zweite Vorkultur 15 Stunden.

### Fermentationsanlage

Die Vermehrung der Hefen erfolgte in einem 15-l-Laborfermenter (Fermenter Modell L 1523, Bioengineering AG, Wald, Schweiz). Die Durchmischung besorgte ein Blattrührer mit stufenloser Drehzahleinstellung. Die Temperatur wurde mittels eines Wasserkreislaufsystems mit Doppelmantel auf 30 °C eingestellt und elektronisch mit einem Dreipunktregler reguliert.

Da während der Versuche bei hohen Belüftungsraten grosse Schaummengen entstanden, wurde eine spezielle Schaumabscheidung entwickelt. Sie ist in Abbildung 2 schematisch dargestellt. Zur Belüftung wurde Pressluft des Hausnetzes eingesetzt.

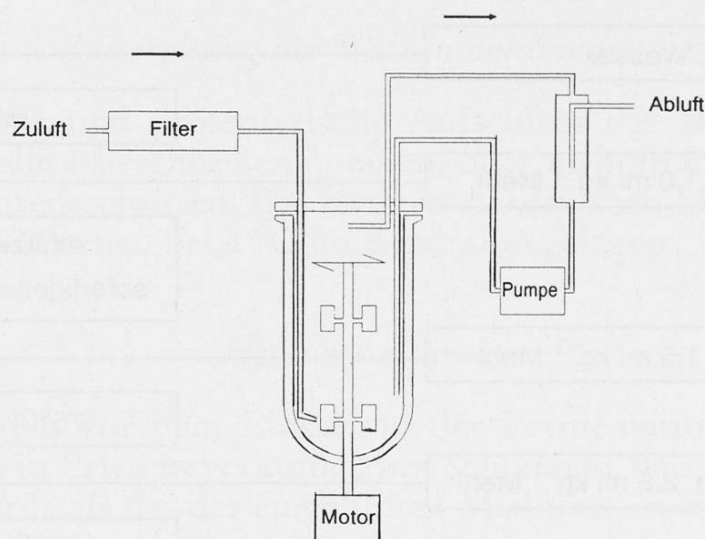


Abb. 2. Schaumabscheidung in der Fermentationsanlage

Zur möglichst alkoholfreien Vermehrung der Hefe wurde die Kohlenhydratquelle nach zwei unterschiedlichen Verfahren mit einer von Hand gesteuerten Schlauchquetschpumpe zudosiert. In ersten Versuchen wurde die Glucose aus dem nur  $\alpha$ -amylolytisch aufgeschlossenen Vollweizen-Salz-Medium durch Zugabe von Glucoamylase freigesetzt. In den weiteren Versuchen wurde als Kohlenhydratquelle das glucoamylolytisch aufgeschlossene Weizenmehlmedium mit einer Glucosekonzentration von  $105 \text{ g l}^{-1}$  oder die Glucoselösung zudosiert. Bei den Resultaten ist jeweils die aus dem Fermenterinhalt und der kumulierten Glucosezugabe berechnete zudosierte Glucosemenge in  $\text{g l}^{-1}$  angegeben. Die Glucosezugabe wurde so gesteuert, dass der Zucker mit Diabur<sup>R</sup>-Stäbchen (Boehringer, Mannheim, Deutschland) nicht nachweisbar war, sondern sofort zu Ethanol,  $\text{CO}_2$  und Biomasse weitermetabolisiert wurde. Das Zudosieren des Kulturmediums beim Zulaufverfahren sowie das Fördern von Lauge erfolgte mittels Schlauchquetschpumpen.

Die Sauerstoffmessung erfolgte amperometrisch mit einer Sauerstoffelektrode (Ingold AG, Urdorf, Schweiz). Sie wurde vor jedem Versuch neu geeicht, indem der Wert vor dem Animpfen des Mediums und bei angegebener Belüftung auf 95% des Sättigungsdrucks des Mediums eingestellt wurde.

Die Ethanolkonzentration wurde kontinuierlich mit einer Sonde (Biotechnologie Kempe GmbH, Berlin, Deutschland) gemessen. Die abgelesene Ethanolkonzentration in Vol.-% wurde in  $\text{g l}^{-1}$  umgerechnet. Die erhaltenen Resultate wurden durch enzymatische Bestimmungen (Boehringer, Mannheim, Deutschland, Kat.-Nr. 176 290) kontrolliert.

Der pH-Wert wurde elektronisch mit einem Dreipunktregler reguliert, nachdem er bis zum Einstellpunkt gefallen war. Die Korrektur des pH-Wertes erfolgte mit 4N NaOH oder mit 25%iger Ammoniaklösung.

Die Zellzahl der Hefen wurde mikroskopisch mit einer Helber-Zählkammer bei 400facher Vergrößerung bestimmt.

Die Ammoniakkonzentration wurde mit einer Ammoniaklektrode (Orion Research, Cambridge, USA), die jeweils am gleichen Tag geeicht wurde, gemessen.

Zur Bestimmung der Biomasse wurden dem Fermenter zweimal 10 ml Hefekultur entnommen und dreimal bei 7500 g während 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde nach jeder Zentrifugation verworfen und, mit Ausnahme des letzten Mals, mit der gleichen Menge Wasser ersetzt. Anschliessend wurde die Probe bei 105 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und ausgewogen.

### *Nachbehandlung der Backhefe*

Die im Fermenter produzierten Hefekulturen wurden wie folgt nachbehandelt:

1. Zentrifugieren: Die Flüssighefe wurde zweimal bei 4 °C und 15000 g 20 min lang zentrifugiert und jeweils anschliessend in der gleichen Menge 0,8%iger NaCl-Lösung suspendiert. Das so erhaltene Produkt wurde bis zu den Backversuchen bei 4 °C während 1–7 Tagen gelagert.
2. Nachbelüften: Nach Abstellen der Substratzufuhr wurde bei 30 °C während zwei Stunden weiter belüftet und gerührt. Die nachbelüftete Hefe lagerte bis zum Backen bei 4 °C während 1–7 Tagen. Die mit diesen nachbehandelten Hefen hergestellten Brote wurden mit Flüssighefe- und Presshefepbrot verglichen.

### *Qualitätsbestimmung der Brote*

Aus den erhaltenen Hefekulturen wurden unter standardisierten Bedingungen Brote mit Weizen-Halbweissmehl des Typs 630 (8) gebacken. Anschliessend wurden die folgenden Parameter bestimmt:

**Trieb:** bezeichnet die Volumenzunahme als Faktor, um den ein Modellteig in der Stückgare aufgeht. Nach dem Formen der Brotlaibe wird ein separater 100-ml-Laib in einen 500 ml grossen Messzylinder gegeben. Die Volumenvergrösserung bei 30 °C wurde nach 90 Minuten abgelesen. Zusätzlich wurde bei einigen Broten die Volumenvergrösserung im Ofen (Ofentrieb) visuell beurteilt und mit «stark» oder «schwach» klassiert.

**Spezifisches Gewicht der Brote:** Die Brote wurden gewogen und anschliessend zur Volumenbestimmung in ein Gefäss mit bekanntem Inhalt gelegt. Danach wurde das Volumen an Mohnsamen bestimmt, welches zum Füllen des Gefässes nötig war. Die Differenz zwischen dem Inhalt des Gefässes und dem Volumen der Mohnsamen zum Auffüllen ergab das Volumen.

**Sensorische Qualität:** Nach dem Backen wurden die Brote noch handwarm und im Verlauf des nächsten Tages von fünf Bäckern degustiert. Sie klassierten die Qualität der Krume als während dieser Zeit empfundenen Gesamteindruck von Geruch und Geschmack in fünf Stufen mit den Worten «sehr schlecht», «schlecht», «genügend», «gut» und «sehr gut», denen die Zahlen 1 (= sehr schlecht) bis 5 (= sehr gut) zugeordnet wurden. Als Resultat ist jeweils das arithmetische Mittel der von den fünf Bäckern abgegebenen Wertungen eines Brotes in Worten angegeben.

