

K.-J. Hutter

# Flusszytometrische Prozesskontrolle obergäriger Betriebshefen

Die obergärige Bierhefe, die häufiger geführt wird als die meisten untergärigen Hefen, gilt in ihrer Handhabung als sehr robust. Es liegen allerdings relativ wenig Informationen über den Zellzyklus und die klonale Zusammensetzung der OG-Hefen vor. In der Wissenschaft werden vorwiegend bei Fragestellungen über die Zellkinetik bzw. dem Zellzyklus die annähernd diploiden *Saccharomyces*-Hefen beschrieben (5, 11). Mit Hilfe der flusszytometrischen Analytik sollen daher Informationen über den Zellzyklus bzw. die klonale Zusammensetzung verschiedener Alt-, Kölsch- und Weizenbierhefen untersucht werden.

BC 44 Hefereinzucht, Hefeführung

(Deskriptoren: *Saccharomyces cerevisiae*, Flusszytometrie, Gärverhalten, Obergärung, Hefephysiologie.

Descriptors: *Saccharomyces cerevisiae*, flow cytometry, fermentation behaviour, top-fermenting yeast, yeast physiology).

## 1 Die obergärige Bierhefe

Die obergärige Hefe der Gattung *Saccharomyces cerevisiae* wird in der Lebensmittelindustrie zur Herstellung von Brot und Bier eingesetzt. In der deutschen Brauwirtschaft werden mit obergäriger Hefe folgende Biertypen produziert:

- Düsseldorf Alt, „Düssel“ oder „Alt“ (dunkle Obergärung)
- Kölsch Bier, „Kölsch“ (helle Obergärung)
- Weizenbiere (Hefe-Weizen (hell und dunkel), Kristallweizen, Weizenbock etc.).

In Großbritannien und Irland wird die obergärige Bierherstellung ebenfalls sehr intensiv gepflegt. Hier produziert man obergärige Biere mit der Bezeichnung:

- Ale, Porter, Stout, Bitter, Mild, Pale Ale, Old Ale.

Der taxonomische Begriff *Saccharomyces cerevisiae* wurde erstmals 1838 von *Meyen* geprägt (12). Damit sollten die Bierhefen, die Würze vergären, von den anderen *Saccharomyces*-Arten, die Apfel- bzw. Traubensaft vergären, unterschieden werden. Für die Brauer kam es dann durch die physiologischen Untersuchungen von *Hansen* (3) zu der Differenzierung unter- und obergäriger Bierhefe. *Hansen* hatte *Robert Kochs* (9) fundamentale Idee, mikrobielle Reinkulturen auf künstlichen Nährmedien zu kultivieren, übernehmen und in die biologische Kontrolle der Bierhefe in die Brauereiroutine eingeführt. Aufgrund physiologischer Merkmale ordnete er dann *Saccharomyces cerevisiae* den obergärigen Hefen zu, während *Saccharomyces carlsbergiensis* und dann später *S. uvarum*, als untergärige Bierhefe bezeichnet wurde.

Die Obergärung galt seitdem als schnelle, warme Führung, die Untergärung als die langsamere, kalte Führung.

Mikroskopisch ist eine Unterscheidung zwischen der unter- und obergärigen Heferasse schwierig. Die Aggregatbildung, vornehmlich ein morphologisches Merkmal der obergärigen Hefe, ist aber auch bei untergärigen Heferassen nachzuweisen. Beide Hefevariationen haben den gemeinsamen Ursprung in *Saccharomyces cerevisiae*. Eine Unterscheidung wird biochemisch durch die Raffinoseverwertung getroffen. *S. cerevisiae* kann Raffinose zu einem Drittel verwerten, während *S. uvarum* Raffinose vollständig verwerten kann (7).

*Saccharomyces cerevisiae* besitzt 16 Chromosomen mit einer Gesamtlänge von 12068 Kb (8). Molekularbiologisch haben *Donhauser* und vor allem Mitarbeiter (1) sowie *Donhauser* (2) und *Kunze et al.* (10) Unterschiede in der chromosomalen Zusammensetzung mit Hilfe der Pulsfeldgelelektrophorese festgestellt. Sie fanden bei den untergärigen Bierhefen (Subspezies *Saccharomyces cerevisiae uvarum var. carlsbergensis*) eine auffallende Uniformität. Dies konnte auch flusszytometrisch durch unsere Untersuchungen (5, 6) immer wieder an vielen UG-Hefen bestätigt werden. Die UG-Hefe wies immer Zweigipfeligkeit in den DNA-Häufigkeitsverteilungen auf. Nach dem *Howard* und *Pelc*-Modell (4) handelt es sich dabei um diploide ( $G_1$ -Phase-Zellen) und tetraploide ( $G_2$ -Phase und Mitosezellen) zwischen denen die replizierenden Synthesephasenzellen mit unterschiedlichen DNA-Gehalten liegen.

