

SAMMLUNG

Chemischer und chemisch-technischer Vorträge.

Unter Mitwirkung von

Dr. J. Abel-Breslau, Prof. Dr. E. Bamberger-Zürich, Dr. Benedict-Elberfeld, Direktor Dr. E. Besenfelder-Oschersleben, Dr. Bodländer-Clausthal, Prof. Dr. v. Buchka-Göttingen, Dr. H. Bunzel-Griesheim a. M., Prof. Dr. Dennstedt-Hamburg, Direktor Dr. B. Fischer-Breslau, Prof. Dr. Gattermann-Heidelberg, Dr. Grünhut-Wiesbaden, Prof. Dr. Hantzsch-Würzburg, Direktor der Königl. Porzellanmanufaktur Dr. A. Heinecke-Berlin, Direktor Dr. A. Heintz-Saarau i. Schl., Hütteninspektor E. Jensch-Kunigundehütte bei Kattowitz O.-S., Chef-Chemiker Freih. v. Jüptner-Neuberg (Steiermark), Prof. Dr. A. Ladenburg-Breslau, Prof. Dr. C. Liebermann-Berlin, Prof. Dr. Lunge-Zürich, Dr. Marckwald-Berlin, Prof. Dr. V. Meyer-Heidelberg, Dr. M. Mugdan-Breslau, Dr. F. Oettel-Radebeul, Prof. Dr. A. Pinner-Berlin, Dr. Rau, Dr. Max Scholtz-Breslau, Dr. G. Schultz-München, Hütteninspektor Dr. V. Steger-Lazyhütte bei Beuthen O.-S., Dr. J. Tafel-Würzburg, Dr. Vongerichten-Strassburg i. E., Dr. Wohl-Berlin, Prof. Dr. Cl. Winkler-Freiberg i. Sachs., Prof. Dr. W. Wislicenus-Würzburg

herausgegeben von **Professor Dr. FELIX B. AHRENS.**

*1. Band. * 9. u. 10. Heft.*

Die

Einführung der Reinhefe in die Gärungsgewerbe

von

Dr. L. Grünhut.

MIT 8 ABBILDUNGEN.

STUTTGART.

VERLAG VON FERDINAND ENKE.

1896.

Das Heft ist auch einzeln käuflich. Preis 2 Mark.

11/52

Verlag von FERDINAND ENKE in Stuttgart.

Sammlung Chemischer und chemisch-technischer Vorträge.

Herausgegeben von Professor Dr. Felix B. Ahrens.

In dieser Sammlung erschienen bisher folgende Arbeiten:

- Heft 1: **Die Metallcarbide und ihre Verwendung** von Professor Dr. Felix B. Ahrens. Mit 5 Abbildungen. gr. 8. geh. M. 1.—
„ 2: **Verdichtung der Metaldämpfe in Zinkhütten** von Dr. Victor Steger. Mit 15 Abbildungen. gr. 8. geh. M. 1.—
„ 3: **Die Entwicklung der elektrochemischen Industrie** von Dr. Felix Oettel. Mit 10 Abbildungen. gr. 8. geh. M. 1.—
„ 4: **Argon und Helium, zwei neue gasförmige Elemente** von Dr. Martin Mugdan. Mit 10 Abbildungen. gr. 8. geh. M. 1.—
„ 5: **Die Terpene** von Dr. Max Scholtz. gr. 8. geh. M. 1.—
„ 6: **Die Einführung einheitlicher Analysemethoden** von Hanns Freiherr von Jüptner. Mit 2 Abbildungen. gr. 8. geh. M. 1.—
„ 7/8: **Die Abwässer der Fabriken** von Dr. Hans Benedict. Mit 14 Abbildungen. gr. 8. geh. M. 2.—
„ 9/10: **Die Einführung der Reihefe in die Gärungsgewerbe** von Dr. L. Grünhut. Mit 8 Abbildungen. gr. 8. geh. M. 2.—

Soeben erschien:

HANDBUCH der CHEMISCHEN TECHNOLOGIE.

Unter Mitwirkung von

Direktor Th. Beckert, Dr. Bender, Dr. Benedict, Dr. Börnstein, Dr. Brand,
Dr. Buntrock, Dr. Hecht, Dr. von Helmholtz, Dr. Jurisch, Dr. Lange, Prof. Dr. Prausnitz

herausgegeben von

Dr. OTTO DAMMER.

Fünf Bände.

→ **Dritter Band:** ←

Fette und Oele. — Schmiermittel. — Seifen. — Fettsäuren. — Glycerin. — Aetherische Oele. — Harze und Balsame. — Holz. — Papier. — Kohlehydrate. Stärke. — Dextrin. — Brot. — Stärkezucker und Stärkesyrup. — Rohrzucker. — Spiritus. — Essig. — Bier. — Wein.

Mit 288 in den Text gedruckten Figuren.

gr. 8. 1896. geh. Preis 21 Mark.

Biblioteka Politechniki Krakowskiej



100000300653

B 1296



~~III 14572~~

III 307 149

Die Einführung der Reinhefe in die Gärungsgewerbe.

Von

Dr. L. Grünhut.

Mit 8 Abbildungen.

Jede technische Darstellungsmethode von Alkohol und alkoholischen Getränken greift auf den Vorgang der Gärung zurück, da andere Wege, die etwa zu einer synthetischen Gewinnungsmethode des Aethylalkohols führen können, sich bisher technisch als ungangbar oder unlohnend erwiesen haben. So alt nun die Praxis der Gärungsgewerbe ist — verstanden doch schon die alten Aegypter die Bierbrauerei und fast alle Kulturvölker des Altertums die Weinbereitung; die Destillation des Weinsprits wird im 8. Jahrhundert beschrieben, und die Kornbrennerei und Kartoffelbrennerei ist seit etwa 300 Jahren allgemein im Betriebe — so alt also diese Praxis ist, so jung sind andererseits unsere näheren Kenntnisse von der Natur des Organismus, der durch seine Lebensthätigkeit alle die hier in Betracht kommenden Erscheinungen auslöst: von der Hefe. Zwar kannte man sie längst als einen Schlamm, der sich während des Verlaufs und namentlich nach Beendigung der Gärung abschied, zwar hatte Leuwenhoek im Jahre 1680 die sphärische Gestalt der einzelnen Hefeteilchen mit Hilfe des Mikroskops nachgewiesen; aber erst Cagniard de la Tour (1835) und — unabhängig von diesem — Theodor Schwann (1837) gelang der strenge Nachweis für das, was vor ihnen Erxleben (1818), freilich ohne Beibringung von Beweisen, behauptet hatte, nämlich dass die Hefe ein Organismus sei und dass ihre Gegenwart die Voraussetzung der Gärung bilde. Beide bezeichnen, gestützt auf allerdings

Akc. Nr. ~~3244~~ 51

BPK-B-166/2018

IV/52

unzureichende Gründe, die Hefe als eine Pflanze. Es ist kaum nötig, an dieser Stelle auf die bekannte Gegnerschaft Liebig's gegen die so gewonnenen Ergebnisse hinzuweisen, seiner mechanischen Gärungstheorie zu gedenken, die er denselben gegenüberstellte und an der er mit eiserner Zähigkeit festhielt, und es darf als allgemein bekannt vorausgesetzt werden, dass es erst der glänzenden Arbeiten Louis Pasteurs bedurfte, um dem von Cagniard de la Tour und Schwann gewonnenen Standpunkt allgemeine Anerkennung zu verschaffen.

Unser Wissen von der Alkoholgärung ist durch Pasteurs Arbeiten nur bis zu einem gewissen Grade zum Abschluss gebracht worden. Wohl sind wir seitdem des untrennbaren Zusammenhanges zwischen dem organischen Leben der Hefe einerseits und dem Zerfall des Zuckers in Alkohol, Kohlensäure, Glycerin und Bernsteinsäure andererseits unbedingt sicher, was aber in jenen Arbeiten noch vollständig fehlte, das war jede nähere Kenntnis vom morphologischen Bau der Hefe, von ihrer Fruktifikation, davon, ob sie eine einzige Art darstellt oder ob sie als Gattung anzusehen ist, die in eine grössere Anzahl von Arten, Unterarten und Rassen zerfällt. Es rührt das daher, dass viele Methoden zur Untersuchung der morphologischen Verhältnisse von Mikroorganismen erst in der allerjüngsten Zeit ausgearbeitet worden sind. Deshalb hat die Forschung früherer Tage in Beziehung auf die Hefe fast ausschliesslich physiologische Fragen bearbeitet, neben den eigentlichen Gärungserscheinungen die chemische Zusammensetzung der Hefe, das Nährstoffbedürfnis derselben und die Temperaturverhältnisse untersucht, unter denen sie am besten gedeiht, bezw. unter denen ihr Leben erlischt. So wichtig diese Untersuchungen für die Praxis der Gärungsgewerbe auch geworden sind, so stehen sie doch mit dem hier zu behandelnden Thema in einem viel zu entfernten Zusammenhang, als dass sie an dieser Stelle besprochen werden könnten; man findet sie auch in den meisten ausführlicheren Handbüchern näher zusammengestellt. Mit Rücksicht auf die morphologischen Verhältnisse dürfen wir vielleicht behaupten, dass man vor nicht allzu ferner Zeit überhaupt nicht in der Lage war, eine strenge Definition des Begriffes „Hefe“ im botanischen Sinne zu geben. Man hat lange Zeit jedweden Mikroorganismus, der Alkoholgärung hervorruft, mit der Bierhefe für identisch gehalten. Das war, wie wir heute wissen, ein Irrtum, der aber um so verzeihlicher erscheint, als fast alle Alkoholgärungserreger bei der direkten Betrachtung unter dem Mikroskop denselben Anblick gewähren.

Es ist vielleicht angebracht, dass wir uns kurz diesen Anblick ins Gedächtnis zurückrufen. Verrühren wir eine Spur Bierhefe auf einem Objektträger in einem Tropfen Wasser, bringen ein Deckglas darauf und betrachten das Präparat bei etwa 400facher Vergrößerung unter dem Mikroskop, so gewahren wir ein Konglomerat rundlicher bis eiförmiger Zellen, deren längster Durchmesser 8 bis 9 Mikromillimeter¹⁾ beträgt. Sie sind von einer Membran umschlossen, die jedoch nicht direkt als solche gesehen werden kann. Je nach dem Alter der Zellen stellt ihr Inneres eine klare und homogene Plasmamasse dar, oder es ist durchsetzt von safterfüllten Hohlräumen („Vakuolen“), Fetttröpfchen, und das Plasma ist körnig differenziert. Ein Zellkern kann nicht ohne weiteres, sondern nur nach Anwendung besonderer Färbungsverfahren nachgewiesen werden. Noch haben wir aber das Charakteristische nicht erwähnt. Wir gewahren, dass einzelne der in unserem Präparate befindlichen Hefezellen entweder am Scheitel ihrer Längserstreckung oder seitlich kleine bruchsackartige Ausstülpungen zeigen, dass bei anderen diese Ausstülpungen relativ beträchtliche Grösse erlangt und sich bei noch anderen durch eine Querwand gegen die ursprüngliche Zelle abgeschnürt haben. Die einzelnen Bilder der Ausstülpung und Abschnürung der Hefezellen, die wir hier nebeneinander beobachten konnten, stellen nichts weiter dar als verschiedene aufeinander folgende Stadien des Prozesses der vegetativen Vermehrung: die Abschnürungen sind Tochterzellen, die sich alsbald völlig von den Mutterzellen loslösen, um als selbständige Individuen ein Leben für sich zu führen.

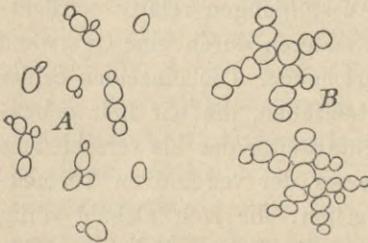
Wir müssen uns jetzt des Unterschiedes zwischen der sogenannten Untergärung und Obergärung erinnern. Wir kennen zwei verschiedene Formen der Alkoholgärung, speziell der Biergärung, von denen die eine bei relativ niedrigen Temperaturen (+ 4 bis 10°), die andere bei höheren (+ 15 bis 25°) verläuft. Im letzteren Falle ist der ganze Fortgang des Gärungsprozesses ein viel schnellerer als im ersten Falle, und die Hefe sammelt sich am Schlusse der Gärung vorwiegend auf der Oberfläche der gegorenen Flüssigkeit an: wir sprechen von Obergärung. Im ersterwähnten Falle finden wir sie dagegen hauptsächlich als Geläger am Boden des Gärbottichs abgeschieden: wir reden daher von Untergärung. Das, was wir vorhin unter dem Mikroskop gesehen haben, war das typische Bild der gewöhnlichen Untergärungshefe: die Tochterzellen lösen sich grössten-

¹⁾ 1 Mikromillimeter = 0,001 mm = μ .

teils von den Mutterzellen los, und wir haben vorwiegend einen Komplex einzelner Individuen vor uns. Anders bei der Obergärung. Hier bleibt der Verband der Zellen in viel reichlicherem Masse gewahrt, die Tochterzellen lassen bereits wieder neue aus sich hervorsprossen, ehe sie sich von den Mutterzellen trennen; auch diese neuen Sprossen bilden Ausstülpungen, und so geht es fort, bis ein reich verzweigtes Netzwerk perlchnurartig aussehender Fäden sich gebildet hat (vergl. Fig. 1).

Dieses Bild der Oberhefe erinnert uns deutlich an das eines Pilzmyceliums. Man unterscheidet ganz allgemein bei den Pilzen vegetative und fruktifikative Organe; erstere dienen der Aufgabe, Nährstoffe aufzunehmen, letztere der Artvermehrung. Die vegetativen Organe sind fast durchweg in Gestalt eines entweder flächenförmig ausgebreiteten oder sphärisch aggregierten Systems vielfach verästelter Fäden ausgebildet, die radial von einem Zentrum aus-

Fig. 1.

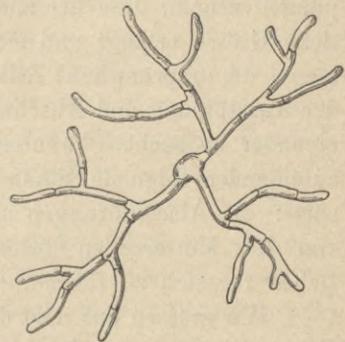


Sprossende Bierhefe (1 : 300).

Nach Pasteur.

A. Unterhefe. — B. Oberhefe.

Fig. 2.



Typisches Pilzmycelium (1 : 200).

Nach W. Zopf.

strahlen. Ein solches System nennt man Mycelium; es besteht entweder aus einer einzigen Zelle oder es ist vielzellig. Im letzteren Falle ist die typische Bildungsweise die, dass die Zellvermehrung durch Teilung erfolgt, derart, dass sich die letzten Zellen eines jeden Astes fadenförmig verlängern, worauf sich in ihrem Inneren quer auf die Längsrichtung eine Scheidewand bildet, so dass aus der ehemaligen Endzelle nunmehr zwei geworden sind: eine Binnenzelle und eine neue End- oder Scheitelzelle (vergl. Fig. 2). Erstere vermag sich zu verästeln, letztere teilt sich in der beschriebenen Weise von neuem durch Scheidewandbildung. Das Wachstum beruht daher auf einer stetigen Verlängerung und Querteilung der jedesmaligen Scheitel-

zellen; man spricht deshalb von Scheitelwachstum oder Spitzenwachstum ¹⁾.

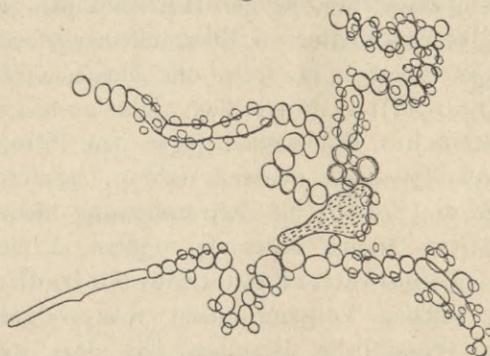
Wenn wir oben die Erscheinungsform der Oberhefe mit einem Mycelium verglichen, so müssen wir jetzt bereits einen Unterschied gegen die soeben geschilderte typische Form feststellen. Das Wachstum bei der Hefe geschieht nicht durch Querteilung, bei der eine Mutterzelle glatt in zwei Tochterzellen zerfällt, sondern indem aus einer Mutterzelle — die intakt bestehen bleibt — eine Tochterzelle sich ausstülpt. Eine solche Form des Wachstums, bzw. der Zellvermehrung, nennt man „Sprossung“, und bezeichnet demzufolge Mycelien, wie die der Hefe, als „Sprossmycelien“. Der Umstand, dass diese Sprossmycelien nur bei der Oberhefe einen gewissen — und auch da nicht allzu dauerhaften — Zusammenhang besitzen, bei der Unterhefe dagegen ziemlich rasch in die einzelnen Zellen zerfallen, kann einen prinzipiellen Unterschied nicht ausmachen. Dagegen besteht ein praktischer Unterschied gegen jene Pilze, die den Zusammenhang ihres Myceliums dauernd wahren, insofern, als bei der Hefe eben wegen des Zerfalls die Zellvermehrung nicht ein Wachstum des vegetativen Organs bedeutet, sondern vielmehr eine Vermehrung von im vegetativen Zustande befindlichen Einzelzellen. Einen solchen Vorgang nennt man vegetative Vermehrung; das Wesentliche derselben ist, dass neue Individuen entstehen, ohne dass Fruktifikationsorgane in Thätigkeit getreten sind. Die Bildung von Sprossmycelien und die vegetative Vermehrung durch Sprossen sind charakteristisch für die Hefe.

Diese charakteristische Eigenschaft kommt jedoch nicht der Hefe ausschliesslich zu, sondern sie teilt sie mit gewissen Entwicklungsformen anderer Pilze, die in diesem Zustande sehr häufig zugleich die Fähigkeit erlangt haben, zuckerhaltige Lösungen in alkoholische Gärung überzuführen. Die ersten derartigen Beobachtungen hat Bail 1857 am Kopfschimmel (*Mucor racemosus*) angestellt. *Mucor* wächst zumeist auf Mist oder Speiseresten und bildet unter diesen Lebensbedingungen ein flächenförmig ausgebreitetes, stark verästeltes einzelliges, typisches Mycelium. Senkrecht zur Ebene des letzteren erheben sich aus demselben dicke, unverzweigte Fruchttträger, die an ihren Enden je ein kugeliges Haufwerk von Fortpflanzungszellen — sogenannten Sporen — tragen. Gelangt eine solche Spore an dem

¹⁾ W. Zopf, Die Pilze. In A. Schenks Handbuch der Botanik 4, p. 273. Breslau 1890.

gewöhnlichen Aufenthaltsort des Mutterpilzes zum Auskeimen, so entwickelt sich aus ihr wieder ein Mycelium mit Fruchträgern u. s. w. Anders wenn die Sporen des *Mucor racemosus* in Zuckerlösung untergetaucht zur Entwicklung gebracht werden. Dann sprossen aus ihnen neue kugelartige Zellen aus, die entweder ihren Zusammenhang behaltend ein Sprossmycelium bilden, oder voneinander losgelöst ein Dasein als selbständige Individuen führen. Diese Form des *Mucor* leitet in ihrem Substrate Alkoholgärung ein; sie wird als Kugelhefe bezeichnet. Aber nicht nur die Sporen erfahren diese typische Veränderung. Erhält man ein Stück des Myceliums in Zuckerlösung

Fig. 3.



Gemmenmycelium von *Mucor racemosus* (1:90).
Nach W. Zopf.

untergetaucht, so tritt in dem bisher einzelligen verästelten Komplex zunächst reiche Querwandbildung auf; die einzelnen so entstandenen Glieder schwellen hierauf tonnenförmig an und schnüren sich an den Querwänden gegeneinander ab, wobei sie zuweilen ihren Zusammenhang völlig verlieren. Brefeld bezeichnet die so deformierten Glieder als „Gemmen“; die ganze Ausbildungsweise erinnert in ihrem Aussehen sehr stark an ein Sprossmycelium und zwar um so mehr, als früher oder später die Gemmen wirkliche Sprossen treiben und somit Kugelhefebildung eintritt (vergl. Fig. 3). Auch diese Form des *Mucor racemosus* ist ein Alkoholgärungserreger¹⁾.

Aehnliche Beobachtungen — d. h. Uebergang höherer Pilze, die ein typisches Fadenmycel besitzen, in sprossmycelartige Formen unter gleichzeitigem Erwerb der Fähigkeit, eine Alkoholgärung einzuleiten — sind vielfach gemacht worden. Sie haben zu der oft verteidigten

¹⁾ Vergl. Zopf, a. a. O. p. 277 u. 347.

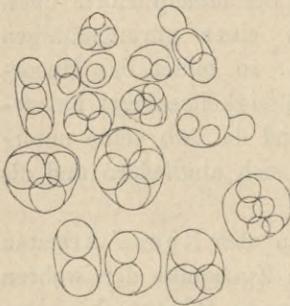
Meinung geführt, die Hefe sei keine selbständige Pflanze, sondern nur eine Wuchsform der Schimmelpilze; alle oder wenigstens die meisten Schimmelpilze könnten unter geeigneten Umständen Hefeform annehmen und Alkoholgärungserreger werden. Diese Meinung fand eine weitere Stütze noch darin, dass man die Hefe nur im vegetativen Zustande kannte und fruktifikative Organe oder Formen derselben zunächst nicht aufgefunden hatte. Dass Irrige dieser ganzen Lehre ist von Reess ¹⁾ dargelegt worden. Er weist mit Nachdruck darauf hin, dass man niemals mit dem Mikroskope den Uebergang einer wirklichen Hefezelle in einen Schimmelpilz beobachtet hat und dass umgekehrt die Sprossmycelformen der Schimmelpilze von Hefe verschieden sind, weil sie, bei aller äusserlichen Aehnlichkeit, niemals die von ihm entdeckte und sogleich zu besprechende Fruktifikationsform der wahren Hefe annehmen können. Kugelhefe bleibt eben immer *Mucor* und geht mit Leichtigkeit wieder in die typische Schimmelpilzform über. Züchtet man sprossende *Mucormycelien* in einer gärungsfähigen Lösung in Uhrschaalen unter einer Glasglocke, so bildet das *Mucormycelium* da, wo es nach oben über den Flüssigkeitsspiegel hinausragt, normale fruktifizierende Formen, während da, wo seine untertauchenden Fäden sprossen, die Sprossungen sich abgliedern und als Alkoholferment wirken.

Neben der Klärung dieser Frage brachten aber Reess' Arbeiten vor allem die Kenntnis des fruktifizierenden Zustandes der wahren Hefe. Zur Entdeckung der betreffenden Formen führten ihn seine Versuche, die Hefe unter ausreichendem Luftzutritte und Feuchtigkeitsgrade auf solchen Nährböden zu kultivieren, die sonst Schimmelpilzen gern als Wohnsitz dienen. Von solchen Nährböden erwiesen sich ihm frische oder ausgekochte Scheiben von Kartoffeln, Kohlrabi, Topinamburknollen und Möhren als besonders geeignet. Auf diese Nährböden verteilte Reess z. B. ausgewaschene und abgesetzte Bierhefe in dünner, breiiger Schicht, bedeckte mit einer Glasglocke, liess zunächst das überschüssige Wasser verdunsten und brachte die Kulturen dann in eine mässig feuchte Atmosphäre. In der Regel gingen so die in der ausgesäeten Bierhefe mit enthaltenen fremden Mikroorganismen (Bakterien etc.) zu Grunde. In den ersten 2 bis 3 Tagen vermehren sich die Hefezellen durch eine regelrechte Sprossung, so dass die ausgesäete Kolonie ihre Ränder konzentrisch hinausschiebt.

