

# Ueber den *Saccharomyces apiculatus*.

Von

Dr. Carl Amthor.

(Der Redaction zugegangen am 24. April 1888.)

Reess<sup>1)</sup> beobachtete, dass der *Saccharomyces apiculatus* massenhaft bei der Weingährung vorkommt. In den meisten, vielleicht sogar in allen Fällen veranlasst er nach ihm den Beginn der Weingährung und wird dann durch den *Saccharomyces ellipsoideus* verdrängt. Vom physiologischen Standpunkt aus verhält er sich nach Reess wesentlich wie *Sacch. ellipsoideus* und *S. Cerevisiae*.

Pasteur<sup>2)</sup> fand ihn oft im Traubensaft.

Nach Engel<sup>3)</sup> soll er in den meisten Fällen die Gährung der Fruchtsäfte veranlassen.

Engel sowohl, wie Hansen<sup>4)</sup> fanden ihn auch im Bier.

Hansen<sup>5)</sup> studirte genauer seine Lebensbedingungen. Er fand, wie schon Reess und Engel, dass er hauptsächlich auf reifen, süßen Früchten vorkommt und keimt, dagegen nie oder nur ausnahmsweise auf unreifen erscheint. Den Winter über verbringt er nach Hansen (l. c.) in der Erde.

1) Reess. Botan. Unters. über die Alkohol-Gährungspilze, 1870.

2) Pasteur, Etudes sur la bière, 1870, S. 148.

3) Engel, Les ferments alcooliques, 1872.

4) Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 1879, S. 49 des französ. Résumé.

5) Meddelelser fra Carlsberg Lab., 1881, III.

hauptsächlich unter den Bäumen und Sträuchern, auf deren Früchten er sich im Sommer findet und die ihm zur Nahrung dienen.

Derselbe Forscher beobachtete weiter, dass der *S. apiculatus* in Bierwürze Untergärung erzeugt, jedoch erhielt er nie mehr wie 1 Vol.-% Alkohol. Das so erhaltene Bier roch obstartig. Zur Neutralisation der gebildeten Säure in 100 ccm. wurden bis 2,4 ccm. Normal-Alkali verbraucht.

Die Schaumdecke, welche bei der Gärung entstand, war viel weniger stark, wie bei anderen *Saccharomyceten*, die abgesetzte Hefe braun, nicht weiss, wie gewöhnlich.

Der *S. apiculatus* ist nicht im Stande, den Rohrzucker zu vergähren. In Concurrenz mit dem *S. Cerevisiae* wird er als der Schwächere schliesslich zurückgedrängt.

Hansen stellte durch seine Untersuchungen fest, dass von *Sacch. Cerevisiae* und *ellipsoideus* eine grössere Anzahl von Rassen existirt. Diese Annahme wurde unterstützt durch den Beweis, dass verschiedene Hefen in gleich zusammengesetzter Nährlösung verschiedenartige chemische Arbeit verrichten<sup>1)</sup>.

Es schien mir wahrscheinlich, dass auch von *S. apiculatus* eine Anzahl von Rassen existirt. Da Ascosporen-Bildung bei dieser Hefe noch nicht beobachtet wurde, andere Unterscheidungsmerkmale in morphologischer Hinsicht bei der Aehnlichkeit der Formen aber kaum gefunden werden können, so beschloss ich, die Wirkungen zweier aus Mosten verschiedener Gegenden stammenden Formen des *S. apiculatus* auf Nährflüssigkeit derselben Zusammensetzung zu studiren.

Zu diesem Zwecke presste ich frische, reife Trauben, filtrirte und sterilisirte sofort den Most in Pasteur'schen 2 Liter-Kolben. Nach 8wöchentlichem Stehen vertheilte ich die Flüssigkeit zu gleichen Theilen in 2 sterilisirte 1 Liter-

<sup>1)</sup> Amthor, Studien über reine Hefen. Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. XII, 1888, S. 64.

Kolben und brachte in jeden aus je einem  $\frac{1}{2}$  Liter-Kolben 60 cem. desselben Mostes, in welchen 8 Tage vorher je eine Zelle des *S. apiculatus* ausgesät worden war (nach Hansen's Methode). Die eine Zelle stammte aus einem rheinhessischen weissen (Niedersaulheim), die andere aus einem württemberger rothen Most (Heilbronn).

Beide 1 Liter-Kolben wurden unter genau den gleichen Bedingungen gehalten und zwar bei gewöhnlicher Stuben-Temperatur. Die Gärung begann alsbald. Die Schaumdecke war, wie schon Hansen beobachtete, schwach, die abgesetzte Hefe braun, nicht weiss wie bei anderen Saccharomyceten.

