

Untersuchungen zu Gärungsbedingungen (projektartiger Unterricht)

Biotechnische Verfahren werden seit frühgeschichtlicher Zeit angewendet. Aus der Beobachtung, dass süße Früchte und Fruchtsäfte bei der Lagerung gären und der Genuss von vergorenen Flüssigkeiten Rauschzustände verursachen kann, entwickelten sich Gärungsverfahren und damit praktisch die ersten biotechnischen Verfahren.

Die Entwicklung moderner biotechnischer Produktionsprozesse hat zum Ziel, Produkte mit hoher Qualität und günstigem Preis zu erzeugen. Die hierfür erforderlichen Verfahrensbedingungen werden meistens in langwierigen Versuchsreihen ermittelt.

Aufgabe 1: Wie arbeitet die Hefe bei verschiedenen Temperaturen?

Materialien:

Versuchsreihe 1: Bechergläser (150 mL, 100 mL), Eiswasser (oder Kühlschrank), heißes Wasser, Thermometer, Glasstab, Esslöffel, Reagenzgläser (160 x 16 mm), Filzstift, Wärmeschrank, Lineal oder Meterstab.

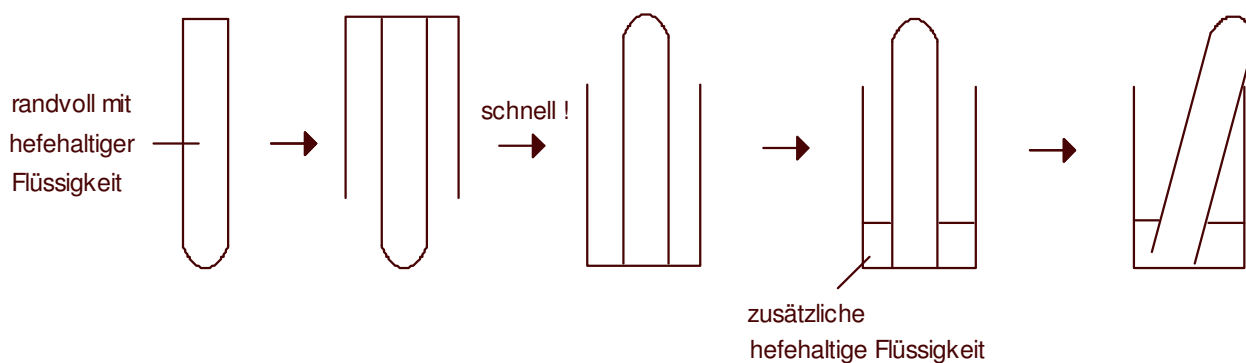
Bäckerhefe, Faden, Zucker, Leitungswasser.

Zusätzlich für Versuchsreihe 2: Malzagarplatten (siehe S.), Drigalski-Spatel, Becherglas mit Spiritus und Uhrglas (zum Sterilisieren des Drigalski-Spatels), Brenner, sterile Pasteurpipetten (in Alu-Folie verpackt).

Zusätzlich für Versuchsreihe 3: Mixer, Trichter + Filterpapier, Erlenmeyerkolben (250 mL) Zentrifuge, Zentrifugengläser, Mörser + Pistill, gewaschener Quarzsand.

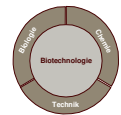
Versuchsreihe 1:

1. $\frac{1}{8}$ Hefewürfel (mit einem Faden aufgeteilt) in etwa 100 mL Leitungswasser mit der gewählten Temperatur (0 °C, 20 °C, 40 °C, 60 °C, 80 °C) kräftig rühren bis eine gleichmäßige Suspension entsteht.
2. Anschließend einen gehäuften Esslöffel Zucker einrühren und die hefehaltige Suspension wie folgt ins Reagenzglas abfüllen:



3. Beschrifteten Versuchsansatz im Eiswasser (oder Kühlschrank), bei Zimmertemperatur oder im Wärmeschrank bei gewünschter Temperatur aufbewahren und nach 10, 20 und 30 Minuten protokollieren (Hilfsmittel: Lineal oder Meterstab).

