Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 15 (1924)

Heft: 1

Artikel: Schizosaccharomyces liquefaciens n. sp., eine gegen freie schweflige Säure widerstandsfähige Gärhefe

Autor: Osterwalder, A.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-984374

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 04.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Da die Methode des Lebensmittelbuches nur gestattet den Methylalkoholgehalt in *Vol.%* *mit einer Dezimale,* d. h. also in *Vol.‰* zu bestimmen, so hat es keinen Sinn, dem gefundenen Wert (cm^3 pro L abs. Alkohols) noch eine Dezimalstelle beizufügen.

Wie ersichtlich, genügen von allen untersuchten *Obst- und Weintresterbranntweinen* nur zwei diesen Anforderungen (Tabelle 1, Nr. 7 und Nr. 16); auch die übrigen lassen sich jedoch mit Sprit so verdünnen, dass weder ihr Methylalkohol-, noch ihr Estergehalt die zulässige Höchstgrenze überschreitet.

Durch das Verschneiden würde natürlich auch der Gehalt an höhern Alkoholen, der — wie die Analysen zeigen — in den Tresterbranntweinen im allgemeinen nicht sehr hoch ist, herabgesetzt. Bei Annahme meiner Vorschläge in Bezug auf Methylalkohol- und Estergehalt müssten die Tresterbranntweine so stark verschnitten werden, dass der im Anhang zum Lebensmittelbuch aufgestellte Minimalgehalt von 3,5 cm^3 Fuselöl pro L absoluten Alkohols wohl nie erreicht werden dürfte und somit hinfällig würde.

Schizosaccharomyces liquefaciens n. sp., eine gegen freie schweflige Säure widerstandsfähige Gärhefe.

Von Dr. A. OSTERWALDER,
Adjunkt an der Schweiz. Versuchsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau in Wädenswil.

Anfangs November 1921 erhielt die hiesige Versuchsanstalt von einer Weinhandlung der Westschweiz einen stark überschwefelten Traubensaft, 1921er Picpoul français aus Montpellier, mit 72° Oechsle Mostgewicht, den die Firma trotz verschiedener Behandlung nicht in Gärung zu bringen vermochte. Der Gehalt an gesamter schwefliger Säure, nach der Schmitt-Ripper'schen Methode (Schweiz. Lebensmittelbuch, 3. Auflage, 1917, S. 281), sofort nach der Ankunft des Saftes bestimmt, ergab 546,5 mg p. l, was, da der Saft in Montpellier mit Kaliummetasulfit behandelt worden war, mindestens einem Zusatz von ca. 103 g Metasulfit pro hl entspricht. An freier schwefliger Säure waren noch 144,6 mg p. l vorhanden, genug, um die Gärung im Saft zu unterdrücken. Wir stellten von diesem überschwefelten Picpoul Verschnitte mit einem durch Reinhefe in Gärung gebrachten vorher sterilen Traubensaft her und zwar im Verhältnis 20 : 20, 50 : 20 (50 cm^3 Picpoul + 20 cm^3 gärender Saft) und 100 : 20, d. h. 100 cm^3 Picpoul + 20 cm^3 frisch gärender Saft. Schon 2 Tage darauf gärte das Gemisch 20 : 20, nach 4 Tagen auch die beiden andern 50 : 20 und 100 : 20. Bei der mikroskopischen Prüfung des Trubes dieser gärenden Gemische fielen neben der elliptischen Reinhefe, die wir zugesetzt, noch zahlreiche langgestreckte zylindrische Zellen, nicht selten mit einer Scheidewand im Innern, auf, die an Schizosaccharomyces erinnerten.

In den mit diesen gärenden Gemischen hergestellten Gelatine-Plattenkulturen wuchsen denn auch zahlreiche Kolonien mit Schizosaccharomyces-Zellen, einzelne darunter mit Sporen im Innern, heran. Aus einzelnen davon gewannen wir Reinkulturen der Schizosaccharomyces-Hefe. Aus dem reichlichen Vorkommen von Schizosaccharomyces im überschwefelten Picpoul, — denn die Hefe musste dorther stammen, da der andere Teil des Gemisches ein sterilisierter mit Reinhefe versetzter Traubensaft war, — durften wir auf eine gegen schweflige Säure sehr widerstandsfähige Hefe schliessen, auch wenn wir dabei nur die bei der Ankunft des Saftes in demselben enthaltene Menge von 144,6 mg freier schwefliger Säure p. l berücksichtigen, Mengen, die sonst hinreichen, die gewöhnlichen Wein- und Obstweinhefen der Gattung Saccharomyces abzutöten. Unser Interesse wandte sich denn auch beim Studium dieses Organismus in erster Linie dieser Seite zu, d. h. *dem Verhalten der frisch gewonnenen Schizosaccharomyces-Hefe gegenüber schwefliger Säure.* Zu diesem Zwecke säten wir in einen sterilen Traubensaft von ursprünglich 50° Oechsle, den wir mittelst Wasser bis auf 25° Oechsle verdünnten, frische Hefe (1 cm³ p. l), füllten den Saft in kleinere Flaschen ab, je 200 cm³ pro Flasche, und fügten diesen in verschiedenen Dosen reines Kaliummetasulfit zu, 10 bezw. 20, 30, 40 und 50 g p. hl, um später, nachdem das Metasulfit gelöst war, nach der Schmitt-Ripper'schen Methode die Mengen schwefliger Säure im freien und gebundenen Zustand zu bestimmen. Die nach dieser Bestimmung übrig gebliebenen Reste der eingeschwefelten Proben, jeweils ca. 100 cm³, wurden hernach in 100 cm³ Flaschen abgefüllt und diese, mit einem Gärverschluss verschlossen, bei Zimmertemperatur neben dem nicht eingeschwefelten Saft zur weiteren Beobachtung aufgestellt.

Bei diesen Versuchen, sowie der chemischen Analyse der mit der Schizosaccharomyces-Hefe vergorenen Weine erfreute ich mich stets der Mitarbeit des technischen Gehilfen des Laboratoriums, Herrn H. Haller, wofür ihm auch an dieser Stelle herzlich gedankt sei.

Die Bestimmung der schwefligen Säure beim 1. Einschwefelungsversuch ergab folgende Mengen in den verschiedenen Flaschen:

	Gesamte schwefl. Säure mg p. l	Freie schwefl. Säure mg p. l	Gebundene schwefl. Säure mg p. l
Ohne Kaliummetasulfit	7,7	2,6	5,1
Mit 10 g Kaliummetasulfit p. hl	62,7	30,7	32,0
» 20 g » »	113,9	71,6	42,3
» 30 g » »	168,9	117,7	51,2
» 40 g » »	226,5	167,6	58,9
» 50 g » »	282,9	222,7	60,2

Von den der Gärung überlassenen Säften machte sich in den nicht eingeschwefelten, sowie in den mit 10, bezw. 20 g Kaliummetasulfit p. hl behandelten innert 4 Tagen Gärung bemerkbar, in dem mit 30 g Kaliummetasulfit p. hl nach 10 Tagen und in den mit 40 und 50 g Metasulfit versetzten nach 13 bezw. 22 Tagen. Selbst 222,7 mg freie schweflige Säure vermochten also die Schizosaccharomyces-Hefe nicht abzutöten. Nun könnte

man allerdings einwenden, diese geringe Empfindlichkeit von Schizosaccharomyces gegenüber dem genannten Gift hänge mit dem längeren Aufenthalt in dem stark eingeschwefelten Picpoul zusammen und sei nichts anderes als eine vorübergehende Anpassung der Hefe an grosse Mengen schwefliger Säure, worauf zu erwidern ist, dass ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber der genannten Verbindung auch nicht nachgelassen hat, nachdem die Hefe stets im ungeschwefelten Traubensaft kultiviert worden und auch heute, d. h. nach bald 2 Jahren, noch die gleiche ist wie kurz nach der Heranzucht als Reinkultur, was doch kaum der Fall wäre bei einer in stark geschwefelten Säften erworbenen Eigenschaft. Wir impften z. B. anfangs Mai 1922 einen wiederum mit Wasser bis auf 25° Oechsle verdünnten Traubensaft mit einer kleinen Menge seit ca. 5 Monaten stets in ungeschwefelten Obst- und Traubensäften kultivierter Hefe und setzten hernach dem in Flaschen zu je 200 cm³ abgezogenen Saft je 25, bezw. 40, 50, 55 und 60 g Kaliummetasulfit p. hl zu, mit Ausnahme einer Flasche, die keinen Zusatz erhielt. Kurz nachdem das schwefligsaure Salz gelöst war, enthielten die verschieden stark eingeschwefelten Versuchsflüssigkeiten an schwefliger Säure:

	Gesamte schwefl. Säure	Freie schwefl. Säure	Gebundene schwefl. Säure
	mg p. l	mg p. l	mg p. l
Unbehandelt	10,2	2,5	7,7
Mit 25 g Kaliummetasulfit p. hl	148,4	85,7	62,7
» 40 g » »	228,4	157,4	71,0
» 50 g » »	277,1	193,9	83,2
» 55 g » »	307,2	223,3	83,9
» 60 g » »	336,6	253,4	83,2