## Resultate

Die Vermehrung der Hefe erfolgte in einer Fermentationsanlage mit starker Belüftung und einer kontrollierten Substratdosierung. Als Kohlenhydratquelle diente entweder enzymatisch aufgeschlossenes Weizenmehl oder reine Glucose. Die Backhefe wurde nach dem heute üblichen Verfahren unter aeroben Bedingungen und mit Glucose als limitierenden Faktor hergestellt (9). Dabei wurde die Substratdosierung, der Einfluss verschiedener Stickstoffquellen und die Einstellung des Ethanol- und Sauerstoffgehaltes auf den Produktionsverlauf und die Qualität der Teige bezüglich Trieb sowie der Brote bezüglich spezifischem Gewicht und Aroma untersucht. Zusätzlich interessierte die Bedeutung einer physikalischen Nachbehandlung auf die Brotqualität.

Die folgenden Parameter waren variabel: Kulturmedium, pH-Wert, Versuchsdauer, Luftzufuhr, Drehzahl des Rührwerks und Menge des Mediums. Bei jeder Versuchsvariante wurden die Untersuchungen mehrfach wiederholt. Es ist aber immer nur ein Versuch jeden Typs dargestellt.

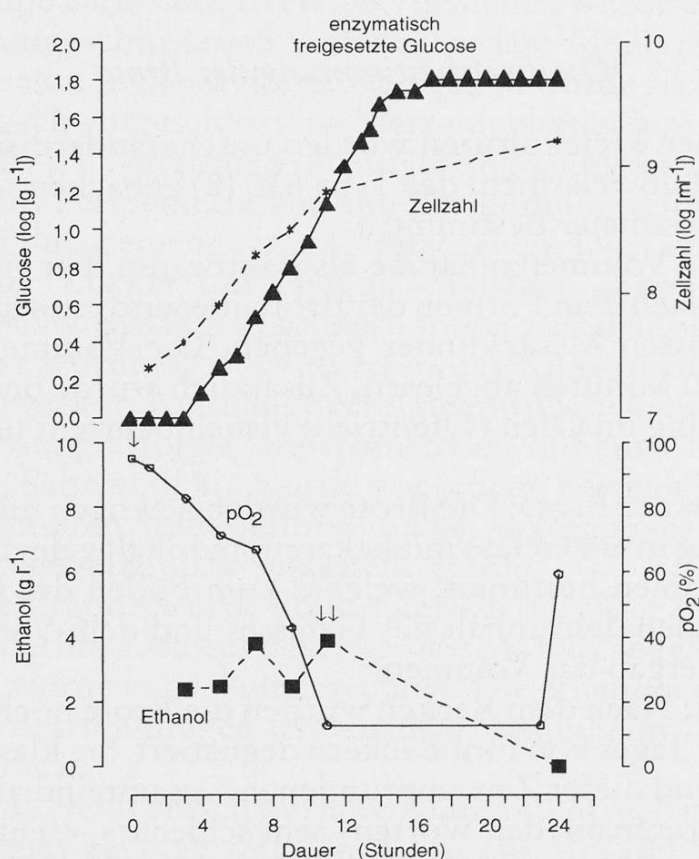


Abb. 3. Zellzahl und Ethanolkonzentration sowie Sauerstoffpartialdruck (pO<sub>2</sub>) im  $\alpha$ -amylolytisch aufgeschlossenen Vollweizen-Salz-Medium in Abhängigkeit der enzymatisch freigesetzten Glucose und der Luftzufuhr (↓: 5 l h<sup>-1</sup>; ↓↓: 12 l h<sup>-1</sup>)



## Vollweizen-Salz-Medium und Dosieren von Glucoamylase

Durch Einstellen der Glucoamylaseaktivität im  $\alpha$ -amylolytisch aufgeschlossenen Vollweizen-Salz-Medium wurde versucht, die Ethanolkonzentration während des Verlaufs der Hefevermehrung zu steuern. Die Ethanolkonzentration sollte durch Steuerung der Enzymzugabemengen unter  $2 \text{ g l}^{-1}$  gehalten werden, ohne die Hefe in ihrer Vermehrung zu hemmen. Dieses Ziel wurde nicht während der gesamten Versuchsdauer erreicht. Mit zwei bis vier Gramm pro Liter ergaben sich höhere Ethanolkonzentrationen als erwünscht (Abb. 3). Der Ethanol wurde in einer späteren Phase wieder verbraucht, so dass er am Ende nicht mehr nachweisbar war.

Nach 18 Stunden war der Substratvorrat für die Glucoamylase aufgebraucht, und es wurde keine Glucose mehr freigesetzt. Der Sauerstoffpartialdruck nahm im Verlauf der ersten zwölf Stunden trotz Erhöhung der Luftzufuhr von  $5$  auf  $12 \text{ lh}^{-1}$  kontinuierlich bis unter  $10\%$  des Sättigungsdruckes ab. Am Ende des Versuchs stieg der Sauerstoffpartialdruck rasch auf  $60\%$ . Der pH-Wert fiel in den ersten sieben Stunden von  $5,9$  auf  $4,7$  und wurde anschliessend durch die Zugabe von  $4\text{N NaOH}$  auf diesem Wert gehalten.

Dieser Versuch wurde zweimal durchgeführt. Mit beiden Hefechargen und zum Vergleich auch mit Presshefe wurden Brote hergestellt. Das spezifische Gewicht der mit Flüssighefe hergestellten Brote war gleich wie das bei Verwendung von kommerzieller Presshefe resultierende. Die geschmacklichen Eigenschaften der mit Flüssighefe produzierten Brote waren einmal schlechter und einmal besser als bei dem mit Presshefe hergestellten Brot (Tabelle 2).

## Vitamin-Salz-Medium und Dosieren der Glucoselösung

Im ersten Versuch mit dem Zulaufverfahren wurde das Vitamin-Salz-Medium verwendet und  $5,7 \text{ l}$  der Glucoselösung zudosiert. Der Zulauf wurde so eingestellt, dass Ethanolkonzentrationen von über  $5 \text{ g l}^{-1}$  resultierten. Der pH-Wert wurde mit  $4\text{N NaOH}$  auf einen Wert von  $4,6$  reguliert. Die Luftzufuhr wurde zu Beginn auf  $5 \text{ lh}^{-1}$  eingestellt und nach  $11$  Stunden auf  $7 \text{ lh}^{-1}$  erhöht. Die Drehzahl des Rühr-

Tabelle 2. Vergleich von Broten, die mit kommerzieller Presshefe und mit auf Vollweizen-Salz-Medium vermehrter Flüssighefe hergestellt worden sind

	Flüssighefe 1	Flüssighefe 2	Presshefe
Dosierung	$150 \text{ ml kg}^{-1}$ Mehl	$150 \text{ ml kg}^{-1}$ Mehl	$15 \text{ g kg}^{-1}$ Mehl
Stockgarzeit	60 min	60 min	60 min
Stückgarzeit	60 min	60 min	60 min
Spezifisches Gewicht des Brotes	$0,23 \text{ g ml}^{-1}$	$0,23 \text{ g ml}^{-1}$	$0,23 \text{ g ml}^{-1}$
sensorische Qualität	schlecht	gut	genügend