Die obergärigen Bierhefen (Subspezies *Saccharomyces cerevisiae cerevisiae*) bezeichnen *Donhauser* und Kollegen als eine sehr heterogene Gruppe mit unterschiedlicher Chromosomenausstattung. Flusszytometrisch konnten wir die Polyploidie (Aneuploidie) obergäriger Hefen ebenfalls bestätigen. Allerdings ist eine Zellzyklusanalyse mit Zuordnung der  $G_1$ -, S- und  $G_2$ - + M-Phase wegen der Überlagerungen der Häufigkeitsverteilungen der einzelnen Klone nicht so einfach wie bei den untergärigen Hefestämmen durchzuführen.

Noch heute werden die obergärigen Hefen als die Bierhefen bezeichnet, die immer schon zur Bierherstellung verwendet wurde. Im Düsseldorf Raum wird dieses Bier heute noch als Alt-Bier bezeichnet. Alt steht hier als Synonym für Bier nach alter Brauart hergestellt. Die Brauer haben also im Laufe der Geschichte Bezeichnungen geprägt, die sie mit physiologischen Bedingungen

bei speziellen Vergärungen (kalte Führung = Untergärung = *Saccharomyces uvarum*; warme Führung = Obergärung = *Saccharomyces cerevisiae*) verknüpften. Taxonomisch sind diese Unterschiede ohne Bedeutung.

Die obergärige Vergärung findet generell bei hohen Temperaturen statt. Die Anstelltemperatur liegt im allgemeinen bei 18 °C. Die Hauptgärung wird bei 22 °C durchgeführt und dauert 2 Tage. Das Drauffassen geschieht im 4 – 6 Stunden-Rhythmus. Obergärige Hefen werden oft als Aromahefen bezeichnet. Biere, die mit diesen Hefen vergoren wurden, haben daher einen fruchtigeren Geschmack.

## 2 Flusszytometrische Analytik

### 2.1 Probenahme und Fixierung

Die Bierproben wurden in sterile Bügelverschlussflaschen, die vorher mit 50 ml 70%iger Äthanol befüllt wurden, gezwickelt und bei 4 °C bis zur Analyse aufbewahrt.

### 2.2 Färbeverfahren und Flusszytometer

Die DNA-Färbung wurde mit DAPI, einem AT-spezifischen Fluorochrom (x), ausgeführt. Für die flusszytometrischen Messungen stand ein PAS- Flusszytometer der Fa. Partec zur Verfügung.

Die Glycogen-Färbung wurde nach Feulgenhydrolyse und anschließender Acriflavin-Färbung durchgeführt (6).

### 2.3 Interpretation des Zellzyklus anhand der DNA-Histogramme

Zur Differenzierung der Betriebshefen wurde der Zellzyklus der Population anhand des DNA-Gehaltes bestimmt. Die Fluoreszenzlichtsignale der einzelnen Hefezellen werden aufgrund ihrer Amplitudenhöhe – diese entspricht dem DNA-Gehalt der einzelnen Zelle – in z.B. 128 Kanäle geordnet und gespeichert und in Form einer Häufigkeitsverteilung dargestellt.

Während bei einer unsynchronisierten untergärigen Betriebshefepopulation drei Wachstumsfraktionen –  $G_0/G_1$ , S,  $G_2 + M$  – nachzuweisen sind, sehen die Häufigkeitsverteilungen der obergärigen Betriebshefen völlig anders aus.

In der exponentiellen Wachstumsphase besitzen die obergärigen Hefen mehr als nur drei Fraktionen (Abb. 1). Das macht es schwierig, den Zellzyklus einzelner Klone in dieser Mischpopulation, deren distinkte Häufigkeitsverteilungen sich überlappen, entsprechend einzuordnen. Anhand der Mehrfachverteilungen in diesen Histogrammen kann aber sofort die Polyklonalität (bzw. Aneuploidität) und somit das charakteristische Profil der obergärigen Betriebshefe erkannt werden. Ein Tatbestand, der für die Differenzierung untergäriger und obergäriger Hefe (Abb. 4) von Bedeutung sein kann.

## 3 Klonale Zusammensetzung der obergärigen Bierhefe

Die obergärigen Betriebshefen sind aneuploide bzw. polyploide Populationen, deren Ursprung, teilweise auch ihre Herkunft, in allen untersuchten Fällen unbekannt war. Die charakteristischen Merkmale der obergärigen Betriebshefen sind zum einen die polyklonale Zusammensetzung und daraus resultierend ihre Nährsubstratverwertung, die für die einzelnen Klone zu unterschiedlichen Zeitpunkten stattfindet. Dieses Phänomen wird als Diauxie beschrieben. Diauxie tritt bei Populationen auf, in denen mehrere Klone vergesellschaftet sind. Es ist das zwei- bzw. mehrphasische Wachstum einer Population, das dadurch kennzeich-