Wo kein Kaliummetasulfit zugesetzt worden, sowie im Saft mit 25 g p. hl stellte sich am 5. Tag nach dem Einschwefeln Gärung ein; die Probe mit 40 g Metasulfit fing am 7. Tage an zu gären, jene mit 50 g p. hl am 13. Tage, während die Säfte mit 55 und 60 g p. hl nach 17, bezw. erst nach 23 Tagen deutliche Anzeichen alkoholischer Gärung erkennen liessen. Auch 253,4 mg freie schweflige Säure vermochten nach diesem Versuche unsere Schizosaccharomyces-Hefe nicht abzutöten, was uns beim folgenden Einschwefelungsversuch veranlasste, die Zusätze von Kaliummetasulfit noch zu steigern. Den verdünnten Traubensaft von 25° Oechsle impften wir vorher mit Hefen einer ca. 7 Wochen alten Kultur aus Traubenwein. Die Bindungsverhältnisse der schwefligen Säure in den verschiedenen Proben, kurz nachdem die Metasulfit-Kristalle in Lösung gegangen, sind aus nachfolgender Zusammenstellung ersichtlich:

	Gesamte schwefl. Säure	Freie schwefl. Säure	Gebundene schwefl. Säure
	mg p. l	mg p. l	mg p. l
Unbehandelt	7,6	2,6	5,0
Mit 50 g Kaliummetasulfit p. hl	284,1	213,7	70,4
» 60 g » »	336,6	258,6	78,0
» 65 g » »	359,7	279,0	80,7
» 70 g » »	384,0	302,0	82,0
» 75 g » »	430,0	345,6	84,4

Nach 4 Tagen begann die Probe ohne Metasulfit zu gären, nach 5 Tagen der Saft mit 50 g Metasulfit p. hl, nach 7 Tagen der Saft mit 60 g, nach 8 Tagen jener mit 65 und 70 g p. hl und nach 10 Tagen der am stärksten eingeschwefelte mit 75 g Metasulfit p. hl oder mit 345,6 mg freier schwefliger Säure p. l. Gleichzeitig und in gleicher Weise wie den soeben erwähnten Einschwefelungsversuch führten wir einen 2. durch, mit dem Unterschied, dass hier eine andere Hefekultur zur Verwendung kam, nämlich Schizosaccharomyces-Zellen aus dem mit 60 g Metasulfit versetzten Wein des vorhergehenden Versuches, eine Hefe, von der man infolge Ueberwindung von 253,4 mg freier schwefliger Säure eine dadurch vorübergehend erworbene noch grössere Widerstandsfähigkeit glaubte annehmen zu dürfen. Wie es sich damit in Wirklichkeit verhielt, ergibt sich aus Nachfolgendem. In den verschiedenen Säften mit den frisch gelösten Kaliummetasulfit-Kristallen bestimmten wir folgende Mengen schwefliger Säure:

	Gesamte schwefl. Säure mg p. l	Freie schwefl. Säure mg p. l	Gebundene schwefl. Säure mg p. l
Unbehandelt	7,6	2,6	5,0
Mit 50 g Kaliummetasulfit p. hl	288,0	213,7	74,3
» 60 g » »	343,0	267,5	75,5
» 65 g » »	367,3	286,7	80,6
» 70 g » »	408,3	317,4	90,9
» 75 g « »	419,8	340,4	79,4

Wider Erwarten trat keine Verschiebung im Beginn der Gärung gegenüber den entsprechenden Säften des vorhin besprochenen Parallelversuches ein, d. h. die aus einem stark eingeschwefelten Wein stammende Hefe vermochte die gleichen Mengen schwefliger Säure in den Säften dieses Versuches nicht eher zu überwinden als die dem ungeschwefelten Wein entnommene. Die Hemmungsfristen in den Säften dieses Versuches waren die gleichen wie in den entsprechenden Proben eines gleich angestellten Versuches mit Hefe aus einem ungeschwefelten Saft.

Dass auch junge Hefezellen, z. B. von einer 8 Tage alten Kultur in Traubensaft, sich gegenüber der schwefligen Säure als widerstandsfähig erwiesen, zeigt ein Einschwefelungsversuch vom 24. Juni 1922, wiederum mit verdünntem Traubensaft, den man in Flaschen zu je 200 cm^3 abfüllte, mit je $^1/_5$ cm^3 gärenden Traubensaftes pro Flasche impfte und hernach verschieden stark einschwefelte. Kurz nach dem Auflösen des Metasulfits liessen sich folgende Mengen schwefliger Säure im Liter nachweisen:

	Gesamte schwefl. Säure mg p. l	Freie schwefl. Säure mg p. l	Gebundene schwefl. Säure mg p. l
Mit 50 g Kaliummetasulfit p. hl	268,8	203,5	65,3
» 60 g » »	344,3	273,9	70,4
» 65 g » »	348,2	276,5	71,7
» 70 g » «	382,7	308,4	74,3
» 75 g » »	428,8	349,4	79,4

Nach 3 Tagen verriet das Aufsteigen von Kohlensäurebläschen im Saft ohne Metasulfit den Beginn einer deutlichen Gärung; nach 4 Tagen war dies der Fall beim Saft mit 50 g Kaliummetasulfit p. hl, während in den

Proben mit 60, 65 und 70 g die alkoholische Gärung sich nach 9 Tagen ankündigte. Selbst 349,4 mg freie schweflige Säure p. l (75 g Kaliummetasulfit p. hl) vermochten die jungen Hefen nur wenige Tage in der Entwicklung und Gärung zu hemmen; am 10. Tage stellte sich auch in dieser Flasche Gärung ein.

Die Kaliummetasulfitzusätze durften also noch weiter gesteigert werden, bis die Grenze der Widerstandsfähigkeit gegenüber der schwefligen Säure erreicht war. Bei einem weitern Versuch mit Traubensaft von 25° Oechsle in Flaschen von je 200 cm³ wurden denn auch, nach einem Zusatz von je 1/5 cm³ Hefeflüssigkeit einer 14 Tage alten Kultur pro Flasche, Kaliummetasulfitmengen von 70—100 g p. hl verwendet. Die in der nachfolgenden Zusammenstellung angeführten Mengen schwefliger Säure wurden kurz nach dem Einschwefeln festgestellt.

	Gesamte schwefl. Säure mg p. l	Freie schwefl. Säure mg p. l	Gebundene schwefl. Säure mg p. l
Saft ohne Kaliummetasulfit . .	10.2	3,8	6,4
Mit 70 g Kaliummetasulfit p. hl	391,7	298,2	93,4
» 80 g » »	440,3	341,7	98,5
» 85 g » »	477,4	373,7	103,7
» 90 g » »	495,4	389,1	106,3
» 100 g » »	547,8	436,5	111,3

Nach 4 Tagen begann der nicht eingeschwefelte Saft deutlich zu gären, nach 9 Tagen jener mit 70 g Metasulfit p. hl, nach 11 Tagen der Saft mit 80 g; nach 13 Tagen trat deutliche Gärung in der Probe mit 85 g ein, während in den Flaschen mit 90 und 100 g Kaliummetasulfit p. hl die Kohlensäureentwicklung 16 bezw. 25 Tage auf sich warten liess. 436,5 mg freie schweflige Säure genügten also noch nicht, den Saft stumm zu schwefeln, vermochten aber doch die Hefen stark zu beeinflussen und in der Entwicklung während ca. 3 Wochen hintan zu halten; gestützt hierauf durfte man denn auch annehmen, dass bei einer weitern Erhöhung des Gehalts an schwefliger Säure das Maximum der Gärhemmung, d. h. die tötlich wirkende Menge schwefliger Säure, wohl bald in greifbare Nähe rücken würde, was bei einem nächsten Versuche mit Traubensaft, jedoch vom Jahrgang 1922, auch eintrat.

Der wiederum mit Wasser bis auf 25° Oechsle verdünnte Saft, in Flaschen zu je 200 cm³ abgefüllt, in diesen am 14. November 1922 mit je 1/5 cm³ Hefeflüssigkeit einer ca. 1 1/2 Monate alten Kultur geimpft, wurde noch stärker als die Säfte früherer Versuche eingeschwefelt und enthielt, nachdem das Metasulfit aufgelöst war, folgende Mengen schwefliger Säure in den verschieden behandelten Flaschen:

	Gesamte schwefl. Säure mg p. l	Freie schwefl. Säure mg p. l	Gebundene schwefl. Säure mg p. l
Ohne Kaliummetasulfit	6,4	2,5	3,9
Mit 90 g Kaliummetasulfit p. hl	500,5	476,2	24,3
» 100 g » »	556,8	526,0	30,8
» 110 g » »	593,9	555,5	38,4
» 120 g » »	665,6	631,0	34,6
» 130 g » »	716,8	679,6	37,2