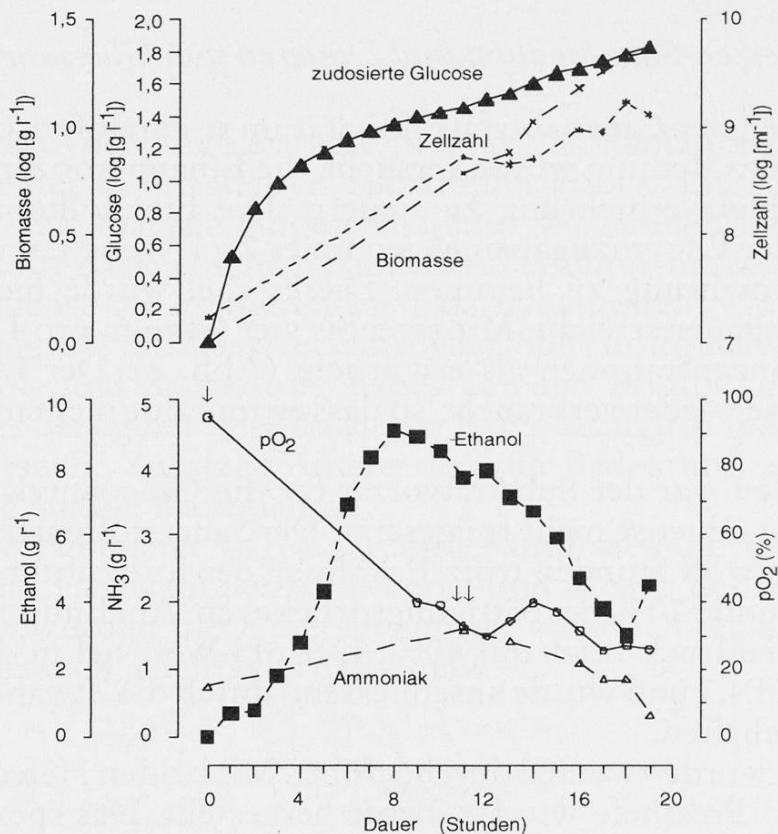


Abb. 4. Zellzahl, Biomasse, Ammoniak- und Ethanolkonzentration sowie Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ ) im synthetischen Vitamin-Salz-Medium in Abhängigkeit der zugeführten Glucose und Luft ( $\downarrow$ :  $5 \text{ l h}^{-1}$ ;  $\downarrow\downarrow$ :  $7 \text{ l h}^{-1}$ )

werks wurde gleichzeitig von  $700$  auf  $900 \text{ min}^{-1}$  neu eingestellt. Der Sauerstoffpartialdruck blieb dadurch in den letzten zehn Stunden bei  $30\%$  des Anfangswertes.

Abbildung 4 zeigt in logarithmischer Darstellung die Zunahme von Zellzahl und Biomasse sowie die errechnete, zudosierte Glucosemenge. In den ersten acht Stunden wurde dem Fermenter mehr Glucose zugeführt als Biomasse gebildet wurde. Entsprechend nahm die Ethanolkonzentration auf fast  $10 \text{ g l}^{-1}$  zu. Von der zehnten Stunde an sank der Ethanolgehalt wieder ab, und die Zunahme der

Tabelle 3. Vergleich von Broten, die mit kommerzieller Presshefe und mit auf Vitamin-Salz-Medium vermehrter Flüssighefe hergestellt worden sind

	Flüssighefe	Presshefe
Dosierung	$180 \text{ ml kg}^{-1}$ Mehl	$20 \text{ g kg}^{-1}$ Mehl
Stockgarzeit	60 min	60 min
Stückgarzeit	60 min	60 min
Spezifisches Gewicht des Brotes	$0,28 \text{ g ml}^{-1}$	$0,31 \text{ g ml}^{-1}$
Trieb	3,2	3,2
sensorische Qualität	genügend bis gut	genügend

Glucosekonzentration wurde nach der sechsten Stunde langsamer. Die Biomasse und Zellzahl nahmen im gleichen Mass zu wie am Versuchsbeginn. Die Ammoniakkonzentration schwankte um  $1 \text{ g l}^{-1}$  und sank erst am Ende auf  $0,3 \text{ g l}^{-1}$  ab. Die Zunahme der Ethanolkonzentration um  $1,5 \text{ g l}^{-1}$  in der letzten Stunde ist auf eine Erhöhung des Zulaufs für diese Endphase zurückzuführen. Die Resultate der Brotbackversuche mit der eigenen und der kommerziellen Backhefe zeigt Tabelle 3. Der Trieb beider Brote war gleich gross, das spezifische Gewicht des Brotes mit der eigenen Backhefe geringer und seine sensorische Qualität etwas besser als bei Verwendung kommerzieller Presshefe.

### Hefeextrakt-Salz-Medium und Dosieren des Weizenmehlmediums

Die Kultur dieser Backhefe erfolgte im Hefeextrakt-Salz-Medium mit Ammoniumsulfat als Stickstoffquelle. Als Zulauf diente das glucoamylolytisch aber nicht proteolytisch aufgeschlossene Weizenmehlmedium. Abbildung 5 zeigt den Verlauf der Ethanolkonzentration und des Sauerstoffpartialdruckes. Die Hefen wurden in der zweiten Hälfte des Versuchs durch Verlangsamung des Zulaufs des Weizenmehlmediums bei einer Ethanolkonzentration unter  $2 \text{ g l}^{-1}$  vermehrt.

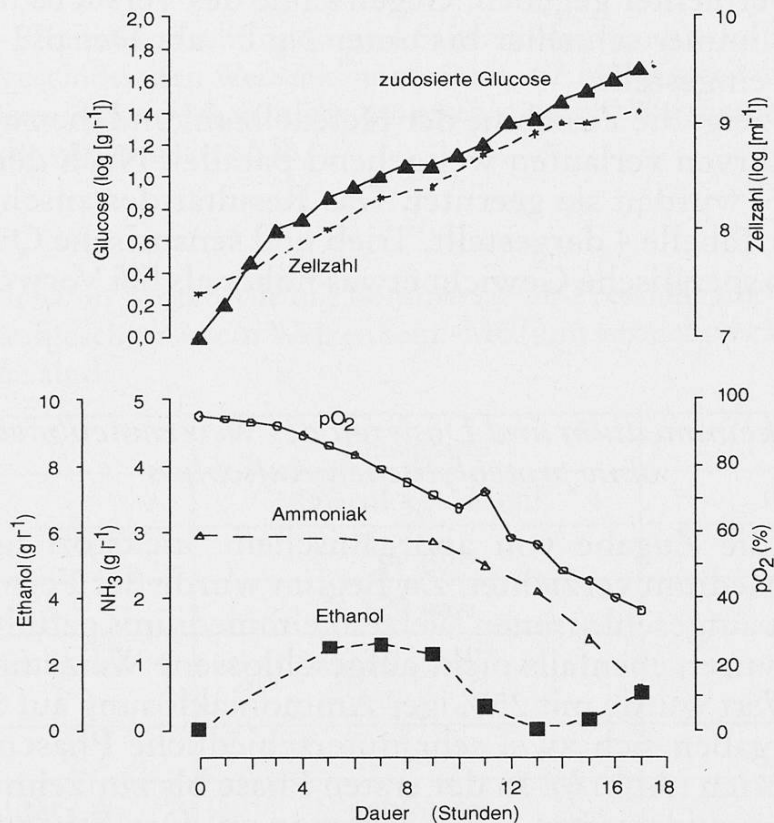


Abb. 5. Zellzahl, Ammoniak- und Ethanolkonzentration sowie Sauerstoffpartialdruck ( $p\text{O}_2$ ) im Hefeextrakt-Salz-Medium in Abhängigkeit der Zugabe von Glucose mit dem proteolytisch nicht aufgeschlossenen Weizenmehlmedium und einer Luftzufuhr von konstant  $10 \text{ l h}^{-1}$

*Tabelle 4.* Vergleich von Broten, die mit kommerzieller Presshefe und mit auf Hefeextrakt-Salz-Medium vermehrter Flüssighefe hergestellt worden sind

	Flüssighefe	Presshefe
Dosierung	150 ml kg <sup>-1</sup> Mehl	30 g kg <sup>-1</sup> Mehl
Stockgarzeit	60 min	60 min
Stückgarzeit	60 min	60 min
Spezifisches Gewicht des Brotes	0,25 g ml <sup>-1</sup>	0,24 g ml <sup>-1</sup>
Trieb	3,0	3,7
sensorische Qualität	schlecht bis genügend	genügend

Die Belüftung des Fermenters wurde während des ganzen Prozesses nicht geändert und betrug 10 lh<sup>-1</sup>. Die Drehzahl des Rührwerks war konstant bei 1000 min<sup>-1</sup> eingestellt. Der Sauerstoffgehalt im Medium nahm entsprechend der Zunahme der Hefezellzahl ab. Der Sauerstoffpartialdruck blieb auch am Ende noch über 30% des Anfangswertes. Die gesamte Menge mineralischen Stickstoffs wurde zu Beginn in den Fermenter gegeben. Gegen Ende des Versuchs nahm die Ammoniakkonzentration immer schneller bis unter 1 g l<sup>-1</sup> ab. Der pH-Wert wurde mit 4N NaOH auf 5,0 eingestellt.