Auswertung: ...



Ergänzende Hinweise:

Bei diesem Versuch werden die relativ teuren Gärungssaccharometer durch Reagenzgläser und Bechergläser ersetzt.

Vor der Versuchsdurchführung:

- Arbeitsplan festlegen oder präsentieren, damit jeder Schüler weiß, bei welcher Temperatur seine beiden Versuche laufen sollen, z.B.

	Gruppe	0 / 4 °C	20 °C	40 °C	60 °C	80 °C
V1	1	X	X	X		
	2	X		X	X	
	3		X	X		X
	4		X		X	X
	5	X	X		X	
	...					

- Demonstrieren, wie man ein mit Leitungswasser gefülltes Reagenzglas so umdreht, dass keine Flüssigkeit austritt, siehe 2.

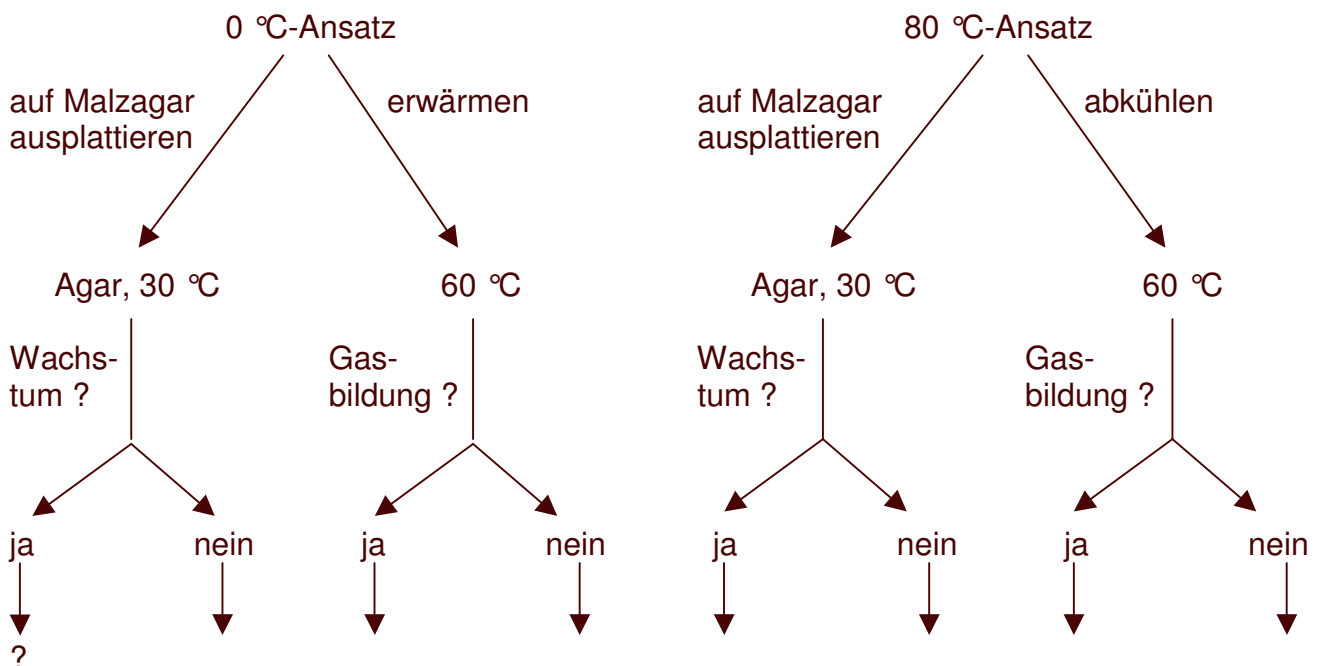
Versuchsergebnisse:

