

Lehrinformation Nr. 105	<b>Lehrinformation</b> <b>Bäckereitechnologie</b>	Gliederungs-Nr. 4.1.2.-7 Blatt 1
----------------------------	--	--

## **Mikrobiologische Aspekte der Sauerteiggärung - Regulation der Essigsäurebildung**

### **1. Einleitung**

Die Mikroflora von Sauerteigen wird von Milchsäurebakterien (Lactobacillen) und Hefen geprägt, wobei erstere sowohl zahlenmäßig als auch von der Bedeutung her dominieren, weshalb sich die folgenden Ausführungen auf die Lactobacillen als typische Sauerteigbakterien beschränken sollen.

Obwohl Milchsäurebakterien von ihrer Morphologie her recht unterschiedlich sind (Kurz- und Langstäbchen, Kokken), stellen sie vom Stoffwechsel her eine relativ einheitliche Gruppe dar. Da ihnen die Enzyme der Atmungskette fehlen, gewinnen sie die für die Zellvermehrung notwendige Energie ausschließlich durch Vergärung von Kohlenhydraten (Glucose, Maltose u.a.), die im Mehl ausreichend zur Verfügung stehen. Dabei fällt als hauptsächliches Gärungsendprodukt Milchsäure an, die der Gruppe den Namen gegeben hat. Obwohl sie zu den anaeroben Bakterien gehören, werden sie durch Sauerstoff in der Regel nicht gehemmt. Weitere typische Merkmale sind die hohen Nährstoffansprüche und die Säuretoleranz. So benötigen sie zum Wachstum Vitamine, Aminosäuren und andere komplexe organische Verbindungen. Aufgrund der Milchsäuregärung und der Säuretoleranz setzen sich Milchsäurebakterien an nährstoffreichen Standorten relativ rasch gegen andere Bakterien durch, wofür Silage und Spontansauerteige gute Beispiele sind.

### **2. Sauerteigbakterien**

Schon früh hat man die Milchsäurebakterien bezüglich ihres Gärungsstoffwechsels in Gruppen eingeteilt, die sich dadurch unterscheiden, ob bei der Gärung CO<sub>2</sub> entsteht oder nicht. Für die Praxis ist die Unterscheidung in homofermentative (keine CO<sub>2</sub>-Bildung, Milchsäure macht ca. 90 % der Endprodukte aus) und heterofermentative (CO<sub>2</sub>-Bildung, neben Milchsäure werden auch Essigsäure und/oder Ethanol gebildet) Arten ausreichend. Typische homofermentative Vertreter im Sauerteig sind *Lactobacillus plantarum*, *L. delbrückii*, *L. acidophilus* und *L. casei*, während die heterofermentativen vornehmlich durch *L. sanfrancisco*, *L. brevis*, *L. pontis*, *L. buchneri* und *L. reuteri* repräsentiert werden. Für die Sauerteigbereitung sind die heterofermentativen Milchsäurebakterien von größerer Bedeutung als die homofermentativen.

### **3. Säurebildung durch heterofermentative Sauerteigbakterien**

Während Milchsäure- und CO<sub>2</sub>-Bildung bei der Sauerteiggärung über einen weiten Bereich nahezu parallel zur Zellvermehrung verlaufen und damit relativ kalkulierbar sind, unterliegt die Essigsäurebildung offensichtlich komplexeren Einflußfaktoren. Das hat nicht nur zur Folge, daß sich das Verhältnis von Milchsäure zu Essigsäure im Verlaufe der Gärung normalerweise verändert, sondern daß auch von Gärung zu Gärung unterschiedliche Säurespektren auftreten können. Immerhin ist eine begrenzte - für den Normalfall in der Bäckerei aber ausreichende - Kontrolle der Essigsäurebildung und damit auch des Gärungsquotienten (molares Verhältnis von Milchsäure zu Essigsäure) über die Prozeßparameter Teigausbeute, Temperatur, Gärzeit und Starterkultur möglich.