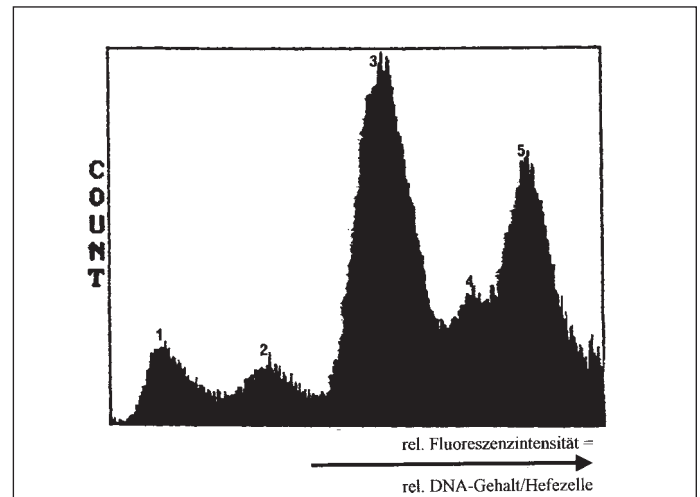


Abb. 1 Polyklonalität der OG-Betriebshefen

Die obergärigen Bierhefen sind polyklonale Populationen. Die charakteristische DNA-Häufigkeitsverteilung zeigt viele peaks (hier 1 – 5) unter denen sich jeweils Hefezellen mit unterschiedlichen DNA-Gehalten rekrutieren. Da die DNA-Häufigkeitsverteilungen der einzelnen Klone sich überlappen, kann ihre Zellzykluszugehörigkeit nicht wie bei den diploiden untergärigen Hefen differenziert dargestellt werden.

net ist, dass die einzelnen Klone zu unterschiedlichen Zeitpunkten mit dem Wachstum und der Vermehrung beginnen. Zur Glukoseverwertung werden zunächst entsprechende Enzyme induziert, während andere Enzyme unterdrückt werden. Ein Klon, der z.B. mit hohem Enzymgehalt zur Glukoseverwertung ausgestattet ist, erhält daher zunächst in der Population Selektionsvorteil. Flusszytometrisch drückt sich dies dadurch aus, dass die Klone, die unterschiedliche DNA-Gehalte besitzen, unterschiedliche Besetzungszahlen in den Histogrammen zu verschiedenen Probenahmezeitpunkten aufweisen.

## 4 Gärgeschwindigkeit und Gäraktivität der obergärigen Bierhefe

Gemessen an der Geschwindigkeit mit der obergärige Hefen bei optimalen Temperatur- und Nährsubstratbedingungen ihren Zellzyklus durchlaufen, hat diese Hefe eine hohe Gärgeschwindigkeit. Sie benötigt nur kurze Anschibezeiten und hat eine kurze intensive exponentielle Zellvermehrungsphase. Da obergärige Hefen in der Brot- und Backindustrie eingesetzt werden, ist dieses zellphysiologische Merkmal überaus erwünscht. Die Hausfrau hat schließlich nicht tagelang Zeit, bis der Kuchen „geht“. Bei der Bierherstellung dauern die Prozesse naturgemäß länger, da die verschiedenen Klone der obergärigen Population erst zur Entfaltung kommen müssen.

Anhand eines Vergleiches unter- und obergäriger Betriebshefepopulationen zeigte sich, dass die Gärgeschwindigkeit der obergärigen Zellen sechsmal so hoch ist, als die der untergärigen Hefezellen, bei gleichen Temperatur- und Milieubedingungen.

## 5 Zellzyklus der obergärigen Bierhefe

Wie bereits bei den untergärigen Hefen dargestellt, zählt der DNA-Gehalt auch bei den obergärigen Hefe zu den wichtigsten intrazellulären Parametern. Generell ist zu sagen, dass die vegetative Vermehrung der obergärigen Hefen nach den gleichen Schemata

wie bei den annähernd diploiden untergärigen abläuft. Sie befinden sich gegen Ende der Gärung in der quieszenten Wachstumsphase, werden geerntet, starten in der neuen Führung mit der Proliferation, wenn die Umwelteinflüsse (Temperatur, Nährsubstrat, pH-Wert der Würze) optimal sind, so dass Zellvermehrung durchgeführt wird. Anschließend läuft die Gärung ab und der Zellzyklus beginnt von vorne.

Die einzelnen Wachstumsphasen werden bei der Obergärung nur um vieles schneller erreicht und durchlaufen. Das Anschieben (Ankommen) beginnt bereits nach 1 – 2 Stunden. Im Gegensatz dazu benötigen untergärige Populationen bei einer kalten Anstelltemperatur von 8 °C immerhin 10 – 12 Stunden bis sie anschieben. Bei warmen Führungen, bei 12 – 14 °C Anstelltemperatur, benötigen untergärige immerhin noch 6 Stunden bis zum Anschieben.