Die Abbildung zeigt die Zunahme der Hefezellzahl und die zugegebene Menge an Glucose. Die Kurven verlaufen weitgehend parallel. Nach dem Erreichen von 1,6 · 10<sup>9</sup> Hefen ml<sup>-1</sup> wurden sie geerntet. Das Resultat des anschließenden Brotbackversuchs ist in Tabelle 4 dargestellt. Trieb und sensorische Qualität waren nur wenig geringer, das spezifische Gewicht etwas höher als bei Verwendung kommerzieller Presshefe.

#### *Weizenkeimmedium und Dosieren des Weizenmehlmediums ohne proteolytischen Aufschluss*

Es wurde auf die Zugabe von anorganischem Stickstoff und von anderen Mineralsalzen im Medium verzichtet. Zu Beginn wurde der Fermenter mit 5 l des proteolytisch nicht aufgeschlossenen Weizenkeimmediums gefüllt. Für den Zulauf wurde das proteolytisch ebenfalls nicht aufgeschlossene Weizenmehlmedium verwendet. Der pH-Wert wurde mit 25%iger Ammoniaklösung auf 5,0 eingestellt. In diesem Versuch ergaben sich zwei sehr unterschiedliche Phasen, die beide etwa zehn Stunden dauerten (Abb. 6). In der ersten Phase bis zur zehnten Stunde nahm die Zellzahl mit der zudosierten Glucosemenge zu. Der Ethanolgehalt stieg auf 4 g l<sup>-1</sup> und der Sauerstoffgehalt nahm auf etwa 60% des Anfangswertes ab. In der zweiten Phase blieb die Zellzahl konstant bei 7 · 10<sup>8</sup>, der Sauerstoffgehalt schwankte um 60%, die zudosierte Glucosemenge stieg langsamer als in der ersten Phase, und

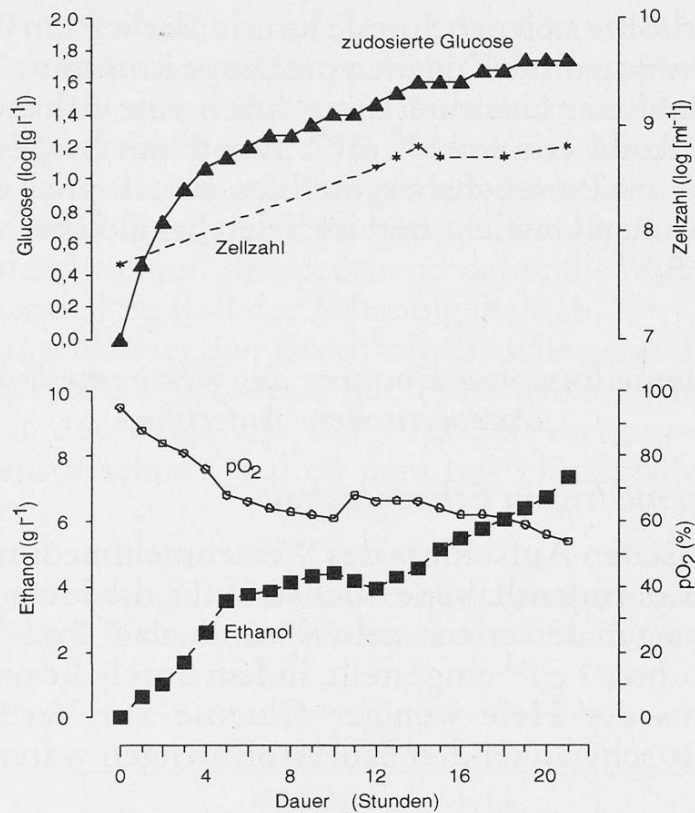


Abb. 6. Zellzahl, Ethanolkonzentration und Sauerstoffpartialdruck (pO<sub>2</sub>) im proteolytisch nicht aufgeschlossenen Weizenkeimmedium in Abhängigkeit der Zugabe von Glucose mit dem proteolytisch nicht aufgeschlossenen Weizenmehlmedium und einer Luftzufuhr von konstant 5 lh<sup>-1</sup>

Tabelle 5. Vergleich von Broten, die mit kommerzieller Presshefe und mit auf proteolytisch nicht aufgeschlossenem Weizenkeim-Medium vermehrter Flüssighefe hergestellt worden sind

	Flüssighefe	Presshefe
Dosierung	150 ml kg <sup>-1</sup> Mehl	15 g kg <sup>-1</sup> Mehl
Stockgarzeit	60 min	60 min
Stückgarzeit	120 min	60 min
Spezifisches Gewicht des Brotes	0,30 g ml <sup>-1</sup>	0,26 g ml <sup>-1</sup>
Trieb	1,3	3,0
sensorische Qualität	genügend	genügend

der Ethanolgehalt erhöhte sich pro Stunde kontinuierlich um  $0,5 \text{ g l}^{-1}$ . Der pH-Wert blieb nach der 15. Stunde ohne Zugabe von Lauge konstant.

Die geerntete Hefe war charakterisiert durch eine Ethanolkonzentration von  $7,5 \text{ g l}^{-1}$  und eine Zellzahl von  $6 \cdot 10^8 \text{ ml}^{-1}$ . Das damit hergestellte Brot benötigte im Vergleich zu dem mit Presshefe hergestellten eine doppelt so lange Stückgarzeit und blieb im spezifischen Gewicht und im Trieb bei gleicher sensorischer Qualität unterlegen (Tabelle 5).

### Weizenkeimmedium und Dosieren des Weizenmehlmediums mit proteolytischem Aufschluss

#### Hefevermehrung bei niedrigem Ethanolgehalt

Durch proteolytischen Aufschluss des Weizenmehlmediums und Weizenkeimmediums wurde der darin enthaltene Stickstoff für die Hefe verfügbar. Die Ethanolkonzentration stieg in den ersten sieben Stunden auf  $8 \text{ g l}^{-1}$  und wurde nach der zehnten Stunde auf unter  $1 \text{ g l}^{-1}$  eingestellt, indem durch die niedrige Zulauftrate des Weizenmehlmediums der Hefe weniger Glucose zur Verfügung stand. Die in diesem Zeitabschnitt schwankenden Sauerstoffmengen waren durch eine Verstär-

