

## **Studien über reine Hefen.**

Von

**Dr. Carl Amthor.**

(Der Redaction zugegangen am 1. August 1887.)

Nachdem durch die neueren Untersuchungen, hauptsächlich durch die Arbeiten Hansen's, unsere Kenntniss über die verschiedenen Hefen, namentlich in botanischer Hinsicht bereichert worden ist, schien es mir wünschenswerth, Einiges über die chemische Arbeit verschiedener Hefen in Bierwürze derselben Zusammensetzung zu erfahren.

Zu diesem Zwecke wurden nach dem Verfahren Hansen's 8 Hefen reingezüchtet. Die Hefen Carlsberg I und II (neue) verdanke ich der Freundlichkeit des Herrn Hansen.

Für alle Versuche wurde sterilisirte Würze derselben Zusammensetzung verwendet. Die Gährungen verliefen in Pasteur'schen 1 Liter-Kolben und zwar wurden 2 Versuchsreihen unter gleichen Bedingungen angestellt.

Die Gährung in den Kolben der Versuchsreihe I wurde unterbrochen, als nur noch schwache Kohlensäureentwicklung zu bemerken war. Diese Biere sind mit denen nach der Hauptgährung in der Praxis zu vergleichen.

Die Kolben der Versuchsreihe II blieben so lange stehen, bis keine Kohlensäureentwicklung mehr zu bemerken und die Biere ganz klar geworden waren. Nur im Kolben mit *Saccharomyces ellyptoideus* war noch schwache Kohlensäureentwicklung bemerkbar.

Sämmtliche Biere wurden 2mal filtrirt, in kleine Flaschen gebracht, bei 55° C. pasteurisirt und dann der Analyse unterworfen.

Zur Verhütung des Vorwurfs, dass verschiedene Hefemengen verschiedene analytische Resultate bedingen konnten, wurde in allen Fällen von einer einzelnen Zelle ausgegangen und zwar säte ich zu gleicher Zeit in 2 Pasteur'sche  $\frac{1}{8}$  Liter-Kolben mit je 60 ccm. Würze je 1 Zelle derselben Hefe. Als die Gährung gut im Gang war, wurden die 2  $\frac{1}{8}$  Liter-Kolben in je 2 Liter-Kolben mit je 500 ccm. Würze übergeführt und zwar wurde diese Operation zu derselben Zeit mit allen Kolben vorgenommen. Ueberhaupt wurden für sämmtliche Gährungen dieselben Versuchs-Bedingungen, also Zeitpunkt der Hefen-Aussaat, Unterbrechung der Gährung, Temperatur etc. eingehalten.

Die Gährungen I begannen am 4. März und wurden am 18. März unterbrochen. Mittlere Temperatur = + 11,9° C. Die Gährungen II begannen am 4. März und waren am 13. April beendet. Mittlere Temperatur bis 18. März = + 11,9° C., von da bis 13. April + 13,7° C.

Nur die Würze, welche mit Weinhefe angesetzt war, entwickelte noch schwach Kohlensäure, das Bier über der Hefe war aber klar.

Die verwendeten Hefen haben folgenden Ursprung:

1. Brauerei zum Franziskaner, München,
2. » Feltmann, Rotterdam,
3. » Gruber, Königshofen bei Strassburg,
4. » Carlsberg, Hefe I,
5. » » Hefe (neue) II,
6. Pastoriane Form aus hefetrübem Bier,
7. Oberhefe, Berliner Kühle Blonde,
8. Sacch. eilypsoideus aus Oberelsässer Weisswein (Muscateller von Hunaweier).

Die verwendete Würze hatte folgende Zusammensetzung:

In 100 ccm. bei + 15° C.:	
Maltose. . . . .	10,8042 gr.
Stickstoff . . . . .	0,1075 »
Extrakt (Schultze) . . . . .	17,73 »

Sämmtliche analytische Daten sind Mittelzahlen aus 2 gut übereinstimmenden Analysen.

### Biere vom 18. März.

No. 7 und 8 wurden beim Eindampfen auf die Hälfte zur Extraktbestimmung nach Schultze stark, die anderen schwach trübe.