Die Replikations- und Mitosephase (Zellteilungsphase) werden ebenfalls gegenüber der untergärigen Betriebshefe relativ schnell überbrückt.

Der entscheidende Unterschied im Wachstumsverhalten der Obergärigen zu den Untergärigen ist ihr klonales Wachstum. Die verschiedenen Klone der obergärigen Mischpopulationen unterscheiden sich nur geringfügig im DNA-Gehalt. Die Klone haben aber ein unterschiedliches zellphysiologisches Wachstum. Die einzelnen Klone beginnen daher nicht gleichzeitig mit ihrem Zellzyklus.

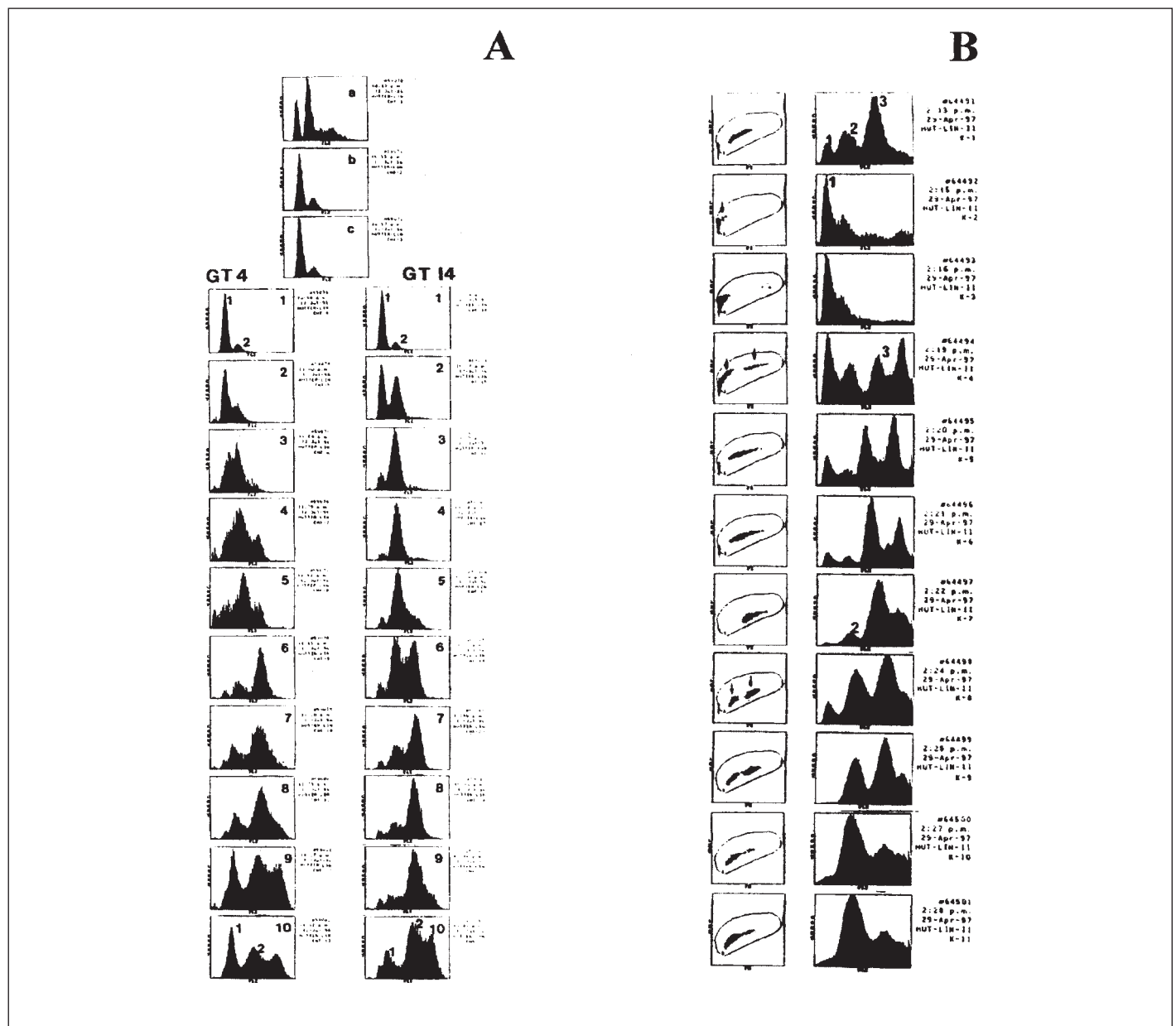


Abb. 2 Flusszytometrische Kontrolle der OG-Betriebshefe während der zylindronischen Vergärung

Kölsch-ZKG-Vergärungen (A und B) von zwei Brauereien. Die Histogramme des Brauerei A zeigen die Betriebshefe im Stadium des exponentiellen Wachstums (a). In (b und c) befinden sich die Hefezellen in der quieszenten Ruhephase aus dem Hefetank bzw. zum Zeitpunkt der Inokulation. Es wurden zwei Gärtanks (GT4 und GT 14) untersucht. Die Besetzungszahlen in den Häufigkeitsverteilungen sind unterschiedlich stark ausgeprägt, d.h. die Proliferation der 2 Klone variiert.