Am 15. Dezember, also ziemlich genau einen Monat nach dem Zusatz des Metasulfits, machte sich in der Flasche mit 90 g Metasulfit p. hl Kohlensäureentwicklung bemerkbar. Dass in diesem Versuch 90 g Kaliummetasulfit die Gärung um einen vollen Monat zu unterdrücken vermochten, während bei der gleichen Dosis im vorhergehenden Versuch die Gärverzögerung nur halb so lang dauerte, wird verständlich, wenn man berücksichtigt, dass es in erster Linie die *freie* schweflige Säure ist, die die Hefen in ihrer Vermehrung und Gärtätigkeit hemmt, der 1922er Traubensaft von den 90 g Kaliummetasulfit nicht so viel schweflige Säure zu binden vermochte als der zu den früheren Versuchen verwendete Saft und aus diesem Grunde auch mehr freie schweflige Säure als dieser enthielt, nämlich 476,2 mg p. l gegenüber 389,1 mg p. l. Beim Vergleich der beiden letzten Versuche mit einander, speziell der Versuchsreihen mit 90 g Metasulfit p. hl, hinsichtlich der Wirkungen der schwefligen Säure auf die Hefe, zeigt sich denn auch aufs Neue, dass es hiebei nicht allein auf die Menge des zugesetzten Kaliummetasulfits ankommt, sondern namentlich auch auf das Bindungsvermögen des Saftes. Erst am 4. Januar 1923, 51 Tage nach dem Einschwefeln, fing der Saft mit 100 g Kaliummetasulfit p. hl an zu gären und am 10. Januar 1923, 57 Tage nach Beginn des Versuchs, jener mit 110 g p. hl. 130 g Metasulfit p. hl oder 679,6 mg freie schweflige Säure p. l vermochten die Hefen abzutöten; in dem Saft mit dieser Dosis stellte sich auch nach 10 Monaten keine Gärung mehr ein. Wie sich die Probe mit 120 g Metasulfit p. hl, auf die es bei diesem Versuche gerade angekommen wäre, die bis zum 26. Dezember, also während 6 Wochen, nicht gegoren, weiterhin verhalten hätte, vermögen wir leider nicht zu sagen; wir benützten diesen Saft am genannten Tage zu einer Bestimmung der gesamten und freien schwefligen Säure.

Parallel zu diesem Versuch führten wir einen Einschwefelungsversuch durch, bei dem wir eine Hefekultur aus dem mit 100 g Kaliummetasulfit p. hl eingeschwefelten und vergorenen Saft vom vorletzten Versuch mit ursprünglich 547,8 mg gesamter und 436,5 mg freier schwefliger Säure zur Aussaat verwendeten. Nachdem die Metasulfit-Kristalle gelöst waren, wurden folgende Mengen schwefliger Säure im Liter Saft in den verschieden behandelten Flaschen bestimmt:

	Gesamte schwefl. Säure mg p. l	Freie schwefl. Säure mg p. l	Gebundene schwefl. Säure mg p. l
Saft ohne Kaliummetasulfit . .	6,4	2,5	3,9
Mit 90 g Kaliummetasulfit p. hl	490,2	465,9	24,3
» 100 g » »	552,9	519,7	33,2
» 110 g » »	608,0	570,9	37,1
» 120 g » »	652,8	614,4	38,4
» 130 g » »	716,8	674,4	42,3

Beginn der Gärung in dem Saft mit 90 g Metasulfit p. hl nach 20 Tagen, in dem mit 100 g nach 27 Tagen, mit 110 g nach 37 Tagen, mit 120 g nach 42 Tagen. Aber auch die am stärksten eingeschwefelte Probe mit

130 g Kaliummetasulfit p. hl, d. h. 674,4 mg freier schwefliger Säure p. l, kam noch in Gärung und zwar nach 55 Tagen. Dass bei diesem Versuch der Traubensaft mit 130 g Metasulfit p. hl und ungefähr gleichviel freier schwefliger Säure wie die entsprechende Probe vom vorangehenden Versuch in Gärung kam, spricht für eine grössere Widerstandsfähigkeit der Hefe gegenüber der schwefligen Säure, doch wohl von ihrer Heranzucht in einem stark eingeschwefelten Saft herrührend.

Wie unsere bisherigen Einschwefelungsversuche zu zeigen vermögen, *zeichnet sich die aus dem Picpoul gezüchtete Schizosaccharomyces-Hefe durch eine Widerstandsfähigkeit gegenüber der freien schwefligen Säure aus, wie man sie bisher bei Hefen nicht kannte.* In den letzten 10 Jahren ist wiederholt eine Saccharomycodes-Art (Saccharomycodes Ludwigii) als eine gegen schweflige Säure sehr widerstandsfähige Hefe genannt worden. *Mensio* [1]) fand die Hefe in italienischen Mosten, die trotz erheblichen Gehalts an schwefliger Säure in Gärung gekommen waren. *Baragiola* und *Godet* [2]) stellten sie in überschwefelten spanischen Mosten fest und ebenso weiss *Kroemer* von ihrem Vorkommen in stark eingeschwefelten Rheingauer Mosten zu berichten. Eingehende Untersuchungen über die verschiedenen Eigenschaften dieses Organismus, den sie Saccharomycodes Ludwigii var. vini nannten, führten speziell *Kroemer* und *Heinrich* [3]) durch, wobei sie u. a. ermittelten, dass die Hefe im Most bis zu 470 mg schweflige Säure p. l vertrage, ohne abgetötet zu werden. Wir vermissen bei dieser Feststellung die wichtige Angabe, wie viel schweflige Säure kurz nach dem Zusatz des Kaliummetasulfits gebunden worden und wie viel schweflige Säure frei geblieben. Wie bereits erwähnt, ist es ja besonders die *freie* schweflige Säure, der eine gärungshemmende Wirkung zukommt, während die schweflige Säure im gebundenen Zustand die Hefen nur wenig beeinflusst. So haben *Müller*-Thurgau und Verf. seiner Zeit über Gärversuche mit Theilersbirnsäften aus teigen aldehydreichen Birnen berichtet [4]), die einen Zusatz von nicht weniger als 120 g Kaliummetasulfit p. hl, oder ca. 600 mg schweflige Säure p. l erhielten und trotzdem schon nach wenigen Tagen der Gärung verfielen, weil eben der grösste Teil der aus dem Metasulfit sich entwickelnden schwefligen Säure durch den Aldehyd sofort in gebundene aldehydschweflige Säure übergeführt wurde, von der bekannt ist, dass sie auf die Gärhefen nur einen geringen gärhemmenden

---

[1]) *Mensio C.* Fermentazione di moste fortemente solforati: Di un nuovo fermento in enologia appartenente al genere Saccharomycodes. Le Staz. sperim. agrar. ital. 44, 1911 p. 829—842.

[2]) *Baragiola W. J.* und *Ch. Godet.* Weine aus überschwefelten Traubenmosteu. Diese Mitteilungen, 1912, S. 105—111.

[3]) Prof. Dr. *K. Kroemer* und Dr. *Fr. Heinrich:* Ueber eine in überschwefelten Mosten auftretende Hefe der Gattung Saccharomycodes. Mit 1 Tafel. Geisenheimer Festschrift. Mainz 1922. S. 258—295.

[4]) *H. Müller*-Thurgau und *A. Osterwalder.* Einfluss der schwefligen Säure auf die durch Hefen und Bakterien verursachten Gärungsvorgänge im Wein und Obstweiu. Landwirtsch. Jahrb. d. Schweiz, 1914, S. 524.

Einfluss auszuüben vermag. *Kroemer* und *Heinrich* benützten zu ihren Einschwefelungsversuchen Traubenmost, dem nach unsern Beobachtungen in der Regel nur ein schwaches Bindungsvermögen gegenüber der schwefligen Säure eignet. Nehmen wir nun an, dass z. B. ca. 50 mg schweflige Säure in demselben nach dem Zusatz des Metasulfits sofort gebunden wurden, so verbleiben von den 470 mg, die nach *Kroemer* und *Heinrich* Saccharomycodes Ludwigii var. vini höchstens vertragen soll, noch 420 mg freie schweflige Säure. Beim einen Versuch mit unserer Schizosaccharomyces-Hefe waren es 555 mg freie, beim letzten sogar 674 mg freie schweflige Säure, die noch eine Gärung ermöglichten, woraus folgt, *dass die Schizosaccharomyces-Hefe Saccharomycodes Ludwigii var. vini in der Widerstandsfähigkeit gegenüber der schwefligen Säure um ein erhebliches übertrifft.* Bei eigenen Einschwefelungsversuchen, in gleicher Weise wie die bereits erwähnten mit einer von uns aus einem überschwefelten Obstsaft gewonnenen und wohl mit Saccharomycodes Ludwigii var. vini *Kroemer* und *Heinrich* identischen Saccharomycodes-Hefe durchgeführt, blieb das Maximum der schwefligen Säure, das noch eine Gärung ermöglichte, hinter dem von *Kroemer* und *Heinrich* genannten zurück. Die Bestimmung der schwefligen Säure, kurz nachdem das Metasulfit im verdünnten Traubensaft mit einer ca. 14 Tage alten Reinkultur des Saccharomycodes gelöst war, ergab folgende Mengen im Liter Saft:

	Gesamte schwefl. Säure	Freie schwefl. Säure	Gebundene schwefl. Säure
	mg p. l	mg p. l	mg p. l
Traubensaft ohne Kaliummetasulfit	8,9	3,2	5,7
Mit 50 g Metasulfit p. hl . . .	288,0	216,3	71,7
» 60 g » » . . .	343,0	259,8	83,2
» 70 g » » . . .	394,2	309,7	84,5
» 75 g » » . . .	412,2	325,1	87,1

Der nicht eingeschwefelte Saft begann nach 2 Tagen deutlich zu gären; wo man 50 g Metasulfit p. hl zusetzte, machte sich die Kohlensäureentwicklung nach 7 Tagen bemerkbar, während in der mit 60 g Metasulfit p. hl eingeschwefelten Probe erst nach 26 Tagen die Gärung einsetzte. Die Säfte mit 70 und 75 g Kaliummetasulfit p. hl waren stumm gebrannt. Von anfangs Juli bis in den Dezember hinein vermochten sich die Hefen nicht zu vermehren, so dass in diesem Fall 309,7 mg freie schweflige Säure p. l ausreichten, die Saccharomycodes-Zellen abzutöten.