Zeit	Gasbildung bei bestimmter Temperatur in cm Reagenzglas­höhe									
	0	0,8	0,3	1,0	2,5	5,0	9,0	2,0	3,4	0,2
10 min	0	0,8	0,3	1,0	2,5	5,0	9,0	2,0	3,4	0,2
	0	0,6		2,8			4,8		0,2	
20 min	0	1,2	1,0	2,3	4,1	12,5	13,9	7,5	8,1	0,6
	0	1,1		6,3			9,8		0,6	
30 min	0	2,3	1,2	4,9	7,3	18,0	15,5	10,7	11,2	1,0
	0	1,8		10,1			13,1		1,0	
Temperatur	4 °C	20 °C		40 °C			60 °C		80 °C	

Weiterführung des Projekts:

Aufgabe 2: Ist es den Hefezellen bei 0 / 4 °C zu kalt, bei 80 °C zu heiß oder werden Sie bei diesen Temperaturen zerstört?

In Gruppenarbeit sollen experimentelle Lösungsansätze für diese Fragestellungen überlegt werden. Nach der Präsentation der Gruppenvorschläge ergibt sich z. B. folgende Mindmap:



Daraus ergibt sich z.B. die **Versuchsreihe 2**:

V1: Hefesuspension ($\frac{1}{8}$ Hefewürfel + 100 mL Leitungswasser) bei 0 °C oder Kühlschranktemperatur

a) 1 Tropfen davon ausplattieren auf Malzagar (0 °C / Namenskürzel) → Inkubation bei 30 °C

b)



Gäransatz mit Zucker in 60 °C-Wärmeschrank, alle 10 min Gasbildung kontrollieren und protokollieren

V2: Hefesuspension ($\frac{1}{8}$ Hefewürfel + 100 mL Leitungswasser, 80 °C)

a) 1 min lang bei 80 °C halten

→ 1 Tropfen davon ausplattieren auf Malzagar (80 °C / 1 min / Namenskürzel)

→ Inkubation bei 30 °C

b) 5 min lang bei 80 °C halten

→ 1 Tropfen davon ausplattieren auf Malzagar (80 °C / 5 min / Namenskürzel)

→ Inkubation bei 30 °C

c)



Gäransatz mit Zucker in 60 °C-Wärmeschrank, alle 10 min Gasbildung kontrollieren und protokollieren

Auswertung: ...

Aufgabe 3: Wie könnte man experimentell zeigen, ob zur Gärung ganze Hefezellen oder nur Teile davon nötig sind?

In Gruppenarbeit sollen experimentelle Lösungsansätze für diese Fragestellungen überlegt werden. Nach der Präsentation der Gruppenvorschläge wird eine Mindmap erstellt.

Daraus ergibt sich z.B. die **Versuchsreihe 3**:

V3: Hefesuspension ($\frac{1}{8}$ Hefewürfel + 100 mL Leitungswasser, 100 °C)

a) 1 min lang kochen

→ 1 Tropfen davon ausplattieren auf Malzagar (100 °C / 1 min / Namenskürzel)

→ Inkubation bei 30 °C

b) 5 min lang kochen

→ 1 Tropfen davon ausplattieren auf Malzagar (100 °C / 5 min / Namenskürzel)

→ Inkubation bei 30 °C

V4: Hefesuspension ($\frac{1}{8}$ Hefewürfel + 100 mL Leitungswasser, 60 °C) 1 min lang mixen

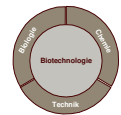
a) → 1 Tropfen davon ausplattieren auf Malzagar (60 °C / Mix / Namenskürzel)

→ Inkubation bei 30 °C

b)



Gäransatz mit Zucker in 60 °C-Wärmeschrank, alle 10 min Gasbildung kontrollieren und protokollieren



- V5: Hefesuspension wie V4, 1 min lang mixen, anschließend filtrieren.
 a) 1 Tropfen Filtrat ausplattieren auf Malzagar (*Mix / Filtrat / Namenskürzel*)
 → Inkubation bei 30 °C
 b) Gäransatz mit Zucker in 60 °C-Wärmeschrank,
 alle 10 min Gasbildung kontrollieren und protokollieren