Bei der Kölsch-Hefe (B) liegen 3 Klone vor, die zu unterschiedlichen Zeiten ihre Proliferation durchführen.

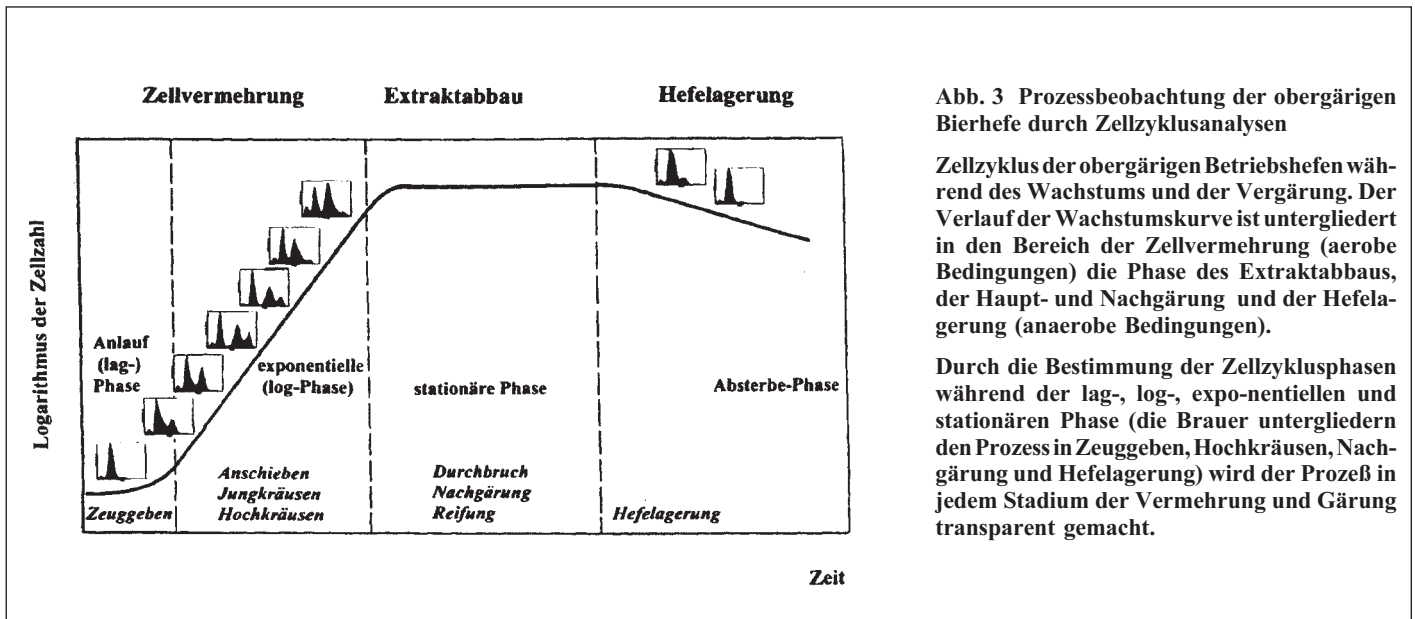


Abb. 3 Prozessbeobachtung der obergärigen Bierhefe durch Zellzyklusanalysen

Zellzyklus der obergärigen Betriebshefen während des Wachstums und der Vergärung. Der Verlauf der Wachstumskurve ist untergliedert in den Bereich der Zellvermehrung (aerobe Bedingungen) die Phase des Extraktabbaus, der Haupt- und Nachgärung und der Hefelagerung (anaerobe Bedingungen).

Durch die Bestimmung der Zellzyklusphasen während der lag-, log-, expo-nentiellen und stationären Phase (die Brauer untergliedern den Prozess in Zeuggeben, Hochkräusen, Nachgärung und Hefelagerung) wird der Prozeß in jedem Stadium der Vermehrung und Gärung transparent gemacht.

Während Zellen eines Klons nach der Zeuggabe mit der Zellvermehrung starten, verharren die Zellen der anderen Klone noch in der Ruhephase ihres Zellzyklusses. Die einzelnen Klone erhalten temporär Selektionsvorteile. So startet ein Klon mit der Zellvermehrung. Durch seine metabolische Aktivität werden andere Milieubedingungen geschaffen, die den anderen Klonen Wachstumsvorteile bringen.

Dies drückt sich bei obergärigen Betriebshefen sehr deutlich durch Veränderungen in den Besetzungszahlen der einzelnen peaks in den Häufigkeitsverteilungen aus (Anzahl der Zellen mit identischen DNA-Gehalten pro Kanal). Sie kommen durch Änderungen der Milieubedingungen während der Gärung zustande und sind ein Ausdruck des zellphysiologischen Zustandes der Population (Abb. 2 A und B).