¹⁾ Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. Leipzig 1870.
— Zur Naturgeschichte der Bierhefe. *Annalen der Oenologie* 2, p. 121, 1872.

Mit dem vierten Tage hört die vegetative Vermehrung durch Sprossung auf; bei weitem die meisten Zellen haben sich voneinander völlig getrennt, und die älteren unter ihnen sterben ab. Andere jedoch schwellen sichtlich an — von 8 bis 9 μ . grössten Durchmessers auf 11 bis 14 μ . — und etwa am fünften oder sechsten Tage differenzieren sich in ihrem Protoplasma 2 bis 4 gesonderte Zentren, die in 12 bis 24 Stunden mit je einer zarten Membran sich umgeben, welche sich allmählich noch etwas verdickt, so dass sie bei 600facher Vergrößerung deutlich als Doppelkontur gesehen werden kann. Die ursprüngliche Hefezelle umschliesst nunmehr neben geringen Resten ihres eigenen ursprünglichen Protoplasmas und wässerigen Zellsaftes 2 bis 4 Tochterzellen von 4 bis 5 μ . Durchmesser, die, wie man sagt, durch

Fig. 4.



Hefe mit Ascosporen (1:1000).
Nach Hansen.

„freie Zellbildung“ in ihrem Inneren entstanden sind (vergl. Fig. 4). Die Zellhaut der ursprünglichen Hefezelle geht nicht selten im Laufe der Zeit verloren, die Tochterzellen bleiben jedoch trotzdem unter sich verbunden. Diese Tochterzellen sind die fruktifizierende Form der Hefe, ihre Sporen, die, in zuckerhaltige Lösungen gebracht, zu echten Hefesprossmycelien auskeimen. Man bezeichnet solche Sporen, die, wie die eben beschriebenen der Hefe, sich frei im Inneren einer vegetativen Zelle, vermutlich auf Grund vorangegangener Teilung des Kernes derselben,

bilden, als Ascosporen oder Schlauchsporen, und nennt das Sporangium, d. h. den fest verbundenen Komplex zusammengehöriger, gemeinsam entstandener Ascosporen: Ascus, Ascusfrucht oder Sporenschlauch. Alle diejenigen Pilze, die derartige Sporenbildung aufweisen, vereinigt man zu der Gruppe der Ascomyceten und rechnet seit den Untersuchungen von Reess die echte Hefe zu derselben.

Aber nicht nur die Kenntnis der Fruktifikation der Hefe und die Feststellung ihrer systematischen Stellung im Reiche der Pilze brachten uns die Arbeiten von Reess. Er hat sich auch weiter gefragt, ob die Hefe eine einzige Art darstellt, oder ob spezifisch verschiedene Hefearten existieren ¹⁾. Bis auf ihn hatte man — wenigstens

¹⁾ a. a. O. — Vergl. ferner seine Abhandlung: Ueber die Alkoholgärungspilze der Weinhefe. *Annalen der Oenologie* 2, p. 145, 1872.

in den Kreisen der Gärungstechniker — die Hefe ganz allgemein mit dem von Meyen aufgestellten Namen *Saccharomyces cerevisiae* belegt, ohne irgend welche Unterformen abzugrenzen. Reess unterscheidet dem gegenüber sieben verschiedene Arten der Gattung „*Saccharomyces*“ auf Grund der differenten äusseren Gestalt und Grösse der Sprossformen. Für die Bierhefe mit ihren rundlichen oder ovalen Zellen von 8 bis 9 μ . Grösse behält er den Namen *Saccharomyces cerevisiae* bei. Eine andere Form von kegel- oder kreiselförmigen Sprosszellen von 5 μ . Längsdurchmesser auf 2,5 μ . grössten Querdurchmesser, die sich unter der Nachgärungshefe des Bieres findet, nennt er *Saccharomyces exiguus*. Bei der Untersuchung von Weinhefen glaubt er vier verschiedene Arten gefunden zu haben: *Saccharomyces ellipsoideus* mit ellipsoidischen, 6 μ . langen Zellen, *Saccharomyces apiculatus* mit citronenförmigen, *Saccharomyces conglomeratus* mit rundlichen, zu Knäueln verbundenen Sprosszellen und *Saccharomyces Pastorianus*, dessen Sprosszellen bei langsamer Vegetation gleichartig oval sind, der bei üppiger Vegetation jedoch verzweigte Sprossverbände bildet, deren primäre Aeste aus 18 bis 22 μ . langen Gliedern bestehen, die rundliche oder ovale, 5 bis 6 μ . messende sekundäre abschnüren. *Saccharomyces ellipsoideus* ist das wichtigste Ferment der Hauptgärung und Nachgärung des Weines, *Saccharomyces apiculatus* tritt ebenfalls — jedoch nicht immer — in der Hauptgärung auf, in der Nachgärung dagegen stets zurück; die beiden anderen Formen sind von geringerer Wichtigkeit. Die siebente Reesssche Art ist dann *Saccharomyces Mycoderma*; sie bildet die Kahmhaut auf vergorener und halbvergorener Flüssigkeit, speziell auf Wein und Bier; wir rechnen sie heute nicht mehr der Gattung *Saccharomyces* zu. Bei allen diesen Formen, mit Ausnahme des *Saccharomyces apiculatus*, konnte Reess die Ascosporenbildung nachweisen und fand Unterschiede auch in Beziehung auf diese auf. Er hebt die Konstanz der Unterscheidungsmerkmale seiner Arten mit grossem Nachdruck hervor und sagt: Die Sprossungen des *Saccharomyces ellipsoideus* „entwickeln sich in Weinmost, Bierwürze, verschiedenen Obstsäften und mit Hefeextrakt versetzten Zuckerlösungen stets auf die gleiche Weise. Man kann *Saccharomyces ellipsoideus* in Bierwürze wochenlang kultivieren; Form, Grösse und Sprossungsweise seiner Zellen bleiben stets dieselben. Ebenso behält der Biergärungspilz bei anhaltender Kultur in Weinmost immer seine spezifischen Eigenschaften.“ Dagegen erkennt Reess einen Artunterschied zwischen Oberhefe und Unterhefe nicht an, er sieht sie nur

als Varietäten an, die von der Gärungstechnik seit Jahrhunderten unter der Vegetation hervorragend günstigen, der Sporenbildung jedoch wenig geneigten Bedingungen kultiviert werden und durch endlose, nur vegetative Vermehrung einen hohen Grad von Konstanz erlangt haben. Er glaubt bei seinen Versuchen die eine „Varietät“ in die andere übergeführt zu haben.

Neben den von Reess unterschiedenen Hefegattungen sind später noch einige andere in ähnlicher Weise abgegrenzt worden; so haben z. B. Blankenhorn und Moritz¹⁾, sowie David²⁾ eine bereits von Reess im Absatz des Rotweins beobachtete Form als *Saccharomyces Reessii* näher beschrieben. Derartige Arbeiten stellen keine wesentliche Erweiterung des durch Reess erschlossenen Gesichtskreises dar; eine solche wird vielmehr erst durch eine Reihe von Untersuchungen gewonnen, die kein Geringerer als Louis Pasteur³⁾ angestellt hat.

Pasteur untersuchte die Ursachen gewisser Veränderungen des Bieres, durch die dasselbe seinen normalen Geschmack oder seine normale physikalische Beschaffenheit einbüsst, durch die aus dem gesunden Bier ein „krankes“ wird. Solche krankhafte Veränderungen sind z. B. das Umschlagen des Bieres, das Sauerwerden, das Faulen, das Schleimigwerden u. s. w. In dem Hefeabsatze eines jeden kranken Bieres fand Pasteur spezifische Bakterien; jede Würze, die mit einer bakterienhaltigen Hefe vergoren wurde, lieferte ein krankes Bier, während aus bakterienfreier Hefe gesundes Bier erhalten wurde. Hieraus ergibt sich unabweisbar, dass die von Pasteur studierten Krankheiten des Bieres durch Bakterien verursacht werden. Zahlreiche mikroskopische Untersuchungen, die Pasteur an der Stellhefe der verschiedensten Betriebsstätten ausführte, zeigten ihm, dass in jenen Zeiten in sehr vielen Brauereien ersten Ranges bakterienhaltige Betriebshefe gebraucht wurde. Wenn dennoch das so hergestellte Bier in der Regel gesund blieb, so kam das daher, dass die Brauer rein empirisch in ihrer Arbeitsweise alles thaten, was geeignet war, die Entwicklung der Bakterien zu hemmen. Während der Hauptgärung ist die Gefahr ohnedies nicht gross, indem die lebhaft sich fortent-

¹⁾ Untersuchungen über den Einfluss der Temperatur auf die Gärung. *Annalen der Oenologie* 3, p. 1 bis 11, 1873.

²⁾ Ueber Rotweingärungspilze. *Ann. der Oenologie* 4, p. 223 bis 228, 1874.

³⁾ *Études sur la bière, avec un nouvelle théorie de la fermentation.* Paris 1876.

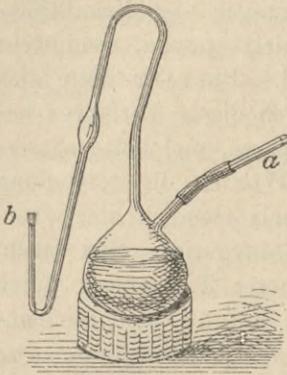
wickelnde, eine vegetative Knospengeneration nach der anderen erzeugende Hefe im Kampfe ums Dasein den Bakterien numerisch derart überlegen ist, dass schon deshalb eine Entwicklung dieser letzteren hintangehalten wird. Wenn dann die Hauptgärung beendet ist, die Hefe sich absetzt und das von ihr abgezogene, in Lagerfässer abgefasste Jungbier in diesen seine stille Nachgärung erleidet, dann hätten wohl auch die Bakterien Gelegenheit, sich zu entwickeln und ihre verderbliche Thätigkeit zu beginnen. Dem tritt nunmehr aber die niedrige Temperatur der Eiskeller entgegen, in denen die Lagerfässer aufbewahrt werden; sie setzt die Lebensäusserungen der Krankheitsbakterien auf fast Null herab, und das Bier bleibt gesund, wenigstens solange für gehörige Kühlung gesorgt wird. Pasteur hatte sich zur Aufgabe gestellt, den Brauereien die durch dieses Verfahren bedingten ungeheuren Ausgaben für Eis zu ersparen, und hatte ausserdem den — vielleicht wenig motivierten — Wunsch, die Herstellung obergärigen Bieres an Stelle des schon damals ziemlich stark vorherrschenden untergärigen zu setzen. Ein obergäriges Bier macht seine Hauptgärung aber bei wesentlich höherer Temperatur durch als ein untergäriges; also auch hier musste auf die bakterienhemmende Wirkung der niedrigen Temperaturen verzichtet werden. Das konnte aber nur geschehen, wenn von vornherein eine Hefe zur Verwendung kam, die von Bakterien befreit war, wenn die durch solche Hefe in Gärung versetzte Würze zuvor gründlich sterilisiert war, und wenn die Gärung in Gefässen vor sich ging, die ausschliesslich durch sterile Verschlüsse mit der Aussenluft kommunizierten.

Wir müssen nunmehr die Wege kennen lernen, die Pasteur einschlug, um eine Hefe zu gewinnen, die den geschilderten Anforderungen dieses Brauverfahrens entspricht. Pasteur erkennt im wesentlichen die Reessschen Unterarten der Gattung *Saccharomyces* an, ja er geht in einer Beziehung noch weiter als Reess, indem er auch Ober- und Unterhefe für verschieden hält. Sein Standpunkt in der Speciesfrage ist freilich allenthalben nur ein unsicherer, oft schränkt er an einer späteren Stelle seines Buches das wieder ängstlich ein, was er an einer früheren zugegeben hat. Doch scheint er wenigstens das für sicher zu halten, dass es verschiedene Hefen gibt, die aus der gleichen Würze Biere von verschiedenem Geschmack hervorbringen, und dass diese verschiedenen Hefen sich nicht in andere verwandeln können, also mehr als bloss Varietäten sind. Pasteur stellt daher an eine gute Stellhefe noch die zweite Anforderung, dass sie spezifisch einheitlich sein müsse, neben der schon erwähnten, dass

sie frei von Bakterien sei. Eine Hefe, die diesen beiden Anforderungen genügt, nennt er „reine Hefe“.

Zur Züchtung solcher reiner Hefen bedient er sich zweihalsiger Kolben, die man allgemein Pasteursche Kolben nennt (vergl. Fig. 5). Der eine Hals b eines solchen Kolbens ist zu einer Glasröhre ausgezogen, die Sförmig nach unten umgebogen ist. Der zweite Hals a ist gerade abgeschnitten und kann durch ein Stück Kautschukschlauch,

Fig. 5.



Pasteurscher Kolben.

in den ein Glasstäbchen gesteckt ist, verschlossen werden. Man füllt den Kolben durch den zweiten Hals mit derjenigen Flüssigkeit, die bei dem Versuch als Nährmedium dienen soll, und setzt dann den Kautschukschlauch auf, lässt jedoch das zugehörige Glasstäbchen zunächst beiseite. Man erhitzt nunmehr die Nährflüssigkeit in dem Kolben zum Sieden und befreit sie dadurch von etwa in ihr enthaltenen Keimen („sterilisiert“ sie). Der entweichende Dampf strömt aus dem zweiten Halse aus und sterilisiert hierdurch diesen sowie die Innenwand des Kautschukschlaches. Alsdann schiebt man in letzteren

das Glasröhrchen ein, das man zuvor durch die Flamme gezogen hat, um es ebenfalls zu sterilisieren. Der entwickelte Dampf entweicht jetzt durch das enge ausgezogene Rohr des ersten Halses, das auf diese Weise gleichfalls keimfrei gemacht wird. Man verstopft schliesslich noch die Oeffnung dieser Sförmig umgebogenen Verlängerung mit einem Bausch ausgeglühten und unmittelbar vor Gebrauch nochmals durch die Flamme gezogenen Asbestes, hört dann mit Kochen auf und lässt erkalten. Während des Abkühlens tritt die Luft nur durch das gebogene Rohr des ersten Halses in den Kolben ein und wird hiebei durch den als Keimfilter dienenden Asbestbausch vollständig von den in ihr befindlichen Mikroorganismen, Sporen etc. befreit. Wir haben also schliesslich ein sterilisiertes Gefäss, mit einer sterilisierten Nährflüssigkeit beschickt, zu unserer Verfügung.

In das so vorbereitete Substrat erfolgt jetzt die Einsaat der Mikroorganismen, die man weiter zu züchten wünscht. Zu diesem Zweck öffnet man den zweiten Hals des Kölbchens durch Herausziehen des Glasstäbchens, führt eine durch die Flamme gezogene, mit einem Tropfen Flüssigkeit, in der jene Mikroorganismen verteilt sind,

befeuchtete Platinöse rasch durch den offenen Hals in den Kolbeninhalt ein, um sie ebenso schnell — nach einem kurzen Umrühren — wieder herauszuziehen. Dann wird sofort der Glasstab durch eine Flamme gezogen und wieder in den Schlauch eingeschoben. In der Nährflüssigkeit können natürlich keine anderen Organismen zur Entwicklung und Vermehrung kommen, als die in dem eingeführten Tropfen enthaltenen. Sind diese alle unter sich spezifisch gleich, so muss man eine Reinkultur erhalten; sind sie spezifisch verschieden, so können sich nur diejenigen entwickeln, die unter den dargebotenen Bedingungen überhaupt lebensfähig sind. Unter diesen kann wieder eine einzige Species so hervorragend günstige Lebensbedingungen finden, dass sie in ihrer Vermehrung alle anderen vorhandenen überflügelt, sie unterdrückt, ihnen schliesslich die Existenzbedingungen völlig abgräbt und sie zum Absterben bringt. Auch dann bleibt im Kolben die Reinkultur einer einzigen Species zurück.

Das, was hier als Möglichkeit dargelegt wurde, sucht Pasteur in Wirklichkeit durchzuführen, indem er planmässig die Existenzbedingungen so auswählt, dass nur der Organismus, den er rein zu züchten wünscht, gefördert wird, alle anderen aber in ihrer Entwicklung gehemmt werden. So glaubt er, wirklich aus einer gewöhnlichen, verunreinigten Brauerei- oder Brennereihefe eine „reine Hefe“ heranzüchten zu können. Den gewünschten Einfluss sucht er hauptsächlich durch die Zusammensetzung der Nährlösung auszuüben. Als sehr bequem empfiehlt er die Anwendung 10%iger Zuckerlösung. „Eine Menge Zellen gehen darin zu Grunde, und die Aussicht ist gross, dass fremde Keime, die doch immerhin relativ selten gegenüber der grossen Zahl der Hefezellen sind, absterben oder geschwächt werden, so dass, wenn man später die Hefe in Bierwürze einsäet, sich ausschliesslich die lebenskräftig gebliebenen Zellen derselben entwickeln.“ Fügt man 1 bis 2% Weinsäure hinzu, so soll man den Verfall der Krankheitskeime beschleunigen können. Eine andere geeignete Nährlösung soll Bierwürze mit einem Zusatz von 1,5% Weinsäure und 2 bis 3% Alkohol sein; zur Reinigung von Unterhefe wird ein Kultivieren bei sehr niedrigen Temperaturen empfohlen und schliesslich für gewisse Fälle die Benützung einer Würze angeraten, der man auf 100 ccm 10 bis 12 Tropfen 10%iger Carbonsäure zugesetzt hat. Häufig soll der erwartete Erfolg noch gesteigert werden können, wenn man eine so gezüchtete Hefe noch einmal oder noch mehrmals denselben Reinigungsvorgang in neuen Kolben durchmachen lässt. Mit Hilfe dieser Kunstgriffe, die man jeden für sich oder zu

mehreren in geeigneter Kombination anwenden kann, glaubt Pasteur sehr reine Hefe erhalten zu haben. Zur Prüfung derselben empfiehlt er neben der mikroskopischen Untersuchung einen Brauversuch im Laboratoriumsmaassstabe mit sterilisierter Würze im Pasteurkolben. Die „Gesundheit“ des so erhaltenen Bieres ist dann ein Kennzeichen für die Reinheit der Hefe.

Dieses Verfahren Pasteurs einschliesslich einiger entsprechender Vorschläge seiner Schüler ist von Hansen¹⁾ einer eingehenden experimentellen Kritik unterworfen worden. Hansen gibt zu, dass ein Zusatz von Weinsäure die Entwicklung der meisten in Stellhefe und Bierwürze auftretenden Bakterien hindert, aber er weist unwiderleglich nach, dass durch dieses Verfahren keineswegs mit Sicherheit eine Hefe erhalten wird, die spezifisch einheitlich ist, wie das doch Pasteur beabsichtigt hatte. Freilich bedurfte es bei diesen Feststellungen Hansens einer Kenntnis der erst von ihm entdeckten Unterscheidungsmerkmale der Hefenarten, von denen wir sogleich zu sprechen haben. Mit Hilfe dieser erweiterten Kenntnisse stellte Hansen fest, dass z. B. von neun Kolben, in denen er Hefe nach dem Pasteurschen Verfahren „rein“ gezüchtet hatte, drei am Schlusse des Versuchs noch je zwei Arten enthielten. Er fand ferner, dass in den Fällen, wo wirklich nach Pasteurs Arbeitsweise eine Reinkultur erhalten war, die überlebende Hefeart in fast allen Fällen eine für den Brauereibetrieb durchaus ungeeignete war und ebensolche Bierkrankheiten hervorrief, wie das nach Pasteur die Bakterien thun. Auch A. Jörgensen teilt einen Fall aus der Praxis mit, bei dem das Pasteursche Verfahren versagte, indem es nicht gelang, durch Anwendung desselben eine in einer grösseren Kopenhagener Brauerei auftretende Bierkrankheit für die Folge zu beseitigen. Aus allen diesen Mitteilungen ergibt sich, dass man die Pasteursche „reine Hefe“ mit Fug und Recht höchstens als eine „gereinigte“ bezeichnen kann.

Wenn auch Pasteurs Forschungen nicht zu dem von ihrem Urheber gewünschten praktischen Resultat geführt haben, so werden sie doch wegen der logischen Durchbildung der befolgten Arbeitsweise immer ein Muster der Behandlung naturwissenschaftlicher Probleme bleiben. Das, was Pasteur leisten wollte, konnte erst geleistet werden, als in die experimentelle Bearbeitung der ganzen Frage ein weiterer Gesichtspunkt hineingetragen wurde, der der mikrobiologischen For-

¹⁾ Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie 2, p. 17 bis 40. München 1892.

schung früherer Tage noch ziemlich fern stand: der der absoluten Reinkultur. Es ist immerhin von Interesse, dass Pasteur selbst einmal sehr nahe daran war, auch von diesem Standpunkt aus die Hefefrage zu beleuchten. Er sagt an einer Stelle ¹⁾ im Zusammenhange mit einer Darlegung seiner — wie bereits erwähnt — ziemlich unsicheren und wenig geklärten Anschauungen über die Verschiedenheit der Hefearten: „Wenn es gelänge in einer bestimmten Hefe die verschiedenen Zellen, die sie zusammensetzen, zu isolieren und jede von ihnen für sich zu kultivieren, so würde man eine gleiche Anzahl von Hefen erhalten, die wahrscheinlich voneinander verschieden wären.“ Pasteur hat die in diesem Satz vorgezeichnete Bahn nicht betreten; der einzige Versuch in dieser Richtung, den er mitteilt, krankt an der Unvollkommenheit der benützten Versuchsmethode; auch sind die Ergebnisse nur sehr kurz angedeutet. Derjenige, der den Gedanken der wahren Reinkultur mit grösster Energie durchführte, der die geeigneten Methoden zur Ausführung dieses Gedankens sich schuf, der in unbeirrter Verfolgung seines Zieles glänzende Resultate von höchster Bedeutung für Wissenschaft und Praxis gewann, ist Emil Chr. Hansen.

Hansen wirkt seit 18 Jahren als Vorstand der gärungsphysiologischen Abteilung des Carlsberg-Laboratoriums. Dieses Institut ist von dem Besitzer der Brauerei Carlsberg bei Kopenhagen, J. C. Jacobsen — demselben, der sich auch sonst als Mäcen, insbesondere als Begründer des Nationalmuseums der dänischen Geschichte in Schloss Frederiksborg, hervorgethan hat — ins Leben gerufen worden. Er stiftete zur Unterhaltung desselben einen Fonds von einer Million Kronen und übertrug die Verwaltung dieses Fonds an eine von der dänischen Akademie der Wissenschaften zu erwählende Kommission. Das Institut hat nach der Bestimmung seines Begründers die Aufgabe, „durch Originaluntersuchungen die gegenwärtigen Theorien zu prüfen und dieselben durch fortgesetzte Studien weiter zu entwickeln, um so eine möglichst vollständige wissenschaftliche Basis für die Operationen der Mälzerei, Brauerei und Gärung festzulegen“. Neben der gärungsphysiologischen ist noch eine chemische Abteilung errichtet, die unter der Leitung J. Kjeldahls, des bekannten Entdeckers der nach ihm benannten Methode zur Stickstoffbestimmung, steht.