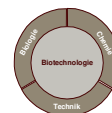
- V6: Hefesuspension wie V4, mixen (1 min), anschließend zentrifugieren (5000 Upm, 5 min).
 a) 1 Tropfen Zentrifugat ausplattieren auf Malzagar (*Mix / Zentrifugat / Name*)
 → Inkubation bei 30 °C
 b) Gäransatz mit Zucker in 60 °C-Wärmeschrank,
 alle 10 min Gasbildung kontrollieren und protokollieren

- V7: 1/8 Hefewürfel + 1 Esslöffel Zucker mörsern, + 100 mL Leitungswasser, 60 °C
 a) 1 Tropfen ausplattieren auf Malzagar (*60 °C / Mörser / Namenskürzel*)
 → Inkubation bei 30 °C
 b) Gäransatz mit Zucker in 60 °C-Wärmeschrank,
 alle 10 min Gasbildung kontrollieren und protokollieren

- V8: 1/8 Hefewürfel + 1 Esslöffel Sand mörsern, + 100 mL Leitungswasser, 60 °C
 a) 1 Tropfen Überstand ausplattieren auf Malzagar (*60 °C / Mörser / Namenskürzel*)
 → Inkubation bei 30 °C
 b) Gäransatz mit Zucker in 60 °C-Wärmeschrank,
 alle 10 min Gasbildung kontrollieren und protokollieren

Ergebnisse:

V-Nr	Versuchs-Bedingungen	Zellwachstum auf Malzagar bei 30 °C, 24 h	Gäransatz mit Zucker, Gärgasvolumen in cm bei 60 °C nach		
			10 min	20 min	30 min
1	Hefesuspension, bei 0 °C angesetzt	Ganzflächiges Zellwachstum	2,5 1,3	5,5 3,7	10,0 9,5
2a	Hefesuspension, bei 80 °C angesetzt (1 min lang 80 °C)	Kein Zellwachstum			
2b	Hefesuspension, bei 80 °C angesetzt (5 min lang 80 °C)	Kein Zellwachstum	0 0	0 0	0 0
3a	Hefesuspension, bei 100 °C angesetzt (1 min lang bei 100 °C)	Kein Zellwachstum			
3b	Hefesuspension, bei 100 °C angesetzt (5 min lang bei 100 °C)	Kein Zellwachstum			
4	Hefesuspension, bei 60 °C angesetzt, mixen (1 min)	Ganzflächiges Zellwachstum	2,0 1,5	10,0 10,5	14,5 15,0
5	Hefesuspension, bei 60 °C angesetzt, mixen (1 min), Filtration → Filtrat	Ganzflächiges Zellwachstum	0,5 0	3,0 2,0	8,5 8,0
6	Hefesuspension, bei 60 °C angesetzt, mixen (1 min), Zentrifugation (5000 Upm, 5 min) → Zentrifugat	Einzelne Zellkolonien, < 0,5 % der Agarfläche bedeckt	0 0	Gasbläschen an Glaswand, 0	0 0