Für den Starterklon verschlechtern sich irgendwann die Nährsubstratbedingungen. Sein Zellzyklus dauert nun länger, dadurch befinden sich immer mehr Zellen dieses Klons in der  $G_1$ -Phase. Die  $G_1$ -Phase ist die Zellzyklusphase in der die Hefezelle intensiv vergärt, d.h. in der  $G_1$ -Phase findet der Extraktabbau statt. Diese Wachstumsphase ist bei der Bierherstellung von Interesse. So sind denn zwei verschiedene  $G_1$ -Phasen zu unterscheiden. Die  $G_1$ -Phase bei der Zellvermehrung (aerobes Wachstum) ist relativ kurz und gekennzeichnet durch geringen Extraktabbau und die  $G_1$ -Phase nach Beendigung der Zellvermehrung, die sehr viel länger dauert (anaerobes Wachstum), in der aber der größte Teil des Extraktabbaus erfolgt.

Sobald der Starterklon aus dem Stadium der exponentiellen Zellvermehrung durch Veränderungen in der chemischen und physikalischen Zusammensetzung seiner Umgebung in das Stadium der Gärung gelangt ist, bekommen die anderen Klone Wachstumsvorteile. Dies drückt sich durch einen Anstieg der Besetzungszahlen ihrer peaks aus wie in Abbildung 2 B zu sehen ist

Wenn der erste Klon seine Zellvermehrung beendet hat, tritt er in die Gärphase ein, und verstoffwechselt Extrakt. Erst dann beginnen die anderen Klone mit ihrem Zellzyklus.

Der Verlauf der Wachstumskurve einer obergärigen Hefe mit den entsprechenden Zellzyklusdaten ist in Abbildung 3 dargestellt.

## 6 Flusszytometrische Differenzierung unter- und obergäriger Bierhefen

Praktische Bedeutung erlangt die flusszytometrische DNA-Differenzierung auch bei der Überprüfung unter- und obergäriger Reinkulturen bei Brauereien, die sowohl UG- als auch OG-Vergärungen durchführen. Verwechslungen beider Heferasen würden durch vorgeschaltete DNA-Analysen während der Herführung ausgeschlossen.

In Abbildung 4 sind sechs unter- und sechs obergärige Hefen von sechs verschiedenen Brauereien untersucht worden. Im Beispiel 1 konnte einwandfrei aufgrund der DNA-Analyse ermittelt werden, dass es sich bei UG und OG um ein und dieselbe Hefe handelt.

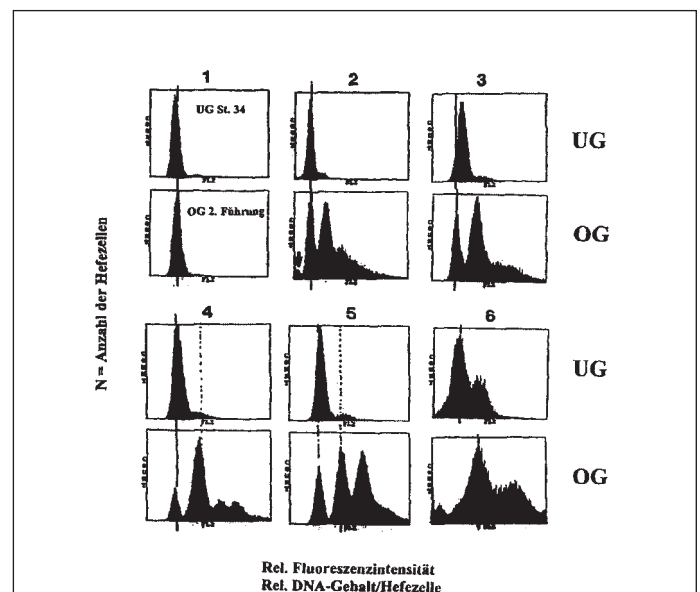


Abb. 4 Heferasen-Differenzierung

Aufgrund ihrer polyklonalen Zusammensetzung können obergärige von untergärigen Hefen durch DNA-Gehaltsbestimmungen differenziert werden. Die UG- und OG-Betriebshefe sind im DNA-Gehalt identisch.