Nachdem wir festgestellt, dass unsere Schizosaccharomyces-Hefe Mengen freier schwefliger Säure zu ertragen vermag, wie dies von keiner Hefe bisher bekannt geworden, mag die Frage nach der *botanisch-systematischen Zugehörigkeit dieses Organismus* einiges Interesse wecken.

Zu den Schizosaccharomycetaceen gehören einzellige Pilze, Hefen, die sich nicht durch Sprossung wie die Saccharomyces-Arten, wohl aber durch Querteilung, Spaltung vermehren und Endosporen bilden können ähnlich den Saccharomyces-Arten. *A. Klöcker* erwähnt in Lafar's Handbuch der Technischen Mykologie, IV. Bd., 3 Arten der Gattung Schizosaccharomyces P. Lindner

Schizosaccharomyces Pombe Lindner,
» octosporus Beyerinck,
» mellacei Jörgensen.

A. Guilliermond führt ausserdem in seinem Buch: Les Levures, Paris 1912, noch folgende Arten auf:

Schizosaccharomyces Aphalaræ Calthæ Karl Sulc,
» Chermetis strobilobii K. Sulc,
» » abietis K. Sulc, sowie
» asporus Eykmann.

Von diesen verschiedenen Arten dürfen wir wohl jene Vertreter, die noch nicht in Reinkultur gewonnen wurden, zum vorneherein unberücksichtigt lassen. Es sind dies Schizo. Aphalaræ Calthæ Karl Sulc, Schizo. Chermetis strobilobii Karl Sulc und Schizo. Chermetis abietis Karl Sulc. Unsere Schizosaccharomyces-Art bildet auf Gelatine sehr leicht Sporen, in der Regel 4 pro Zelle und kann demnach nicht identisch mit Schizo. asporus Eykmann sein. Aber auch Schizo. octosporus kann nicht in Frage kommen, denn abgesehen von der Sporenzahl, die 4 nie übersteigt, während Schizo. octosporus häufig 8 Sporen pro Zelle enthält, wie ja der Speziesname schon andeutet, vergärt die von uns gewonnene Spezies u. a. auch Saccharose, wozu Schizo. octosporus nicht befähigt ist. So bleiben denn von den angeführten Schizosaccharomyces-Arten nur noch 2 übrig, zu denen unsere Schizosaccharomyces hätte gehören können: Schizosaccharomyces Pombe Lindner und Schizosaccharomyces mellacei Beyerinck, welche beide Hefenarten, die uns die Zentralstelle für Pilzkulturen in Baarn Holland in verdankenswerter Weise in Reinkulturen überliess, denn auch zwecks Indentifizierung zu einer Reihe von vergleichenden Untersuchungen herangezogen wurden. Vorerst sollten uns einige *Einschwefelungsversuche mit Schizo. Pombe und Schizo. mellacei* über ihre Empfindlichkeit gegenüber der schwefligen Säure orientieren; sie wurden in gleicher Weise wie die mit unserer Schizo.-Hefe durchgeführt, mit dem gleichen verdünnten Traubensaft, dem man in den Flaschen mit 200 cm³ Flüssigkeit jeweils 1/5 cm³ Hefeflüssigkeit und hernach das Kaliummetasulfit zufügte, um kurz darauf, nachdem das Salz gelöst war, die schweflige Säure zu bestimmen.

Versuch mit Schizosaccharomyces Pombe.

	Gesamte schwefl. Säure mg p. l	Freie schwefl. Säure mg p. l	Gebundene schwefl. Säure mg p. l
Saft ohne Kaliummetasulfit . .	7,7	3,2	4,5
Mit 10 g Kaliummetasulfit p. hl	59,5	26,9	32,6
» 20 g » »	118,4	70,4	48,0
» 30 g » »	168,9	112,6	56,3
» 40 g » »	231,6	165,1	66,5

4 Tage nach der Aussaat der Hefe machte sich im nicht eingeschwefelten Saft deutliche Gärung bemerkbar, in dem mit 10 g Kaliummetasulfit p. hl eingeschwefelten einen Monat später, während die übrigen Proben mit 20,

bezw. 30 und 40 g Metasulfit p. hl selbst innert 10 Monaten nicht mehr in Gärung kamen, stumm gebrannt waren. Schizo. Pombe erwies sich gegenüber schwefliger Säure *bedeutend empfindlicher* als unsere Schizo.-Spezies.

Versuch mit Schizosaccharomyces mellacei.

In den mit Schizo. mellacei geimpften ($^1/_5$ cm^3 Hefeflüssigkeit pro Flasche mit 200 cm^3) und hernach mit Kaliummetasulfit versetzten Säften bestimmten wir unmittelbar, nachdem die Metasulfitkristalle gelöst waren, folgende Mengen schwefliger Säure p. l Saft:

	Gesamte schwefl. Säure	Freie schwefl. Säure	Gebundene schwefl. Säure
	mg p. l	mg p. l	mg p. l
Saft ohne Kaliummetasulfit . .	10,2	3,8	6,4
Mit 10 g Kaliummetasulfit p. hl	64.0	19,8	44,2
» 20 g » »	116,5	53,7	62,8
» 30 g » »	176,0	97,3	78,7

Im nicht eingeschwefelten Saft war am 5. Tage lebhafte Gärung eingetreten, während 10 g Kaliummetasulfit p. hl eine starke Hemmung in der Vermehrung und Gärung zur Folge hatten und erst 44 Tage nach der Aussaat der Hefe die Gärung ermöglichten. Dass die Säfte mit 20 und 30 g Metasulfit p. hl auch nach $^3/_4$ Jahren noch keine Spur von Gärung erkennen liessen, stumm gebrannt waren, konnte nach dem schädlichen Einfluss von 10 g nicht überraschen. Wie Schizo. Pombe zeichnet sich auch Schizo. mellacei *durch eine grosse Empfindlichkeit gegenüber der schwefligen Säure* aus.

Von Schizosaccharomyces Pombe wird in der Literatur (Lafar, Lindner, Guilliermond) angegeben, dass die Hefe die d Mannose nicht vergäre und sich dadurch von Schizosaccharomyces mellacei, welche Art die genannte Verbindung zersetze, unterscheide. Nach unseren vergleichenden Untersuchungen, die ergeben sollten, ob unsere Schizosaccharomyces-Hefe sich in dieser Beziehung verhalte wie Schizo. Pombe oder Schizo. mellacei trifft obige Angabe über Schizo. Pombe *nicht* zu; *auch diese Hefe greift die d Mannose an.* Die d Mannose, als reine Verbindung im Sommer 1922 von E. Merck in Darmstadt bezogen, wurde, um einer Zersetzung vorzubeugen, zunächst in destilliertem Wasser gelöst und während $^1/_2$ Stunde bei 98° sterilisiert, um dann im abgekühlten Zustand zu dem in 3 Flaschen abgezogenen, mit Weinsäure schwach angesäuerten Hefeauszug gefügt zu werden (9 g d Mannose auf 3 Fläschchen à 100 cm^3 Hefeauszug). Die Aussaat der Hefen, zunächst Schizo. Pombe und unsere Schizosaccharomyces-Art, in die Fläschchen erfolgte mittelst der Platinöse am 21. August 1922, worauf die ca. 3%igen Mannoselösungen in den mit Gärverschlüssen versehenen Fläschchen der Zimmertemperatur überlassen blieben. Erst am 29. September, nach 38 Tagen, machte sich in der Lösung mit unserer Schizosaccharomyces-Hefe eine schwache Gärung bemerkbar, die in wenigen Tagen zunahm und ein Schäumen hervorrief. Bei Schizo. Pombe kündigte sich die Gärung etwas später an, am 9. Oktober, nach 48 Tagen; auch hier verriet sich die stärkere Gärung einige Tage später durch Schäumen.