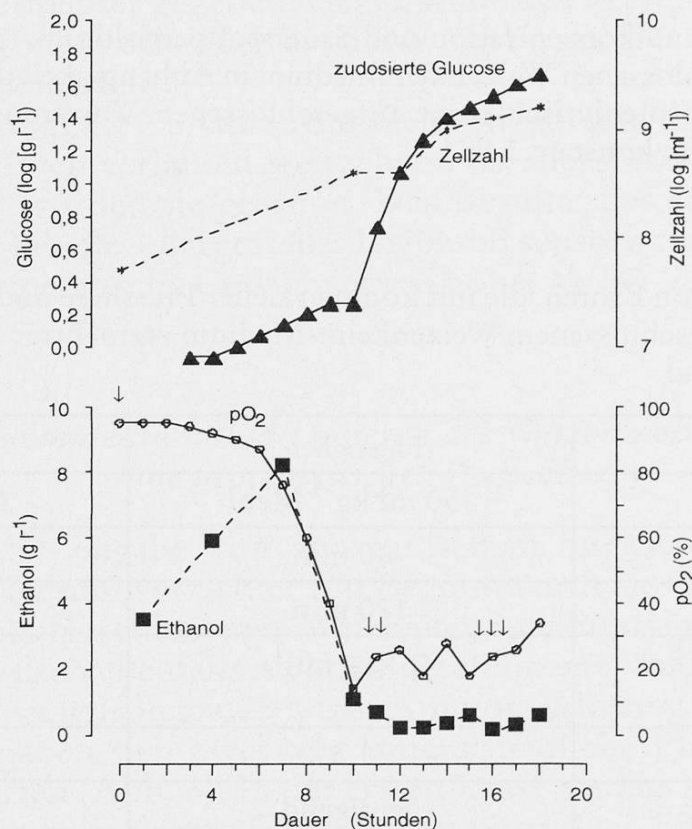


Abb. 7. Zellzahl, Ethanolkonzentration und Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ ) im proteolytisch aufgeschlossenen Weizenkeimmedium in Abhängigkeit der Zugabe von Glucose mit dem proteolytisch aufgeschlossenen Weizenmehlmedium und Zufuhr von Luft ( $\downarrow$ :  $5 \text{ lh}^{-1}$ ;  $\downarrow\downarrow$ :  $7 \text{ lh}^{-1}$ ;  $\downarrow\downarrow\downarrow$ :  $9 \text{ lh}^{-1}$ )

kung der Belüftung von 5 zunächst auf 7 und dann auf 9 l min<sup>-1</sup> verursacht. Sie wurde so eingestellt, dass der Sauerstoffpartialdruck nie unter 20% des Anfangswertes sank. Die Drehzahl des Rührwerks wurde ebenfalls von 700 auf 1000 U min<sup>-1</sup> erhöht. Der pH-Wert wurde mit 25% Ammoniaklösung auf 4,4 eingestellt.

Abbildung 7 zeigt, dass sich die Hefen bis ans Ende der Versuchsdauer exponentiell vermehrten. Dabei wurde als Energiequelle nicht nur das Zulaufmedium verwertet, sondern auch Ethanol. Entsprechend nahm die Menge an zugegebenem Medium nicht exponentiell zu und der Ethanolgehalt ab.

Das Resultat des anschließenden Brotbackversuchs zeigt Tabelle 6. Die Daten eines parallel durchgeführten Backtests mit Presshefe zeigen, dass bei gleichem spezifischem Gewicht der Brote die mit Presshefe hergestellten Brote stärker trieben und in der sensorischen Qualität dem mit Flüssighefe hergestellten Brot etwas überlegen waren.

*Tabelle 6.* Vergleich von Broten, die mit kommerzieller Presshefe und mit auf proteolytisch aufgeschlossenem Weizenkeim-Medium vermehrter Flüssighefe hergestellt worden sind

	Flüssighefe	Presshefe
Dosierung	150 ml kg <sup>-1</sup> Mehl	20 g kg <sup>-1</sup> Mehl
Stockgarzeit	60 min	60 min
Stückgarzeit	55 min	55 min
Spezifisches Gewicht des Brotes	0,28 g ml <sup>-1</sup>	0,28 g ml <sup>-1</sup>
Trieb	2,5	3,4
sensorische Qualität	schlecht	genügend

#### *Hefevermehrung bei hohem Ethanolgehalt*

Die Herstellung dieser Backhefe wurde mit denselben Kulturmedien wie im letzten Versuch durchgeführt. Wie die Abbildung 8 zeigt, wurde der Ethanolgehalt

*Tabelle 7.* Vergleich von Broten, die mit kommerzieller Presshefe und mit bei hohem Ethanolgehalt vermehrter Flüssighefe hergestellt worden sind

	Flüssighefe	Presshefe
Dosierung	180 ml kg <sup>-1</sup> Mehl	20 g kg <sup>-1</sup> Mehl
Stockgarzeit	60 min	60 min
Stückgarzeit	60 min	60 min
Spezifisches Gewicht des Brotes	0,25 g ml <sup>-1</sup>	0,23 g ml <sup>-1</sup>
Trieb	3,2	3,2
sensorische Qualität	gut	genügend

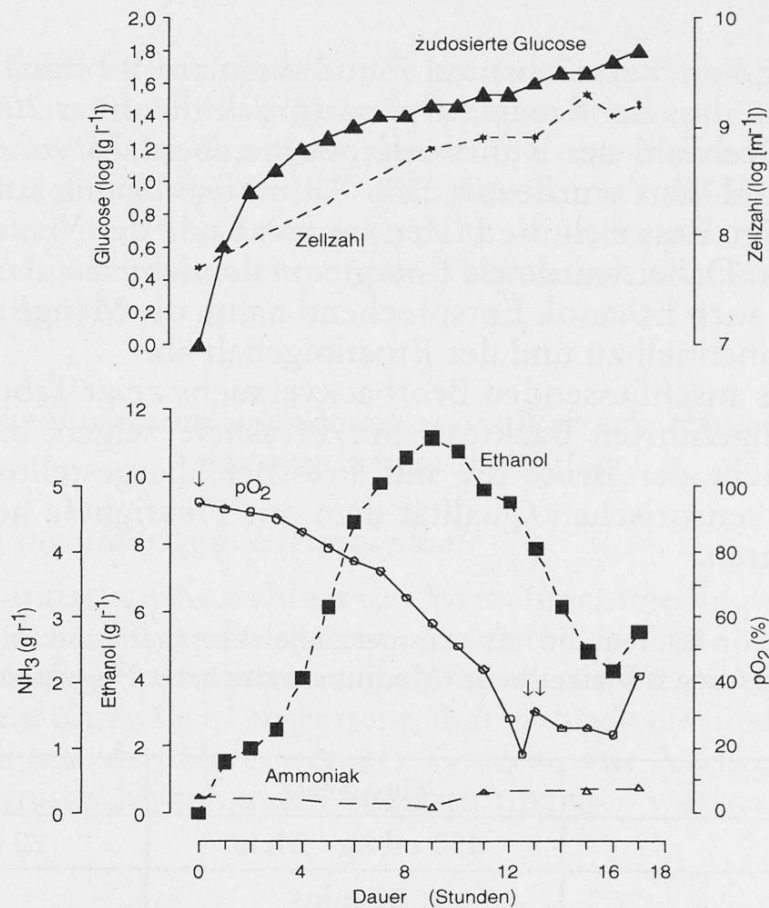


Abb. 8. Zellzahl, Ammoniak- und Ethanolkonzentration sowie Sauerstoffpartialdruck ( $\text{pO}_2$ ) im proteolytisch aufgeschlossenen Weizenkeimmedium in Abhängigkeit der Zugabe von Glucose mit dem proteolytisch aufgeschlossenen Weizenmehlmedium und Zufuhr von Luft ( $\downarrow$ :  $5 \text{ l h}^{-1}$ ;  $\downarrow\downarrow$ :  $8 \text{ l h}^{-1}$ )

auf über  $4 \text{ g l}^{-1}$  eingestellt. In der letzten Stunde wurde Glucose im Überschuss zugeführt, um den Ethanolgehalt ansteigen zu lassen. Die Zellzahl und die zugegebene Menge an Glucose nahmen exponentiell zu.

Der pH-Wert wurde mit 25%  $\text{NH}_4\text{OH}$  auf einen Wert von 4,9 eingestellt. Der so zugeführte Ammoniak wurde sofort verbraucht. Der Ammoniakgehalt stieg nie über  $0,5 \text{ g l}^{-1}$ . Die Luftzufuhr wurde von  $5$  auf  $8 \text{ l min}^{-1}$  gesteigert, um den Sauerstoffgehalt auf über 20% des Anfangsgehalts zu halten. Zusätzlich wurde auch die Drehzahl des Rührwerks von anfänglich  $700$  auf  $900 \text{ U min}^{-1}$  gesteigert.