| <b>Zeit nach Anstellen</b>  | <b>DNA-Gehalt</b> | <b>Glykogen-Gehalt</b> | <b>Temperatur [°C]</b> | <b>Druck [bar]</b> |
|-----------------------------|-------------------|------------------------|------------------------|--------------------|
| Anstellen 2. Sud<br>t = 0 h |                   |                        | ---                    | ---                |
| t = 2 h                     |                   |                        | ---                    | ---                |
| t = 4 h                     |                   |                        | ---                    | ---                |
| t = 6 h                     |                   |                        | 18                     | 0,21               |
| t = 8 h                     |                   |                        | 18                     | 0,05               |
| t = 10 h                    |                   |                        | 17,8                   | 0,11               |
| t = 12 h                    |                   |                        | 17,7                   | 0,29               |
| t = 14 h                    |                   |                        | 17,9                   | 0,14               |
| t = 16 h                    |                   |                        | 17,8                   | 0,24               |
| t = 18 h                    |                   |                        | 17,9                   | 0,5                |
| t = 20 h                    |                   |                        | 17,8                   | 0,83               |
| t = 22 h                    |                   |                        | 17,8                   | 0,9                |
| t = 25 h                    |                   |                        | ---                    | ---                |
| t = 49 h                    |                   |                        | ---                    | ---                |
| t = 151 h                   |                   |                        | ---                    | ---                |

Abb. 5 Prozessbeobachtung einer Weizenbierhefe

Flusszytometrische DNA- und Glykogengehaltsbestimmung einer Weizenbierhefe. Der Prozessverlauf zeigt das diauxistische Wachstum von 2 Klonen. Der Glykogengehalt macht die Polyklonalität ebenfalls durch eine Zweigipfeligkeit deutlich.

Neben den Betriebsproben haben wir eine Reihe von Laborversuchen durchgeführt. Generell ist hierzu festzustellen, daß *in praxi* die klonalen Veränderungen manchmal nicht so deutlich, wie im Laborversuch in Erscheinung treten. Dies liegt zum einen an den niederen Temperaturen, die sich ungünstig auf das Wachstum der einzelnen Klone auswirken, zum anderen auf die Substratzusammensetzung des Mediums, die im offenen Laborversuch von den Klonen schneller bei den hohen Temperaturen verwertet werden können als im ZKT unter Druck.

Die Untersuchungen über den Zellzyklus zeigen aber sehr deutlich, dass durch variable Temperatur- und Substratveränderungen die individuellen Klone zu unterschiedlichen Zeiten Selektionsvorteil erhalten (Abb. 2, 3 und 5).

Allerdings ist die Polyklonalität bei obergärigen Hefen nicht sonderlich beunruhigend, da eine solche funktionelle Mischpopulation oft angestrebt oder gewünscht ist; vereint sie doch verschiedene Klone mit unterschiedlich ausgeprägten, physiologischen Merkmalen in sich und ist deshalb als charakteristische Betriebshefepopulation zu betrachten, die organoleptisch oft hervorragende Eigenschaften aufweist. Viele Brauereien setzen daher bewusst oder unbewusst Mischpopulationen oder polyklonale Heferasen ein, um Biere mit einem individuellen „flavour“ herzustellen.

Es ist daher relativ unbedeutend, ob der polyklonale Zustand der Betriebshefepopulation auf einem Mutationsereignis beruhte oder bewusst durch Züchtung eingeleitet wurde.

Probleme kann eine solche polyklonale Heferasse erst dann bringen, wenn die technologischen Betriebsbedingungen außer Kontrolle geraten, ein Klon Selektionsvorteil erhält und die gewohnten bzw. gewünschten Geschmackskomponenten – eben das spezielle „flavour“ – nicht mehr nachzuweisen sind. Dieser Zustand wird in aller Regel unter dem Begriff „Degeneration“ abgehandelt.

#### Danksagung

Den Brauereien Bergische Löwen Brauerei, Köln; Binding Brauerei, Frankfurt; Dinkelacker Brauerei, Stuttgart; Eder Brauerei, Großostheim; Eichbaum Brauereien AG, Mannheim; Früh, Köln; Schlösser Brauerei, Düsseldorf; Stuttgarter Hofbräu, Stuttgart; Schwabenbrauerei, Stuttgart danke ich für die Bereitschaft, mir ihre Betriebshefen zu überlassen und Hefeproben aus der Produktion zur Verfügung zu stellen.

#### 7 Zusammenfassung

Für das Monitoring des Gärprozesses werden im allgemeinen Schnellmethoden, wie die Flusszytometrie, zunehmend unverzichtbar. Besonders im Hinblick auf die geschlossene ZKG, die auch bei den obergärigen Brauereien immer häufiger anzutreffen ist, gibt es keine zufriedenstellende Möglichkeit, den Prozess der Bierherstellung verfahrenstechnisch zu kontrollieren.

- Im Hinblick auf die Auswahl neuer Hefestämme sind mit Hilfe der flusszytometrischen Analytik wertvolle Informationen über das Hefewachstum und die Gärung zu gewinnen.
- Für die Prozessoptimierung bedeutet dies, dass die Herführung, Stimulation des Zeugs und die Dauer des Anschlebens, der aeroben Zellvermehrung und der Gärung optimiert und online kontrolliert werden kann.