Die chemische Untersuchung der Lösungen nach vollendeter Gärung am 28. November 1922 auf Alkohol und Gesamtsäure ergab dann auch, dass *beide Hefen Schizo. Pombe und unsere Schizo. spec. die d Mannose vergoren hatten.*

	Alkohol	Gesamtsäure als Weinsäure
	g p. l	g p. l
Sterile Mannoselösung	0,62	1,38
» » + Schizo. Pombe	11,20	1,95
» » + Schizo. spec. .	11,65	1,91

Bei einem 2. Versuch mit nicht angesäuertem Hefeauszug, zu dem ausser den Hefen Schizo. Pombe und Schizo. spec., auch Schizo. mellacei zum Vergleich herangezogen wurde, war es die Mannoselösung mit Schizo. mellacei, in der zuerst die Gärung sich ankündigte und zwar nach 13 Tagen. Am 15. Tage schäumte die Lösung. Bei unserer Schizo. spec. vergingen 23 Tage bis zum Beginn deutlicher Gärung, die sich etliche Tage später ebenfalls unter Schaumbildung vollzog. Zuletzt, nach 30 Tagen, fing auch Schizo. Pombe an zu gären, um etliche Tage später zu schäumen. Die chemische Analyse der 3 vergorenen Lösungen, die sich wiederum nur auf Alkohol und Gesamtsäure beschränkte, ergab am 3. März 1923 folgendes Resultat:

	Alkohol	Gesamtsäure als Weinsäure
	g p. l	g p. l
3 %ige Mannoselösung + Schizo. spec. .	10,55	0,29
» » + Schizo. Pombe .	10,60	0,29
» » + Schizo. mellacei	10,55	0,25

Aus beiden Gärversuchen mit d Mannose geht hervor, *dass auch Schizo. Pombe diese Verbindung,* wenn auch erst nach längerer Zeit, *zu vergären vermag.* Vermutlich wird die irrtümliche Ansicht über das Verhalten von Schizo. Pombe gegenüber d Mannose mit der Kleingärmethode zusammenhängen, die bei der Prüfung auf Gärfähigkeit zur Anwendung gelangte und insofern irreführen kann, als derartige Versuche eben nicht Wochen lang dauern können, wie auch *H. Will* [1]) seinerzeit hierüber schrieb: «Die Kleingärmethode von P. Lindner kann also nur zu orientierenden Versuchen angewendet werden. Die Frage, ob einem Organismus das Gärvermögen überhaupt fehlt oder ob ein Zucker unvergärbar ist, kann erst durch einen im grösseren Masstabe durchgeführten Versuch mit längerer Dauer entschieden werden.» Die Versuche mit d Mannose zeigen aber auch, dass das Verhalten gegenüber dieser Verbindung uns bei der Bestimmung der botanisch-systematischen Zugehörigkeit unserer Schizosaccharomyces-Hefe keine Anhaltspunkte liefern kann.

Je nach den verschiedenen Nährflüssigkeiten lassen sich die Hefezellen der 3 Schizosaccharomyces-Arten mehr oder weniger leicht von einander unterscheiden. Deutlich wichen sie z. B. in einer 8 Tage alten Kultur im

[1]) *H. Will:* Beiträge zur Kenntnis der Sprosspilze ohne Sporenbildung, welche in Brauereibetrieben und deren Umgebung vorkommen. Zentralbl. für Bakteriologie, I. Abt., Bd. 21, S. 389.

Traubensaft von einander ab. Regelmässig walzenförmige Hefen bildeten bei unserer Schizo. spec. Ausnahmen; meist sahen die Hefen keulenförmig aus oder glichen Handgranaten, indem die eine Hälfte der walzenförmigen Zellen bedeutend dicker erschien, z. B. 5 μ mass, während die andere schmälere ca. 2,6 – 3,2 μ dicke Hälfte zu dem dickeren Teil gleichsam den Stiel bildete. Oft waren die langen walzenförmigen Hefen in der Mitte gleichmässig verdickt und erinnerten in der Form an einen Regenwurm mit angeschwollenem Clitellum oder glichen einer beidseitig gekeimten Pilzspore. Auch elliptische Zellen kamen vor, z. B. 7,9 μ lang und 5,3 μ breit, oder auch solche, die an Saccharomycodes erinnerten, wie dies z. B. auch Fig. 1 zeigt. In der

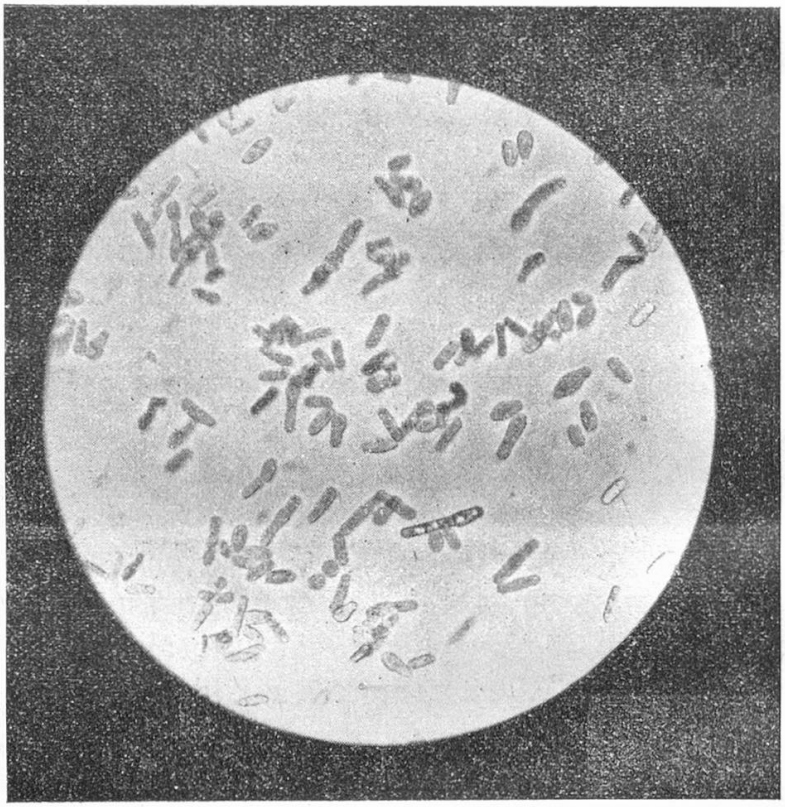

Fig. 1.
18 Tage alte Kultur von Schizosaccharomyces liquefaciens in Traubensaft. Vergr. 300/1.

Länge unterschieden sich die Zellen stark von einander; ganz lange Hefen, die aber nur ausnahmsweise vorkamen, erreichten eine Länge von ca. 32 μ bei einer Breite von ca. 2,6—4 μ; am häufigsten waren mittellange Hefen mit ca. 16 μ und einer Breite bis 3,2 μ; kürzere walzenförmige Zellen waren 7,9 μ lang und 3,9 μ breit; manche waren durch eine Scheidewand in zwei Zellen geteilt. Sehr oft hingen zwei Hefen in einem spitzen bis rechten Winkel auf schmaler Strecke noch miteinander zusammen, Tochterzellen einer gespaltenen Hefe, die noch nicht völlig sich von einander getrennt hatten. Kürzere walzenförmige Hefen mit sog. Kappenbildung, d. h. Zellen, deren eine Ende halbkugelig oder uhrglasförmig vorgewölbt erschien und dadurch dem Pistill eines Mörsers nicht unähnlich werden, waren nicht selten.

Schizo. Pombe unterschied sich in diesem Traubensaft von unserer Schizo.-Spezies durch die grössere Zahl regelmässiger walzenförmiger Zellen, unter denen die grössten, z. B. solche von 45 μ, jene der Schizo. spec. in der Länge übertrafen, während sie eher etwas schmaler waren, meist ca. 2,6 μ massen. Die langen Zellen waren häufig gebogen oder von knorriger Gestalt und wichen auch in dieser Beziehung von unserer Schizo. spec. ab. Daneben fanden sich auch Hefezellen, die unserer Schizo.-Art glichen, solche, die entweder gegen das eine Ende hin oder in der Mitte dicker erschienen, sowie Handgranatenformen.

Schizo. mellacei liess sich schon auf den ersten Blick, ohne Zuhilfenahme des Mikroskopes, von den beiden andern Arten unterscheiden, verhielt sich wie eine obergärige Hefe und fiel durch eine die Oberfläche der Flüssigkeit bedeckende Hefeschicht auf. Charakteristisch für Schizo. mellacei ist auch die Eigenschaft der Hefen, aneinander zu haften, so dass beim Schütteln der ursprünglich zusammenhängende Trub nicht in die einzelnen Hefen auseinanderstiebt, sondern nur in kleinere mit blossem Auge sichtbare Fetzen und Flocken von Hefezellen zerfällt, ein Merkmal, das z. B. auch von Schizosaccharomyces octosporus erwähnt wird. Die meisten Zellen von Schizo. mellacei sind walzenförmig oder keulenförmig und durchschnittlich länger als die unserer Schizo. spec. Die längsten Hefen massen 37,2 μ, bei unserer Schizo.-Hefe ca. 32 μ. Auch erschienen sie durchwegs etwas dicker, meist 3,2—3,9 μ. Wie bei unserer Schizo. spec. waren auch die mittellangen Zellen, ca. 18 μ lange und 3,9 μ breite, am meisten vertreten. Bei vereinzelten langen mellacei-Formen liessen sich im Innern sogar zwei Scheidewände, d. h. drei Zellen, feststellen. Wie bei der Schizo. spec. nicht selten zwei Hefen in einem spitzen bis rechten Winkel miteinander an einer schmalen Stelle noch zusammenhingen, so war dies auch bei Schizo. Pombe und Schizo. mellacei nicht selten der Fall. Alle 3 Hefearten färbten sich mit Jodjodkalium stets gelbgrün, speichern also kein Glykogen. Alles in allem lassen sich die 3 Schizo.-Arten im Traubensaft ziemlich leicht voneinander unterscheiden und erkennen: Schizo. Pombe an den vielen langen ca. 2,6 μ schmalen oft gebogenen Hefen, Schizo mellacei an den zu kleinen Fetzen miteinander verklebten Zellen und breiteren (3,2—3,9 μ) meist regelmässig walzenförmigen Hefen, unsere Schizo. spec. an den häufig ungleichmässig dicken Zellen, die dünner als Schizo. mellacei, aber etwas dicker als Schizo. Pombe erscheinen, in der Regel aber nicht so lang wie diese beiden Arten werden.