Die Resultate der Backversuche sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Das Volumen der Brote war gleich wie dasjenige der Presshefebrote. In der sensorischen Beurteilung konnte ein deutlicher Unterschied gefunden werden, und die Teige wurden von den Bäckern als «plastisch mit gutem Stand» bezeichnet.

### *Einfluss der Nachbehandlung der Backhefe auf die Brotqualität*

Bei den im folgenden dargestellten Versuchen wurde untersucht, ob durch physikalische Nachbehandlung der Hefe die sensorische Qualität der daraus hergestellten Brote verbessert werden konnte.



*Tabelle 8.* Vergleich von Broten, die mit zentrifugierter und mit nicht zentrifugierter Hefe hergestellt worden sind (nb = nicht bestimmt)

	kommerzielle Hefe		eigene Flüssighefe	
	nicht zentrifugiert: Hefemilch	zentrifugiert: Presshefe	nicht zentrifugiert	zentrifugiert
Dosierung	100 ml	15 g	150 ml	150 ml
Zellzahl	kg <sup>-1</sup> Mehl nb	kg <sup>-1</sup> Mehl 1,0 · 10 <sup>10</sup>	kg <sup>-1</sup> Mehl 1,7 · 10 <sup>9</sup>	kg <sup>-1</sup> Mehl 1,7 · 10 <sup>9</sup>
Brotqualität: Spezifisches Gewicht des Brotes sensorische Qualität	0,24 g ml <sup>-1</sup> sehr schlecht	0,26 g ml <sup>-1</sup> gut	0,25 g ml <sup>-1</sup> gut	0,25 g ml <sup>-1</sup> gut bis sehr gut

In einer ersten Versuchsreihe wurden zentrifugierte und nicht zentrifugierte Backhefen miteinander verglichen (Tabelle 8). Sowohl bei den kommerziell hergestellten als auch bei den eigenen Flüssighefen der letzten Versuchsvariante verbesserte sich mit dem Zentrifugieren die sensorische Qualität der Brote. Das spezifische Gewicht der mit zentrifugierter Backhefe produzierten Brote blieb bei der eigenen Hefe gleich und verringerte sich bei der kommerziellen Hefe um 0,02 g ml<sup>-1</sup>.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde der Einfluss des Nachbelüftens auf die Flüssighefe und die daraus hergestellten Brote untersucht. Der im Fermenter vorhandene Ethanol verschwand beim Nachbelüften. Die Zellzahl erhöhte sich um

*Tabelle 9.* Veränderung der Zellzahl und des Ethanolgehaltes während dem Nachbelüften sowie Vergleich von Broten, die mit kommerzieller Presshefe und mit nachbelüfteter und nicht nachbelüfteter Flüssighefe hergestellt worden sind

	kommerzielle Presshefe	Flüssighefe 1	Flüssighefe 2, nachbelüftet	Flüssighefe 1, nachbelüftet
Zellzahl: vor Nachbelüftung nach Nachbelüftung	1,0 · 10 <sup>9</sup>	1,7 · 10 <sup>10</sup>	1,5 · 10 <sup>9</sup> 2,0 · 10 <sup>9</sup>	1,4 · 10 <sup>9</sup> 2,1 · 10 <sup>9</sup>
Ethanolkonzentration: vor Nachbelüftung nach Nachbelüftung		6,1 g l <sup>-1</sup>	1,7 g l <sup>-1</sup> <0,1 g l <sup>-1</sup>	4,9 g l <sup>-1</sup> 1,3 g l <sup>-1</sup>
Dosierung	15 g kg <sup>-1</sup> Mehl	150 ml kg <sup>-1</sup> Mehl	150 ml kg <sup>-1</sup> Mehl	150 ml kg <sup>-1</sup> Mehl
Brotqualität: Spezifisches Gewicht des Brotes sensorische Qualität	0,24 g ml <sup>-1</sup> genügend	0,26 g ml <sup>-1</sup> gut	0,25 g ml <sup>-1</sup> genügend	0,25 g ml <sup>-1</sup> gut bis sehr gut

etwa 50%. Das spezifische Gewicht der daraus hergestellten Brote war um  $0,01 \text{ g ml}^{-1}$  tiefer. Dieses Nachbelüften ergab widersprechende sensorische Resultate: Im einen Fall wurden die mit nachbehandelter Backhefe produzierten Brote besser beurteilt, in anderen Fällen dagegen deutlich schlechter (Tabelle 9). Alle mit der Flüssighefe produzierten Brote wurden gleich oder höher als das zum Vergleich mit Presshefe hergestellte Brot bewertet.

## Diskussion

### *Kulturmedien*

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei unterschiedliche Medientypen verwendet. Als Vergleich zu den Medien auf Weizenmehlbasis kam ein synthetisches Vitamin-Salz-Medium modifiziert nach *Rieger et al.* (10) zum Einsatz. Während der Hefeproduktion mit diesem Medium konnte die Biomasse bestimmt werden. Die flüssigen Weizenmehlsubstrate, die einem Brotteig sehr ähnlich sind, wurden verwendet, um die Hefe auf ihre spätere Verwendung als Brottriebmittel optimal vorzubereiten.

Bei der Bereitung enzymatisch aufgeschlossener Weizenmehlmedien erfolgte eine Zugabe von  $\alpha$ -Amylase vor dem Erhitzen der Weizenmehl-Wasser-Suspension auf  $90 \text{ }^\circ\text{C}$  zur Verkleisterung der Stärke, weil das Medium bei Erhitzung ohne  $\alpha$ -Amylase bei Temperaturen über  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  nicht mehr rührfähig war. Obwohl das zugegebene Enzym bei Temperaturen über  $75 \text{ }^\circ\text{C}$  inaktiviert wird, genügte seine Aktivität, um die Lösung immer gut rührfähig zu erhalten. Auf den Einsatz einer hitzestabilen Amylase wurde verzichtet, weil diese auch nach dem Sterilisieren aktiv sein kann und damit in der anschließenden Teigbereitung unerwünscht war.

Um ein möglichst zusatzstofffreies Hefepräparat zu produzieren, wurden keine chemischen Schaumbekämpfungsmittel eingesetzt. So ergab sich vor allem bei Medien mit hohen Gehalten an Hefeextrakt und hohem Füllstand in der Fermentationsanlage eine grosse Schaumentwicklung, die aber mechanisch bewältigt werden konnte. Die pH-Werte wurden in einem Bereich von 4,4 bis 5,0 eingestellt, lagen also innerhalb des von *Pöhlmann* (11) als gut angesehenen Bereichs für Hefen von 4,0 bis 6,7.

### *Methoden*

#### *Beurteilung der Brotqualität*

Die Beschreibung der sensorischen Qualität wurde von fünf Bäckern in eigener Regie durchgeführt. Sie führten im Rahmen regelmässiger Brotdegustationen eine Gesamtbeurteilung durch, da eine Unterscheidung von Geruch, Geschmack und Konsistenz bei Brotdegustationen sehr schwierig ist.