#### 8 Summary

**Hutter, K.-J.: The top fermenting beer yeast** — Monatsschrift für Brauwissenschaft 54, No. 3/4, 48 – 54, 2001

##### BC 44 Yeast propagation, Yeast management

Generally fast methods such as flow cytometry are becoming increasingly essential for monitoring the fermentation process. Particularly in view of the enclosed ZKG, which is also to be found to an ever-increasing frequent extent at the top fermenting breweries, there is no satisfactory way of checking the technical beer brewing process.

- In few of the choice of new yeast strains valuable information can be gained on the yeast growth and the fermentation with the help of flow-cytometric analysis.
- For process optimisation this means that the implementation, material simulation and the shoving period, aerobic cell propagation and the fermentation can be optimised and controlled on line.

**Hutter, K.-J.: La levure de fermentation haute** — Monatsschrift für Brauwissenschaft 54, No. 3/4, 48 – 54, 2001

##### BC 44 Culture pure de levure, propagation de levure

Pour le « Monitoring » du procédé de fermentation, des méthodes rapides telles que la cytométrie de flux deviennent de plus en plus indispensables. En particulier en ce qui concerne les tanks cylindro-coniques fermés que l'on rencontre de plus en plus auprès des brasseries de fermentation haute, il n'y a pas de contrôle de procédé de la bière satisfaisant basé sur le génie des procédés.

- En ce qui concerne le choix des souches de levures on peut recueillir des informations valables sur la croissance des levures et sur la fermentation à l'aide la cytométrie de flux.
- Pour l'optimisation du procédé ce fait veut dire que la conduite du levain, la stimulation du levain, la durée du démarrage, la multiplication cellulaire en aérobie et la fermentation peuvent être optimisés et contrôlés en ligne.

#### 9 Literatur

1. Donhauser, S., Springer, R., und Vogeser, G.: Identifizierung und Klassifizierung von Brauereihefen durch Chromosomenanalyse mit der Pulsfeldgelanalyse, Monatsschrift für Brauwissenschaft **43**, 12, 392 – 400, 1990.
2. Donhauser, S.: Mikrobiologie des Bieres. In: Mikrobiologie der Lebensmittel (H.H. Dittrich, ed.), Behr's Verlag GmbH, Hamburg, ISBN 3-86022-113-2, pp. 111 – 181, 1993.
3. Hansen, E.C.: Compt. rend. trav. Lab. Carlsberg, sér. chim. 2, 92ff, 1986.
4. Howard, A., and Pelc, S.R.: Synthesis of desoxyribonucleic acid in normal and irradiated cells and its relation to chromosome breakage. *Heredity* **6** (Suppl.), 261 – 273, 1953.
5. Hutter, K.-J., and Eipel, H.E.: DNA determination of yeast by flow cytometry, *FEMS Microbiology Lett.* **3**, 35 – 38, 1978.
6. Hutter, K.-J., Remor, M., und Müller, S.: Biomonitoring in praxi mit fluoreszenzoptischen Verfahren. VII. Mitteilung: Untersuchungen zur flusszytometrischen Bestimmung des Glykogengehaltes der Betriebshefe, Monatsschrift für Brauwissenschaft **53**, 5/6, 68 – 76, 2000.
7. Kregger van Rij, N.J.W.: The yeasts. A taxonomic study, Elsevier North-Holland, Amsterdam, 1984.
8. Knippers, R., Phillipsen, P., Schäfer, P., und Fanning, E.: Molekulare Genetik, 5. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart, 1990.

9. Koch, R.: Untersuchungen über Bacterien: VI. Verfahren zur Untersuchung zum Conservieren und Photographieren der Bakterien, Beitr. Biol. Pflanz. **2**, 399 – 440, 1877.
10. Kunze, G., Kunze, I., Barner, A., and Schulz, R.: Classification of *Saccharomyces cerevisiae* strains by genetical and biochemical methods, Monatsschrift für Brauwissenschaft **46**, 132 – 136, 1993.
11. Slater, M.L., Sharrow, S.O., and Gart, J.J.: Cell cycle of *Saccharomyces cerevisiae* in populations growing at different stages. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. **74**, 3850 – 3854, 1977.
12. Weinfurter, F.: Geschichtliches über die Kenntnis der Hefen. In: Die Hefen, Bd. 1 (Reiff, F., Kautzmann, R. Lüers, H., Lindemann, M., eds.), Verlag Hans Carl, Nürnberg, 1960.

(Manuskripteingang: 4. Oktober 2000)

## Die Jahres-CD für die gesamte Bau-Branche



- ▶ 1400 Seiten Brauwelt-Information
- ▶ schneller Zugriff auf Informationen
- ▶ kurze Wege zu Daten und Fakten
- ▶ einfache Archivierung relevanter Inhalte
- ▶ Volltextrecherche
- ▶ übersichtlichem Inhaltsverzeichnis

FACHVERLAG  
HANS CARL  
NÜRNBERG

Weitere Informationen und  
Bestellmöglichkeit finden Sie im  
Internet unter  
[www.brauwelt.de](http://www.brauwelt.de)