Von den beiden andern Schizosaccharomyces-Arten besonders stark abweichend verhält sich unsere Hefe in den Strichkulturen und Riesenkolonien auf 15%iger Gelatine mit einem Zusatz von ca. 10% Traubensaft. Schon im Verlauf von 14 Tagen hatte die Schizo. spec. in den *Strichkulturen* verflüssigt, anstelle des Impfstriches eine Rinne gebildet, in der die Kultur auf den Boden des Röhrchens hinunterglitt; später verflüssigte auch die übrige Gelatine, so dass z. B. nach 7 Wochen alle Gelatine in den Röhrchen ca. 3 cm hoch flüssig geworden und in der Tiefe die weisse Hefemasse ein-

schloss. Die Strichkulturen von Schizo. mellacei waren zu dieser Zeit (nach 7 Wochen) noch fest, erschienen nassglänzend und am Rande fein gekerbt. Schizo. Pombe mit unregelmässig gekerbtem Strich schickte sich nach sieben Wochen an, besonders der untere Teil der Strichkultur, zu verflüssigen, d. h. den Strich hinunter zu gleiten; doch war die Gelatine noch fest. Nach $3^1/_2$ Monaten hatte auch Schizo. mellacei verflüssigt. Neben dem Verflüssigungsvermögen fiel sodann bei unserer Schizo.-Hefe *in den Strichkulturen auch das frühzeitige Vorkommen zahlreicher sporenhaltiger Zellen* auf; schon in der ersten Woche nach der Aussaat schritten viele Hefen zur Bildung von Sporen; in der Regel waren es deren 4. Wie dies auch von Schizo. Pombe und Schizo. mellacei bekannt ist, zeichneten sich in diesen Strichkulturen viele sporenhaltige Hefen durch ihre hantelförmige Gestalt aus, indem die Zellen in der Mitte schmal, ausgezogen, an den beiden Enden aber zurückgebogen und von normaler Breite erschienen. Nach Guilliermond, der die Sporenbildung bei Schizosaccharomyces eingehend untersuchte, sollen diese Formen von der Kopulation zweier Hefen herrühren. Doch liessen sich in den Strichkulturen unserer Schizo.-Hefe auch gerade Zellen mit Sporen feststellen, bei denen die Sporenbildung ohne vorhergehende Kopulation, auf ungeschlechtlichem Wege vor sich gegangen. Schizo. mellacei bildete in den Strichkulturen auch nach Monaten keine Sporen, Schizo. Pombe nur in vereinzelten Zellen. Auffällig war ferner bei unserer Schizo.-Art, dass in den meisten sporenhaltigen Hefezellen die Zellwände sich auflösten, die Sporen austraten und diese dann kleine elliptische Hefen vortäuschten, leicht aber als Sporen wieder daran zu erkennen waren, dass ihre Haut, die sich zwar nicht deutlich abhob, mit Jodjodkaliumlösung blau färbte. Die in der verflüssigten Gelatine am Boden sich ansammelnde Hefe bestand zu einem grossen Teil aus solchen frei gewordenen Sporen. Ob wohl mit diesem Auflösungsprozess der Zellwand das auffallend starke Verflüssigungsvermögen unserer Hefe im Zusammenhang steht, indem dadurch die proteolytischen Enzyme, die Trypsine, frei werden und ihr Aktionsradius sich vergrössert? Die Hefen von Schizo. spec. waren in diesen Strichkulturen walzenförmig, 5,3 μ lang und 3—3,5 μ breit bis 27 μ lang und ca. 4 μ breit. An kürzeren Hefen liess sich hie und da eine Scheidewand im Innern feststellen. Auch in den Strichkulturen unterschied sich Schizo. Pombe durch die durchschnittlich längeren und schmaleren walzenförmigen Zellen; sehr häufig waren Zellen von ca. 18 μ Länge und 2,6—3 μ Breite. Kurze (5—8 μ lange und ca. 4 μ breite), viele mittellange (13,3 μ) und in geringerer Zahl lange (32 μ lang und 3,9 μ breit) Hefen von walzen- und keulenförmiger Gestalt fanden wir in den Strichkulturen von Schizo. mellacei, welche Art hier eher unser Schizo. spec. glich als Schizo. Pombe; nur dass eben die sporenhaltigen Hefen fehlten.

Aehnlich den Strichkulturen verflüssigten auch die *Riesenkolonien* unserer Schizo. spec. rascher als die der beiden anderen Arten. Schon nach 14 Tagen erschienen sie nassglänzend und begannen zu verflüssigen. Nach

ca. 6 Wochen waren sie ganz verflüssigt; anstelle der Riesenkolonie war ein kegel- bis halbkugelförmiger Krater mit verflüssigter Gelatine, auf deren Grund die weisse Hefe sich ansammelte, getreten. Durchmesser ca. 14 mm, Tiefe ca. 7 mm. Trotzdem schritt wie in der Strichkultur so auch bei den Riesenkolonien die Verflüssigung immer weiter, so dass nach 1/4 Jahr der verflüssigte kegelförmige Krater einen Durchmesser von 3 cm erreichte bei einer Tiefe von 2 1/2 cm. Die Figuren 2—4, nach photographischen Aufnahmen Herrn Hallers in natürlicher Grösse erstellt, lassen auf den ersten Blick das grundverschiedene Aussehen der 50 Tage alten Riesenkolonien der drei Schizosaccharomyces-Arten erkennen: Fig. 2 die total verflüssigte Kolonie unserer Schizo.-Art, Fig. 3 die noch feste, in der Form an einen Knaben-Strohhut erinnernde Riesenkolonie von Schizo. Pombe, Fig. 4 die gugelhopfartige Kultur von Schizo. mellacei, unten von einer Reihe konzentrisch gerippter unregelmässiger Lappen umsäumt. 1/4 Jahr nach der Anlage der Riesenkolonien, da bei der Schizo. spec. anstelle der einstigen Kolonie ein weites trichterartiges Loch mit verflüssigter Gelatine mit einem Durchmesser von 3 cm und einer Tiefe von 2 1/2 cm getreten, hatten die Kolonien von Schizo. Pombe noch nicht verflüssigt; doch waren sie ca. 1/2 cm tief in die Gelatine eingesunken; ihr Durchmesser betrug 12 mm. Auch Schizo. mellacei war noch fest, wenn auch schon etwas eingesunken; ihr Durchmesser hatte 13 mm erreicht. Wie in den Strichkulturen zeichnete sich

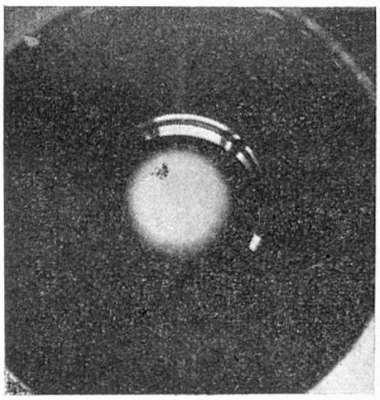

Fig. 2.
Riesenkolonie von Schizosaccharomyces liquefaciens auf Traubensaft-Gelatine, 50 Tage alt. Vergr. 1/1.

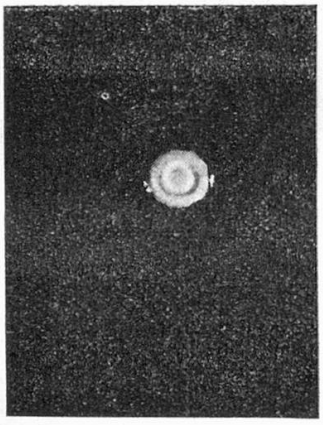

Fig. 3.
Riesenkolonie von Schizosaccharomyces Pombe auf Traubensaft-Gelatine, 50 Tage alt. Vergr. 1/1.