Am 3. Januar 1888 waren die Kolben beschickt worden. Am 19. Februar war der mit Sacch. apic. Rheinhessen angesetzte Most fast klar und es konnte keine Entwicklung von Kohlensäure mehr beobachtet werden. Am 28. Februar war das Gleiche der Fall bei dem mit Sacch. apic. Heilbronn angesetzten Most.

Am 6. März wurden die Flüssigkeiten filtrirt; sie waren nach einmaligem Filtriren ganz blank und hatten ein angenehm obstartiges Bouquet. Schon in Bezug auf die Farbe konnte ein beträchtlicher Unterschied bemerkt werden. Most und Weine glichen einer hellen Bierwürze. Setzt man die mittelst des Colorimeters von Stammer ermittelte Farbsintensität des Mostes = 100, so war die des Weines aus Sacch. apic. Rheinhessen = 60, die des Weines aus Sacch. apic. Heilbronn nur = 45,3.

Der verwendete Most hatte folgende Zusammensetzung:

Specif. Gew. bei + 15° C.	= 1,08234
In 100 cem. bei + 15° C.:	
Extract (nach Schultze)	21,87
Invertzucker	20,7216
Säure	1,0125
Fixe Säure	1,0083
Flüchtige Säure	0,0033
Stickstoff	0,0552
Farbsintensität nach Stammer (Normal-Farbe = 100)	= 4,17

Die Zusammensetzung der vergohrenen Flüssigkeiten war folgende:

In 100 cbcm. bei + 15° C.:	Sacch. apicul. Rheinhessen:	Sacch. apicul. Heilbronn:
Alkohol Vol.- <sup>0</sup> / <sub>0</sub> . . . . .	3,25	4,56
„ Gew.- <sup>0</sup> / <sub>0</sub> . . . . .	2,58	3,65
Glycerin (asche- und zuckerfrei). . . . .	0,3112	0,3533
Extract (Schultze) . . . . .	16,09	13,80
„ (direct bestimmt) . . . . .	—	13,4340
Invertzucker . . . . .	14,228	11,20
Säure . . . . .	1,0556	1,0087
Fixe Säure . . . . .	0,8925	0,8756
Flüchtige Säure (als Essigsäure be- rechnet) . . . . .	0,1305	0,1065
Asche . . . . .	0,1984	0,1902
Phosphorsäure . . . . .	0,0278	0,0277
Stickstoff . . . . .	0,0421	0,0379
Farbintensität nach Stammer . . . . .	2,5	1,89
Specif. Gew. bei + 15° C. nach dem Entgeisten . . . . .	1,06017	1,05199

Sämmtliche Zahlen sind Mittelwerthe aus 2 gut übereinstimmenden Analysen.

In der chemischen Zusammensetzung der 2 Weine macht sich sonach ein beträchtlicher Unterschied bemerkbar, woraus der Schluss gezogen werden muss, dass von *Sacch. apiculatus* verschiedene Rassen existiren.

Der Alkohol-, Zucker-, Glycerin-, Stickstoffgehalt, sowie die flüchtige Säure zeigen in beiden Flüssigkeiten bedeutende Abweichungen. Der Gehalt an Gesamtsäure ist fast derselbe geblieben, wie im Most, trotzdem sich während der Gährung beträchtliche Mengen Weinstein abgeschieden haben.

Der Filter-Rückstand des *Sacch. apic.* Heilbronn von 840 cbcm. Wein wurde titirt und entsprach = 5,4337 Weinsäure. Angenommen, dass 80 cbcm. Wein im Filter sitzen geblieben sind (was aber sicher zu hoch gegriffen ist), so bleiben nach Abzug der diesen 80 cbcm. entsprechenden Säure noch 4,6268.

Fixe Säure aus 920 cbem. Wein . . . . .	8,0555
Fixe Säure aus dem Filter-Rückstand . . . . .	4,6268
Summa . . . . .	12,6823
920 des ursprünglichen Mostes enthielten fixe Säure . . . . .	9,2763

bleibt für 920 cbem. = 3,4060 Säure.

Es sind also für 100 cbem. = 0,3701 fixe Säure während der Gährung neugebildet worden, ca. 3 mal mehr, wie Pasteur bei Gährung mit gewöhnlicher Hefe fand.

Noch auffälliger ist der hohe Gehalt an flüchtiger Säure. Dieselbe besteht nur zum Theil aus Essigsäure, wie durch Herstellung des Silbersalzes ermittelt wurde. Uebrigens schmeckten die Weine durchaus nicht stichig, wie es der Fall sein müsste, wenn die flüchtige Säure hauptsächlich aus Essigsäure bestände.