In 100 cbcm.	Alkohol Vol. o/o	Alkohol Gew. o/o	Extrakt.	Speci- fisches Gewicht.	Speci- fisches Gewicht des ent- geisteten Bieres.	Wirk- licher Vergäh- rungs- Grad
1. Sacch.Cerev.Franziskaner	5,63	4,50	9,39	1,0279	1,0355	47
2. » » Rotterdam.	5,39	4,30	9,37	1,0288	1,0354	47,1
3. » » Königshofen	5,32	4,25	9,76	1,0302	1,0368	44,9
4. » » Carlsberg I	5,86	4,69	8,71	1,0259	1,0331	50,8
5. » » Carlsberg II	5,94	4,75	8,49	1,0247	1,0323	52,1
6. S. Pastoriane Form . .	5,39	4,31	9,34	1,0278	1,0353	47,3
7. Berliner Oberhefe . .	5,47	4,37	8,59	1,0260	1,0327	51,5
8. S. ellypoideus . . .	3,55	2,83	12,61	1,0432	1,0476	28,8

### Biere vom 13. April.

Von diesen waren nach 1maligem Filtriren ganz blank No. 1 bis 5, fast blank No. 7, trübe No. 6, ziemlich stark trübe No. 8. Letzteres schäumte beim Aufgiessen auf's Filter durch Abgabe von Kohlensäure stark, gährte also noch, war aber über der Hefe im Kolben blank.

Nach der zweiten Filtration war 7 blank, 6 ziemlich blank, 8 sowohl jetzt, als auch nach der dritten Filtration noch trübe.

Die Hefen 1 bis 5 lagen fest am Boden des Kolbens, während die Oberhefe, der S. pastorianus und ellypoideus ganz locker waren und sich bei der geringsten Bewegung in der Flüssigkeit vertheilten. Das Bier aus S. ellypoideus hatte ein von dem der übrigen stark abweichendes, wenig Bouquet.

In 100 chem. bei + 15° C.	Alkohol Vol. o/o	Alkohol Gew. o/o	Extrakt.	Specificsches Gewicht.	Specificsches Gewicht des entgeisteten Bieres.	Ver- gährungs- Grad.	Glycerin (aschefrei).	Stickstoff.	Reduc. Substanz als Maltose berechnet.	Farb- Intensität. Normal- Farbe von Stammer = 100.
1. S. Cerev. Franziskaner .	5,94	4,75	8,27	1,0239	1,0314	53,3	0,1071	0,0896	1,8858	14,29
2. Rotterdam .	5,63	4,50	8,35	1,0243	1,0317	52,9	0,0962	0,0948	1,9938	11,11
3. Königshofen .	5,63	4,50	8,37	1,0245	1,0318	52,8	0,1246	0,0941	2,0135	11,11
4. Carlsberg I .	6,02	4,81	8,46	1,0245	1,0322	52,2	0,1230	0,0975	1,9377	11,11
5. » Carlsberg II .	6,02	4,81	8,33	1,0240	1,0316	53	0,1058	0,0952	1,9190	11,11
6 S. Pastoriane Form . .	5,86	4,69	8,46	1,0247	1,0322	52,2	0,0777	0,0969	1,9158	12,50
7. Oberhefe, Berliner . .	5,94	4,75	8,33	1,0242	1,0316	53	0,1196	0,0941	1,8878	12,50
8. S. ellypoideus . . . .	4,34	3,47	11,23	1,0369	1,0425	36,7	0,1494	0,0975	—	12,50

Diese Tabellen zeigen deutlich, dass selbst die Cultur-Hefen greifbare Differenzen in der von ihnen geleisteten chemischen Arbeit zeigen.

Es wurden ferner die Hefen auf Ascosporen-Bildung mittelst Gypsblock-Culturen untersucht.

Temperatur + 22—24,5° C.

No. 1	zeigte nach	65	Stunden	die ersten Anfänge von Ascosporen.
» 2	»	»	47	» viele fertige und in Bildung begriffene Ascosporen.
» 3	»	»	47	» fertige und in Bildung begriffene, weniger wie No. 2.
» 4	»	»	135	» die ersten Anfänge.
» 5	»	»	39	» die ersten Anfänge, nach 48 Stunden wenige fertige, viele in Bildung.
» 6	»	»	20	» die ersten Anfänge, nach 36 Stunden ausserordentlich viele.
» 7	»	»	40	» wenige fertige, meist beginnende.
» 8	»	»	49	» die ersten Anfänge.