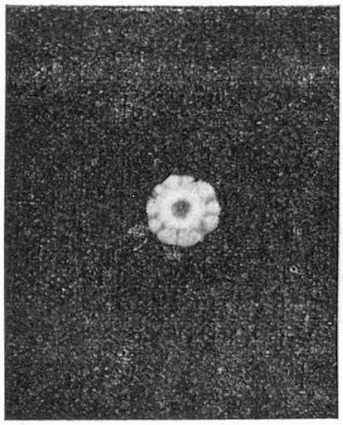

Fig. 4.
Riesenkolonie von Schizosaccharomyces mellacei auf Traubensaft-Gelatine, 50 Tage alt. Vergr. 1/1.

unsere Schizo. spec.-Hefe auch in den Riesenkolonien durch reichliche Sporenbildung aus und verschwand in vielen sporenhaltigen Zellen die Zellhaut, was den Austritt der Sporen aus den Hefen ermöglichte. Die zylindrischen,

an beiden Enden abgerundeten Zellen der Riesenkolonien schwankten in der Grösse zwischen 5,3 μ Länge und 3 μ Breite und 23,9 μ Länge und 2,6—3 μ Breite. In vereinzelten Hefen fielen eine oder auch zwei Scheidewände auf. Kürzere Hefen standen oft zu zweien in der bekannten Winkelstellung noch miteinander in loser Verbindung. Nicht sehr verschieden von der eben geschilderten Hefe sahen in den Riesenkolonien die Hefezellen von Schizo. mellacei aus; dagegen fehlten hier die sporenhaltigen Zellen. Schizo. Pombe unterschied sich in den Riesenkolonien wiederum durch die zahlreichen längern und dünnern, meist zylindrischen oder auch keulenförmigen Hefen. Ganz lange Zellen massen 45 μ in der Länge und 2,66 μ in der Breite. Hefen mit 4 Sporen oder mit Scheidewänden bildeten bei Schizo. Pombe in den Riesenkolonien Ausnahmen.

Die Untersuchungen über *Sporenbildung* wurden mit jungen frischen in Traubensaft gezüchteten Hefezellen der 3 Schizosaccharomyces-Arten durchgeführt, wobei die auf Gipsblöckchen verbrachten Hefen verschiedenen Temperaturen, 34°, 28°, 23°, 19°, 15° und 12°, überlassen blieben. Schizo. Pombe und Schizo. mellacei schritten nirgends zur Sporenbildung, auch im Verlauf von 14 Tagen nicht, was uns nach der bei ihren Strichkulturen und Riesenkolonien auf Gelatine zu Tage getretenen geringen Neigung zur Sporenbildung nicht überraschte. Weniger verständlich ist das Verhalten unserer Schizo. spec., die auf Gelatine massenhaft Sporen bildet, auf dem Gipsblöckchen dagegen nur in vereinzelten Zellen bei 28° und 23°. Es erinnert dies Verhalten an das, was *Lindner* in seiner «Mikroskopischen Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben», IV. Aufl., S. 441, in dieser Beziehung über Schizo. Pombe schreibt: «Auf Gips wurden selbst nach 3 Tagen noch keine Sporen gefunden, der Gipsblock ist hier keine geeignete Unterlage für die Sporenkultur. Bei einer 15 Wochen alten Gelatinekultur hatten im Bodensatz der verflüssigten Gelatine ca. 15% der Zellen Sporen gebildet.» Die Sporen von unserer Schizo. spec., mit einem Durchmesser von 2,6—3½ μ, sind kugelig, elliptisch und färben sich mit Jodjodkaliumlösung blass-violett.

Die *Gärkraft* der Schizo. spec. sowie von Schizo. Pombe, welche Art man zum Vergleich in die Versuche mit einbezog, prüften wir in sterilem Wasser- und Theilersbirn- sowie in Traubensaft, gewöhnlich in mit Gärverschlüssen versehenen Flaschen mit je 450 cm³ Flüssigkeit, die bei Zimmertemperatur aufgestellt und in kürzeren Zeiträumen gewogen wurden, um die Gewichtsabnahmen, d. h. die Kohlensäureverluste, und damit den Verlauf der Gärung festzustellen. Die Gewichtsverluste berechneten wir jeweils in Gramm auf 1 l Saft.

1. Wasserbirnsaft.

Gewichtsverlust	Schizo. spez.	Schizo. Pombe
nach 6 Tagen	0,45	0,30
» 11 »	1,10	0,70
» 21 »	13,25	5,55
» 32 »	34,10	19,75
» 51 »	46,50	37,70
» 169 »	48,80	45,00

2. *Theilersbirnsaft.*

Gewichtsverlust	Schizo. spez.	Schizo. Pombe
nach 11 Tagen	12,0	0
» 22 »	21,5	20,1
» 32 »	35,0	32,0
» 41 »	43,7	40,1
» 57 »	54,3	51,4
» 71 »	57,1	55,7
» 81 »	57,8	56,6
» 91 »	58,3	56,8

3. *Traubensaft.*

Gewichtsverlust	Schizo. spec.	Schizo. Pombe
nach 7 Tagen	0,64	0,13
» 16 »	8,8	7,3
» 30 »	19,7	13,9
» 40 »	26,9	16,4
» 50 »	39,7	18,7
» 70 »	49,5	21,4
» 134 »	51,0	43,8

Während im Theilersbirnsaft die beiden Hefen hinsichtlich der Gärkraft nur wenig von einander abwichen, erwies sich im Wasserbirn- und Traubensaft unsere Schizo. spec. der Schizo. Pombe gegenüber als bedeutend gärkräftigere Hefe. Mit den gärkräftigen Wein- und Obstweinhefen vermag unsere Schizo.-Art allerdings nicht zu konkurrieren; im Vergleich mit diesen verdient sie eher das Attribut gärschwach oder mittelmässig. Immerhin ist sie imstande, sofern man ihr Zeit lässt, bis 6 und noch mehr Gewichtsprozent Alkohol zu bilden, wie dies aus den Resultaten der chemischen Untersuchung der 3 genannten ganz oder nur teilweise vergorenen Weine hervorgeht.

	Gesamtsäure als Aepfelsäure	Flüchtige Säure als Essigsäure	Gesamtzucker als Invertzucker	Alkohol	Extrakt	Oechsle Grade oder Spez. Gewicht
	g im l	g im l	g im l	g im l	g im l	
Wasserbirnsaft.						
Wasserbirnsaft + Schizo. spec., untersucht nach 169 Tagen	0,87	0,36	—	47,94	—	$1^1/_2$ °
Wasserbirnsaft + Schizo.-Pombe, untersucht nach 169 Tagen	3,28	0,51	—	46,92	—	3 °
Theilersbirnsaft.						
Steriler Saft	2,91	0,64	126,09	1,75	163,01	1,06254
Steriler Saft + Schizo. spec., untersucht nach 91 Tagen	3,08	0,67	1,92	62,34	39,46	1,00444
Steriler Saft + Schizo. Pombe, untersucht nach 91 Tagen	4,35	0,72	1,95	62,34	41,10	1,00506

	Gesamtsäure als Weinsäure	Flüchtige Säure als Essigsäure	Milchsäure	Gesamtweinsäure	Gesamtzucker als Invertzucker	Alkohol	Extrakt
Traubensaft.	g im l	g im l	g im l	g im l	g im l	g im l	g im l
Steriler Saft	14,02	0,38	0,65	—	100,44	0,92	131,03
Steriler Saft + Schizo. spec., untersucht nach 134 Tagen	4,08	0,57	0,72	4,72	0,55	49,44	23,82
Steriler Saft + Schizo. Pombe, untersucht nach 134 Tagen	12,97	0,66	0,67	5,04	1,27	47,04	32,98

Im Verlauf von ca. 70 Tagen war unsere Schizo.-Hefe bei Zimmertemperatur imstande, die verschiedenen Säfte zu vergären und 5—6 Gewichtsprozent Alkohol zu bilden; im Theilersbirnsaft vermochte dies auch Schizo. Pombe, während im Traubensaft Schizo. Pombe nach 70 Tagen in der Alkoholbildung weit hinter der Schizo. spec. zurückblieb. Bemerkenswert ist im Wasserbirnsaft und namentlich im Traubensaft die *starke Abnahme an Gesamtsäure.* Es muss sich hiebei um die *Zersetzung von Aepfelsäure* handeln, denn in Obstsäften besteht ja bekanntlich die Gesamtsäure zum weitaus grössten Teil aus Aepfelsäure. Im vergorenen Traubenwein ergaben ferner die Bestimmungen der Gesamtweinsäure annähernd gleiche Mengen Weinsäure, bei Schizo. spec. 4,72 ‰, bei Schizo. Pombe 5,04 ‰, woraus ohne weiteres folgt, dass der starke Rückgang der Gesamtsäure bei Schizo. spec. auf Kosten der in den Traubensäften neben der Weinsäure vorkommenden Aepfelsäure sich vollzogen hat. Beim Vergleich der geringen Menge Gesamtsäure mit dem Gehalt an Gesamtweinsäure drängt sich einem der Schluss auf, dass unsere Schizosaccharomyces-Hefe wohl sämtliche Aepfelsäure zerstört hat. Dass Schizo. spez. imstande ist, Aepfelsäure zu assimilieren, ergaben ferner auch die Kulturversuche in den Hefewasserlösungen mit Aepfelsäure, die wir später erwähnen werden. Nur auf eines möge hier noch aufmerksam gemacht werden. Bekanntlich gibt es im Wein und Obstwein auch Bakterien, die Aepfeläure zersetzen (Bact. gracile, Bact. intermedium, Bact. tartarophthorum, Micrococcus acidovorax); immer geschieht dies unter Bildung von Milchsäure und Kohlensäure. Anders muss bei unserer Schizo. spec. der Chemismus der Aepfelsäurezerlegung verlaufen, wie dies die Milchsäurebestimmungen im unvergorenen Traubensaft und den durch Schizo. spec. vergorenen Weinen erkennen lassen, wo der Gehalt an Milchsäure unverändert geblieben. Wie ferner aus der Tabelle mit den analytischen Ergebnissen hervorgeht, wurde in den verschiedenen Säften die flüchtige Säure durch Schizo. spec. wie übrigens auch durch Schizo. Pombe nur unwesentlich beeinflusst. Bei der mikroskopischen Prüfung der Hefen in den vergorenen Weinen fiel im Wasserbirnwein Schizo. Pombe wiederum durch die grössere Zahl längerer Hefen, oft von etwas knorriger Gestalt auf; wir massen solche von 34,5 μ Länge und 2,6 μ Breite. Der Wasserbirnwein mit unserer Schizo.-Hefe enthielt mehr kürzere und breitere For-