Hansen ist ziemlich bald, nachdem er an die Bearbeitung der Aufgaben herangetreten war, die er sich auf Grund des von Jacobsen

¹⁾ Études sur la bière. p. 193.

vorgezeichneten Programms gestellt hatte, darüber zur Klarheit gelangt, dass die Methoden all seiner Vorgänger an einem prinzipiellen Fehler leiden. Die Schwäche aller früheren Untersuchungen lag darin, dass bei ihnen ein unbekanntes Ausgangsmaterial für die Kulturversuche gewählt wurde. Wenn man ein Gemisch verschiedener Hefearten, sei es in der Art von Reess auf Möhrenscheiben, sei es in der von Pasteur in den beschriebenen Kolben, züchtet und die Kultur zu verschiedenen Zeiten beobachtet, so ist man keinesfalls sicher, wirklich aufeinander folgende Entwicklungsstadien derselben Hefespecies vor sich zu haben. Es ist vielmehr a priori ebensogut möglich, dass in dem einen Stadium eine Hefespecies vorherrscht, die in einem folgenden Stadium von einer anderen verdrängt worden ist. Man wird dann leicht die zuletzt beobachteten Formen für zugehörig zur früher beobachteten Formenreihe halten und so Fehler begehen. Wenn auch in Pasteurs Versuchen dafür gesorgt ist, dass die Einsaat in sterilisierte Nährlösungen erfolgt, und dass jede Infektion mit fremden Mikroorganismen während der Fortentwicklung der Kultur ausgeschlossen ist, so bleibt das geschilderte Unsicherheitsmoment bestehen, weil die Einsaat — das Ausgangsmaterial der ganzen Kultur — ihrer Natur nach unbekannt ist und meist eine unreine Mischung darstellt. Diese Ungewissheit hat Hansen beseitigt, indem er bei seinen Kulturversuchen immer von einer einzigen Zelle ausging, die er in sterilisierter Nährlösung infektionssicher sich weiter vermehren liess. Eine so erhaltene Kultur musste ihrer ganzen Natur nach aus Individuen einer Art bestehen, musste eine wahre Reinkultur sein, indem alle Individuen von einer einzigen Mutterzelle abstammten. In diesem Grundsatz: eine einzige Zelle als Ausgangsmaterial zu nehmen, liegt das Charakteristische der ganzen modernen Hefereinzucht; die fruchtbare Anwendung dieses Prinzips hat eine reiche Ernte für Wissenschaft und Technik hervorgebracht.

Zur Herstellung solcher absoluter Reinkulturen bediente sich Hansen zweier verschiedener Methoden¹⁾. Nach dem anfangs von ihm benützten sogenannten Verdünnungsverfahren verdünnte er die zur Aussaat bestimmte Hefe — die möglichst junge, kräftige Zellen enthalten und bereits möglichst vorherrschend aus solchen der Art bestehen soll, die man rein züchten will — mit so viel sterilisiertem Wasser, dass durchschnittlich auf 2 ccm Gesamtfüssigkeit nur je eine

¹⁾ Résumé du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, 2, p. 20, 1883 und 2, p. 92, 1886.

Hefezelle kommt. Um dieses Verdünnungsverhältnis möglichst rasch zu treffen, verteilt er zunächst etwas von der Aussaathefe in einem Kolben gleichmässig durch Umschütteln in sterilisiertem Wasser. Hievon bringt er einen Tropfen auf ein durch eingeritzte Linien in Quadrate geteiltes Deckglas und legt dasselbe, mit dem Tropfen nach unten, auf eine sogenannte feuchte Kammer. Man zählt nun mit Hilfe des Mikroskops, wieviel Zellen in dem Tropfen insgesamt vorhanden sind, was leicht gelingt, weil die Quadratgrenzen als Anhaltspunkte dienen. Sollten die Zellen zu dicht liegen, um bequem gezählt werden zu können, so nimmt man eine weitere Verdünnung mit sterilisiertem Wasser und dann erst die Zählung vor. Man gelangt so zur Kenntnis der Anzahl Zellen in einem Tropfen Flüssigkeit und weiss nun, in wieviel Kubikcentimeter sterilisiertes Wasser man einen Tropfen gleicher Grösse, wie den zur Zählung verwendeten, einzuführen hat, um die gewünschte Endkonzentration — eine Zelle auf 2 ccm Flüssigkeit — zu erhalten. Nachdem man diese Verdünnung hergestellt und durch kräftiges Umschütteln für möglichst gleichmässige Verteilung gesorgt hat, impft man eine grössere Anzahl Pasteurkolben, die mit sterilisierter gehopfter Bierwürze von etwa 14° Balling beschickt sind, mittels sterilisierter Pipetten mit je 1 ccm der Flüssigkeit. Nach Grundsätzen der Wahrscheinlichkeitsrechnung müsste auf diese Art die Hälfte der geimpften Kölbchen überhaupt keine Hefeinsaat erhalten haben, während die andere Hälfte je eine einzige Zelle enthielte. In der Praxis zeigen sich natürlich Abweichungen hievon; es ist jedoch Hansen gelungen, ein Kennzeichen für die Zahl der entwicklungsfähigen Zellen aufzufinden, die in jeden Kolben gelangt sind. Lässt man die geimpften Kolben einige Tage bei Zimmertemperatur stehen und betrachtet sie dann im durchfallenden oder reflektierten Licht, so gewahrt man in den Kolben, die eine Einsaat überhaupt empfangen haben, dunkle oder weisse, an den Wänden haftende Flecke: die Anfänge der aus den eingesäeten Zellen sich entwickelnden Hefekolonien. Diejenigen Kolben, die nur einen einzigen Fleck zeigen, werden auch nur eine einzige entwicklungsfähige Zelle als Einsaat empfangen haben; sie allein dienen zur weiteren Fortsetzung des Kulturversuches.

Kurze Zeit nachdem Hansen dieses Verfahren ausgearbeitet und in Benützung genommen hatte, veröffentlichte Robert Koch seine Plattenkulturmethode zur Reinzüchtung von Mikroorganismen. Koch verteilt die zur Aussaat bestimmten Zellen durch Schütteln in sterilisierter Nährgelatine, die durch schwaches Erwärmen verflüssigt

ist und giesst dieselbe dann auf sterilisierte Glasplatten in dünner Schicht aus. Die Platten überlässt er, bedeckt mit einer Glasglocke, der weiteren Entwicklung, wobei die in der erstarrten Gelatine eingebetteten Zellen zu Kolonien auswachsen. Es ist klar, dass man keine absolute Sicherheit dafür hat, dass jede der so erhaltenen, getrennt liegenden Kolonien aus einer einzigen Zelle hervorgegangen ist. In der That bewiesen auch direkte Versuche, die Hansen anstellte, dass bei diesem Verfahren — wenn auch selten — Kolonien auftreten können, die Mischkulturen verschiedener Gattungen enthalten. Holm¹⁾ zeigte gleichfalls, dass wenn man Hefe nach diesem Verfahren in Würze-gelatine züchtet, im Durchschnitt aus 108 sich entwickelnden Zellen 100 Kolonien hervorgehen, so dass also mehrere von diesen aus mehr als einer Zelle abstammen. Nur in einem von 23 einzelnen Versuchen stammte jede Kolonie aus einer einzigen Zelle ab.

Hansen hat sich für seine Untersuchungen des Plattenkulturverfahrens gleichfalls bedient, nachdem er es derart abgeändert hatte, dass der eben berührte Fehler desselben vermieden werden kann. Es ist dies die zweite seiner vorhin erwähnten Methoden der Hefereinzucht. Er verwendet gehopfte Bierwürze von 14° Balling, in der 5% Gelatine aufgelöst sind und giesst diese „Würze-gelatine“, nachdem sie sterilisiert und dann mit der Aussaat geimpft worden ist, auf sterilisierte Deckgläschen von 30 mm Durchmesser aus. Nach dem Erstarren der Gelatine bringt er dieselben, mit der Gelatineseite nach unten, als Deckel auf eine feuchte Kammer. Alsdann untersucht man das Präparat unter dem Mikroskop und bezeichnet in geeigneter Weise diejenigen Stellen, an denen einzelne Hefezellen liegen. Die Kolonien, die später an diesen Stellen wachsen, müssen dann aus einer einzigen Zelle abstammen. Man impft sie mit einem Platindraht in Pasteurkolben über, die mit sterilisierter Würze beschickt sind, um sie darin weiter zu züchten.

Eine andere Methode der Hefereinzucht, die an die eben beschriebene in gewisser Beziehung erinnert, ist von P. Lindner²⁾, dem Vorsteher des Hefereinzuchtlaboratoriums der Versuchsanstalt für Brauerei und des Vereins der deutschen Spiritusfabrikanten in Berlin, unter dem Namen Tröpfchenkultur beschrieben und von ihm und seinen Schülern vielfach benützt worden. Er verrührt die zur Aus-

¹⁾ A. Koch, Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den Gärungsorganismen, 2, p. 14, 1891.

²⁾ Mikroskopische Betriebscontrole in den Gärungsgewerben. Berlin 1895. p. 67 u. 69.

saat bestimmte Hefe mit Bierwürze, taucht dann eine spitze Zeichen- oder Schreibfeder, die zuvor ausgeglüht und wieder erkaltet war, in die Flüssigkeit und macht damit eine Anzahl kleiner Tröpfchen auf ein durch die Flamme gezogenes Deckgläschen. Dieses Deckglas legt man auf einen hohl geschliffenen Objektträger, der gleichfalls durch die Flamme gezogen wurde. Um dichten Verschluss herzustellen, wird der Rand des Hohlschiffs mit Vaseline eingefettet. Die Tröpfchen hängen frei in den ausgeschliffenen Hohlraum herab. Man untersucht sie unter dem Mikroskope bei starker Vergrößerung und bezeichnet diejenigen, die nur eine einzige Hefenzelle und sonst nichts anderes enthalten durch einen Tintenpunkt auf der Oberseite des Deckglases. Nach zweitägiger Fortentwicklung wird ein solcher markierter Tropfen abgeimpft, um unter intensiveren Kulturbedingungen, zuletzt im Pasteurkolben, fortgezüchtet zu werden.

Mit den drei beschriebenen Verfahren haben wir die Prinzipien erschöpft, die heute zur Hefereinzucht im Laboratorium der Gärungsphysiologen angewendet werden. Eine jede dieser Methoden hat gewisse Vorzüge und gewisse Nachteile gegenüber den anderen; man wird keine als die absolut beste empfehlen können, sondern von Fall zu Fall prüfen müssen, für welche man sich zweckmässig entscheidet. Das Verdünnungsverfahren hat den Nachteil, sehr vieler Kulturgefässe zu bedürfen; der Plattenkulturmethode — auch in der Hansenschen Form — und der Tröpfchenkultur kann man nachsagen, dass bei der erforderlich werdenden Abimpfung am Schluss die Gefahr einer Infektion aus der Laboratoriumluft wenigstens nicht völlig ausgeschlossen erscheint. Versuche von Hansen haben allerdings ergeben, dass diese Gefahr bei zweckmässiger Einrichtung des Laboratoriums und geschickter und rascher Manipulation relativ gering ist.

Sind nun die nach diesen Methoden isolierten und rein gezüchteten Hefen sämtlich einander gleich oder kommen Unterschiede vor? Mit den von Reess angegebenen, oben erwähnten Unterscheidungsmerkmalen werden wir bei der Beantwortung dieser Frage nicht weit kommen. Denn betrachten wir z. B. die Zellen einer in der feuchten Kammer auf Würzegelatine rein gezüchteten Hefekolonie, die als Abkömmlinge einer einzigen Mutterzelle zweifellos nur Individuen einer Art enthalten können, so gewahren wir leicht, dass die Einzelzellen in ihrer Gestalt voneinander abweichen und dass diese Abweichungen ebenso gross sind, wie die zwischen den einzelnen von Rees aufgestellten Spezies bestehenden¹⁾. Wir finden unter den Angehörigen

¹⁾ Hansen, Résumé du compte-rendu etc. 2, p. 36, 1883.

einer und derselben Kolonie rundliche, elliptische und wurstförmige Zellen, die wir den verschiedenen Arten des *Saccharomyces cerevisiae*, bezw. *ellipsoideus*, bezw. *Pastorianus* zurechnen müssten, wollten wir sie nach den Angaben von Reess bestimmen. Es ergibt sich hieraus, dass die Gestalt und Grösse der Zellen kein Artmerkmal ist. Ebenso gilt dies von der Gestalt und Grösse der Sporen und der Ascii; auch sie sind bei den Angehörigen einer und derselben Reinkultur sehr verschieden.

Die Reess'schen Spezies sind daher im vollen Wortsinne ihres Autors heute nicht mehr aufrecht zu erhalten und es galt andere, durchgreifendere Unterscheidungen aufzufinden, auf die sich eine morphologische Abgrenzung verschiedener Hefen begründen liess. Als ein erstes derartiges Unterscheidungsmerkmal benützt Hansen die Verhältnisse der Ascosporenbildung¹⁾. Er bedient sich eines anderen Verfahrens, als des früher von Reess angewendeten, um die Hefe zur Sporulation zu bringen. Dasselbe gestattet, das gewünschte Ziel mit grösserer Sicherheit zu erreichen. Nach Hansen züchtet man die betreffende Reinkultur, deren Sporenbildung untersucht werden soll, einige Zeit in Bierwürze von 14° Balling bei Zimmertemperatur. Dann impft man etwas von der in dieser Kultur neu gebildeten jungen Hefe (unter Vermeidung einer Infektion mit fremden Mikroorganismen) in einen anderen Kolben in Würze über. Diesen zweiten Kolben stellt man 24 Stunden in den Brütschrank, dessen Temperatur man während dieser Zeit konstant auf 26 bis 27° C. erhält. Diese vorbereitende Operation nennt man das „Auffrischen“ der Hefe. Sie ermöglicht stets Zellen, die sich im gleichen physiologischen Zustande befinden, für die nun folgende eigentliche Sporenzüchtung zu verwenden. Man bringt den Inhalt dieser aufgefrischten Kultur auf einen sterilisierten feuchten Gipsblock. Derartige Gipsblöcke sind schon vor Hansen von Engel und Fitz²⁾ an Stelle der von Reess angewendeten Mohrrübenscheiben benützt worden. Man stellt sie her³⁾, indem man den angerührten Gips nach Entfernung der Luftblasen in Blechformen erstarren lässt und den erhaltenen Block, nach dem Entfernen aus der Form, eine halbe Stunde in kochendes Wasser legt. Nach dem Abkühlen, während dessen alles bedeckt gehalten werden muss, bringt

¹⁾ Les ascospores chez le genre *Saccharomyces*. Résumé du compte-rendu etc. 2, p. 13—47, 1883.

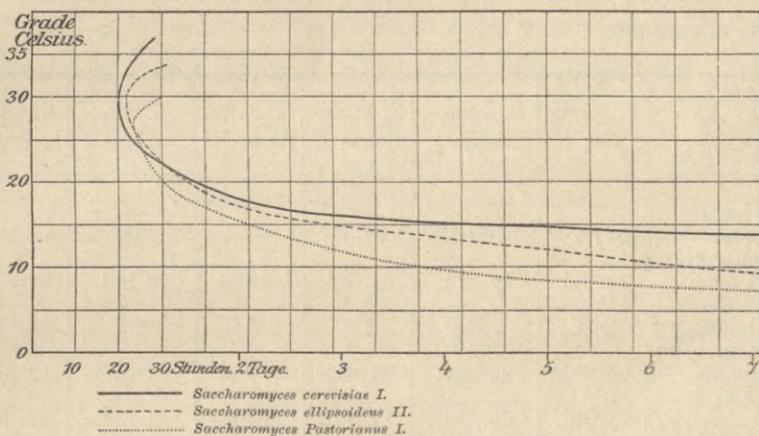
²⁾ Vergl. A. Mayer, Lehrbuch der Gärungschemie. 3. Aufl. 1879. p. 97.

³⁾ P. Lindner, Mikroskopische Betriebscontrole in den Gärungsgewerben. Berlin 1895. p. 102.

man den Gipsblock in eine sterilisierte Glasschale, in der sich etwas sterilisiertes Wasser befindet, und setzt diese in eine grössere Glasschale, deren Boden mit einer doppelten Lage angefeuchteten Filtrierpapiers bedeckt ist. Beim Auftragen der Hefe auf den Gipsblock hat man nur dafür zu sorgen, dass sie zuvor möglichst von Würze und Bier befreit wird. Man bedeckt die fertige „Gipsblockkultur“ mit einer passenden Glasschale und stellt sie in den Thermostat.

Hansens Versuche haben ergeben, dass unter diesen Umständen die Hefe auf dem Gipsblock stets Sporen entwickelt, sofern nur gewisse Temperaturgrenzen nach unten und oben nicht überschritten werden. Es ergab sich weiter, dass innerhalb dieser Grenzen jeder

Fig. 6.



Sporenkurven dreier Heferasen. Nach Hansen.

Temperatur eine bestimmte Zeitdauer entspricht, nach deren Ablauf die ersten Anfänge der Sporenbildung sich zeigen. Sowohl diese Temperaturgrenzen, als auch die den Einzeltemperaturen entsprechenden Zeiträume sind für die Zellen derselben Reinkultur innerhalb der Fehlergrenzen gleich, für Reinkulturen anderer Herkunft unter Umständen jedoch anders. Sie bleiben für aufeinander folgende Reinkulturgenerationen derselben Hefe konstant und können aus allen diesen Gründen als Unterscheidungsmerkmal der Hefen dienen. Hansen hat zunächst die betreffenden Verhältnisse bei sechs verschiedenen Hefen näher untersucht und die Resultate dieser Untersuchung graphisch dargestellt. Er trug zu diesem Zwecke in ein rechtwinkliges Koordinatensystem die Temperaturen als Ordinaten und die denselben ent-

sprechenden Zeiträume als Abscissen ein und erhielt durch Verbindung der so bestimmten Punkte die „Sporenkurve“, die das Charakteristikum der betreffenden Hefe ist. Fig. 6 stellt die Sporenkurven dreier verschiedener Hefen dar; dieselben sind jedoch nicht bis zum Temperaturminimum fortgezeichnet. Wir erkennen, dass die Kurven im allgemeinen ähnliche Gestalt haben, dass sie aber in verschiedener Höhe über der Abscissenachse liegen und sich namentlich durch die Lage ihres Maximalpunktes sowie in der Gegend der Abscisse von $11,5^{\circ}$ unterscheiden. Am geringsten sind die Unterschiede in der Abscisse von 25° . Das Temperaturoptimum, d. h. diejenige Temperatur, bei der die Sporenbildung am schnellsten vor sich geht, gibt sich in der Kurve als ein Wendepunkt zu erkennen. Die folgende Tabelle lässt die Verhältnisse bei den sechs zuerst von Hansen untersuchten Hefen näher erkennen:

	S. cerevisiae I	S. Pastorianus I	S. Pastorianus II	S. Pastorianus III	S. ellipsoideus I	S. ellipsoideus II
Temperaturmaximum . . .	37-37,5°C.	30,5-31,5°C.	28° C.	28° C.	31,5-32,5°C.	34—35° C.
Zeitdauer beim Maximum . . .	29 Std.	30 Std.	34 Std.	35 Std.	36 Std.	31 Std.
Temperaturoptimum . . .	30° C.	27° C.	25° C.	25° C.	26° C.	30° C.
Zeitdauer beim Optimum . . .	20 Std.	24 Std.	25 Std.	28 Std.	21 Std.	22 Std.
Zeitdauer bei 25° . . .	23 Std.	25 Std.	25 Std.	28 Std.	21 Std.	27 Std.
Zeitdauer bei 15° . . .	4½ Tage	2 Tage	2 Tage	3 Tage	45 Std.	70 Std.
Zeitdauer bei 11,5° . . .	10 Tage	3 Tage	77 Std.	6 Tage	4 Tage	5 Tage
Temperaturminimum . . .	9—11° C.	0,5—3° C.	0,5—3° C.	4—8,5° C.	4—7,5° C.	4—8° C.
Zeitdauer beim Minimum . . .	10 Tage	14 Tage	17 Tage	9 Tage	11 Tage	9 Tage

Wir verschieben die Besprechung der Frage, ob die so unterschiedenen Hefeformen verschiedene „Arten“ im strengen Sinne der systematischen Botanik darstellen auf später und erwähnen nur, dass sie von Hansen ein Jahr in verschiedener Weise fortgezüchtet worden sind, ohne ihre eben beschriebenen Unterscheidungsmerkmale einzubüßen. Hansen sah sich deshalb mit Recht veranlasst, diesen Formen vorläufig bestimmte Namen zu geben. Dieselben sind bereits in der obigen Tabelle angeführt. Wie man sieht, griff er hiebei — trotz

seiner Ablehnung der Reessschen Spezies — auf die alte Nomenklatur von Reess zurück. Freilich gebraucht er die Namen in wesentlich anderem Sinne, als ihn ihr Autor damit verband. Sie dienen ihm zur Bezeichnung des Gestalttypus, den die Individuen einer bestimmten Reihefe in der Hauptsache zeigen. Also nicht alle wurstförmigen Hefezellen nennt Hansen *S. Pastorianus*, wohl aber alle Reihefen, in deren normal geführten Würzekulturen Zellen von wurstförmiger Gestalt vorherrschen. Da verschiedene Hefen auf diese Art den gleichen Namen erhalten würden, so werden sie durch Beifügung römischer Ziffern noch weiter unterschieden.

Die von Hansen gewählte Nomenklatur gibt leider in einer Hinsicht zu Irrtümern Veranlassung. Es ist wahr, Reess hatte seine Speziesdiagnosen ausdrücklich auf Unterschiede der Grösse und Gestalt gestellt, und in diesem Sinne war Hansen völlig berechtigt, die Namen, nachdem er die Unzulänglichkeit dieser Diagnosen nachgewiesen hatte, zur Kennzeichnung von Gestalttypen zu benützen. Aber die Gärungschemiker hatten sich seit Reess' Untersuchungen daran gewöhnt, die Namen *Saccharomyces cerevisiae* und *Saccharomyces ellipsoideus* — uneingedenk der ursprünglich damit verknüpften Gestaltunterschiede — allgemein als Bezeichnung für die doch gewiss voneinander verschiedenen Bierhefe und Weinhefe zu benützen. In dem Sinne sind diese Namen noch heute namentlich in den Kreisen der Praktiker im Gebrauch. Demgegenüber ist aber nur eine der beiden Hansenschen Ellipsoideushefen eine Weinhefe: der *S. ellipsoideus* I stammt von reifen Vogesen- trauben her, während *S. ellipsoideus* II aus einem kranken Kopenhagener Untergärungsbier isoliert wurde. Es wäre vielleicht vorteilhafter gewesen, auch in dem neuen System den Namen *S. ellipsoideus* ausschliesslich für Weinhefen beizubehalten.