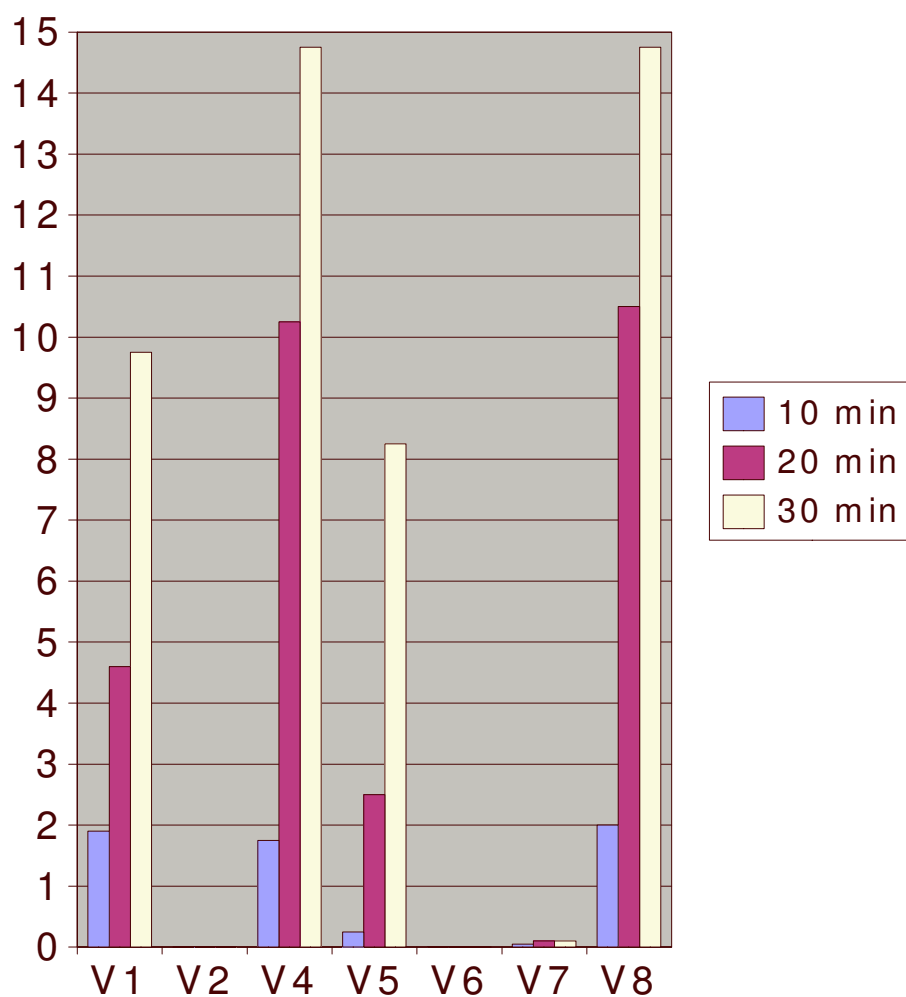


7	Hefe mit Zucker im Mörser 5 min lang zerrieben, in Wasser mit 60 °C suspendiert	Ganzflächiges Zellwachstum	0 0,1	0 0,2	0 0,2
8	Hefe mit Sand im Mörser 5 min lang zerrieben, in Wasser suspendiert (60 °C)	Ganzflächiges Zellwachstum	3,0 (0,3) 1,0	10,5 (1,0) 10,5	15,5 (1,9) 14,0

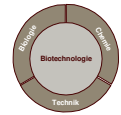
Besondere Beobachtung:

Zu V7: Das Hefe/Zucker-Gemisch verflüssigt sich. Im Gäransatz entmischt sich die Suspension im oberen Teil des Reagenzglases, dort wird es klar.

**Gäransatz mit Zucker:
Gärgasvolumen in cm bei 60 °C**



- V1: Hefesuspension bei 0 °C angesetzt
- V2: Hefesuspension bei 80 °C angesetzt
- V4: Hefesuspension bei 60 °C angesetzt und 1 min lang gemixt
- V5: Wie V4, zusätzlich filtriert. Gäransatz mit Filtrat
- V6: Wie V4, zusätzlich zentrifugiert (5000 Upm, 1 min), Gäransatz mit Zentrifugat
- V7: Hefe mit Zucker im Mörser 5 min lang zerrieben, in Wasser mit 60 °C suspendiert
- V8: Hefe mit Sand im Mörser 5 min lang zerrieben, in Wasser mit 60 °C suspendiert