### *Steuerung der Zugabe der Kohlenhydratquelle*

Die Dosierung der Kohlenhydratquelle zur Hefeproduktion ist der Schlüsselpunkt der Backhefetechnologie ohne Ethanolproduktion. Sie erlaubt eine maximale Umsetzung der Kohlenhydrate in Hefebiomasse. Verschiedene Verfahren sind in der Literatur beschrieben. *Reiff et al.* (1) publizierten eine Tabelle, die sich auf die Berechnung des Bedarfs der Hefezellen anhand ihrer Zusammensetzung stützte. Mit der Entwicklung neuer Sensoren, die eine direkte Ethanolmessung erlauben, wurde eine sehr einfache und empfindliche Substratregelung möglich (12). *Meyer und Beyeler* (13) beschrieben eine komplexe Regelung über den Respirationskoeffizienten und die zellinterne NADH-Konzentration. Bei den Versuchen in der Fermentationsanlage wurde zwar der Ethanolgehalt kontinuierlich gemessen, es wurde aber auf eine automatische Regelung verzichtet, da die gewünschten Ethanolgehalte auch durch Handsteuerung recht gut eingestellt werden konnten. Die Steuerung der Ethanolgehalte erfolgte in den zuerst durchgeführten Versuchen mit der dosierten Zugabe von Glucoamylase im Vollweizen-Salz-Medium und in allen anderen Versuchsvarianten durch die dosierte Zulaufmenge zweier glucosehaltiger Medien.

### *Einfluss der Glucoamylase-Dosierung auf die Hefeproduktion und die Qualität der Brote*

Beim Enzymdosierverfahren wurde die Glucosekonzentration durch die kontrollierte Zugabe einer Glucoamylase gesteuert und konnte während des ganzen Prozesses so tief gehalten werden, dass keine glycolytische Reprimierung der Hefen entstand. Die Glucoamylase hatte also die Funktion einer Substratpumpe, deren Kapazität durch weitere Enzymzugabe gesteigert werden konnte. Es entstanden aber Probleme dadurch, dass die Glucosefreisetzungsraten nicht verringert werden konnten. Deshalb waren die Regelmöglichkeiten eingeschränkt. Zudem wurde das Ende des Prozesses durch den Oligosaccharid- und Stärkevorrat im vorgelegten Medium bestimmt. Es war so nur schwer möglich, Einfluss auf die Endbedingungen zu nehmen. Ein weiterer Nachteil war die schlechte Reproduzierbarkeit der Backresultate. In einigen Fällen konnten Brote mit hoher sensorischer Qualität gebacken werden, in anderen trat dagegen ein unangenehmer Nebengeschmack auf. Aus all diesen Gründen wurde in den weiteren Versuchen das Zulaufverfahren verwendet.

### *Einfluss der Substratdosierung auf die Hefeproduktion und die Qualität der Brote*

Das Zulaufverfahren mit Melasse als Kohlenhydratquelle wurde anfangs dieses Jahrhunderts eingeführt (14). Es erlaubte eine komplette Umsetzung des eingesetzten Mediums in Biomasse und CO<sub>2</sub> bei einer tolerierten Ethanolkonzentration von 0,1% (15). Das Substratdosierverfahren ermöglichte es, die Glucosekonzentration mit einer Pumpe sehr genau zu steuern. Es war allerdings auch störanfällig. Nach

dem Verstopfen der Pumpe kam der Stoffwechsel der Hefe zum Stillstand, weil schlagartig kein Substrat mehr zur Verfügung stand. Entsprechend konnte der Prozess durch Abstellen der Pumpe und Luftzufuhr sehr sauber beendet werden, weil anschliessend keine Glucose mehr zur Verfügung stand und der Ethanol wegen fehlendem Sauerstoffs von der Hefe nicht mehr verbraucht werden konnte.

### *Bedeutung von Ammoniumsulfat und Weizenkeimen als Stickstoffquelle*

Ammoniumsulfat und andere anorganische Stickstoffverbindungen haben schon seit langem eine grosse Bedeutung in der Hefeproduktion. Sie sind billige, einfach zu dosierende und von der Hefe gut verwertbare Stickstoffquellen (1). Entsprechend vermehrten sich die Hefen auch in den vorliegenden Versuchen genügend schnell und entwickelten bei der Teigbereitung einen Trieb, der denjenigen Broten entsprach, die mit Presshefe hergestellt wurden. Aus zwei Gründen wurde aber nach einer anderen Stickstoffquelle gesucht:

1. Die geschmacklichen Eigenschaften der Brote waren nicht befriedigend.
2. Es sollten möglichst alle anorganischen Zusätze vermieden werden, um dem Bedürfnis nach «naturnahen» Produkten nachzukommen.

Wenn die rund 130 g Ammoniumsulfat in 8 l Vollweizen-Salz-Medium als Stickstoffquelle durch Weizen und dessen Bestandteile ersetzt werden sollten, würden neben den 180 g Weizenkeimen im Weizenkeimmedium noch etwa zwei Liter des zufließenden Weizenmehlmediums mit einer Konzentration von 200 g Mehl l<sup>-1</sup> benötigt. Dann befanden sich umgerechnet 14 g reiner Stickstoff im ganzen Medium. Der Versuch mit proteolytisch nicht aufgeschlossenen Weizenkeimen zeigte aber deutlich, dass die Hefen diesen organisch gebundenen Stickstoff nicht verwerten konnten. Nachdem sie eine Zellzahl von  $6 \cdot 10^8$  ml<sup>-1</sup> erreicht hatten, metabolisierten sie das zugeführte Medium nur noch zu Ethanol weiter, hörten auf sich zu vermehren und zeigten damit an, dass ein Nährstoff im Minimum sein musste. Das spezifische Gewicht der mit Flüssighefe produzierten Brote war ungenügend, verglichen mit demjenigen der mit kommerzieller Backhefe hergestellten und verglichen mit den Angaben von *Brümmer* und *Lengerich* (16), welche ein spezifisches Gewicht von 0,25 g ml<sup>-1</sup> als Minimum ansahen. Im nächsten Versuch wurden deshalb die Weizenkeime proteolytisch aufgeschlossen.

Während drei Versuchen wurde periodisch die Ammoniakkonzentration bestimmt. In einem Fall wurde der gesamte Stickstoff zu Beginn zugegeben, in den anderen beiden Fällen mit dem Zulaufmedium, was eine viel tiefere Ammoniakkonzentration während der Hefevermehrung zur Folge hatte. *Hill* und *Thommel* (17) untersuchten die Ammoniakkonzentration während der kommerziellen Presshefeherstellung. Sie erhielten dabei etwa halb so hohe Werte im Vergleich zu den in den vorliegenden Untersuchungen gemessenen Werten.

Sowohl die Proteolyse der Weizenmehlmedien ohne pH-Regulierung mit Ammoniak als auch eine pH-Regulierung mit Ammoniak ohne Proteolyse der Weizenmehlmedien reichte aus, um den Hefen zur Vermehrung genügend Stickstoff bereitzustellen. Deshalb wurden im nächsten Versuch amylolytisch und proteoly-

tisch aufgeschlossene Weizenkeime und Weizenmehl als Nährstoffe zusammen mit einer pH-Regulierung durch 25%ige Ammoniaklösung verwendet und Backhefe mit einem ausreichenden Trieb produziert. In diesem Versuch war die Hefeproduktion und Brotqualität etwa gleich wie bei Verwendung von Ammoniumsulfat. Damit war aber nur das eine der beiden gesteckten Ziele erreicht, denn eine entscheidende Geschmacksverbesserung konnte mit diesem Ersatz der Stickstoffquelle nicht erreicht werden.

### *Bedeutung einer hohen Ethanolkonzentration*

Um eine sensorische Verbesserung der Brote zu erreichen, wurde versucht, die aerobe Hefeproduktion dem traditionellen Hebelverfahren anzugleichen, mit welchem geschmacklich gute Brote herstellbar sind. Zu diesem Verfahren wird eine kleine Hefemenge mit Mehl und Wasser zu einem Vorteig (= Hebel) angesetzt, der etwa 30% des Endteiges ausmacht. Durch den Metabolismus der zugesetzten Hefe herrschen in diesem Vorteig anaerobe Verhältnisse und es entstehen beträchtliche Mengen an Ethanol.