Seit Hansens ersten Untersuchungen sind für eine grosse Anzahl verschiedener Hefen Sporenkurven aufgestellt worden, so z. B. von Will¹⁾ für einige Bierhefen und insbesondere von Marx²⁾ und Aderhold³⁾ für sehr viele Weinhefen. Immer hat sich, in Uebereinstimmung mit Hansen, gezeigt, dass die näheren Verhältnisse der Sporenbildung ein konstantes Merkmal, bzw. Unterscheidungsmerkmal der verschiedenen Hefen darstellen. Nur muss man stets genau, bis auf die äusserste Kleinigkeit in gleicher Weise arbeiten. Schon Hansen

¹⁾ Vergl. A. Kochs Jahresbericht 2, p. 152, 1892.

²⁾ Les levures des vins. Moniteur scientifique [4] 2, p. 1273—1283, 1888.

³⁾ Die Morphologie der deutschen *S. ellipsoideus*-Rassen. Landwirtschaftliche Jahrbücher 23, p. 587—621, 1894.

zeigte, dass man erhebliche Abweichungen in der Sporenkurve erhält, wenn man das „Auffrischen“ der Hefe 48 Stunden wahren lässt, statt der von ihm vorgeschriebenen 24 Stunden. Der durch diese längere Gärdauer vermehrte Alkoholgehalt der Nährlösung scheint offenbar die Hefe zu schwächen und später ihre Sporulation auf dem Gipsblock zu verlangsamten. Aderhold fand diese Thatsache bestätigt; er wies auch einen Einfluss der Zusammensetzung der Nährlösung auf die Sporenkurve nach. Nach seinen Untersuchungen scheint die Wirkung derartiger abweichender Versuchsbedingungen bei sehr gärkräftigen Hefen geringer zu sein, als bei langsam gärenden.

Hansen fand im weiteren Verlauf seiner Arbeiten, dass die Hefen mit verschiedenen Sporenkurven auch in anderer Beziehung Unterschiede aufwiesen, insbesondere in ihrer — von ihm entdeckten — Hautbildung¹⁾. Den Praktikern der Gärungsgewerbe wie auch den Chemikern sind seit langer Zeit die Ansiedelungen von Mikroorganismen bekannt, die sich in Form einer zusammenhängenden, sehr dünnen Haut, einer sogenannten „Kahmhaut“ auf der freien Oberfläche des Weines und des Bieres einstellen. Die Organismen dieser Kahmhaut oxydieren den Alkohol zu Essigsäure, sie gehören der Gattung *Mycoderma* an. Hansen entdeckte, dass auch die wahren *Saccharomyces*-kulturen unter gewissen Umständen Häute²⁾ bilden können, die von den eben beschriebenen des *Mycoderma* makroskopisch manchmal nicht unterschieden werden können, aber ihrem Wesen und ihrem mikroskopischen Anblick nach natürlich von denselben verschieden sind. Man erhält sie, wenn man eine Hefereinkultur mehr oder minder lange bei gewöhnlicher Zimmertemperatur ruhig stehen lässt. Dann erscheinen allmählich kleine Hefeflecken auf der Oberfläche oder an den Rändern der Flüssigkeit; dieselben vereinigen sich im Laufe der Zeit und bilden schliesslich eine einzige zusammenhängende Haut, zu der sich häufig ein Ring an den Gefässwänden oberhalb der Flüssigkeit gesellt. Zugleich hat sich das Bier, bezw. der Wein, in dem die Kultur gewachsen war, merklich entfärbt. Ausgangspunkte dieser Hautbildungen sind zweifellos kleine Zellkomplexe, die durch Kohlen-säurebläschen an die Oberfläche der Flüssigkeit getragen werden. Aderhold beobachtete, dass kleine, aus dem Most auskrystallisierte Weinsäurekrystalle, die solchen Zellen als Haftpunkt dienten, zur

¹⁾ Les voiles chez le genre *Saccharomyces*. Résumé du compte-rendu etc. 2, p. 106—136, 1886.

²⁾ Aderhold (a. a. O. p. 601) tritt dafür ein, sie zum Unterschied von den Kahmhäuten „Rahmhäuten“ zu nennen.

Ausgangsstelle solcher Häute wurden. Physiologische Bedingung der Hautbildung ist der Zutritt von Luft. Die so auf alten Kulturen bei gewöhnlicher Temperatur sich bildenden Häute unterscheiden sich nicht nur makroskopisch von den gewöhnlichen Hefeabscheidungen aus gärenden Flüssigkeiten, sondern auch mikroskopisch. Sie gewähren stets — und zwar in viel hervorragenderem Masse als die gewöhnliche Oberhefe — den Anblick eines echten Sprossmyceliums. Der myceliale Typus wird besonders dadurch zu einem sehr ausgeprägten, dass die Zellen, vornehmlich der primären Verästelungen, ausserordentlich langgestreckten und schlanken Bau besitzen. Das gilt speziell auch für die Haut solcher Hefen, die in ihrem gewöhnlichen Zustande vorwiegend die Gestalt des Reessschen *S. cerevisiae* besitzen.

Die auf dem beschriebenen Wege bei gewöhnlicher Temperatur erhaltenen Hautformen der verschiedenen Hefen eignen sich nicht besonders zu Unterscheidungsmerkmalen. Zwar sind Unterschiede zwischen ihnen vorhanden, dieselben sind jedoch äusserst minutiös. Anders wird das, wenn man die Hautbildung bei niedrigeren Temperaturen, bei 13 bis 15° C. vor sich gehen lässt. Man sät am besten die zu untersuchende reine Hefe, nachdem sie in gleicher Weise wie vor der Gipsblockkultur aufgefrischt wurde, in ein mit sterilisierter Würze beschicktes Erlenmeyerkölbchen ein und schützt seinen Inhalt vor Infektion mit fremden Keimen, indem man es mit einer Haube aus sterilisiertem Filtrierpapier bedeckt. Lässt man 15 bis 30 Tage bei der angegebenen Temperatur ruhig stehen, so wird die Hautbildung eingetreten sein. Der morphologische Charakter der so erhaltenen Hautformen erweist sich bei direkter Betrachtung unter dem Mikroskope verschieden und gestattet hiedurch eine Unterscheidung der einzelnen Hefen.

Hansen bestimmte auch die Temperaturgrenzen der Hautbildung und die mit der Temperatur variable Zeitdauer bis zum Eintritt derselben. Er fand auch hier ähnliche Unterschiede, wie bei der Sporulation. Dieselben sind jedoch minder prägnant und deshalb auch als Bestimmungsmerkmal minder wertvoll. Doch lassen sich wenigstens die Temperaturmaxima und Minima der Hautbildung noch in diesem Sinne verwenden.

Aderhold¹⁾ beobachtete bei Weinhefen genau die gleichen Erscheinungen der Hautbildung und fand entsprechende Unterschiede im mikroskopischen Bilde derselben auf. Doch kommt es bei der

¹⁾ Landwirtschaftliche Jahrbücher 23, p. 605, 1894.

Weinhefe selten zu einer zusammenhängenden Hautdecke; es bilden sich vielmehr nur einzelne Inseln, die schliesslich zu Boden sinken, um da als dicke, flaumige Schicht liegen zu bleiben. In vielen Fällen beschränkt sich die Hautbildung auf einen am Gefässrande herumlaufenden Hefering, zu dem sich nur hie und da ein vereinzelt Inselchen gesellt.

Als ein weiteres Hilfsmittel zur Unterscheidung verschiedener Hefen kann die Gestalt ihrer makroskopisch erkennbaren Kolonien auf festen Nährböden, speziell auf Würzegeleatine oder Mostgeleatine dienen. Auch auf diesem Gebiet hat schon Hansen vorgearbeitet¹⁾; doch gebührt vor allem Lindner²⁾ das Verdienst, die von ihm sogenannten „Riesenkolonien“ näher studiert und auf vorzüglichen Lichtdrucktafeln abgebildet zu haben. Um sie zu erhalten impft man einen Tropfen der Reinkultur auf Nährgeleatine, die den Boden eines Kölbchens in ca. 2 cm Höhe bedeckt. Man legt am besten mehrere solcher Kulturen an, die man bei verschiedenen Temperaturen weiter entwickelt, da manche Hefen die charakteristischen Formen bei höheren, andere bei niederen Wärmegraden auszubilden pflegen.

Wir können auf weitere Einzelheiten an dieser Stelle unmöglich eingehen, geschweige denn den Leser mit den morphologischen Charakteren bestimmter Hefen bekannt machen. Es genügt uns, festzustellen, dass mit Hilfe der angegebenen drei Kennzeichen: Verhältnisse der Sporenbildung, Formen der bei 13 bis 15° gebildeten Häute und Gestalt der Riesenkolonien deutliche und mit Sicherheit wieder zu erkennende Unterschiede zwischen rein gezüchteten Hefen festgelegt werden können. Wir übergehen alle die interessanten Beobachtungen, die Hansen noch über die Morphologie der Hefe gemacht hat, um nur den einen Schluss zu ziehen: es gibt in morphologischer Beziehung verschiedene Hefen.

Wir haben vorhin gesehen, dass die Unterschiede der Hefen durch Generationen hindurch in mehr als einjähriger Fortzucht als konstant erkannt worden sind. Das gilt jedoch nur für den Fall, dass die Lebensbedingungen, unter denen die Weiterzucht erfolgt, nicht allzu abweichend sind. Schaffen wir wesentlich andere Bedingungen, so verliert die Hefe ihre bisher konstant beibehaltenen

¹⁾ Vergl. A. Jörgensen, Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie 3. Aufl. Berlin 1892. p. 129.

²⁾ a. a. O. p. 99 und 199, sowie Tafel II und III.

Eigenschaften, um andere anzunehmen: sie ändert ihren Charakter. Hansen¹⁾ hat aus der Reinkultur einer von ihm als *Saccharomyces Ludwigii* beschriebenen Hefe unter besonderen Züchtungsbedingungen dreierlei Formen erhalten, von denen die eine viele, die andere wenig, die dritte gar keine Sporen bildete. Durch lange fortgesetzte Kultur in Bierwürze erhielt die letztere die Fähigkeit der Sporenbildung wieder. Die neu erworbene Eigenschaft ging also wieder verloren und die alte wurde zurückgewonnen, als der Kultur die altgewohnten Lebensbedingungen wieder geboten wurden. Aus einem *Saccharomyces Pastorianus* zog Hansen jedoch Formen mit neuen Eigenschaften, die dauernd erhalten blieben. Durch langes Kultivieren bei Temperaturen oberhalb der Maximaltemperatur für Sporenbildung ging die Fähigkeit der Sporulation für immer verloren. In gleicher Weise kultivierte Untergärungshefe zeigte bei der Gärung ein geringeres Alkoholproduktionsvermögen als vorher und behielt diese Eigenschaft durch Generationen hindurch bei.

Wir müssen aus diesen Versuchen den Schluss ziehen, dass die charakteristischen Merkmale der verschiedenen Hefen ein Korrelat der Lebensbedingungen sind, dass sie bei Konstanz derselben konstant bleiben, bei Abänderung jedoch einem jähen Wechsel unterworfen sind. Wir können sie daher, selbst dem fluktuierenden Speziesbegriff der heutigen biologischen Wissenschaft gegenüber, nicht als Artmerkmale anerkennen und bezeichnen deshalb die durch sie bedingten Verschiedenheiten lediglich als Rassenunterschiede. In den gärungsphysiologischen Laboratorien aller Orten sind im Laufe der letzten Jahre eine kaum zu zählende Anzahl von Heferassen isoliert worden. Beinahe die Untersuchung einer jeden Bierhefe, eines jeden Weintrubs liefert neue Rassen. Man hat mit Recht darauf verzichtet, sie alle besonders zu benennen und hat sie grösstenteils einfach numeriert, spricht daher in der Litteratur z. B. von der „Hefe Nr. 382 der Berliner Sammlung“.

Bei allen Versuchen über die Variabilität der Heferassen unter abgeänderten Lebensbedingungen hat sich jedoch ein Unterschied als dauernd konstant erwiesen: der zwischen Oberhefe und Unterhefe. Hansen²⁾ hat absolute Reinkulturen von Unterheferassen 4 Jahre lang bei gewöhnlicher Zimmertemperatur, ja stellenweise bei 25 bis 30 ° C. unter häufiger Erneuerung der Nährlösung fortgezüchtet,

¹⁾ A. Kochs Jahresbericht 1, p. 38, 1890.

²⁾ Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie 1, p. 61, 1888.

so dass zahllose Generationen bei einer Temperatur, die sonst Obergärungserscheinungen hervorrufft, erzeugt wurden: niemals sind bei diesen Versuchen Obergärungserscheinungen beobachtet worden. Auch durch Vermittlung der Hautformen ist kein Uebergang der Unterhefe in Oberhefe möglich. Die Häute von Unterhefen riefen nach dem Impfen in neue Nährlösung selbst bei Temperaturen von 26° C. immer Untergärung hervor¹⁾. Umgekehrt konnte Hansen Reinkulturen ausgeprägter Oberheferassen 5 Jahre lang bei Untergärungstemperatur (5 bis 7° C.) züchten: stets war die Gärung sehr schwach; erst bei Temperatursteigerungen wurde sie kräftig und verlief dann als typische Obergärung.

Zwischen den im Sinne der beschriebenen Unterscheidungsmerkmale als morphologisch different befundenen Heferassen bestehen auch Unterschiede in ihrem physiologischen Verhalten. Die durch sie eingeleiteten Gärungen unterscheiden sich sowohl in dem allgemeinen Verlauf des Vorganges, sowie in den äusseren Formen, unter denen er sich abspielt. Vor allem zeigen sie sich abweichend in ihrer Wirkung auf die verschiedenen Zuckerarten. Hansen²⁾ untersuchte unter anderen die Reinkulturen von 19 echten *Saccharomyces*-rassen auf ihr Verhalten gegen Rohrzucker, Dextrose, Maltose und Milchzucker. Während die meisten dieser Heferassen in gleicher Weise Rohrzucker, Dextrose und Maltose zur Vergärung brachten, zeigten drei wesentlich andere Eigenschaften. Die eine davon, *Saccharomyces Marxianus*, von Marx auf Weintrauben entdeckt, vermag Maltose nicht zu vergären; Rohrzucker und Dextrose werden in 15 %iger Lösung vergoren, jedoch sehr langsam. In Bierwürze von 14 bis 15° Balling erzeugt diese Rasse nur 1,3 Massprozent Alkohol. Die zweite Form, *Saccharomyces exiguus*³⁾, die aus Presshefe stammt, zeigt fast dieselben Eigenschaften. Am auffallendsten ist jedoch die dritte Rasse: *Saccharomyces membranaefaciens*, die Hansen in einer gelatinösen Masse auf Ulmenwurzeln auffand. Obwohl durch ihr morphologisches Verhalten, insbesondere durch die sehr reichliche Ascosporenbildung die botanische Zugehörigkeit zur Gattung *Saccharomyces* sicher gestellt ist, vermag diese Form keine einzige Zucker-

¹⁾ Hansen, Résumé du compte-rendu etc. 2, p. 130, 1886.

²⁾ Action des ferments alcooliques sur les diverses espèces de sucre. Résumé du compte-rendu etc. 2, p. 143—167. 1888.

³⁾ Derselbe ist ebenso wenig identisch mit dem was Reess unter diesem Namen beschreibt, wie z. B. Hansens *S. cerevisiae* mit dem gleichnamigen von Reess.

art in Gärung zu versetzen. Auch fehlt ihr die Eigenschaft Invertin zu bilden und dadurch den Rohrzucker auf hydrolytischem Wege in Invertzucker zu spalten: eine Eigenschaft, die alle bisher erwähnten Rassen besitzen.

Emil Fischer und Hans Thierfelder¹⁾ prüften gleichfalls das Verhalten verschiedener Heferassen gegen eine grosse Zahl von Zuckerarten, insbesondere auch gegen die in neuerer Zeit auf synthetischem Wege erhaltenen. Die Versuche haben das Resultat geliefert, dass ein Teil der Zuckerarten von keiner einzigen der untersuchten Rassen angegriffen wird und deshalb vermutlich überhaupt nicht gärungsfähig ist. Die Verfasser knüpfen an diese Thatsache eine sehr interessante Hypothese über die Ursache der alkoholischen Gärung an, auf die wir jedoch hier nicht näher eingehen können. Unter den Zuckerarten, die einer alkoholischen Gärung fähig sind, zeigen einzelne ein verschiedenes Verhalten gegen verschiedene Heferassen. Die totale Unfähigkeit des *Saccharomyces membranaefaciens* zur Auslösung einer Gärung ist auch durch diese Arbeit bestätigt worden. Dagegen wird für den *Saccharomyces Marxianus* im Gegensatz zu Hansen angegeben, dass er Maltose vollständig vergäre²⁾.

Bereits aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, dass die verschiedenen Hefen auch verschiedene chemische Arbeit zu leisten vermögen. Weit interessantere und für die Praxis wichtigere Ergebnisse fand man aber auf, als man das Verhalten der Heferassen gegen Bierwürze näher zu studieren begann. Nach dem heutigen Standpunkt unseres Wissens müssen wir in der Bierwürze die folgenden Kohlehydrate annehmen: Rohrzucker, Dextrose, Lävulose, Maltose, Isomaltose³⁾ und Dextrin. Die beiden letztgenannten sind seit jeher als „schwergärig“ bekannt. Sie bleiben in unveränderter Form im

¹⁾ Verhalten der verschiedenen Zucker gegen reine Hefen. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **27**, p. 2031—2037, 1894.

²⁾ Diese Angabe steht im Gegensatz zu dem folgenden Satze der Verfasser: „Soweit die Versuche Wiederholungen älterer darstellen, ergibt sich eine völlige Uebereinstimmung unserer Resultate und der früheren Beobachtungen“ — einem Satz, dem sie nur in Beziehung auf die Sorbose eine einschränkende Bemerkung folgen lassen. Thierfelder hat später die Richtigkeit der Hansenschen Beobachtung ausdrücklich anerkannt. Vergl. A. Klöcker, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet **4**; Résumé p. 21, 1895.

³⁾ Nach einem Vortrage, den Prior vor Kurzem in Nürnberg gehalten hat, ist ihm der Nachweis gelungen, dass Isomaltose keine selbständige Zuckerart, sondern ein Gemenge von Maltose und Achroodextrin III ist. Näheres hierüber ist noch nicht publiziert worden. Für die oben besprochenen Erscheinungen bleibt

reifen Biere zurück, während die gärfähigen Kohlehydrate im wesentlichen in Alkohol und Kohlensäure übergehen. Der Extraktgehalt des fertigen Bieres ist daher niedriger, als derjenige der Würze, aus welcher es gebraut wurde. Drückt man die Menge der vergorenen Kohlehydrate — also der verschwundenen Extraktprocente — in Prozenten der ganzen ursprünglichen Extraktmenge der Würze aus, so erhält man eine Zahl, die man als „Vergärungsgrad“ bezeichnet. Derselbe ist natürlich ein direktes Mass für den vergorenen Anteil der Gesamtkohlehydrate. Der Vergärungsgrad der bayerischen Biere mag zur Zeit meist über 50 betragen, derjenige der böhmischen Biere ist etwas höher. Nach der älteren Anschauung rührten die Unterschiede im Vergärungsgrade verschiedener Biere entweder von der Art der Würzebereitung oder von der Dauer der Lagerung des fertigen Bieres im Lagerkeller her. Die Würzebereitung übt insofern einen Einfluss aus, als man je nach der Arbeitsweise Würze mit geringerem oder grösserem Gehalt an „schwergärrigen“ Kohlehydraten erhält. Im ersten Fall ist eben möglichst viel von der Stärke des Malzes durch die Diastase desselben in Maltose übergeführt worden, während im letzteren Falle der Verzuckerungsprozess früher zum Stillstand gekommen ist, infolge dessen mehr Zwischenprodukte — Dextrin und Isomaltose — zurückblieben. Andererseits wird bei längerer Lagerzeit des Bieres die Nachgärung weiter vorschreiten können, als bei kürzerer, und deshalb das Bier einen entsprechend höheren Vergärungsgrad aufweisen.

So einflussreich diese beiden Faktoren auf den Vergärungsgrad sind: die neuere Forschung hat uns gezeigt, dass auch die Hefe auf denselben einen sehr bedeutsamen Einfluss auszuüben vermag. Das geht schon aus Untersuchungen von C. Amthor¹⁾ hervor. Derselbe vergor dieselbe sterilisierte Würze in Pasteurkolben mit acht verschiedenen, rein gezüchteten Heferassen. Von diesen waren sieben aus verschiedenen Brauereihefen isoliert worden, während die achte aus einem Oberelsässer Weisswein stammte. Die Gärdauer war in allen Versuchen dieselbe; ebenso waren alle sonstigen äusseren Bedingungen völlig identisch. Die mit den reingezüchteten Bierhefen erhaltenen Biere zeigten am Schluss der Hauptgärung etwas verschiedene Vergärungsgrade. Dieselben schwankten von 44,9 bis 51,5.

es gleichgiltig, ob man das Kohlehydrat, um das es sich dabei handelt, in Zukunft wird Isomaltose oder Achroodextrin III nennen müssen.

¹⁾ Studien über reine Hefen. Zeitschr. f. physiologische Chemie **12**, p. 64 bis 71, 1888.

Bis zur völligen Klärung der Biere hatten sich jedoch diese Unterschiede fast völlig ausgeglichen und der Vergärungsgrad war bei allen ziemlich genau übereinstimmend 53. Die untersuchten Heferasen hatten also die Erreichung des gleichen Endvergärungsgrades gestattet. Nur hatten die einen die Arbeit rascher, die anderen sie langsamer gefördert, so dass die ersteren bei Beendigung der Hauptgärung dem Endziele näher waren, als die letzteren. Ganz anders hatte sich die rein gezüchtete Weinhefe verhalten. Am Schlusse der Hauptgärung hatte sie einen Vergärungsgrad von 28,8 hervorgerufen und zu der Zeit, als die übrigen Biere sich bereits geklärt und ihre Endvergärung erreicht hatten, war hier die Gärung erst bis zu einem Vergärungsgrad von 36,7 vorgeschritten. Die Gärung in der Flüssigkeit war noch nicht völlig beendet, es fand noch schwache Kohlensäureentwicklung statt.