Beim Vergleich der schwächer vergohrenen Biere vom 18. März mit denen vom 13. April ergibt sich zunächst, dass sich bei den ersteren je nach den verschiedenen Hefen theilweise grössere Unterschiede in den Vergährungsgraden bemerkbar machen, während diese Unterschiede bei den ganz vergohrenen Bieren mit Ausnahme des mit Weinhefe<sup>1)</sup> hergestellten fast ausgeglichen sind. Von den nach der Hauptgährung untersuchten Bieren des 18. März zeigen den stärksten Vergährungsgrad die aus den Carlsberger Hefen und der Oberhefe hergestellten. Verhältnissmässig schwach vergohren hatte die Gruber'sche Hefe aus Königshofen, am schwächsten die Weinhefe. Vom Stickstoffgehalt der angewandten Würze finden sich im Biere wieder bei:

No. 1	=	83,38 %.
» 2	=	88,18 »
» 3	=	87,52 »
» 4	=	90,66 »
» 5	=	88,56 »
» 6	=	90,18 »
» 7	=	87,52 »
» 8	=	90,67 »

1) Diese Hefe gehört zu den Alkoholgährungs-Pilzen, welche nach Hansen nur langsam die höheren Alkoholprocente erzeugen. Ber. d. deutschen botan. Gesellsch. 1884.

Es sind demnach 9,33 bis 16,62% des Würze-Stickstoffs, im Mittel 11,67% verbraucht worden.

Die Glycerin-Gehalte sind auffällig niedrig und kann ich die von Borgmann<sup>1)</sup> an 2 Carlsberger Bieren gemachte Beobachtung bestätigen, wonach in den mit Hefe-Reinculturen hergestellten Bieren bedeutend weniger Glycerin gefunden wurde, wie in gewöhnlichen. Während ich im Mittel für Elsässer Biere in 100 ccm. 0,1440 Glycerin fand, für bayerische 0,1266<sup>2)</sup>, haben die obenerwähnten, aus Reinculturen der 5 normalen Brauhefen hergestellten Biere 1 bis 5 bei höherem Alkoholgehalt im Mittel bloß 0,1113 Glycerin. (Verhältniss von Glycerin zu Alkohol = 2,38 : 100.) Das Verhältniss von Glycerin zu Alkohol schwankt in den 8 Bieren von 1,65 : 100 bis 4,3 : 100. Bei bayrischen Bieren ist es durchschnittlich 3,57 : 100, bei Elsässer Bier 3,47 : 100. Den geringsten Glycingehalt weist das Bier aus *S. pastorianus* auf.

Die Bestimmung der Farbintensitäten mittelst des Colorimeters von Stammer hat ergeben, dass einige Biere in der Intensität der Färbung etwas differiren.

Die angewandte Würze enthält nach Abzug der Maltose in 100 ccm. = 6,9258 gr. Extrakt. Es ist nun auffallend, dass sämtliche Biere nach Abzug des Zuckers weniger Extrakt enthalten, als die angewendete Würze. Bier 1 z. B. enthält nach Abzug des Zuckers in 100 ccm. 6,3842 Extrakt. Es finden sich bei diesem Bier 0,54 Extrakt (Nicht-Zucker) in 100 ccm. weniger, wie in der Würze, was darauf hinzuweisen scheint, dass während der Gährung noch eine Umwandlung von Dextrin in Zucker stattfindet. Theoretisch, wenn keine Nebenvorgänge stattfänden, müsste Maltose 52,63% Alkohol bei der Gährung liefern. Da aber noch Glycerin, Bernsteinsäure etc. gebildet werden, so ist die Alkohol-Ausbeute geringer.

1) Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. XXV, S. 532.

2) Hygien. Topogr. der Stadt Strassburg, S. 167. Nach Zeitschr. f. anal. Chemie, Bd. XXI, S. 541, und C. Lintner, Lehrb. d. Bierbr., 1877, S. 548.

Nach Pasteur liefert die isomere Saccharose 51,11%, Alkohol.

	Bier 1 enthält 4,75 Gew. % Alkohol, entsprechend theoretisch	9,0252 Maltose,
dazu Zucker im Bier		1,8858
	Sa. 10,9110 Zucker.	

	Bier 4 enthält 4,81 Gew. % Alkohol, entsprechend theoretisch	9,1392 Maltose,
dazu Zucker im Bier		1,9377
	Sa. 11,0769 Zucker.	