Deshalb wurde ein weiterer Versuch mit höherem Ethanolgehalt als bisher durchgeführt. Gegen Ende dieses Versuchs wurde das Weizenmehlmedium im Überschuss zugegeben, so dass die Hefen die Glucose, welche nicht in Biomasse umgesetzt werden konnte, zu Ethanol metabolisierten. Damit verringerte sich die theoretisch mögliche Ausbeute von 0,5 g auf 0,3 g Biomasse pro 1 g Glucose (18). Mit der produzierten Backhefe liessen sich Brote von mindestens gleich guter geschmacklicher Qualität wie bei Verwendung von kommerzieller Presshefe backen. Zudem waren mit diesem Verfahren die Resultate besser reproduzierbar.

### *Bedeutung einer physikalischen Nachbehandlung der Backhefe*

Das Abzentrifugieren und Waschen der kommerziellen Hefen hat sich als notwendig erwiesen, denn das mit Hefemilch gebackene Brot war mit Abstand das schlechteste aller untersuchten Brote. Durch das Separieren der Hefe werden negative Geschmackskomponenten offenbar sehr gut entfernt. Dieser Effekt konnte auch bei den auf Weizenmehl produzierten Hefen beobachtet werden, doch bei guter Qualität der Backhefe war der Einfluss sehr gering. Da aber eine geschmackliche Verbesserung gegenüber der Presshefe angestrebt wurde, sollte auf ein Zentrifugieren verzichtet werden, da allfällige gute Aromakomponenten dadurch ebenfalls entfernt würden. Es kann höchstens dann zur Konzentrierung des Produkts eingesetzt werden, wenn die Hefen erst während der Teigbereitung diese Aromastoffe bilden.

Das Nachbelüften der Hefe wurde vor allem zur Verbesserung der Haltbarkeit durchgeführt (19). In der Arbeit von *Rosen* wurde der Einfluss des Nachbelüftens auf das spezifische Gewicht und die sensorische Qualität der Brote untersucht. Die widersprüchlichen Resultate sind nur teilweise erklärbar. Das Durchblasen von Luft könnte die leichtflüchtigen Aromastoffe mitreissen und wie das Zentrifugieren

mithelfen, negative Geschmackskomponenten zu entfernen. Die Tatsache, dass in dieser Phase Ethanol abgebaut wurde, zeigt, dass der Hefemetabolismus nicht stillstand. Während dieser Ethanolveratmungsphase könnte ein Nebengeschmack entstehen und sich die Triebleistung durch Adaption an Ethanol als Kohlenhydratquelle vermindern. Manchmal überwiegt der Effekt des Ausblasens eines negativen Geschmacks, in anderen Fällen machen sich negative Begleiterscheinungen der Ethanolveratmung bemerkbar.

### *Zusammenfassung*

Zur Entwicklung eines Verfahrens für die Produktion von Backhefen mit sensorisch optimalen Backeigenschaften wurden als Substrat amylolytisch und proteolytisch aufgeschlossenes Vollkorn-Weizenmehl und Weizenkeime verwendet. Der Stickstoffbedarf der Hefen wurde durch den proteolytischen Aufschluss und eine pH-Regulierung mit Ammoniak gedeckt. Durch Erhöhung des durchschnittlichen Ethanolgehaltes auf  $6 \text{ g l}^{-1}$  während der Vermehrung konnte die sensorische Qualität der mit dieser Hefe hergestellten Brote verbessert werden.

### *Résumé*

En vue du développement d'un procédé de production de levures de boulanger caractérisées par une qualité sensorielle optimale, une farine et des germes de blé hydrolysés enzymatiquement (amylolytique et protéolytique) ont été testés comme substrat. Le besoin des levures en azote a été couvert par des germes de blé hydrolysés (protéolyse) et par l'ammoniac utilisé pour la régulation du pH. La qualité sensorielle des pains obtenus a pu être améliorée par une augmentation de la concentration moyenne de l'éthanol à  $6 \text{ g l}^{-1}$  pendant la multiplication des levures.

### *Summary*

To develop a procedure to produce baker's yeast with optimized sensory quality the use of amylolytic and proteolytic hydrolysed whole-wheat-meal and wheat-germs was studied. The nitrogen required by the yeasts was provided by proteolytic degradation of the medium and the pH-regulation by ammonia. The increase of the average concentration of ethanol to  $6 \text{ g l}^{-1}$  during multiplication improved the sensory quality of these breads.

### *Literatur*

1. Reiff, F., Kautzmann, R., Lüers, H. und Lindemann, M.: Die Hefen, Band 2. Verlag Hans Carl, Nürnberg 1962.
2. Davids, S. J., Lee, B. H. and Simard, R. E.: Cultivation of yeasts on enzymatically prepared potato extrakt. *Microbiol. Alim. Nutr.* **5**, 197–203 (1987).

3. Keun, K., Chang, S. P. and Mattoon, J. R.: High-efficiency, one-step starch utilization by transformed *Saccharomyces* cells which secrete both yeast glucoamylase and mouse-amylase. *Appl. Environ. Microbiol.* **4**, 966–971 (1988).
4. Champagne, C. P., Goulet, J. and Lachance, R. A.: Fermentative activity of baker's yeast cultivated on cheese whey permeate, *J. Food Technol.* **45**, 1238–1240, 1254 (1989).
5. Okagbue, R.N.: A note on the leavening activity of yeasts isolated from Nigerian palm wine. *J. appl. Bact.* **64**, 235–240 (1988).
6. Joulin, G.: Composition fermentaire pour la préparation d'un levain de panification et son procédé d'obtention. Institut national de la Propriété industrielle, Nr. 2, 525–628 (1982).
7. Spiller, M.: Admixture of a *Lactobacillus brevis* and a *Saccharomyces dairensis* for preparing leavening barm. US Patent Nr. 4, 666–719 (1987).
8. Hochstrasser, R. E., Ehret, A., Geiges, O. und Schmidt-Lorenz, W.: Mikrobiologie der Brotherstellung. III. Die Mikroflora von Weizenmehlteigen aus acht Bäckereien nach direkter Führung, Hebel- und Sauerteigführung. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **84**, 581–621 (1993).
9. Dziezak, J. D.: Yeast and yeast derivatives. *Food Technol.* **2**, 103–125 (1987).
10. Rieger, M., Käppeli, O. and Fiechter, A.: The role of limited respiration in the incomplete oxidation of glucose by *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Gen. Microbiol.* **129**, 653–661 (1983).
11. Pöhlmann, H. U.: Untersuchungen über den Einfluss des pH-Wertes und des osmotischen Druckes auf Ausbeute und Qualität bei der Backhefeherstellung, Diss. TU Berlin Nr. 111 (1981).
12. Axelsson, J. P., Mandenius, C. F., Holst, O., Hagander, P. and Mattiasson, B.: Experience in using an ethanol sensor to control molasses feed-rates in baker's yeast production. *Bioprocess Engineering* **3**, 1–9 (1988).
13. Meyer, C. and Beyeler, W.: Control strategies for continuous bioprocesses based on biological activities. *Biotechnol. Bioengin.* **26**, 916–925 (1984).
14. Verein der Spiritusfabrikanten Deutschland: Verfahren der Hefefabrikation ohne oder mit nur geringer Alkoholerzeugung, deutsches Reichspatentamt Nr. 300 662 (1919).
15. Reed, G.: Industrial microbiology, 4. Edition. AVI Publishing Company, Milwaukee 1979.
16. Brümmer, J. M. und Lengerich, B. V.: Über das Tiefgefrieren von Weizenbrotteigen. *Lebensm. Technol.* **3**, 18–21 (1980).
17. Hill, F.F. and Thommel, J.: Continuous measurement of the ammonium concentration during the propagation of baker's yeast. *Process Biochem.* **5**, 16–18 (1982).
18. Rose, A. H. and Harrison, J. S.: The yeasts, Volume 2, Second Edition. Academic Press, London 1987.
19. Rosen, K.: Manufacture of baker's yeast. *Process Biochem.* **3**, 45–47 (1968).

Dr. Tobias Merseburger  
Givaudan-Roure Aromen AG  
CH-8600 Dübendorf