Hatten wir hier bereits ein Beispiel einer mindestens sehr träge arbeitenden Heferasse vor uns, die vermutlich überhaupt nicht im stande war, den hohen Endvergärungsgrad der anderen Rassen zu erreichen, so haben uns spätere Untersuchungen mit Hefen — und zwar Bierhefen — bekannt gemacht, die zweifellos bei der Vergärung der Bierwürze an verschiedenen Punkten ihre Thätigkeit endgiltig einstellen. Es sind das Untersuchungen, die an den beiden Heferassen Nr. 6 und Nr. 19 der Berliner Sammlung angestellt sind. Die betreffenden beiden Rassen stammen aus untergärigen Bierhefen; sie sind mit den Namen „Hefe Saaz“ und „Hefe Frohberg“ belegt worden. Nach den Arbeiten von M. Irmisch ¹⁾ ist „Saaz“ eine niedrig vergärende, sich schwach vermehrende Rasse, „Frohberg“ eine hoch vergärende von starker Vermehrungsfähigkeit. Der sogenannte scheinbare Endvergärungsgrad ²⁾ beträgt bei „Saaz“ 52 bis 55, bei „Frohberg“ 62 bis 65. Entsprechend der geringeren Menge umgesetzten Zuckers entwickelt „Saaz“ bei gleicher Aussaat aus gleichen Würzemengen weniger Kohlensäure als „Frohberg“. Das Verhältnis der entwickelten Kohlensäuremengen ist etwa 4:5. Trotz der niedrigeren Endvergärungen ist „Saaz“ am Anfang der Gärung stets „Frohberg“ voraus. Diese Unterschiede sind bei wechselnder Konzentration der Würze (8 bis 20° Balling), Hefeaussaat, Gärtemperatur, Lüftung und Gegenwart indifferenten Stoffe konstant.

¹⁾ Durch A. Kochs Jahresbericht 2, p. 123, 1891 und Dinglers Polytechn. Journ. 289, p. 83, 1893.

²⁾ Berechnet aus den Graden Balling der Würze vor und nach der Vergärung.

Maltosearme Würzen erniedrigen den Vergärungsgrad beider Hefen, immer aber vergärt „Frohberg“ 7 bis 10 % mehr als „Saaz“. Die von „Saaz“ unvergoren gelassenen Würzebestandteile können von „Frohberg“ noch teilweise vergoren werden. Nur Diastasezusatz vermag „Saaz“ zu höherer Endvergärung (bis 70) zu bringen.

Die letztere Thatsache scheint uns einen Fingerzeig für die Erklärung dieser Erscheinungen zu bieten. Danach müsste man annehmen, dass „Frohberg“ eine enzymische Wirkung, wie die der Diastase, auszuüben vermöchte und dass nur diese es sei, die „Saaz“ fehle. Gleiche man diesen Mangel durch Diastasezusatz aus, so liefert auch „Saaz“ hohe Endvergärungen. Der Unterschied würde also nicht im Gärvermögen, sondern in der Enzymproduktion liegen. Diese Erklärung ist jedoch nicht richtig, denn sie genügt nur der einen eben erwähnten Thatsache, nicht aber den übrigen jetzt noch aufzuzählenden. Die Zuckerart, die „Saaz“ im Gegensatz zu „Frohberg“ nicht vergären kann, ist Isomaltose. Die Sache liegt aber nicht etwa so, dass „Saaz“ die gesamte Isomaltose der Würze unvergoren hinterlässt, sondern sie vergärt einen Teil derselben und vermag nur einem Reste nichts mehr anzuhaben. Wollte man diese Erscheinung in den Rahmen der vorhin gegebenen Erklärung einzwängen, so müsste man annehmen, die Würze enthielte zweierlei verschiedene Isomaltosen, eine α - und eine β -Isomaltose. Die erstere wäre durch „Saaz“ direkt vergärbar, die letztere erst nach Einwirkung eines in „Saaz“ fehlenden, in „Frohberg“ jedoch sich findenden Enzyms. In der That haben sich Arminius Bau und nach ihm Munsche¹⁾ zur Aufstellung einer solchen Hypothese entschlossen. Es ist keine weitere Erscheinung bekannt, die die Annahme der Existenz zweier verschiedener Isomaltosen rechtfertigt; die Hypothese steht daher schon aus diesem Grunde auf schwachen Füßen. Sie erscheint um so überflüssiger, als auch unter Zuhilfenahme derselben Thatsachen übrig bleiben, die durch sie nicht erklärt werden können. Hierher gehört die von Prior²⁾ aufgefundene Erscheinung, dass alle Zuckerarten der Bierwürze, insbesondere auch die Isomaltose, sowohl durch „Frohberg“, wie durch „Saaz“ so gut wie vollständig vergoren werden, sofern nur gewisse Bedingungen inne gehalten werden. Diese Bedingungen sind: Anwendung grosser Hefemengen, starke Lüftung und Entfernung der flüchtigen Gärungsprodukte. Bei Innehaltung dieser Kautelen

¹⁾ Durch Forschungsberichte über Lebensmittel etc. 2, p. 122, 1895.

²⁾ Durch Chemikerzeitung 19, Repert. p. 167, 1895.

erhielt Prior für Hefe „Frohberg“ einen Vergärungsgrad von 95.9, bei Hefe „Saaz“ einen solchen von 89.0. Auch hier bleibt die Differenz im Vergärungsgrad bestehen, obwohl in einen wie im anderen Falle die gesamte Isomaltose vergoren ist. Es kann also unmöglich das Verhalten gegen eine hypothetische β -Isomaltose die Ursache der Verschiedenheiten in der Endvergärung durch die beiden Heferassen sein. Schon in Irmischs Arbeit sind Versuche mitgeteilt, die den gleichen Schluss rechtfertigen. Durch Diastasezusatz wird — wie wir sahen — die Endvergärung von „Saaz“ auf 70 hinaufgedrückt. Versetzt man jedoch Saazer Bier mit Diastase und Frohberghefe, so steigt die Endvergärung auf 79. Denselben Impuls nach vorwärts, den „Saaz“ durch Diastase empfängt, erhält auch „Frohberg“. Vergärt jetzt „Saaz“ die Isomaltose, so vergärt „Frohberg“ ein entsprechendes Plus an Dextrinen; und diesen konstanten Unterschied der Endvergärung zeigen die beiden Hefen nicht nur gegen Bierwürze, sondern auch gegen Rohrzucker. Auch das hat schon Irmisch an 15 %igen Rohrzuckerlösungen konstatiert und Reinke¹⁾ hat es bestätigt. Nach des letzteren Versuchen vergärt „Saaz“ Dextrose vollständig, wenn auch träge. „Frohberg“ vergärt auch Invertzucker vollständig, „Saaz“ lässt immer einen Teil der Lävulose unvergoren zurück²⁾).

Aus allem, was hier mitgeteilt wurde, geht klar hervor, dass das verschiedenartige Verhalten der beiden Heferassen nicht durch ein Unvermögen der Saazer Hefe gegen gewisse Zuckerarten erklärt werden kann. Unter fast allen Bedingungen und unabhängig von der Gegenwart eines bestimmten Zuckers ergibt „Frohberg“ immer eine höhere Vergärung als „Saaz“. Von diesem Standpunkte aus versuchte kürzlich Prior³⁾ eine Erklärung dieser Erscheinungen, die wenigstens in ihren Grundgedanken viel Beachtenswertes enthalten dürfte. Prior meint, der Vorgang der Gärung verlief im Innern der Hefezelle. Das erscheint insofern berechtigt, als wenigstens die enzymische Spaltung der Maltose in zwei Moleküle Dextrose im Innern der Hefezelle ihren Ver-

¹⁾ Dinglers polyt. Journ. 289, p. 83, 1893.

²⁾ Bau (Dinglers Polyt. Journ. 297, p. 238, 1895) glaubt übrigens diese Angaben über die Gärwirkung der Hefe „Saaz“ in Rohrzuckerlösungen nicht bestätigen zu können.

³⁾ Ueber die Erklärung der Gärungserscheinungen. Forschungsberichte über Lebensmittel etc. 2, p. 312—320, 1895. — Die Beziehungen des osmotischen Druckes zu dem Leben der Hefe und den Gärungserscheinungen. Bayr. Brauer-Journ. 6, p. 205—208 und 217—219, 1896.

lauf nimmt. Eine solche Spaltung geht nach Emil Fischers Untersuchungen ¹⁾ der Vergärung der Maltose voraus. Will man das betreffende Enzym gewinnen, so muss man nach Fischer die Hefe mit Glaspulver verreiben, um die Zellen zu öffnen oder die zuvor getrocknete Hefe sehr fein zerreiben und mit Wasser ausziehen. Ein direkter wässriger Auszug frischer Hefe spaltet die Maltose nicht. Damit scheint bewiesen zu sein, dass Maltose erst auf dem Wege der Diffusion in das Zellinnere einwandern muss, ehe sie einer alkoholischen Gärung anheimfallen kann. Aehnliche Verhältnisse scheinen nach C. J. Lintners ²⁾ Untersuchungen bei der Isomaltose vorzuliegen. Dagegen kann die enzymische Spaltung des Rohrzuckers in Dextrose und Lävulose ausserhalb der Zelle verlaufen. Das Invertin, das dieselbe bewirkt, ist, im Gegensatz zu dem maltosespaltenden Enzym, diffusibel und kann durch wässrige Extraktion aus frischer Hefe gewonnen werden. Onimus ³⁾ hat das osmotische Vermögen des Invertins direkt nachgewiesen, indem er zeigte, dass, wenn sterilisierte Rohrzuckerlösung von Hefebrei durch eine Membran getrennt ist, dennoch Inversion erfolgt.

Prior verallgemeinert die — wie wir sahen — nur für die Maltose und Isomaltose nachgewiesene Thatsache, und setzt den Eintritt jedes Zuckers in das Innere der Hefenzelle auf osmotischem Wege als Bedingung seiner Vergärung voraus. Ist diese Voraussetzung richtig, so muss die Durchdringlichkeit der Zellhaut, ihre grössere oder geringere Eignung für den osmotischen Vorgang von Einfluss auf den Gärverlauf sein. Die leicht diffusiblen Kohlehydrate werden innerhalb gleicher Zeiten in grösseren Mengen durch die Zellhaut wandern, als die schwerer diffusiblen. Die verschiedenen Zuckerarten werden daher verschieden schnell vergären; es wird von den schwer diffusiblen noch etwas übrig sein, wenn die leicht diffusiblen schon vollständig vergoren sind. Endlich kann durch die Ansammlung der Produkte der Gärung die Zusammensetzung der Gärflüssigkeit so verändert werden, dass sie durch die Haut der Hefe nicht mehr diffundiren kann. Dieser Zustand wird bei manchen Rassen erst erreicht werden, wenn sämtlicher Zucker vergoren ist; bei anderen wird er bereits eintreten, wenn noch unvergorener Zucker übrig ist. Alle vorhin beschriebenen Erfahrungen über die Unterschiede

¹⁾ Einfluss der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **27**, p. 2985—2993 und 3479—3483, 1894.

²⁾ Chemikerzeitung **19**, Repert. p. 6, 1895.

³⁾ Dinglers polytechn. Journ. **297**, p. 236, 1895.

der Endvergärung bei den verschiedenen Heferassen lassen sich also zwanglos erklären, wenn man voraussetzt, dass sich diese Rassen in der Struktur ihrer Zellhaut unterscheiden. Soweit lässt sich in der That gegenwärtig kaum etwas gegen die Priorsche Theorie einwenden; die speziellen Anwendungen, die ihr Urheber davon gemacht hat, und die wir hier nicht näher berühren, bedürfen vermutlich noch einer kritischen Sichtung.

Eine Heferasse von noch höherem Endvergärungsgrad als „Frohberg“ beschrieben von L a e r und D e n a m u r ¹⁾). Dieselbe stammt aus der Brauerei von Logos & Co. in Rio de Janeiro; sie wird „Logoshefe“ genannt. Dieselbe erzielte in einer Würze, die von „Saaz“ bis zu einem scheinbaren Endvergärungsgrad von 54, von „Frohberg“ bis zu 63 vergoren wurde, unter denselben Bedingungen eine scheinbare Endvergärung von 71. Durch Diastasezusatz wurde der Vergärungsgrad bei allen drei Hefen erhöht. Auch unter rein gezüchteten obergärigen Bierhefen sind Rassen von verschiedener Vergärungsgrenze aufgefunden worden, ebenso unter den Weinhefen. Gewisse Rassen unter diesen lassen einige Zehntelprozent unvergorenen Zuckers mehr im Wein zurück als andere ²⁾).

Einen Unterschied zwischen allen obergärigen Heferassen einerseits und allen untergärigen andererseits fand B a u ³⁾ in ihrem Verhalten gegen Raffinose. Erstere spalten diese Zuckerart in Lävulose und Melibiose, ein Disaccharid, das aus einem Dextroserest und einem Galaktoserest sich zusammensetzt. Die Lävulose wird vergoren, die Melibiose bleibt unangetastet zurück. Untergärige Hefen vergären dagegen die Raffinose vollständig.

Auf viele der erwähnten Unterschiede der Heferassen in ihrem Verhalten gegen verschiedene Zuckerarten hat man Verfahren zur analytischen Trennung der einzelnen Zucker zu begründen versucht. Es erscheint zweifellos, dass dieses Prinzip der „physiologischen Analyse“ in einzelnen Fällen recht wohl mit Nutzen angewendet werden kann. Einer allgemeinen Einbürgerung hat es sich bisher noch nicht zu erfreuen.

Wie die Heferassen in ihrem Verhalten gegen die Zuckerarten und mit Bezug auf die Vergärungsgrenze Unterschiede aufweisen, so

¹⁾ Notice sur une levure à atténuation-limite très élevée. *Moniteur scientifique* [4] 9, p. 499—503, 1895.

²⁾ C. Amthor, Ueber Weinhefen. *Zeitschr. f. angew. Chemie* 1889. p. 5.

³⁾ Ueber Melitriose und deren quantitative Bestimmung. *Chemikerzeitung* 18, p. 1794—1799, 1894.

differieren sie auch in Beziehung auf alle anderen Verhältnisse, die bei der Gärung in Betracht kommen. E. Borgmann¹⁾, der die ersten chemischen Untersuchungen an Bieren angestellt hat, die im Grossbetriebe mit Hefereinkulturen gebraut waren, fand, dass zwei solcher Biere, die jedes mit einer anderen Heferasse erzeugt waren, in ihrem chemischen Charakter sich deutlich verschieden erwiesen. Gleichzeitig zeigte er, dass derartige Biere relativ viel ärmer an Glycerin waren, als die gewöhnlichen Biere, die mittels eines Gemisches verschiedener Hefearten hergestellt werden. Bei letzteren schwankt nach Borgmanns damaligen Erfahrungen das Verhältnis des Alkohols zum Glycerin von 100:5,50 bis 100:4,14. Bei den beiden Reinhefebieren betrug dieses Verhältnis 100:2,63, bezw. 100:3,24. Ebenso fand Amthor²⁾ bei seinen bereits erwähnten Brauversuchen im kleinen bei den mit reingezüchteten Bierhefen gewonnenen Bieren das betreffende Verhältnis in den Grenzen 100:1,66 bis 100:2,99. Die Thatsache einer geringen Glycerinproduktion bei Reinhefegärungen ist auch bei Vergärungen sterilisierten Mostes mit reingezüchteter Weinhefe beobachtet worden. So schon durch Amthor³⁾ selbst; vor allem aber neuerdings im Verlauf der sehr umfangreichen Arbeiten von Wortmann⁴⁾. Wir schicken voraus, dass im Wein, wie er durch spontane Gärung des Mostes erhalten wird, Glycerin und Alkohol mit kaum beachtenswerten Ausnahmen in einem Verhältnis stehen, das innerhalb 7:100 und 14:100 schwankt. Anders bei den Reinzüchtgärungen! In einer ersten Versuchsreihe vergor Wortmann denselben sterilisierten Rosinenmost mit 27 verschiedenen reinen Weinhefen. Bei 23 derselben blieb das Glycerin-Alkohol-Verhältnis unter dem Minimum von 7:100 zurück. Die absolute Menge des gebildeten Glycerins schwankte von 0,52 g bis 0,73 g in 100 ccm des entstandenen Weines. Noch viel auffallender sind die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe. Hier wurden 41 verschiedene sterilisierte Traubenmoste, jeder mit denselben zwei verschiedenen Weinheferassen, 25 davon auch mit einer dritten Rasse in gleicher Weise vergoren. So wurden 107 verschiedene Weine erhalten. Nur sechs davon zeigten ein Glycerinverhältnis von 7:100 und mehr. Alle übrigen blieben darunter.

¹⁾ Zur chemischen Charakteristik durch Reinkulturen erzeugter Biere. Zeitschr. f. analyt. Chem. **25**, p. 532—535, 1886.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **12**, p. 64—71, 1888.

³⁾ Zeitschr. f. angew. Chem. 1889, p. 5.

⁴⁾ Untersuchungen über reine Hefen. Landw. Jahrbücher **21**, p. 901—936, 1892 und **23**, p. 536—585, 1894.

Bei 17 schwankte es von 6,00 bis 6,99:100, bei 55 von 5,00 bis 5,99:100, und bei den übrigen 29 kamen auf 100 Teile Alkohol weniger als 5 Teile Glycerin. Das niedrigste beobachtete Verhältnis betrug 3,85:100.

Man kann aus den mitgeteilten Untersuchungen den Schluss ableiten, dass die reingezüchteten Heferasen in der Glycerinproduktion sich nicht nur voneinander unterscheiden, sondern auch ein von den Hefemischungen durchaus abweichendes Verhalten zeigen. Es ist eine charakteristische Eigenschaft eines durch absolute Reinkultur erhaltenen Bieres oder Weines, relativ arm an Glycerin zu sein. Eine Erklärung dafür, warum im Gegensatz hiezu durch die physiologische Konkurrenz mehrerer Heferasen die Glycerinbildung im Verhältnis zum Alkohol vermehrt wird, ist bisher noch nicht versucht worden. Es muss übrigens bemerkt werden, dass — soweit Versuche von Thylmann und Hilger¹⁾ einen Schluss zulassen — ein solcher prinzipieller Unterschied von Mischhefe und Reinzuchtheferasse, wie er im Verhalten gegen Würze und Most zu Tage tritt, bei der Vergärung von Zuckerlösungen nicht zu bestehen scheint.

Auch in allen anderen Beziehungen ist die geleistete chemische Arbeit von der Heferasse abhängig. Das gilt insbesondere auch von der Bildung der eigentlichen Hauptprodukte der Gärung: des Alkohols und der Kohlensäure. In Wortmanns Versuchen mit dem Rosinenmost schwankte der Alkoholgehalt der mit 27 verschiedenen Heferasen unter sonst gleichen Gärungsbedingungen erhaltenen Weine zwischen 9,24 und 10,85 Gewichtsprozent. Die im Verlaufe der Gärung aus je 100 ccm Most erzeugten Kohlensäuremengen lagen zwischen 10,20 und 10,65 g. Ein Zusammengehen dieser Schwankungen zwischen der Produktion von Kohlensäure einerseits und von Alkohol andererseits, etwa derart, dass sie gleichzeitig ansteigen und abfallen, lässt sich dem vorliegenden Beobachtungsmaterial nicht entnehmen.

Von den Nebenprodukten der alkoholischen Gärung sind es insbesondere die freien Säuren, die — obwohl nur in geringen Mengen entstehend — den Geschmack des erhaltenen Produktes sehr wesentlich beeinflussen. Ausser der Bernsteinsäure, deren Auftreten als regelmässiges Produkt der Alkoholgärung bekanntlich Pasteur näher studierte, bilden sich insbesondere auch leicht flüchtige Säuren. Man

¹⁾ Ueber die Produkte der alkoholischen Gärung mit spezieller Berücksichtigung der Glycerinbildung. *Archiv f. Hygiene* 8, p. 451—467, 1889.

beobachtet sie auch bei Gärungen, die im Pasteurkolben mit Reinzuchthefer angestellt werden. Ihre Entstehung gehört daher zweifellos zum Bilde der normalen alkoholischen Gärung. Andererseits ist es selbstverständlich, dass nicht immer die ganze Menge der in den alkoholischen Getränken sich findenden Säuren, insbesondere der Essigsäure und Milchsäure, auf diesem Wege entstanden ist. Diese können vielmehr, namentlich sobald sie in grösseren Mengen auftreten, ihren Ursprung einer direkten Infektion mit spezifischen Bakterien verdanken. Bereits Borgmanns Analysen zweier Reinhefebiere zeigen wesentliche Unterschiede in der Menge an freien Säuren. Versuche, die Prior¹⁾ mit 17 verschiedenen rein gezüchteten Bierheferassen anstellte, ergaben gleichfalls sehr namhafte Schwankungen und zwar sowohl in Beziehung auf die nichtflüchtigen Säuren, als auch in Beziehung auf die flüchtigen. Die Menge der ersteren, berechnet als Bernsteinsäure, lag zwischen 0,012 und 0,032 g in 100 ccm vergorener Würze; die der letzteren, berechnet als Essigsäure, zwischen 0,013 g und 0,035 g in 100 cm. Diesen Resultaten sind die von Amthor²⁾ mit Weinhefen erhaltenen völlig conform. Aus einem sterilisierten Most von 0,003 g flüchtiger Säure in 100 ccm (berechnet als Essigsäure) wurden mit verschiedenen Heferassen Weine erhalten, deren Gehalt an flüchtiger Säure zwischen 0,015 und 0,081 g in 100 ccm schwankte.

Allenthalben, wo wir hinsehen, gewahren wir so Unterschiede in der chemischen Arbeit der verschiedenen Heferassen. In gleichem Masse sind auch die sonstigen Gärungsphänomene, die mit dem rein chemischen Vorgange nicht in direktem Zusammenhange stehen, von der angewendeten Heferasse abhängig. Das gilt in gleicher Weise von der Gärdauer, wie von der Schaumbildung, von der Schnelligkeit der Klärung am Schlusse der Hauptgärung, wie von dem makroskopischen Aussehen, der Struktur und schliesslich auch der Menge der neugebildeten Hefe.

Die Heferassen behalten die erwähnten Unterschiede in ihrem physiologischen Verhalten bei, auch wenn die Zusammensetzung des gärenden Substrates innerhalb gewisser Grenzen schwankt. Das geht insbesondere aus Wortmanns Arbeit über die Weinhefen hervor. Wir haben schon weiter oben gehört, dass er 41 verschiedene sterilisierte Traubenmoste durch drei der von ihm isolierten Weinheferassen vergoren hat. Das Gärmaterial stammt aus den verschiedensten deutschen

¹⁾ Chemikerzeitung **19**, Repert. p. 72, 1895.

²⁾ Zeitschr. f. angew. Chem. 1889, p. 5.

Weinbaugebieten: aus dem Elsass, von der Mosel, der Ahr, der Nahe, aus der Pfalz, aus Rheinhessen, dem Rheingau und aus Franken. Es wies in seiner chemischen Zusammensetzung ziemlich grosse Differenzen auf. Trotzdem erwiesen sich die spezifischen Unterschiede der Hefen beim Wechsel des Gärmaterials im grossen und ganzen als konstant. Das gilt hauptsächlich in Beziehung auf Hefevermehrung, Verbrauch von Extraktstoffen bei der Gärung, Glycerinproduktion und — wenn auch minder deutlich ausgeprägt — in Beziehung auf die Menge des gebildeten Alkohols. Freilich nicht so, dass dieselbe Hefe in allen 41 Fällen etwa mehr Extraktstoffe bei der Gärung verbraucht hätte als eine bestimmte andere. Doch traf dies beispielsweise in dieser Beziehung in 36 Fällen — also der stark überwiegenden Mehrzahl — zu. Man kann auf Grund der Wortmannschen Versuche sagen, dass Umprägungen der einmal festgestellten Rasseeigentümlichkeiten mit dem Wechsel der Zusammensetzung des Nährsubstrates, so lange sich dieser innerhalb der in der Praxis vorkommenden Grenzen hält, zu den Ausnahmen gehören werden. In der Regel wird vielmehr dieselbe Heferasse in verschiedenen Mosten, und wohl auch in verschiedenen Würzen und Maischen, Gärungen hervorrufen, in denen sie ihre charakteristischen Eigenschaften in gleicher Weise äussert. Es ist selbstverständlich, dass trotzdem nicht absolut gleiche Gärungsprodukte erhalten werden. Aus einem zuckerarmen Moste wird auch die mehr Alkohol produzierende Hefe geringere absolute Mengen davon bilden, als eine weniger produzierende aus zuckerreichem Moste.