Während die Würze 10,8042 Zucker enthält, ist die Summe des Zuckergehaltes, die theoretische Menge berechnet aus dem entstandenen Alkohol, + Zucker im Bier, grösser. Es muss also während der Gärung eine Umwandlung von Dextrin in Zucker stattgefunden haben. In Wirklichkeit sind die Differenzen grösser. Da bei der Spaltung der Maltose in Alkohol und Kohlensäure Nebenprodukte entstehen, so wird weniger Alkohol producirt, wie oben angenommen. Der gefundene Alkohol entspricht also einer grösseren Menge Maltose. Nehmen wir an, dass die Maltose 51,11% Alkohol bildet, wie die isomere Saccharose nach Pasteur, so gestaltet sich die Rechnung bei Bier 4 z. B. wie folgt:

Maltose (aus dem Alkohol berechnet)	9,4110
Maltose im Bier . . . . .	1,9377

Sa. 11,3487 Zucker,

d. h. 0,5445 Maltose mehr, wie in der entsprechenden Würze.

Berücksichtigt man schliesslich, dass der Kupfer reducirende Körper der Würze als Maltose berechnet wurde, während vorhandene Dextrine<sup>1)</sup> und Maltodextrin<sup>2)</sup> reducirend wirken, also der Maltose-Gehalt zu hoch angegeben ist, so wird die Annahme, dass Dextrine während der Gärung in Zucker umgewandelt werden, noch mehr unterstützt.

<sup>1)</sup> F. Musculus u. Gruber, Beitr. z. Chem. der Stärke. Zeitschr. f. phys. Chem.; Bull. Soc. Chim., Bd. XXX, S. 54; Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. 28, S. 496.

<sup>2)</sup> Horace F. Brown u. G. H. Morris, Ueber die nichtcryst. Produkte der Einwirkung der Diastase auf Stärke. Zeitschr. Ges. Brauwesen 1885, S. 360 ff.

Brown und Morris (l. c.) beobachteten, dass in einer Lösung von Maltose, Maltodextrin und Achroodextrin durch Oberhefe starke Gährung erzeugt wurde. Nachdem dieselbe vollkommen beendet war, wurde zur Syrupconsistenz verdampft, der Syrup in Wasser gelöst und wieder Oberhefe zugesetzt. Es entstand nach einiger Zeit wieder Gährung und wie die Verfasser annehmen, da die Oberhefe anscheinend abgestorben war, durch sich entwickelnde *Sacch. Pastorianus* und *ellypticus*. Sie nehmen an, dass die wilden Hefen Hydrolyse der Dextrine veranlassten und dann den gebildeten Zucker vergahrten. Sie glauben ferner, dass das Vermögen, Dextrin zu hydrolysiren und den gebildeten Zucker zu vergahren, auch dem typischen *Saccharomyces Cerevisiae* zukommen kann, aber in schwächerem Maasse, wie den wilden Hefen. Nach meinen Beobachtungen scheinen im Gegentheil die Brauhefen Carlsberg I und II mehr Dextrin hydrolysirt und Zucker vergahren zu haben, wie *Sacch. Pastorianus* und auch die Oberhefe. Da Brown und Morris nicht mit Reinculturen gearbeitet haben und auf die Form der Hefen nach Hansen's Untersuchungen Unterscheidungsmerkmale von Species meist nicht basirt werden können, so ist es gar nicht ausgeschlossen, dass die Dextringahrungen von Brown und Morris durch ein Gemenge von wilden und Brauhefen veranlasst wurden.

Es könnte der Einwand erhoben werden, dass das Gewicht der Trockensubstanz der gebildeten Hefe das Deficit an Extrakt der Biere gegenüber der Würze erklären würde. Es wurde deshalb die Hefentrockensubstanz in einem Kolben bestimmt.

Das stark vergohrene Bier Carlsberg I hatte, von «einer» Hefezelle ausgehend für 100 cbcm., 0,1595 gr. bei 105° C. getrocknete Hefesubstanz gebildet. Diese 0,1595 gr. genügen aber, selbst wenn man annehmen will, dass alle Hefentrockensubstanz aus dem Nicht-Zucker der Würze gebildet wird, nicht, um die 0,5148 gr. Deficit des Bieres an Extrakt gegenüber der Würze zu decken.