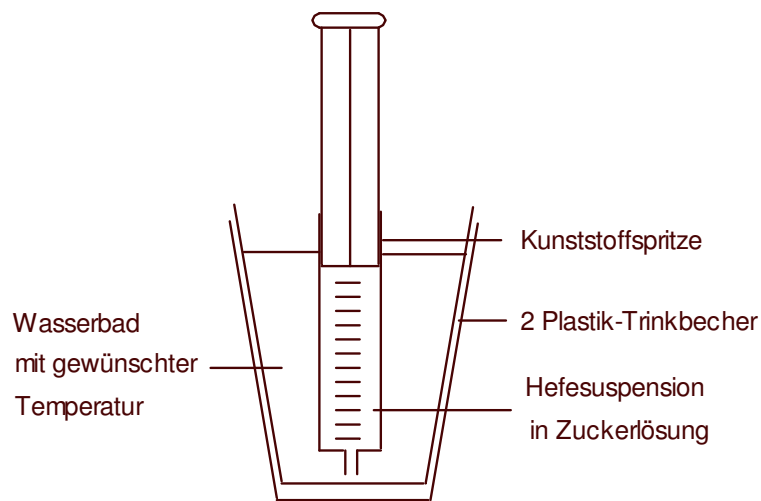


Auswertung:

V-Nr.	Versuchs-Bedingungen	Auswertung
1	Hefesuspension, bei 0 °C angesetzt	Die Hefezellen sind bei 0 °C inaktiv, werden bei dieser Temperatur aber nicht zerstört. Deshalb zeigen sie bei anschließender Erwärmung <ul style="list-style-type: none"> • auf 30 °C massenhafte Vermehrung • auf 60 °C hohe Gärungsaktivität
2	Hefesuspension, bei 80 °C angesetzt (1 bzw. 5 min lang 80 °C)	Die Hefezellen werden bei 80 °C zerstört.
3	Hefesuspension, bei 100 °C angesetzt (1 bzw. 5 min lang 80 °C)	Die Hefezellen werden bei 100 °C zerstört.
4	Hefesuspension, bei 60 °C angesetzt, mixen (1 min)	Die Hefezellen werden durch Mixen nicht zerstört. Sie funktionieren danach wie bei normalen Bedingungen.
5	Hefesuspension, bei 60 °C angesetzt, mixen (1 min), Filtration → Filtrat	Die Hefezellen werden durch Mixen nicht zerstört. Beim Filtrieren bleibt ein Teil (≈ 50 %) der Hefezellen im Filterrückstand. Das Filterpapier (Laborfilter mittelschnell) ist also durchlässig für Hefezellen.
6	Hefesuspension, bei 60 °C angesetzt, mixen (1 min), Zentrifugation (5000 Upm, 5 min) → Zentrifugat	Die Hefezellen werden durch Mixen nicht zerstört. Nach dem Zentrifugieren ist nur noch eine geringe Anzahl von Hefezellen im Überstand (Zentrifugat).
7	Hefe mit Zucker im Mörser 5 min lang zerrieben, in Wasser mit 60 °C suspendiert	Zucker entzieht den Hefezellen Wasser, deshalb verflüssigt sich das Gemisch. Die Hefezellen werden aber durch das Mörsern mit Zucker nicht zerstört (→ Zellvermehrung). Im Beobachtungszeitraum sind die Hefezellen in der wässrigen Suspension weitgehend inaktiv. Der Vergleich zu V.8 zeigt, dass die unterschiedliche Vorbehandlung der Hefe Auswirkungen auf deren Gärungsaktivität hat.
8	Hefe mit Sand im Mörser 5 min lang zerrieben, in Wasser suspendiert (60 °C)	Die Hefezellen werden aber durch das Mörsern mit Sand ebenfalls nicht zerstört (→ Zellvermehrung). Die Gärungsaktivität der Hefe ist anschließend normal.
9	Hefesuspension, bei 60 °C angesetzt, mixen (1 min), Zentrifugation (6.000 – 14.000 Upm, 2 min) → Zentrifugat	Die Hefezellen werden durch Mixen nicht zerstört. Die Zentrifugationszeit war zu kurz. Würde man länger zentrifugieren, erhielte man vermutlich ein zellfreies Zentrifugat.

Alternative Versuchsdurchführung:

Der Versuch kann mit 10-mL-Kunststoffspritzen durchgeführt werden.



Vorteile:

- einfache Befüllung
- leichte Ablesbarkeit der Gasvolumen
- mit oder ohne Wärmeschrank durchführbar

Nachteil:

- Geringe Füllhöhe, geringes Volumen an Hefesuspension, daher rascher abnehmende Gasproduktion