Man hat bisher davon abgesehen, das grosse Chaos der Heferasen in ein botanisches System einzuzwängen, obwohl man mit Hilfe der vorstehend beschriebenen Merkmale im stande ist, sie mit Sicherheit voneinander zu unterscheiden. Ein Versuch in dieser Richtung würde auch zur Zeit vergeblich sein. Man hat sich vielmehr mit einer Gruppierung der Rassen mit Rücksicht auf ihre praktische Verwendung begnügt. Hansen selbst unterscheidet zunächst nur zwischen „Kulturhefe“ und „wilder Hefe“. Unter ersterer versteht er nicht etwa, wie man irrtümlich zuweilen meint, in Reinkultur gezüchtete; für solche ist der Name „Reinzuchthefer“ üblich. Als Kulturhefen bezeichnet er vielmehr solche, die in der Technik in bewusster Weise nach stets gleichen Grundsätzen weiter gezüchtet werden, ganz abgesehen davon, ob sie rassenrein sind oder nicht. Die Stellhefe unserer Untergärungsbrauereien, die seit langen Zeiten unter gleichen Bedingungen am Schluss der Hauptgärung nach dem

Abzapfen des Bieres zu neuer Würze von gleicher Zusammensetzung gebracht wird, um diese in Gärung zu versetzen, ist eine Kulturhefe. Zu den wilden Hefen gehören die in der Luft oder die auf der Schale der Weintrauben vorkommenden Saccharomyceten. Die Kulturhefen und wilden Hefen stehen also zu einander in derselben Beziehung, wie die Haustiere zu den wild lebenden Tieren der gleichen Art, wie Gestütpferde zu den frei lebenden Pferden der südamerikanischen Steppen, wie die landwirtschaftlichen Kulturpflanzen zu ihren wild wachsenden Schwestern. Jörgensen¹⁾ gruppiert die Hefen in untergärige und obergärige und unterscheidet diese wieder, je nachdem sie schnell und langsam klären, sowie nach dem durch sie zu erreichenden Vergärungsgrad, in mehrere Abteilungen. Bau²⁾ macht den Versuch einer physiologischen Klassifikation der Bierhefen. Er stellt vier Gruppen auf: Typus Froberg obergärig, Typus Saaz obergärig, Typus Froberg untergärig und Typus Saaz untergärig. Als Hauptmerkmal benützt er das verschiedene Verhalten gegen die hypothetische β -Isomaltose. Nach dem, was oben hierüber mitgeteilt worden ist, wird man dieser Klassifikation grosse Bedenken entgegenbringen müssen. Will³⁾ hat sich ausserdem prinzipiell gegen eine Einteilung aus rein physiologischen Gesichtspunkten ausgesprochen, die das morphologische und entwicklungsgeschichtliche Moment gar nicht berücksichtigt. Er erinnert mit Recht daran, dass weder für „Froberg“, noch für „Saaz“ bisher Sporenkurven mitgeteilt sind und hält es für zweifelhaft, ob — wenn erst die für die Systematik wertvollen Momente studiert sind — ihnen der Charakter von Typen bleiben kann.

Welche Bedeutung haben nun all diese Resultate wissenschaftlicher Forschung, von denen wir bisher gesprochen haben, für die Praxis der Gärungsgewerbe gewonnen? Ehe wir diese Frage beantworten, müssen wir einer äusserst wichtigen Entdeckung Hansens gedenken, die er unmittelbar nach der Herstellung seiner ersten Reinkulturen machte und die ihn veranlasste, mit aller Energie die Anwendung rein gezüchteter Hefe im Grossbetriebe der Brauereien anzustreben. Er fand⁴⁾ im Gegensatze zu Pasteur, dass die Krankheiten

¹⁾ Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 3. Aufl. Berlin 1892. p. 165.

²⁾ Der Sammelbegriff *Saccharomyces cerevisiae*. Durch Dinglers polytechn. Journ. 297, p. 237, 1895.

³⁾ Forschungsberichte über Lebensmittel etc. 2, p. 100, 1895.

⁴⁾ *Maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliques. Résumé du compte-rendu etc.* 2, p. 52—59, 1883 und Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie 2, p. 41—105. München 1892.

des Bieres nicht ausschliesslich durch Bakterien veranlasst werden, sondern unter Umständen auch durch echte Saccharomyceten hervorgerufen werden können. Zu diesen „Krankheitshefen“, wie er sie nennt, gehören z. B. der *S. ellipsoideus* II und der *S. Pastorianus* III, deren Sporenkurven wir vorhin mitgeteilt haben. In ihnen erkannte er die Ursache einer sehr gefürchteten Bierkrankheit, der sogenannten Hefetrübung. Sie äussert sich darin, dass das in den kalten Lagerkellern gelagerte klare und scheinbar fehlerfreie Bier leicht einen Hefebodensatz bildet, sobald es einige Tage bei höherer Temperatur, etwa Zimmerwärme, verweilt. Bei der geringsten Bewegung wird dieser Bodensatz aufgerüttelt und trübt das Bier. Dasselbe ist bei starker Entwicklung der Krankheit schon ein paar Tage nach dem Abziehen auf die Zapffässer oder in Flaschen völlig ungeniessbar. Hansens Untersuchungen zeigten, dass die genannten beiden Heferassen die Krankheit veranlassen, wenn sie zu Beginn der Hauptgärung im Bier zugegen sind, also mit der Stellhefe der Würze zugegeben werden. Selbst wenn die Krankheitshefe nur $\frac{1}{41}$ der Stellhefe ausmacht, kann die Krankheit noch eintreten. Eine andere Krankheitshefe ist der *Saccharomyces Pastorianus* I, von dem wir ebenfalls schon gesprochen haben. Ist er in der Stellhefe vorhanden, so lässt bereits die gärende Würze am Ende der Hauptgärung einen unangenehmen Geruch und bitteren Geschmack erkennen. Diese üblen Eigenschaften sind im fertigen Biere noch stärker ausgeprägt. Hansens Untersuchungen haben ergeben, dass in beiden Fällen, bei der Hefetrübung und der Geschmacksverderbnis, die Krankheitshefen nur bei Beginn der Hauptgärung gefährlich sind. Eine später erfolgende Infektion ruft keine Bierkrankheiten hervor. Dieselben lassen sich also vermeiden, wenn man dafür sorgt, dass Krankheitshefen in der Anstellhefe nicht vorhanden sind und wenn man zu gleicher Zeit die Möglichkeit fern hält, dass sich die Würze auf anderem Wege, etwa aus der Luft, damit infiziert. In ähnlicher Weise wie Hansen haben auch andere Forscher: Grönlund, Kokosinski, Lasche, Will, Krieger, Windisch und Lindner die Ursachen bestimmter Bierkrankheiten auf die Wirkung spezifisch wirkender Saccharomycesrassen zurückführen können.

So war denn der Brauereitechnik in ganz ausgesprochener Weise die Notwendigkeit geboten, rein gezüchtete Hefen zu verwenden, wenn sie sich vor dem Auftreten von Bierkrankheiten schützen wollte. Es genügte nicht — wie Pasteur gemeint hatte — die Bakterien fern zu halten. Bakterienfreie Hefe kann eben immer noch Krankheitshefen enthalten; es müssen auch diese aus der Stellhefe entfernt

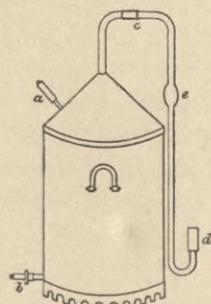
werden. Es kann sich nur noch um die Frage handeln, ob das allein genügt, ob es hinreichend ist, eine Mischung verschiedener Heferassen zu benützen, unter denen sich keine einzige Krankheitshefe befindet, oder ob die Anwendung einer Hefe, die nur Individuen einer einzigen Rasse enthält, geboten erscheint. Hansens Versuche, die im Grossbetriebe angestellt sind, gestatten die Beantwortung dieser Frage. Hansen mischte zwei rein gezüchtete Unterheferassen, die jede für sich ein normales, sich gut klärendes und haltbares Bier gaben. Diese Mischungen benützte er als Stellhefe. Das erhaltene Bier klärte sich nicht gut, es zeigte stellenweise schwache Hefetrübung, und die Haltbarkeit desselben war nicht befriedigend. Es ergibt sich hieraus die merkwürdige Thatsache, dass in Mischungen eine sonst sich normal verhaltende Brauereihefe als Krankheitshefe wirken kann. Es ist also einzig und allein richtig eine einheitliche, rein gezüchtete Heferasse als Stellhefe zu verwenden.

Sollte dieser berechtigten Forderung im Grossbetriebe der Brauerei Rechnung getragen werden, so musste zunächst die Aufgabe gelöst werden, Reinzuchtheferasse in hinreichend grossen Quantitäten herzustellen. Hansen ¹⁾ hat auch hiezu Wege gefunden und Apparate konstruirt. Die Darstellung geht immer von einer Reinkultur im kleinen aus, die in der früher beschriebenen Weise im Pasteurkolben, ausgehend von einer einzigen Zelle, hergestellt wird. Man kann solche Reinkulturen, wenn man sie nicht gleich benützen will, aufbewahren, indem man sie in 10%ige Rohrzuckerlösung bringt. In derselben hält sich die Hefe jahrelang unverändert und ohne ihre Lebensfähigkeit einzubüssen. Die sogenannten Hefesammlungen der grossen Reinzuchtanstalten werden wohl ausschliesslich so aufbewahrt. Eine der Sammlung entnommene Hefe muss nur vor der Benützung durch eine Kultur in Bierwürze aufgefrischt werden. Der Inhalt dieser kleinen Kultur wird in vier gläserne Pasteurkolben von 1¼ l Inhalt verteilt, die mit sterilisierter gehopfter Bierwürze gefüllt sind. Ihren Inhalt überlässt man eine Woche der Gärung. Dann hat sich bereits eine bemerkenswerte Menge Hefe auf dem Boden abgesetzt. Allein diese reicht noch nicht zur Uebertragung in den Grossbetrieb aus. Um sie genügend zu vermehren, überträgt man den Inhalt eines jeden Kolbens in ein anderes Gärgefäss, das je 7 l sterilisierter Würze ent-

¹⁾ Fabrication en grand de la levure pure. Résumé du compte-rendu etc. 2, p. 179—187, 1888 und Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie 1, p. 20—53. München 1888.

hält. Diese neuen Gefäße bestehen aus verzinnem Kupfer und sind in ihrer Konstruktion den Pasteurkolben nachgebildet. Man nennt sie gewöhnlich „Carlsberger Kolben“; Fig. 7 stellt einen solchen dar. Ein derartiger Kolben wird zunächst durch Auskochen mit Wasser sterilisiert und dann, nachdem das Wasser durch Oeffnen des Quetschhahnes *b* abgelassen ist, mit Würze gefüllt, die durch längeres Sieden ebenfalls sterilisiert wird. Während des darauffolgenden Abkühlens muss das S-förmige Rohr durch eine Flamme stark erhitzt werden, da ein blosses Verstopfen seiner Mündung mit Baumwolle nicht zur Sterilisation der eindringenden Luft ausreichen würde. Nach beendigter Abkühlung lässt man den Apparat noch eine Zeit lang stehen, da es für den Verlauf der folgenden Operationen sehr günstig ist, wenn die Würze Gelegenheit hat Luft zu absorbieren. Zu der so gelüfteten Würze wird dann in der uns bekannten Weise die ganze Hefe aus je einem Pasteurkolben durch die Oeffnung *a* hinzugegeben. Sie gerät in Gärung, und nach 8 Tagen ist soviel Hefe neu gebildet worden, dass der Inhalt unserer vier Carlsberger Kolben genügende Stellhefe für 1 hl Würze darstellt. Man kann damit im Gärkeller der Brauerei direkt eine solche Würzmenge anstellen und später, sobald sich der erste weisse Schaum — die ersten „Kräusen“, wie der Brauer sagt — zeigt, den Inhalt des Gärbottichs mit der 3- bis 4fachen Menge frischer Würze mischen. Die bei dieser Gärung erzielte Hefe kann dann als Stellhefe für neue Gärungen dienen.

Fig. 7.



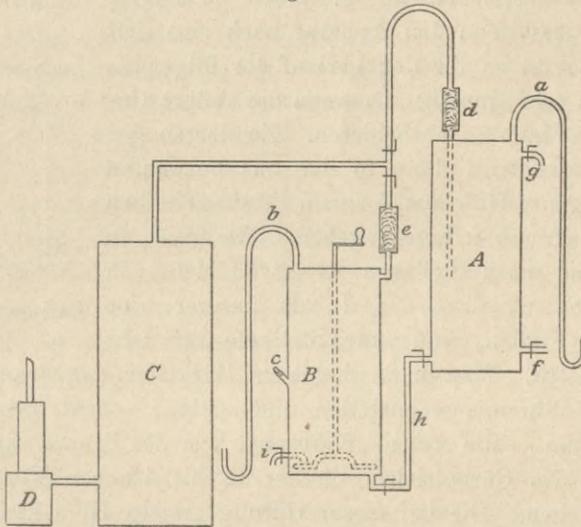
Carlsberger Kolben.

Es ist klar, dass die Hefe im Betriebe immer der Infektion mit wilden Hefen, eventuell mit Krankheitshefen ausgesetzt ist. Sie wird daher, wenn sie einige Gärungen durchgemacht hat, nicht mehr rein sein und durch neue ersetzt werden müssen. Es wäre sehr umständlich, so oft, als es der Betrieb erfordert, die neue Hefe jedesmal auf dem eben beschriebenen Wege in Pasteurkolben und Carlsberger Kolben heranzüchten zu müssen. Hansen konstruierte daher in Gemeinschaft mit Kühle, dem Direktor der Brauerei Alt-Carlsberg, einen Apparat zur kontinuierlichen Weiterzüchtung von reiner Hefe. In Fig. 8 ist eine schematische Skizze dieses sogenannten „Reinzuchtapparates“ wiedergegeben. Der Apparat besteht aus vier Teilen: dem Würzcyylinder A, dem Gärcylinder B, dem Luftbehälter C und der Luftpumpe D. Die durch letztere angesaugte Luft wird filtriert und dadurch

keimfrei gemacht und dann mit 1 bis 4 Atmosphären Ueberdruck in den Behälter C gedrückt. Der Würzecylinder und der Gärcylinder sind nichts anderes als in grösstem Massstab ausgeführte Pasteurkolben. Man erkennt leicht die S-förmigen Rohre a und b, sowie bei B auch den zweiten Hals c. Beide Cylinder kommunizieren mit dem Luftbehälter durch eine Röhrenleitung. In diese ist für jeden der Cylinder ein Baumwollfilter (d und e) eingeschaltet. Der Gärcylinder ist ausserdem noch mit einem Rührwerk versehen.

Vor Inbetriebsetzen sterilisiert man den ganzen Apparat durch

Fig. 8.



Schematische Skizze des Hefereinzuchtapparates von Hansen und Kühle.

Ausdämpfen. Den Gärcylinder lässt man allmählich sich abkühlen und beendet schliesslich die Kühlung durch Ueberrieseln mit kaltem Wasser. Der Würzecylinder wird am Schluss des Ausdämpfens durch die an seinem Boden befindliche Leitung f mit Würze beschickt. Dieselbe ist im Sudhaus auf Siedetemperatur erhitzt worden; wenn man sie dem Apparat möglichst heiss zuführt, so ist eine weitere Sterilisation nicht notwendig. Die Füllung geschieht bis zum Ueberlaufen des Hahnes g, dann werden f und g geschlossen. Der Cylinder fasst 170 l Würze. Nun bläst man vom Luftbehälter C aus sterilisierte Luft durch das Filter d eine Stunde lang in die Würze ein, um diese zu lüften. Die eingeblasene Luft entweicht natürlich durch das Rohr a. Ist die Würze genügend gelüftet, so kühlt man sie durch Ueberrieseln

des Cylinders mit kaltem Wasser auf 10° ab. Dann lässt man einen Teil durch die Leitung h in den Gärcylinder übertreten, so dass dieser bis zu seinem seitlichen Ansatzrohre c damit gefüllt ist. Hierauf säet man durch dieses Rohr c die in Carlsberger Kolben herangezüchtete Hefe in die Würze ein, schliesst c wieder und bringt, nachdem man umgerührt hat, den Rest der Würze noch hinzu. Jetzt beginnt die Gärung und mit ihr die Hefevermehrung. Die entwickelte Kohlensäure entweicht durch das Rohr b. Nach 10 Tagen hat sich das Bier geklärt und die Hefe sitzt auf dem Boden. Man lässt zunächst das Bier durch den Hahn i ab. Zugleich drückt man durch das Filter e Luft von B aus durch den Cylinder, um ein Eintreten der verunreinigten Aussenluft durch b zu verhindern. Im Würzecylinder muss mittlerweile wieder frische Würze gelüftet, abgekühlt, kurz für die Gärung fertig gemacht worden sein. Von dieser lässt man nach dem Abzapfen des Bieres etwas in den Gärcylinder übertreten, rührt damit die abgesetzte Hefe auf und zapft diesen Hefebrei durch den Hahn i ab. Man benutzt ihn direkt als Stellhefe. — Man hat im übrigen nur den Gärcylinder wieder mit Würze zu füllen. Der zurückgebliebene Rest der Hefe setzt diese in Gärung und vermehrt sich dabei, so dass wieder neue Stellhefe abgezapft werden kann. — So arbeitet der Apparat in der That kontinuierlich. Unsere Skizze und Beschreibung konnte nur ein Schema von seiner Einrichtung geben, sollte nur das Grundprinzip desselben erläutern. In der Wirklichkeit sind eine grosse Zahl feiner Detailkonstruktionen an ihm angebracht, und sind bei seinem Gebrauch eine Anzahl Vorsichtsmassregeln unerlässlich, die hier gar nicht erwähnt wurden. Beides führt dazu, die Möglichkeit einer Infektion fast vollständig auszuschliessen.

Ausser diesem ersten Hefereinzuchtapparate sind noch einige andere Konstruktionen in Gebrauch. Sie unterscheiden sich von der von Hansen und Kühle angegebenen hauptsächlich dadurch, dass sie statt zweier grosser Gefässe, eines besonderen Würzecylinders und eines Gärcylinders, nur eines besitzen. Nachdem die Gärung in demselben beendigt und das Bier abgezapft ist, wird ein Teil der gebildeten Hefe in ein besonderes kleines Hefefass übergeführt. Dasselbe ist mit dem Apparate dauernd verbunden und — wie natürlich auch alle anderen Teile desselben — sterilisiert und gegen Infektion geschützt. Dann erst entnimmt man die Hauptmenge der Hefe, die man in üblicher Weise als Stellhefe verwendet. Hierauf füllt man den Apparat mit frischer Würze, kühlt und lüftet dieselbe und bringt sie alsdann durch Hinzufügung der im Hefefass befind-

lichen Hefe in Gärung. So ist der Apparat von Bergh und Jörgensen¹⁾ eingerichtet; das gleiche Prinzip wird auch bei den beiden Apparaten von Lindner²⁾, dem kleinen wie dem grossen angewendet. Letztere gestatten ausserdem die Würze im Apparate selbst durch Aufkochen zu sterilisieren. Bei ihnen versieht auch die Durchlüftungsvorrichtung gleichzeitig die Stelle eines Rührwerks.

Die beschriebenen Apparate, und neben ihnen auch einige andere, hier nicht erwähnte Konstruktionen, haben sämtlich Eingang in die Praxis gefunden. Sie scheinen ihre Aufgabe alle in gleich guter Weise zu erfüllen, so dass es mehr Sache persönlicher Liebhaberei oder besonderer örtlicher Verhältnisse sein dürfte, welchem derselben man den Vorzug geben wird. Schon 1892 konnte Hansen³⁾ 149 Brauereien anführen, die derartige Reinzuchtapparate in Betrieb hatten. Darunter befanden sich allein in Deutschland 65 Untergärungs- und 2 Obergärungsbrauereien.

Neben diesen Betriebsstätten gibt es noch eine grosse Anzahl anderer, die gleichfalls Reinzuchthefer verwenden. Sie vermehren dieselbe jedoch nicht in eigenem Betriebe, sondern sie benützen die in der vorhin beschriebenen Weise in Carlsberger Kolben herangezüchtete Hefe, die sie meist käuflich beziehen, direkt zur Anstellung kleiner Gärbottiche. Die Zahl dieser Brauereien übersteigt zweifellos die erwähnte Zahl derjenigen um ein vielfaches, die eigene Reinzuchtapparate aufgestellt haben. Man kann behaupten, dass die Anwendung rein gezüchteter Stellhefe in allen Bier produzierenden Ländern heute zur Thatsache geworden ist. Von Jahr zu Jahr noch mehren sich die Betriebe, die das neue System aufnehmen.

Will eine Brauerei mit Erfolg Reinzuchthefer benutzen, so hat sie drei Gesichtspunkte im Auge zu behalten. Sie muss eine geeignete Heferasse verwenden; sie muss im stande sein, die Reinheit ihrer Stellhefe fortlaufend zu controlieren und sie muss schliesslich die Würze vor einer Infektion mit fremden Mikroorganismen schützen. Es ist selbstverständlich, dass nicht jede beliebige Heferasse sich für den Betrieb einer Brauerei eignet. Das geht schon aus dem hervor, was wir über die Unterschiede in der chemischen

¹⁾ A. Jörgensen, Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 3. Aufl. Berlin 1892. p. 188.

²⁾ Mikroskopische Betriebscontrole in den Gärungsgewerben. Berlin 1895. p. 80—93.

³⁾ Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie 2, p. 106—116. München 1892.

Arbeit der Rassen gehört haben. Es ist nicht gleichgiltig, ob man z. B. hoch oder niedrig vergärende, viel oder wenig Säure, viel oder wenig Glycerin produzierende Hefe verwendet. Es wäre grundfalsch, wollte eine Brauerei, die bisher mit Mischhefe gearbeitet hat und nun zur Reinzuchtheferasse übergehen will, sich eine beliebige Heferasse, die anderwärts zur Zufriedenheit gearbeitet hat, schicken lassen und sie benützen. Sie liefe dann Gefahr, auf einmal ein Bier zu erzeugen, das in seinem ganzen Charakter von dem bisher hergestellten verschieden ist und das von den seitherigen Konsumenten nicht mehr als ein gleichartiges Getränk anerkannt würde.