Die flüchtige Säure, zu deren weiterer Untersuchung die erhaltene geringe Menge nicht ausreichte, roch angenehm cumarinartig.

Durch mehr oder weniger starke Betheiligung des *Sacch. apiculatus* bei der Weingährung erklärt sich der oft sehr hohe Gehalt mancher Weine an flüchtiger Säure, ohne dass dieselben einen Essigstich hätten.

Als ich den *Sacch. apic.* Heilbronn in Bierwürze aussäte, konnte ich in der klaren Flüssigkeit, nachdem die Gährung beendet war (20 Tage Gährdauer), nur 0,93 Vol.-% Alkohol nachweisen. Aehnliche Beobachtungen machte Hansen. Letzterer (l. c.) scheint anzunehmen, dass der *Sacch. apic.* überhaupt nicht mehr Alkohol wie 1 Vol.-% erzeugt.

Jörgensen<sup>1)</sup> scheint es wahrscheinlich, dass der *Sacch. apic.* die Maltose nicht vergährt. Später<sup>2)</sup> spricht er dies bestimmt aus. Versuche darüber konnte ich jedoch nicht auffinden.

1) Alfred Jörgensen, Ueber das Verhältniss der Alkohol-Fermente gegenüber der Saccharose. Allgem. Hopfen- und Brauer-Zeitung, 1885, No. 20.

2) Derselbe. Die Mikroorganismen der Gährungs-Industrie, 1886, S. 118.

Boutroux<sup>1)</sup> beobachtete, dass Sacch. apic. in Dextrose-Lösungen starke Gärung erzeugt.

Um das Verhalten des Sacch. apic. gegenüber Maltose- und Dextrose-Lösungen zu studiren, kochte ich Bierwürze derselben Zusammensetzung, wie diejenige, in welcher unser Pilz nur 0,93 Vol.-% Alkohol erzeugen konnte, zur Ueberführung der Maltose in Dextrose mit verdünnter Schwefelsäure, neutralisirte mit kohlensaurem Kalk, brachte auf das ursprüngliche Volumen, filtrirte, sterilisirte im Pasteur'schen Kolben und säte nach einigen Tagen eine Zelle des Sacch. apic. Heilbronn ein. Die Würze hatte in 100 ccm. 0,0960 Säure (als Weinsäure berechnet) enthalten.

Nachdem die Hauptgärung vorbei, die Gärung aber noch nicht ganz beendigt war (nach 8 Tagen), goss ich etwas von der vergohrenen Flüssigkeit zur Analyse ab.

In 100 ccm waren jetzt enthalten:

Alkohol Vol.-% . . . . .	2,62
» Gew.-% . . . . .	2,11
Säure . . . . .	0,2625
Davon flüchtige Säure . . . . .	0,0618 (als Essigsäure berechnet)
Fixe Säure . . . . .	0,1853

Es hat sich somit, nachdem durch Kochen der Würze mit Schwefelsäure die Maltose in Dextrose umgeföhrt worden ist, bei derselben Temperatur und  $\frac{1}{3}$  der Zeitdauer ca. 3 mal mehr Alkohol gebildet.

Durch diesen Versuch ist bewiesen, dass die Maltose direct durch Sacch. apic. nicht vergohren wird, wohl aber nach Ueberführung in Dextrose.

Während der Gärung der mit Schwefelsäure behandelten Bierwürze haben sich ebenfalls wie bei den Weinen grössere Mengen flüchtiger Säure gebildet, und zwar im Verhältniss zum Alkohol genau so viel, wie bei der Gärung des «Mostes» mit Sacch. apic. Heilbronn.

1) Boutroux, Sur l'habitat. et la conservation des levures spontanées. Bull. de la soc. Linnéenne de Normandie, 3. Sér., 4. Vol.

Noch eine andere Betrachtung lässt sich an diesen Versuch knüpfen.

Wenn *Sacch. apic.* die Maltose nicht vergähren kann, so muss die in der ursprünglichen Würze gebildete geringe Menge Alkohol aus Dextrose entstanden sein.

Dadurch erhält die Angabe von F. Musculus und D. Gruber<sup>1)</sup>, welche bei der Einwirkung von Diastase auf Stärke neben Dextrin und Maltose geringe Mengen Dextrose fanden, eine weitere Bestätigung.

In der angegebenen Eigenschaft des *Sacch. apiculatus* bietet sich auch ein Mittel, kleine Mengen von Dextrose neben viel Maltose (z. B. in Bierwürzen) quantitativ durch die erzeugte Alkoholmenge zu bestimmen.

---

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. II, S. 181.