Wenn es jedoch um eine gezielte Erhöhung des Essigsäuregehaltes geht (z.B. zur Unterdrückung von fadenziehenden Bakterien in Weizenbrot oder zur Kompensierung trocknungsbedingter Essigsäureverluste bei der Haltbarmachung von Sauerteigen durch Trocknen) reichen diese Maßnahmen nicht aus. Dazu bedarf es grundlegender Kenntnisse über die Regulation der Essigsäure in den Bakterienzellen, die im folgenden dargestellt werden.

#### **3.1. Regulation der Essigsäurebildung**

Analysiert man im Verlauf einer hefefreien Sauerteiggärung die Bildung von Milchsäure, Essigsäure und Ethanol, werden folgende Zusammenhänge deutlich:

<b>Lehrinformation</b> <b>Nr. 105</b>	<b>Lehrinformation</b> <b>Bäckereitechnologie</b>	<b>Gliederungs-Nr.</b> <b>4.1.2.-7</b> <b>Blatt 2</b>
--	--	---

- Die Anzahl der jeweils gebildeten Milchsäuremoleküle entspricht der Summe der gleichzeitig gebildeten Essigsäure- und Ethanol-Moleküle.
- Zu Beginn der Gärung werden etwa gleiche Anzahlen Milch- und Essigsäure-Moleküle gebildet (Gärungsquotient geht gegen 1.0). Im Verlauf der Gärung wird die Essigsäurebildung zugunsten der Ethanolbildung gedrosselt, wodurch der Gärungsquotient ansteigt.

Verfolgt man gleichzeitig, wie sich der wahrscheinlich durch das Kneten in den Sauerteig eingebrachte Sauerstoffgehalt während der Gärung verändert, stellt man fest, daß er innerhalb weniger Stunden auf Null zurückgeht, was auffällig parallel zur Drosselung der Essigsäurebildung geschieht. In der sich anschließenden anaeroben Phase der Gärung verläuft die Essigsäurebildung auf einem niedrigen Niveau, wird in der Regel aber nicht gänzlich eingestellt, solange die Mehlinhaltsstoffe Fruktose, Citrat und/oder Malat verfügbar sind. Diese Beobachtungen lassen sich anhand der in Abbildung 2 vereinfacht dargestellten Stoffwechselvorgänge erklären.

### 3.2. Säurestoffwechsel heterofermentativer Sauerteigbakterien (Pentosephosphat-Weg)

Vorrangiges Ziel des Säurestoffwechsels ist Energiegewinn in Form von ATP, der im Falle der Sauerteigbakterien in erster Linie durch schrittweisen oxidativen Abbau von verwertbaren Zuckern aus dem Mehl (s.o.) erfolgt. Um diesen Stoffwechselprozeß in Gang bringen zu können, müssen die Zellen zunächst ATP investieren, um Glucose zu Glucose-6-Phosphat zu aktivieren und damit reaktionsbereit für die sich anschließenden Umsetzungen zu machen. Als sichtbares Zeichen der Oxidationsvorgänge tritt  $\text{CO}_2$  auf, das als "endoxidiertes" Kohlenstoff ausgeschleust wird. Bei der biologischen Oxidation eines Substrat-Moleküls (z.B. Glucose-6-Phosphat oder 6-Phosphogluconat) werden jeweils zwei Wasserstoffatome vom Substrat (= Wasserstoffdonator) abgegeben. Eines davon wird als Hydrid-Ion ( $\text{H}^-$ ) an das Coenzym  $\text{NAD}^+$  addiert (wobei  $\text{NADH}$  entsteht), während das andere als Proton ( $\text{H}^+$ ) in Lösung geht. Das Ausschleusen des Wasserstoffs ist für die Zellen essentiell, um  $\text{NAD}^+$  für weitere energieliefernde Oxidationsschritte regenerieren zu können. Dazu sind sogenannte Wasserstoffakzeptoren (auch als Elektronenakzeptoren bezeichnet) erforderlich, mit deren Hilfe der Wasserstoff aus den Zellen transportiert werden kann. Typisches Beispiel dafür ist die Übertragung der bei der Oxidation des Glycerinaldehyd-3-phosphats anfallenden zwei Wasserstoffmoleküle auf Pyruvat, das dadurch reduziert und unter Regeneration von  $\text{NAD}^+$  als Laktat ausgeschieden wird.