Auch kann es vorkommen, dass eine Heferasse, die aus einer Brauerei in eine andere verpflanzt wird, in dieser ganz andere Lebensbedingungen vorfindet, als die, an welche sie bisher gewöhnt war, z. B. eine Würze von anderer Beschaffenheit oder eine wesentlich andere Gärführung. Dann kann die Hefe unter Umständen ganz neue und unerwünschte Eigenschaften annehmen, da ja, wie wir sahen, die Rasseeigenschaften ein Korrelat der Lebensbedingungen sind. Eine solche Degeneration wird natürlich nicht auf einmal erfolgen, sondern erst allmählich. In der That sind entsprechende Fälle aus der Praxis bekannt geworden. So hat z. B. eine Reinzuchtheferasse, die 2 Jahre lang im Betriebe zur vollständigen Zufriedenheit arbeitete, dann — trotz weiterer absoluter Reinheit — derartige Eigenschaften angenommen, dass sie verworfen werden musste¹⁾. Der richtigste Weg, um solche Uebelstände zu vermeiden, wäre der, aus der bisher benützten Mischheferasse die vorwaltende Rasse durch Reinkultur zu isolieren und diese zu verwenden. Freilich sind auch so Aenderungen im Charakter des Bieres nicht völlig ausgeschlossen, doch werden sie minder auffallend sein. Man befolgt jedoch dieses theoretisch richtigere Verfahren durchaus nicht immer. Viele Brauereien benutzen vielmehr Heferassen, die aus anderen Betriebsstätten stammen und die ihnen um ihrer allgemeinen Eigenschaften willen passend erscheinen. Es lässt sich nicht leugnen, dass auch dieser theoretisch minder richtige Weg vielfach zu glänzenden Erfolgen geführt hat. Die Auswahl einer geeigneten Heferasse bietet in den meisten Fällen keine Schwierigkeiten; sie lässt sich nach Anstellung zweckmässig angeordneter Betriebsversuche mit einiger Sicherheit treffen.

Nicht ganz so günstig liegen die Verhältnisse in Beziehung auf die zweite Anforderung des Grossbetriebes: die Controle der Betriebs-

¹⁾ Vergl. H. Seyffert, Chemikerzeitung 20, Repert. p. 195, 1896.

hefe auf ihre Rassenreinheit. Methoden, die nach allen Richtungen hin befriedigen, fehlen uns noch vollständig, doch besitzen wir wenigstens eine, die uns die Prüfung auf Gegenwart oder Abwesenheit der drei wichtigsten Krankheitshefen: des *S. Pastorianus* I, des *S. Pastorianus* III und des *S. ellipsoideus* II gestattet. Sie ist von Hansen angegeben und von Holm und Poulsen¹⁾ näher studiert worden. Diese sogenannte „Analyse der Hefe“ beruht auf der Ascosporenbildung. Dieselbe erfolgt bei den drei genannten Krankheitshefen, wie auch aus der von uns mitgeteilten Tabelle²⁾ ersehen werden kann, bei 25° C. binnen 25 bis 28 Stunden. Eine Anzahl guter untergäriger Brauereiheferassen bildet ihre Sporen bei derselben Temperatur erst in 5 Tagen. Man kann demnach eine Infektion dieser letzteren mit einer der drei Krankheitshefen erkennen, indem man eine Gipsblockkultur bei 25° C. anlegt. Man untersucht die Kultur nach Ablauf von 30 Stunden mikroskopisch. Sind auch nur ganz vereinzelt Sporen in derselben zugegen, so ist der Verdacht der Gegenwart fremder Heferassen, eventuell einer der drei gefährlichen, gerechtfertigt. Holm und Poulsen zeigten, dass eine Verunreinigung der Stellhefe selbst mit einem halben Prozent der Krankheitshefen auf diese Weise erkannt werden kann. Es gibt jedoch andererseits eine ganze Anzahl guter Brauereiunterhefen, die selbst bei 25° C. innerhalb der angegebenen Zeit Sporen bilden. Sie können also nicht bei 25° C. analysiert werden. Es hat sich gezeigt, dass eine Verunreinigung dieser Rassen durch eine Cultur bei 15 bis 16° C. ermittelt werden kann. Die Krankheitshefen haben ihre Sporen bei dieser Temperatur sicher nach Ablauf von 72 Stunden gebildet, während die betreffenden Kulturhefen frühestens nach 82 bis 90 Stunden damit beginnen; meist jedoch noch später. Für die bisher in der Praxis angewendeten Untergärungsrassen hat sich diese Methode der Prüfung als ausreichend erwiesen. Sie kann nach Jörgensen³⁾ in ungefähr gleicher Weise auch zur Analyse der Braueroberhefe dienen. Sollten noch brauchbare Kulturheferassen aufgefunden werden, deren Sporenkurve bei keiner der beiden Temperaturen sich genügend von der der Krankheitshefen unter-

¹⁾ Jusqu'à quelle limite peut-on, par la méthode de M. Hansen, constater une infection de „levure sauvage“ dans une masse de levure basse de *Saccharomyces cerevisiae*? Résumé du compte-rendu etc. 2, p. 88—91, 1886 und 2, p. 137 bis 142, 1888.

²⁾ Vergl. p. 414.

³⁾ Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. 3. Aufl. Berlin 1892. p. 121.

scheidet, so wird man dennoch von Fall zu Fall eine geeignete Temperatur ausfindig machen, bei der die Analyse erfolgen kann.

Die dritte Forderung, die bei einer erfolgreichen Anwendung der Reinhefe im Brauereibetriebe erfüllt werden muss: das Fernhalten einer Infektion, ist schon von Pasteur aufgestellt worden. Um zu verstehen, an welcher Stelle hierzu mit Vorsichtsmassregeln eingegriffen werden muss, ist es nötig, dass wir uns in ganz grossen Zügen den Gang der Würzebereitung in das Gedächtnis zurückrufen.

Das mit Wasser angemaischte geschrotene Gerstenmalz wird in ganz bestimmter Weise allmählich auf 75°C . erwärmt. Nachdem so die diastatische Verzuckerung der Stärke des Malzes bis zu dem erwünschten Grade fortgeführt ist, filtriert man die fertige „Maische“ durch einen Seihboden von den Hülsen, den „Trebern“, ab. Das klare Filtrat, die „Würze“, wird dann in der Würzpfanne unter Zugabe von Hopfen aufgekocht. Nach beendigtem Kochen wird die Würze durch den Hopfenseiher von den Hopfenblättern getrennt und muss nunmehr auf die Gärtemperatur heruntergekühlt werden: bei Untergärung auf $+5^{\circ}\text{C}$., bei Obergärung auf $+10$ bis 15°C . Diese Kühlung geschah bis vor kurzem ganz allgemein, wenigstens im ersten Stadium so, dass man die Würze in „Kühlschiffe“ brachte. Das sind viereckige flache, aus Eisenblech genietete offene Behälter, in denen die Würze eine nicht mehr als 7,5 cm hohe Schicht bildet. Sie werden in einem luftigen Raum aufgestellt; ein paar Windmühlensflügel, die über dem Spiegel der Würze rotieren, sorgen noch ausserdem für fleissige Lufterneuerung. So erfolgt ausschliesslich durch Luftkühlung sehr rasch eine merkliche Herabminderung der Temperatur. Zu gleicher Zeit infiziert sich aber die Würze, die durch das anhaltende Kochen in der Würzpfanne sterilisiert worden war, mit unzähligen Keimen aller möglichen Mikroorganismen, darunter auch Krankheitshefen, die in der Luft enthalten sind. Will man diese Infektion vermeiden und die Würze bis zur Anstellung mit Reinzuchthefer in ihrem ursprünglichen sterilisierten Zustande erhalten, so muss man die offenen Kühlschiffe abschaffen und durch geschlossene Kühler ersetzen. Das hatte schon Pasteur gefordert, und er selbst und sein Schüler Velten hatten versucht, geeignete Apparate zu konstruieren. Zur wirklichen Einführung gelangten geschlossene Kühlapparate erst in Verbindung mit Hansens System.

Es genügt nicht, wie man wohl meinen könnte, die Kühlschiffe durch einen einfachen Röhrenkühler mit Gegenströmung des Kühlwassers zu ersetzen. Die Gelegenheit zur Sättigung der Würze mit

Sauerstoff, die sie auf den offenen Kühlschiffen findet, muss ihr auch in den geschlossenen Apparaten geboten werden. Diese „Durchlüftung“ der Würze ist notwendig für den guten Verlauf der später einzuleitenden Gärung. Die Kühlung unter Vermeidung des Kühlschiffes erfolgt in den besseren der dazu dienenden Apparate nach folgenden Prinzipien¹⁾: Die erste Kühlung wird in einem bedeckten cylindrischen Bottich vorgenommen. Sie geschieht entweder durch Ueberrieselung des äusseren, in diesem Fall aus Wellblech bestehenden Bottichmantels mit Kühlwasser, oder durch Einlegen einer Kaltwasserschlange. Dazu wird keimfreie Luft in den Bottich von unten her eingeblasen, um die Würze zu lüften. Beim Böhmischen Apparat wird die eintretende heisse Würze zu Regen verteilt, der der sterilisierten Luft entgegenströmt. Nachdem auf etwa 70° C. heruntergekühlt ist, stellt man das Lüften ein, um der Würze Gelegenheit zum Absetzen der noch in ihr enthaltenen Trubbestandteile zu geben. Dann folgt Fertiggühlung durch Flächenberieselung; d. h. man lässt die Würze aussen über horizontale Röhren laufen, die von kaltem Brunnenwasser oder Eiswasser durchflossen werden. Diese Berieselungskühler sind von luftdichten Mänteln umgeben, in denen keimfreie Luft zirkuliert. Die Sterilisation der Luft erfolgt für alle diese Apparate durch Luftfilter, von denen das Möllersche das verbreitetste ist. Bei ihm erfolgt die Filtration durch Tücher und die filtrierte Luft enthält maximal nur noch 100 Keime im Kubikmeter, ist also für praktische Zwecke hinreichend keimfrei. Andere Systeme arbeiten mit Wattefiltern; bei noch anderen bewegt sich die Luft gegen einen Regen, der aus einer Brause fliesst und gibt an das Wasser die meisten ihrer Keime ab.

Die Frage nach dem zweckmässigsten Ersatz der Kühlschiffe scheint noch nicht gelöst zu sein; dennoch wendet man sich mehr und mehr der Abschaffung derselben zu. Es ist selbstverständlich, dass bei der Benützung geschlossener Kühler die grösste Sorgfalt auf die Sterilisation der Apparate und der zugehörigen Leitungen zu verwenden ist, da sonst natürlich eine Vermeidung der Infektionsgefahr nicht zu erzielen ist.

Um eine Verhinderung der Infektion auf den späteren Stationen braucht man sich weniger zu sorgen. Selbst wenn fremde Mikroorganismen während der Hauptgärung in die Bottiche gerieten, wäre der Schaden nicht gross. Höchstens hätte man frische Stellhefe zu

¹⁾ Vergl. das zusammenfassende Referat, insbesondere nach Reinkes Arbeiten, in Dinglers polytechn. Journal **293**, p. 261 u. 304, 1894.

beschaffen. Die Krankheitshefen sind ja, wie wir schon wissen, nur zu Beginn der Hauptgärung gefährlich, nicht aber in den späteren Stadien. Es kommt alles nur darauf an, die Würze keimfrei bis in den Gärbottich zu bringen und sie da mit reiner Hefe zu stellen.

Überall da, wo man die Reinzuchthefer in gehöriger Weise in den Brauereibetrieb eingeführt hat, hat man auch sehr befriedigende Resultate erzielt. Wenn man die passende Heferasse auswählt, wenn man den Betrieb möglichst infektionssicher führt, und wenn man nach geschehener etwaiger Infektion wieder neue reingezüchtete Hefe einführt, dann wird man nicht nur jederzeit ein gesundes Bier erhalten, sondern auch immer ein solches von stets gleichmässiger Beschaffenheit herstellen. Aus diesen Gründen erfährt schon heute die Reinzuchthefer eine sehr weitgehende Benutzung in Untergärungs- und Obergärungsbrauereien, und sicher gehört ihr auch die Zukunft.

Hat sich so die Einführung der Reinzuchthefer in das Braugewerbe rasch und ohne einschneidende Umwälzungen vollzogen, so ist die Sachlage völlig anders auf dem Gebiete der Weinbereitung. Hier stehen wir noch mitten im Stadium des Probierens. Noch herrscht ein lebhafter Widerstreit der Meinungen, ob die Anwendung reiner Hefe wirklich von solchem Nutzen sei, dass es sich lohne ihr zuliebe vom altgewohnten zu lassen. Bisher — daran muss erinnert werden — bedurfte es zur Weinbereitung überhaupt keines Hefezusatzes. Dem Most teilen sich die auf den Schalen der Trauben sitzenden Mikroorganismen mit. Unter diesen befinden sich so viele Hefezellen, dass spontan eine Gärung entsteht. Ist also das Bier einerseits seit jeher das Produkt von Kulturhefer, so ist der Wein andererseits ein Erzeugnis der chemischen Arbeit wilder Hefen. Die Würze können wir sterilisieren und keimfrei erhalten und uns so die reine Wirkung einer eingesäeten Reinzuchthefer sichern. Darauf müssen wir beim Most verzichten. Ein Sterilisieren desselben durch Aufkochen ist unmöglich, denn es würden nicht nur Geruch und Geschmack des Weines dadurch in ungünstiger Weise beeinflusst werden, der Most würde auch langsamer und meist auch unvollständiger vergären, als sonst¹⁾. Noch weniger aber kann man mit Rücksicht auf den späteren Wein an eine Befreiung des Mostes von seinen Mikroorganismen durch

¹⁾ H. Müller-Thurgau, Neue Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der Weingärung und deren Bedeutung für die Praxis. Bericht über die Verhandl. des XI. deutsch. Weinbaukongresses in Trier. Mainz 1890. p. 80–100.

starkes Einschweifeln denken, trotzdem das Schnell¹⁾ als „nicht unmöglich“ hinstellt. Ist man demnach gezwungen, auf eine Sterilisation des Mostes zu verzichten, so bleibt nur übrig, zu fragen, ob eine Einsaat rein gezüchteter Hefe auch neben der Eigenhefe des Mostes bestimmte Wirkungen äussern kann und ob diese Wirkungen derart sind, dass es sich verlohnt, eine solche Einsaat vorzunehmen.

Neben den Saccharomyceten gelangen, wie erwähnt, auch andere Mikroorganismen, Schimmelpilze und Bakterien, von den Traubenhäuten in den Most und werden darin, wenigstens teilweise, Fermentwirkungen hervorbringen. Die spontane Alkoholgärung des Mostes wird deshalb immer von Nebengärungen begleitet sein, die den Charakter des entstehenden Weines ungünstig beeinflussen, ja die sogar bis zum Auftreten von Krankheiten führen können. Bersch²⁾, Marx³⁾, Müller-Thurgau⁴⁾ und Wortmann⁵⁾ sind übereinstimmend der Meinung, dass man derartigen Nebengärungen entgegenwirken könne, wenn man möglichst rasch eine kräftige Alkoholgärung im Moste hervorrufe. Das könne am besten durch Einsaat gärkräftiger Hefe geschehen. Bersch und anfänglich auch Müller-Thurgau halten es für ausreichend, zu diesem Zwecke Hefe zu benutzen, die man erhält, wenn man einige vor der allgemeinen Lese geherbstete gesunde Trauben zerstampft und in einem warmen Raum vergären lässt. Eine solche Einsaathefe ist natürlich eine Mischung verschiedener Rassen und zwar meist eine sehr unreine. Müller-Thurgau⁶⁾ empfiehlt indessen später auch die Benützung rein gezüchteter Hefe, und zwar einer solchen Rasse, die als besonders gärkräftig bekannt ist. Er glaubt dadurch das Ziel, das ihm allein vorschwebt, die schnelle Einleitung einer kräftigen Alkoholgärung um so sicherer zu erreichen. Marx und Wortmann gehen in ihren Erwartungen weiter. Sie meinen die eingesäete Hefe, die in der Mehrzahl vorhanden ist und die Gärung einleitet, würde durch den Vorsprung, den sie so besässe, die konkurrierenden Mikroorganismen

1) Erfahrungen bei der Hefereinzucht und der Verwendung rein gezüchteter Hefen zur Weinvergärung. Zeitschr. f. angew. Chem. 1894, p. 417—425.

2) Vergl. H. W. Dahlen, Die Weinbereitung. Braunschweig 1878. p. 372.

3) Moniteur scientifique [4] 2, p. 1282, 1888.

4) a. a. O.

5) Landw. Jahrbücher 21, p. 911, 1892.

6) Ergebnisse neuer Untersuchungen auf dem Gebiete der Weinbereitung. Bericht über die Verhandl. des XII. deutsch. Weinbaukongresses in Worms. Mainz 1891. p. 128—152.

völlig unterdrücken. Sie würde infolgedessen die Gärung in der Hauptsache allein durchführen und dadurch dem Weine ihren spezifischen Charakter aufprägen. Wie man sieht, liegen hier ähnliche Vorstellungen zu Grunde, wie sie Pasteur bei seinen Hefereinigungsmethoden vorschwebten. Die Unterdrückung der an Zahl zurückstehenden anderen Organismen, sowie der Individuen, die anfänglich noch geringere Lebensenergie besitzen, spielt die Hauptrolle. Wir wissen bereits aus unserer Besprechung der Pasteurschen Anschauungen, dass eine derartige Konkurrenz mehrerer Mikroorganismen durchaus nicht immer zum Siege eines einzigen führen muss. Und selbst wenn das der Fall ist, braucht die Form, die als Sieger hervorgeht, nicht die zu sein, die zu Beginn der Gärung numerisch die stärkste war. Bei Versuchen, die Hansen¹⁾ anstellte, und bei denen er reine Brauereihefen mit Krankheitshefen im Verhältnis 5:1 gemischt in weinsäurehaltigen Zuckerlösungen züchtete, gingen die ersteren trotz ihres anfänglich fünffachen Uebergewichts vollständig oder fast vollständig zu Grunde.

Die Ergebnisse dieser Versuche beweisen, dass die Voraussetzung falsch ist, eine eingesäete Reinzuchthefer müsse im nichtsterilisierten Most das Uebergewicht über alle anderen Mikroorganismen erhalten. Natürlich besteht auf der anderen Seite kein Zweifel darüber, dass dieser Fall eintreten kann und auch oft eintreten wird. Ob das geschieht oder ob es unterbleibt, hängt von mehreren Umständen ab: von den speziellen Eigenschaften und dem physiologischen Zustande der Einsaathefe, von der Natur der sonstigen vorhandenen Mikroorganismen, von der Beschaffenheit des Mostes und von der Gärführung. So ausgesprochen verschieden auch die Gärprodukte verschiedener Heferassen im sterilisierten Moste sein mögen, so wenig haben wir demnach eine Gewähr dafür, dass sie auch aus nichtsterilisiertem Most Erzeugnisse hervorbringen werden, die die gleichen Verschiedenheiten aufweisen. Die Anwendung der Reinzuchthefer in der Weinbereitung wird deshalb unter den gegenwärtigen Verhältnissen, unter denen man auf die Sterilisation des Mostes verzichten muss, einen sicheren Erfolg nicht versprechen. Diese Unsicherheit, mit der das endgiltige Resultat behaftet ist, erklärt auch, warum die bisher angestellten Versuche auf diesem Gebiete so abweichende Ergebnisse gezeitigt haben, warum in dem einen Fall alles das eintrat,

¹⁾ Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie 2, p. 30. München 1892.

was man erwartete und erwünschte, und warum es im anderen völlig ausblieb.

Es ist besonders die Bildung und Entwicklung des Weinbouquets, für die man sich viel von der Anwendung der Reinzuchtheife in der Kellerwirtschaft versprochen hat. In der That liegen eine ganze Anzahl bestimmter Erfahrungen darüber vor, dass das Bouquet wenigstens teilweise durch die Gärung gebildet wird. So fand Rommier¹⁾, dass Zuckerlösungen bei der Vergärung mit vier verschiedenen Weinhefen Alkohole von verschiedenem Geruche lieferten. Auch teilt er mit²⁾, dass Médoc-Rebsorten in der Dordogne gezogen und dort vergoren, Wein von gewöhnlichem Geschmack gaben. Wurden sie in St. Émilion in vor kurzem benützten Bottichen gequetscht oder auch in der Dordogne mit $\frac{1}{40}$ Émilion-Most versetzt, so erhielt man gute Weine. Das konnte nur von der guten Émilion-Hefe herrühren. In ähnlichem Sinne sind früher und später praktische Erfahrungen mitgeteilt worden, die eine Beeinflussung des Bouquets durch die Hefe erwiesen. Hat es doch schon Neubauer³⁾ 1876 ausgesprochen, dass landestübliche Bezeichnungen, wie „das ist Rüdesheimer Gär“, in gewissem Grade vielleicht auf die verschiedene Wirksamkeit verschiedener Hefespezies zurückgeführt werden könnten.

Es wäre grundfalsch, aus diesen unbestimmten Erfahrungen über den Zusammenhang zwischen Gärung und Bouquetbildung den Schluss zu ziehen, die Hefe sei es allein, die das Bouquet bilde. Dennoch ist dieser Schluss gezogen worden. Auf Grund desselben und einer — wie schon gezeigt — übertriebenen Vorstellung über die Wirksamkeit einer Hefeinsaat hat man geglaubt, durch Anwendung von Reinhefen entsprechender Abstammung den Weinen geringerer Lage das Bouquet von Edelgewächsen verleihen zu können. Selbst in den Fällen, in denen die eingesäete Reinhefe wirklich im beabsichtigten Sinne sich der Gärung bemächtigt und sie in der Hauptsache beherrscht, selbst dann bleibt es unwahrscheinlich, dass der Einfluss in diesem Umfange sich geltend macht. Namentlich Müller-Thurgau⁴⁾ wies sehr nachdrücklich darauf hin, dass die Bildung der spezifischen Geruch- und Geschmackstoffe des Weines keinesfalls ausschliesslich von der Hefe

1) A. Kochs Jahresbericht 1, p. 64, 1890.

2) Ebendasselbst 2, p. 127, 1891.

3) Annalen d. Oenologie 5, p. 162, 1876.

4) Bericht über die Verhandlungen des XII. deutsch. Weinbaukongresses in Worms. Mainz 1891. p. 137.

abhängig ist. Er zählt Erfahrungen des praktischen Weinbaues auf, die unwiderleglich darthun, dass ein Teil der aromatischen Stoffe des Weines schon in der Rebe primär vorgebildet ist und von dieser in das fertige Getränk übergeht. „Wenn in einem Weinberge verschiedene Traubensorten, z. B. Riesling und Sylvaner gemischt gezogen, im Herbst aber gesondert gelesen und gekeltert werden, so wird der Wein jeder Sorte den für ihn bekannten Charakter erhalten, obgleich die Moste durch Hefe derselben Herkunft vergärten. Der Most der Rieslingtrauben wird Rieslingwein, derjenige der Sylvanertrauben Sylvanerwein geben.“ Wenn Müller-Thurgau dann aber weiter sagt, dass das Bouquet der Weine durchaus nicht durch die Hefe bedingt wird, sondern ein Produkt der Rebe ist, so geht er darin zu weit. Wortmann¹⁾ hat dem einen sehr berechtigten, vermittelnden Standpunkt entgegengestellt, von dem er zeigte, dass er in Müller-Thurgaus eigenen Versuchen und in jenen erwähnten früheren Anschauungen und Erfahrungen eine Stütze findet. Wortmann unterscheidet zwischen den primären Bouquetstoffen, die der Rebe entstammen und den sekundären, die durch die Gärung gebildet werden. Auf letztere wird zweifellos auch die Heferasse Einfluss haben, so schwierig das auch auf dem Wege des Experimentes einwandfrei festgestellt werden kann. Das Bouquet ist demnach ein Produkt sowohl der Rebe, als auch der Gärung. Jede Bouquetverbesserung des Weines muss Halt machen, sobald es sich um die primären Bouquetstoffe handelt. Innerhalb der so gezogenen Grenze erscheint sie jedoch als möglich. Sie kann sich also naturgemäss nur auf eine Verbesserung geringer Weine beziehen, die primäre Bouquetstoffe nicht enthalten. Dass man diesen geringen Weinen lediglich durch die Hefe den Charakter ganz bestimmter Lagen verleihen könne, darf höchstens in Ausnahmefällen erwartet werden, da die Weine von ausgesprochenem Charakter meist auch reichlich primäre Bouquetstoffe enthalten. Ein Rieslingmost wird einen Rieslingwein liefern, mit welcher Hefe auch immer er vergärt, weil die primären Bouquetstoffe so darin hervortreten, dass etwa zur Entwicklung gelangende sekundäre daneben nur eine relativ geringe Bedeutung erlangen. Und ebenso wenig kann man aus geringem Most einen Wein von Rieslingcharakter

¹⁾ Untersuchungen über reine Hefen. Landw. Jahrbücher **21**, p. 901—936, 1892 und **23**, p. 535—585, 1894. — Ferner: Die Verwendung und Bedeutung reiner Hefen bei der Weinbereitung. Bericht über die Verhandlungen bei Gelegenheit der Generalversammlung des Deutschen Weinbauvereins in Neuenahr. 1893. Mainz 1894. p. 69—81.

durch Vergärung mit einer vielleicht auf Rieslingbeeren gesammelten Hefe erzielen, weil eben das spezifische Aroma des Rieslingweines überhaupt nicht durch irgend eine Hefe verliehen werden kann, sondern der Rebe entstammt. Wohl aber darf man erwarten, einem geringen Most, der durch Vergärung mit seiner Eigenhefe geringes Aroma entwickelt, ein feineres Bouquet zu verleihen, wenn es gelingt, seine Gärung durch eine andere Hefe besorgen zu lassen, die reichlicher sekundäre Bouquetstoffe bilden kann.

Innerhalb der so bezeichneten Einschränkungen darf von der Anwendung reiner Hefe auch für die Kellerwirtschaft Nutzen erwartet werden. Kann auch nicht jeder Versuch gelingen, so wird doch in manchen Fällen die eingesäete Reinzuchtheife die im Moste vorhandenen wilden Hefen und sonstigen Mikroorganismen aus dem Felde schlagen können, den Wein so vor Nebengärungen schützen und eventuell sein Bouquet innerhalb der erwähnten Grenzen verbessern. Wortmann empfiehlt bei der Verwendung reingezüchteter Weinhefen in der Praxis zunächst nur „heimische“ Hefen zu benutzen, d. h. solche, die von demselben Produktionsgebiete stammen, wie der Most. Man würde anderenfalls Gefahr laufen, Weine von ganz fremdartigem Charakter zu erhalten; z. B. wenn man Moselmost mit Rheingauhefe vergärt, so kann ein Wein entstehen, der das primäre Bouquet der Moselrebe mit dem sekundären der Rheingauer Weine vereinigt.

Für gewisse Fälle ist die Benützung reiner Hefe noch ganz besonders empfohlen worden. So für die Umgärung von kranken Weinen. So auch für die Schaumweinfabrikation nach dem französischen Verfahren durch Flaschengärung. Hier sollen Rassen verwendet werden, die sich rasch und gut absetzen und derart ein zusammenhängendes „Dépôt“ auf dem Stopfen bilden, das sich beim „Degorgieren“ leicht und vollständig aus dem moussierenden Weine entfernen lässt.

Vielleicht sind es gerade diese Spezialfälle, in denen die Anwendung der Reinhefe einmal den meisten Nutzen zu stiften berufen ist. Das gilt ganz besonders von der Umgärung, die an sich ein gutes Heilmittel gewisser Weinkrankheiten ist, die aber gegebenen Falls manchmal recht schwer in Gang kommt, weil es dem Weine in dem betreffenden Stadium an der nötigen Menge kräftiger Hefezellen fehlt. Hier entspricht die Einsaat von gesunder Reinzuchtheife wohl immer einem wirklichen Bedürfnisse.

Von einer Selbstdarstellung und Vermehrung rein gezüchteter Weinhefe wird seitens der etwaigen Konsumenten im allgemeinen

abgesehen. Vielmehr wird sie in einer Anzahl gut geleiteter Laboratorien im grossen gewonnen und von denselben den Winzern zum Kaufe angeboten. Der Preis eines Liters beträgt 10 M.; diese Menge soll für ein Stück Most (ca. 1200 l) ausreichen.

Wir wenden uns jetzt dem dritten Gärungsgewerbe zu: der Brennerei¹⁾. Hier handelt es sich wieder, wie bei der Brauerei, um Gärungen, die seit jeher durch Hefeeinsaat vorgenommen wurden. Doch entnimmt man nicht — wie das doch in der Brauerei geschieht — die gebildete Hefe am Schlusse der Hauptgärung den Gärbottichen, um sie als Stellhefe für neue Gärungen zu benützen, sondern man stellt jeden neuen Bottich mit einer bestimmten Menge besonders bereiteter Hefe: der sogenannten Kunsthefe. Zur Bereitung der Kunsthefe bedarf man zunächst einer Maische aus Gerstenmalz, in der die ursprünglich vorhandene Stärke durch die Wirkung der Diastase verzuckert ist. Dieses „Hefegut“ lässt man dann bei 50° C. eine spontane Milchsäuregärung, die sogenannte „Säuerung“ durchmachen. Die entstehende Milchsäure wirkt als Antisepticum gegen fremde Mikroorganismen und tötet dieselben, denn sie ist ein starkes Spaltpilzgift. Der Hefe schadet sie dagegen nicht. Hat sich eine hinreichende Menge Milchsäure gebildet, so kühlt man das Hefegut auf 15 bis 20° C. ab. Hiedurch wird die Fermentwirkung der Milchsäurebakterien unterdrückt, wenn sie auch deshalb nicht abzusterben brauchen. Ist die Kühlung rasch genug vor sich gegangen und hat man bei der ganzen Arbeit die nötige Sauberkeit walten lassen, so ist eine neue Infektion des zuvor durch die Milchsäure von fremden Keimen befreiten Hefegutes nicht erfolgt. Es enthält nur die infolge der niedrigen Temperatur ausser Thätigkeit gesetzten Milchsäurestäbchen. Sät man jetzt Hefe ein — in der Praxis nahm man früher hiezu allgemein Presshefe — so werden nur die darin enthaltenen Mikroorganismen unter Alkoholgärung sich vermehren. Es entsteht die Kunsthefe, von der man ein Drittel als sogenannte „Mutterhefe“ für sich aufbewahrt, während man die übrigen zwei Drittel zum Stellen der Gärungen im Gärkeller gebraucht. Die Mutterhefe dient als Einsaat bei der Bereitung neuer Kunsthefe an Stelle der bei der ersten Herstellung zu Beginn der Brenncampagne benützten Presshefe.

Statt der Presshefe benützt man jetzt mit grossem Vorteil Rein-

¹⁾ Vergl. für diesen ganzen Abschnitt: M. Maereker, Handbuch der Spiritusfabrikation. 6. Aufl. Berlin 1894.

zuchthefe. Man hat mit der fortschreitenden Erkenntnis von der Verschiedenheit der Heferassen sich gesagt, dass es möglich sein müsse, durch die Auswahl geeigneter Hefe die Gärung in ganz bestimmter, vorteilhafter Weise zu beeinflussen, ganz abgesehen davon, dass man durch die Aussaat von Reinzuchthefe schon an sich reinere Gärungen erzielen müsse, als durch die von Presshefe. Das Berliner Hefereinzucht-Laboratorium, das unter P. Lindners Leitung steht, hatte es übernommen, geeignete Heferassen für die Brennerei ausfindig zu machen. Unter den vielen Rassen, die man dort geprüft hat, sind zunächst vier ausgewählt worden, die man zu Versuchen im grossen an die Technik ausgeteilt hat. Von diesen vier Rassen, die in der Litteratur als I, II, III und IV bezeichnet werden, erwies sich hiebei II als die geeignetste¹⁾. Sie wird daher bis auf weiteres allein für den Verkauf an die Brennereien im grossen hergestellt. 1 kg kostet für die Mitglieder des Vereins der Spiritusfabrikanten 5 M. In den Monaten August, September und Oktober 1893 sind 1230 kg von dieser Hefe an die Brennereien abgegeben worden. Zu ihrer Herstellung wird die im grossen Lindnerschen Apparat²⁾ gewonnene Hefe als Anstellhefe zu 50 hl Würze zugegeben. Die bei dieser Gärung erhaltene Hefe stellt nach dem Abschleudern in einer Centrifuge und dem Abpressen in einer Filterpresse das Handelsprodukt dar.

Die Verwendung der Reinzuchthefe in der Praxis erfolgt so, dass man sie in der Regel nur in der Brenncampagne einmal zu Beginn frisch bezieht, damit die erste Kunsthefe bereitet, im übrigen aber jede Kunsthefe mit Mutterhefe aus der vorhergehenden stellt. Die alten bewährten Regeln für die Kunsthefebereitung: Säuerung des Hefeguts und peinlichste Reinlichkeit sind natürlich unter diesen Umständen doppelt wichtig. Delbrück rät nach beendigter Säuerung behufs Sterilisation auf 70 bis 75 ° C. anzuwärmen.

Die Anwendung der Reinhefe als Ausgangsmaterial für die Kunsthefe empfiehlt sich um so mehr, weil man in der Brennerei auch im übrigen in einer beinahe ebenso vorteilhaften Lage ist, wie in der Brauerei. Die Maische, die in den Gärlokalen durch die Kunsthefe vergoren werden soll, kann wenigstens bis zu einem gewissen Grade sterilisiert werden. Sie wird durch diastatische Verzuckerung stärke-mehlhaltiger Rohstoffe: Kartoffeln, Korn, Mais u. s. w. erhalten. Das

¹⁾ Vergl. Dinglers polytechn. Journ. 289, p. 92, 1893.

²⁾ Vergl. p. 438.

Optimum der Diastasewirkung liegt bei 56° C. Man maischt jedoch in der Praxis meist bei 65° C., weil bei dieser Temperatur die Diastase noch immer zu wirken vermag und andererseits ein grosser Teil der in der Maische sich findenden Mikroorganismen abgetötet wird. Man könnte denken, dass es sich empfehlen würde, am Schluss der Verzuckerung die Maische bis zum Sieden zu erhitzen und so eine noch sicherere Sterilisation zu erzielen. Das geht nicht an. Die Diastase führt nur einen Teil der Stärke in wirkliche Zuckerarten über, der Rest wird nur in unvergärbare Dextrine aufgespalten. Erst wenn die Zuckerarten teilweise vergoren sind, können die Dextrine durch Diastase weiter verzuckert werden, und erst dadurch werden auch sie gärfähig. Es liegt also im Interesse der Vollständigkeit der Gärung, bezw. der Höhe der Ausbeute, dass in der gärenden Maische noch Diastase zugegen ist. Wollte man die Maische vor der Anstellung zur Gärung bis zum Sieden erhitzen, so würde man die Diastase, deren Tötungstemperatur bei 80 bis 85° C. liegt, zerstören und so die als erforderlich erkannte Nachwirkung während der Gärung verlieren. Delbrück ¹⁾ bezeichnet es daher als wichtig, nach Heferasen zu suchen, die Dextrin direkt vergären können. Die Anwendung solcher Rassen in der Brennerei würde den Verzicht auf die Nachwirkung der Diastase ermöglichen und gestattet demnach die Sterilisation der Maische durch Aufkochen. Bisher sind derartige Rassen noch nicht aufgefunden worden.

In der Melassebrennerei werden die Maischen aus Melasse durch Verdünnen mit Wasser und Ansäuern mit Schwefelsäure hergestellt. Diastasewirkungen kommen hier gar nicht in Betracht. Deshalb können in diesem Zweige der Brennerei die Maischen unbedenklich gekocht werden, was in der Praxis auch zum grossen Teile geschieht.

Die Vorteile der Anwendung einer Reinhefe von passenden Eigenschaften zeigen sich in der Brennerei hauptsächlich in besserer Vergärung, höherer Alkoholausbeute, reinerem Geruch und Geschmack des gewonnenen Alkohols und in einer geringeren Bildung von Säure in der Maische.

Das letzte der eigentlichen Gärungsgewebe, die Presshefefabrikation unterscheidet sich von der Brennerei wesentlich nur durch die Art der Gärführung, bei der mehr auf die Hefevermehrung, als auf die Alkoholausbeute gesehen wird. Auch in diesem Industriezweig hat man begonnen sich der Reinhefe zu bedienen.

¹⁾ A. Kochs Jahresber. 2, p. 123, 1891.

In einer schönen Arbeit hat Delbrück¹⁾ kürzlich das ganze Gebiet der Anwendung reiner Hefen in der Praxis der Gärungsgewerbe von neuen Gesichtspunkten aus beleuchtet. Soll die Arbeit mit der Reinhefe zu einer immer grösseren Nutzen bringenden sich gestalten, so muss das Hauptgewicht mehr noch als bisher darauf gelegt werden, die reine Betriebshefe auch rein zu erhalten. Das soll nicht nur durch Sterilisation der ganzen Apparatur geschehen, sondern daneben müssen fortgesetzt im Laufe des Betriebes alle fremden Mikroorganismen, alle fremden Heferassen aus der Betriebshefe ausgesondert werden. Man kann dieses Ziel bis zu einem sehr bemerkenswerten Grade ausschliesslich durch sorgfältige Berücksichtigung der Rasseeigenschaften und Kulturverhältnisse erreichen. Die Arbeitsregeln der beiden Gewerbe, die seit jeher mit Kulturhefen arbeiten, der Brauerei und der Brennerei, haben sich rein empirisch und in völlig unbewusster Weise so ausgebildet, dass sie auf diesen Effekt hinarbeiten. So, um ein Beispiel zu bringen, wenn der Brauer aus der Bodensatzhefe seiner Gärbottiche nur eine bestimmte Schicht, die mittlere — die sogenannte Kernhefe — als Stellhefe für neue Gärungen benützt. Verschiedene Heferassen sinken verschieden schnell zu Boden, sie sondern sich daher in verschiedene Schichten, und indem der Brauer nur eine von diesen benützt, macht er sich diese natürliche Sonderung zu nutze. So auch, indem er das Bier zur Nachgärung in andere Fässer abzieht und dadurch von der Bodensatzhefe trennt. Die wilden Hefen, mit denen sich das Bier in den Bottichen infizierte, bleiben bis zuletzt im Biere schwebend, sie werden auf diese Art von der Bodenhefe, die als neue Stellhefe dienen soll, getrennt.

Alle derartigen höchst zweckmässigen Massregeln, die bisher unbewusst ausgeführt worden sind, sollten in Zukunft völlig bewusst und in klarer Erkenntnis dessen, was sich damit erzielen lässt, angewendet werden. Dann werden die Erfolge noch bessere werden, wie schon jetzt, und der „künstlichen Reinzucht“, die wir Hansen verdanken, wird eine „natürliche Reinzucht“ als wertvolle Ergänzung zur Seite stehen.

¹⁾ Natürliche Hefereinzucht. Zeitschr. f. angew. Chem. 1895, p. 359.



Verlag von FERDINAND ENKE in Stuttgart.

HANDBUCH

der

Schwefelsäurefabrikation.

Von

Dr. Konrad W. Jurisch,

Privatdocent an der K. Techn. Hochschule in Berlin.

Mit 39 Abbildungen.

gr. 8. 1893. geh. 14 Mark.

Verfasser hat seine Erfahrungen in der Fabrikation von Schwefelsäure in Fabriken Deutschlands, Englands und Frankreichs zusammengestellt, unter Benutzung anderer Arbeiten, besonders von Lunge. Die Apparate sind durch einfache Holzschnitte dargestellt, wovon viele Originale. Analysen von Kiesen, statistische Mittheilungen u. dgl. sind zahlreich gegeben, während die Theorie des Bleikammerprocesses kürzer behandelt wurde. Verfasser ist der Ansicht, keine der chemischen Theorien könne beanspruchen, dass sie die Bildung der Schwefelsäure ausschliesslich darstelle, vielmehr könne die Bildung der Schwefelsäure an einer Stelle der Kammer nach der einen, an einer andern Stelle nach einer andern Theorie stattfinden. — Möge das Buch in Fachkreisen die verdiente Beachtung finden.

Zeitschrift für angewandte Chemie 1893, Heft 13.

Es ist ein gewagtes Unternehmen, auf einem Gebiete wie die Schwefelsäurefabrikation ein neues Werk in die Oeffentlichkeit zu bringen, um so schwieriger, da sich die Materie, ohne an Vollständigkeit einzubüssen, nicht leicht in kurzen Umrissen abhandeln lässt und bereits vorzügliche, ausführlichere Werke darüber existiren. Nichtsdestoweniger ist es dem Verfasser gelungen, in vorliegendem Werke eine Lücke auszufüllen. In klarer, knapper und übersichtlicher Weise bringt er für den Fachmann und Wissenschaftler das wirklich Interessirende, wozu ihm ja, wie er in der Vorrede selbst erwähnt, eine reiche und langjährige Erfahrung zur Seite steht. Nach einer sachlichen Einleitung bringt er eine möglichst vollständige Zusammenstellung und Beschreibung der wichtigsten Rohmaterialien zur Schwefelsäurebereitung, über Bau und Einrichtung der Oefen und Bleikammern, Glover- und Gay-Lussac-Thurm u. s. w., Functionen der einzelnen Theile und chemische Vorgänge daselbst. Von grossem Interesse sind seine Ausführungen über die Theorien des Bleikammerprocesses und seine eigene Anschauung hierüber, die jedenfalls die Praxis für sich hat und gegenüber den complicirten Theorien Anderer sich durch Klarheit und Einfachheit auszeichnet. Auch dem analytischen Theile ist grosse Sorgfalt gewidmet. Weitere Kapitel belehren uns über den ökonomischen Theil der Schwefelsäurefabrikation, Statistik, Rentabilität, Concentrirung, Fabrikation von rauchender Schwefelsäure und -Anhydrid, Eigenschaften u. s. w.; auf die Nebenzweige der Schwefelsäurefabrikation ist verwiesen. Hervorzuheben ist noch die praktische Anordnung des Stoffes. Wir ermangeln daher nicht, obiges Werk bestens zu empfehlen.

Berg- und Hüttenmänn. Ztg. 1894, Nr. 4.

Durch dieses Werk ist Verfasser bestrebt, die Ansichten der Praxis, welche sich wesentlich an die älteren Anschauungen anlehnen, als richtig nachzuweisen, gegenüber denjenigen, welche, wie die über den Glover-Thurm, die Salpeterverluste und die Theorie des Bleikammerprocesses, mit den Ansichten der Schwefelsäurefabrikanten nicht übereinstimmen. Er geht von den Rohmaterialien zu dem Brenn- und Röstprocess über und bespricht dann die Bleikammern, den Glover-Thurm, den Gay-Lussac-Thurm. Der Betrieb des Bleikammersystems, die Vorgänge in den Bleikammern, die Theorie des Bleikammerprocesses werden eingehend geschildert. Den Endgasen wird genügender Raum gewährt. Die Ausbeute an Schwefelsäure und Salpeterverbrauch, die Concentration der Schwefelsäure, die Fabrikation der rauchenden Schwefelsäure und das Schwefelsäureanhydrid, die Eigenschaften der Schwefelsäure werden übersichtlich abgehandelt und auch der Nebenzweige der Schwefelsäurefabrikation wird hinreichend gedacht, so dass dieses Handbuch sowohl als Lehrbuch, wie als Vademecum für den Praktiker sich bald einbürgern wird.

Deutsche Chemiker-Zeitung 1893, Nr. 12.

Verlag von FERDINAND E

S. LEVY

Anleitung zur D

WYDZIAŁY POLITECHNICZNE KRAKÓW

BIBLIOTEKA GŁÓWNA

Biblioteka Politechniki Krakowskiej



III-307149

Druk. U. J. Zam. 356. 10.000.

Organisch-chemischer Präparate.

Herausgegeben von

Privatdocent Dr. A. BISTRZYCKI.

→ *Dritte neu bearbeitete und erweiterte Auflage.* ←

Mit 35 Holzschnitten. 8. 1895. geh. M. 4.—, in Leinwand geb. M. 5.—

Das vorliegende Werk ist in seinen früheren Auflagen in allen chemischen Laboratorien wohl bekannt und mit Recht beliebt. Es bildet die bei weitem beste und zuverlässigste Einführung des jungen Chemikers in organische Arbeiten. Der beste Beweis dafür, welche Beliebtheit sich dieses Buch in kurzer Zeit erworben hat, liegt darin, dass seit seinem ersten Erscheinen im Jahre 1887 nun schon die dritte Auflage nöthig geworden ist. In der Zwischenzeit hat aber auch der Gegenstand, den das Werk behandelt, ausserordentliche Fortschritte gemacht. Gerade während der letzten Jahre sind eine Fülle von sinnreich erdachten und sorgsam ausgearbeiteten Vorschriften zur Darstellung der verschiedensten organischen Präparate bekannt geworden, von denen viele früher entweder kaum oder doch nur mit sehr unsicherem Erfolge dargestellt werden konnten. Es schien daher dringend erforderlich, das Werk einer neuen Bearbeitung zu unterwerfen und dabei auch einige der früher darin enthaltenen Angaben zu ergänzen, welche sich als ungenügend erwiesen hatten. Dieser schwierigen Aufgabe hat sich Herr A. Bistrzycki, dessen langjährige Thätigkeit als Leiter eines organischen Praktikums ihm besonders dazu befähigte, mit grossem Eifer und Erfolg unterzogen. Das Werk ist in seiner jetzigen neuen Form nicht nur weit vollständiger, es enthält nicht nur eine grössere Anzahl von Vorschriften, als die früheren Auflagen, sondern es hat auch an Methodik und Klarheit der Darstellung, an Zuverlässigkeit der Anleitungen sehr erheblich gewonnen. — Wir sind überzeugt, dass das beliebte Werkchen sich in seinem neuen Gewande noch zahlreichere Freunde als bisher erwerben wird und wünschen dies um so mehr, da wir uns durch genaue Prüfung der darin enthaltenen Angaben davon überzeugt haben, dass es zur Zeit das beste Werk seiner Art ist.

Chemische Industrie 1895, Nr. 20.

Soeben erschien:

Lehrbuch der Chemie

für Studierende und zum Selbstunterricht.

Von

Dr. G. Bodländer.

Zwei Bände.

I. Band: Anorganische Chemie.

gr. 8. 1896. geh. 12 Mark.

Druck der Union Deutsche Verlagsgesellschaft in Stuttgart.

Biblioteka Politechniki Krakowskiej



100000300653