Daß die Effizienz (= Gewinn an ATP) des Energiestoffwechsels wesentlich von der Verfügbarkeit von Wasserstoffakzeptoren zur Regeneration von  $\text{NAD}^+$  abhängt, wird am Beispiel des energiereichen Zwischenproduktes Acetyl-Phosphat deutlich. Es kann entweder über Acetaldehyd zur Wasserstoffentsorgung (= Regeneration von  $\text{NAD}^+$ ) genutzt werden, wobei mit dem energiereichen Ethanol als Endprodukt Energie ungenutzt aus den Zellen ausgeschleust würde, oder unter Energiegewinn zu Acetat umgesetzt werden. Die Tatsache, daß in dieser Situation bei Mangel alternativer Wasserstoffakzeptoren kein Acetat als Endprodukt auftritt, belegt, daß die Wasserstoffentsorgung offensichtlich Vorrang hat. Entsprechend gering fällt die Energiebilanz mit nur einem Mol ATP-Gewinn pro Mol Glucose aus.

### 4. Einfluß von Wasserstoffakzeptoren auf die Energiebilanz

Im Sauerteig stehen den heterofermentativen Sauerteigbakterien Sauerstoff, Fructose, Citrat und Malat prinzipiell als Wasserstoffakzeptoren in mehr oder weniger hohen Konzentrationen zur Verfügung, wobei die Fähigkeit zu deren Nutzung bei den unterschiedlichen Arten variiert. Welche Auswirkungen Zugaben von Sauerstoff oder Fructose auf die Acetatbildung, die Energiebilanz und die Endprodukte haben können, wenn sie uneingeschränkt im Sauerteig zur Verfügung stehen, ist in Abbildung 2 dargestellt. Danach wird im Vergleich zu unbehandelten Sauerteigen in beiden Fällen der Energiegewinn nahezu verdoppelt. Als Endprodukt des Säurestoffwechsels tritt neben Lactat und  $\text{CO}_2$  nur Acetat auf (Gärungsquotient = 1.0). Zusätzliche Endprodukte entstehen durch die Umsetzungen der Wasserstoffakzeptoren, wobei pro Mol Acetat im Falle des Sauerstoffs zwei Mol Wasser, im Falle der Fructose zwei Mol Mannit auftreten.

Vergleicht man damit die Acetatbildung in unbehandelten Sauerteigen, wird deutlich, daß die zur Verfügung stehenden Wasserstoffakzeptoren nicht ausreichen, um mehr als etwa ein Drittel der anfallenden Acetyl-

Lehrinformation Nr. 105	<b>Lehrinformation</b> <b>Bäckereitechnologie</b>	Gliederungs-Nr. 4.1.2.-7 Blatt 3
----------------------------	--	--

Phosphat-Moleküle unter Energiegewinn in Acetat umzusetzen. Der überwiegende Teil wird zur Wasserstoffentsorgung mit Ethanol als Endprodukt umgesetzt. Die Beobachtung, daß zu Beginn der Gärung das Angebot an Wasserstoffakzeptoren ausreichte, um Lactat und Acetat im equimolaren Verhältnis zu bilden, wird nicht zuletzt darauf zurückzuführen sein, daß bei relativ niedrigen Zellzahlen neben Fructose auch Sauerstoff zur Verfügung stand. Im weiteren, zunehmend anaeroben Verlauf nahm die Zellzahl vermutlich schneller zu als die enzymatische Nachlieferung von Fructose. Parallel dazu verschob sich das Verhältnis Acetat/Ethanol in Richtung Ethanol.

## 5. Gezielte Einstellung des Gärungsquotienten über den Zusatz von Wasserstoffakzeptoren

Im Prinzip ist Sauerstoff ein sehr effizienter Wasserstoffakzeptor, da er einerseits von Sauerteigbakterien bevorzugt aufgenommen wird und andererseits nach derzeitigem Kenntnisstand unter den Bedingungen der Sauerteiggärung als Wasser ausgeschieden wird. Leider macht seine geringe Löslichkeit in Wasser eine gezielte Zufuhr aufwendig. In diesem Punkte bietet Fructose Vorteile, die ohne Probleme zu Beginn der Gärung kontrolliert zugesetzt werden kann. Der als Endprodukt auftretende Zuckeralkohol Mannit - ein natürlicher Bestandteil von Sauerteigen - erreicht dabei keine Konzentrationen, die sensorische oder technologische Schwierigkeiten bereiten würden. Steigende Fructosegaben (% auf Mehl bezogen) beeinflussten den Acetatgehalt von Weizenvollkorn-Sauerteigen. Zur Unterdrückung des Fadenziehens reichte in diesem Fall ein Zusatz von 5 % (auf Mehl bezogen) im Sauerteig aus. Vergleichbare Effekte erzielt man mit Invertzucker, der allerdings doppelt konzentriert zugesetzt werden muß. Befinden sich ausreichend "Backhefen" im Sauerteig, leistet Sucrose ähnliche Dienste, wenn sie von der Hefe-Invertase in Glucose und Fructose gespalten wird.

### Literatur

1. Böcker, G., P. Stolz und W.P. Hammes: Neue Erkenntnisse zum Ökosystem Sauerteig und zur Physiologie der sauerteigtypischen Stämme *Lactobacillus sanfrancisco* und *Lactobacillus pontis*. Getreide Mehl u. Brot 49 (1995) 6, S. 370-374
2. Brümmer, J.- M.: Weizensauerteige. 3. Mitteilung: Einfluß von Führungsbedingungen und Zusätzen (Backhefe, Konservierungsstoffe und Weizenbrot) auf das Milch/Essigsäure-Verhältnis und die Gasentwicklung . Brot und Backwaren 37 (1989) S. 78-82
3. Kandler, O.: Gärungsmechanismen bei Milchsäurebakterien. Forum Mikrobiol. 5 (1982) S. 16-22
4. Ng, H.: Factors affecting organic acid production by sourdough (San Francisco) bacteria. Appl.Microbiol. 23 (1972) S. 1153-1159
5. Röcken, W., M. Rick und M. Reinkemeier: Controlled production of acetic acid in wheat sourdoughs. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 195 (1992) S. 259-263
6. Röcken, W., M. Rick, H. Mack und J.-M. Brümmer: Versuche zur Kompensierung trocknungsbedingter Essigsäureverluste beim Trocknen von Sauerteigen. Getreide Mehl u. Brot 46 (1992) S. 139-142
7. Röcken, W. und G. Spicher: Fadenziehende Bakterien - Vorkommen, Bedeutung, Gegenmaßnahmen. Getreide Mehl und Brot 47 (1993) S. 30-35
8. Spicher, G. und E. Rabe: Über den Einfluß der Temperatur auf die Bildung von Lactat und Acetat durch heterofermentative Sauerteigbakterien. Getreide Mehl u. Brot 35 (1980) S. 65-67
9. Stolz, P., G. Böcker, W.P. Hammes und R.F. Vogel: Utilization of electron acceptors by lactobacilli isolated from sourdough. I. *Lactobacillus sanfrancisco*. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 201 (1995) S. 91-96
10. Stolz, R.F. Vogel und W. P. Hammes: Utilization of electron acceptors by lactobacilli isolated from sourdough. II. *Lactobacillus pontis*, *L. reuteri*, *L. amylovorans* and *L. fermentum*. Z. Lebensm. Unters. Forsch. (1995) S. 402-410

**Bearbeiter:** Dr. W. Röcken, Detmold  
**Herausgegeben:** Dezember 1996