men, kugelige, elliptische und zylindrische Zellen; kürzere waren 5,3 μ lang und 2,9 μ breit, lange zylindrische Hefen 29,5 μ lang und 2,6—2,9 μ breit. Vereinzelte Schizo. spec.-Hefen enthielten Sporen. In ähnlicher Weise wichen die beiden Hefearten im Theilersbirnsaft von einander ab, wo der Trub mit Schizo. Pombe eine grössere Zahl längerer, meist gebogener und oft unregelmässig verdickter Hefen enthielt, daneben auch viele kurze Formen und zahlreiche Uebergangsstufen von den kurzen zu den langen. Bei Schizo. spec. waren die Zellen regelmässiger und meist etwas dicker. Von den vielen kurzen, elliptischen Hefen (7,9 μ lang und 5,3 μ breit) bis zu den langen, geraden, walzenförmigen und an den Enden abgerundeten Zellen (26,6 μ lang und 4 μ breit) traten die verschiedensten Grössen auf. Sporen waren nicht vorhanden und nur in vereinzelten Hefen Scheidewände. Aehnliche Unterschiede zwischen den Hefen der beiden Schizosaccharomyces-Arten stellten wir auch im vergorenen Traubenwein fest, wobei noch erwähnt werden mag, dass während der Gärung des Traubensaftes sich viele Hefen der Schizo. spec. an der Oberfläche ansammelten und Obergärungserscheinungen hervorriefen.

Um den *Einfluss der Temperatur auf Wachstum und Gärung* der Schizo. spec. festzustellen, füllten wir je 200 cm³ Theilersbirnsaft von 61° Oechsle in eine grössere Zahl Flaschen ab, impften diese abgefüllten Säfte mittelst einer Platinöse mit unserer Schizo.-Hefe, bezw. Schizo. Pombe, welche Hefe zum Vergleich herangezogen wurde, verschlossen die Flaschen mit Gärverschlüssen und setzten sie im Panum'schen Thermostaten verschiedenen Temperaturen aus. Um den Vergärungsgrad in den verschieden erwärmten Säften nach 24 und 40 Tagen, vom Beginn des Versuchs an gerechnet, zu ermitteln, bestimmten wir jeweils zu den genannten Zeiten mittelst der Oechsle-Wage die Mostgewichte.

		Schizo. spec.		*Schizo. Pombe*	
		Nach 24 Tagen ° Oechsle	Nach 40 Tagen ° Oechsle	Nach 24 Tagen ° Oechsle	Nach 40 Tagen ° Oechsle
Bei 34°	=	3½	3	21	12
» 28°	=	5½	3	25	13
» 23°	=	20½	7	28	15
» 19°	=	33½	21	37	26
» 15°	=	52½	44	50	40
» 12°	=	61	61	60½	58
» 9°	=	61	61	61	61
» 6°	=	61	61	61	·61

Das Wachstums- und Gäroptimum von unserer Schizo. spec. liegt also bei ca. 34°. Wie sehr die *hohen Temperaturen* bei diesem Organismus *gärungsfördernd* wirken, zeigt namentlich ein Vergleich der Mostgewichte bei 23° einerseits und 28 bezw. 34° andrerseits. Selbst Temperaturen, die man nicht gerade als tief bezeichnen kann, wie 12°, erschweren die Vermehrung und Gärtätigkeit der Schizo. spec. auffallend stark, was daraus hervorgeht, dass selbst nach 40 Tagen bei 12° das Mostgewicht im Theilersbirnsaft noch

keine Abnahme erfuhr und nur vereinzelte Hefezellen festzustellen waren. Auch bei Schizo. Pombe liegt das Gäroptimum bei 34°, doch erfährt die Gärtätigkeit z. B. von 23° an bis 34° lange nicht die sprungartige Steigerung wie bei Schizo. spec. Bei beiden Schizo.-Arten ist ferner noch *ein durch die Temperatur bedingter formverändernder Einfluss* festzustellen, indem z. B. bei 34° die Zellen kürzer bleiben als bei den mittleren und tieferen Wärmegraden. Schizo. spec. erzeugte bei 34° zahlreiche kurze (ca. 5 μ lange) walzenförmige, an den Enden abgerundete Hefen; bei 23° waren die Hefen schon etwas länger geworden, erreichten eine Länge von 7,98 μ; kürzere waren 5 μ lang; bei 19° erreichten die Hefen ca. 10,6 μ, während bei 15° der Trub von Schizo. spec. aus mittellangen und langen, walzenförmigen Hefen bis zu einer Länge von 40 μ und einer Breite von 3,2 μ bestand. Bei Schizo. Pombe, wo die Zahl der kurzen, zylindrischen Hefen mit der Temperaturerhöhung ebenfalls zunahm, während bei 15° und 12° viele lange, oft gebogene Zellen auffielen, zeichnete sich der Trub bei 12° noch durch einzelne abnorme Formen, T- oder Y-förmige Hefen aus, wie sie *Lindner* auch in seiner «Mikroskopischen Betriebskontrolle», IV. Auflage, S. 442, Fig. 246, von dieser Hefe abbildet.

Zur Prüfung von Schizo. spec. auf das *Verhalten gegenüber verschiedenen Zuckerarten und organischen Säuren* fand ein Hefeauszug Verwendung, den wir durch Erhitzen von 1 kg Presshefe in 10 l Wasser gewannen. Die *Zuckerarten,* lauter chemisch reine Präparate von C. F. Kahlbaum, Berlin-Zürich und E. Merck in Darmstadt, wurden mit Ausnahme der Saccharose, Maltose, Raffinose, α Methylglucosid und Dextrin mit dem Hefewasser in kleineren Gärflaschen von 100 cm³ sterilisiert. Die übrigen eben genannten Verbindungen dagegen lösten wir, um ihrer eventuellen Zersetzung in einfachere Zuckerarten vorzubeugen, zunächst in destilliertem Wasser auf, sterilisierten sie bei 98° während einer Stunde, um sie dann hernach im abgekühlten Zustande dem in Gärflaschen abgezogenen Hefeauszug zuzusetzen. Die 100 cm³ Fläschchen wurden nach der Aussaat von je 3 Tropfen Hefeflüssigkeit von Schizo. spec., bezw. der zum Vergleich herangezogenen Schizo. Pombe, mit Gärverschlüssen versehen und bei Zimmertemperatur aufgestellt. Mit Ausnahme der Lösungen mit Galaktose und Laktose erfolgte die Untersuchung auf Alkohol bei allen nach 20 Tagen. Die Resultate der Bestimmungen in den verschiedenen Lösungen sind in folgender Tabelle zusammengestellt, wobei die Zahlen Gramm Alkohol im Liter bedeuten.

	Mit 3 % Lävulose	Mit 3 % Dextrose	Mit 2 % Galaktose	Mit 1 1/3 % Saccharose	Mit 2 % Maltose	Mit 2 % Laktose	Mit 1 1/3 % Raffinose	Mit 1 1/3 % α Methyl-glucosid	Mit 2 % Dextrin
Schizo. spec. . . .	10,78	15,20	8,35	6,28	7,46	—	2,90	6,70	1,80
Schizo. Pombe . .	11,14	14,58	—	6,16	8,35	—	3,50	7,15	2,10
Sterile Lösung . .	—	—	0,62	0,50	0,86	—	1,04	—	0,74

In Uebereinstimmung mit den Beobachtungen über Kohlensäureentwicklung ergab denn auch die chemische Untersuchung, dass Lävulose, Dextrose, Saccharose, Maltose, Raffinose und α Methylglucosid in allen Flaschen, d. h. von beiden Hefen, der Schizo. spec. wie von der Schizo. Pombe, vergoren und nur Laktose und Dextrin von ihnen nicht oder jedenfalls nur ganz wenig angegriffen wurden. Galaktose wird von Schizo. Pombe nicht assimiliert, wohl aber von Schizo. spec., wenn auch erst nach geraumer Zeit. So konnten bei der 1. Untersuchung der einen Probe mit Galaktoselösung, die nach 2 Monaten stattgefunden, noch keine Veränderungen nachgewiesen werden; die Gärung musste später eingesetzt haben, denn bei der 2. Untersuchung, die $^1/_2$ Jahr nach Beginn des Versuches ausgeführt worden, war die Galaktose vergoren. Bei der Raffinoselösung fällt in unserer Tabelle bei beiden Hefen der geringe Alkoholgehalt auf gegenüber der zugesetzten Menge Raffinose. Diese wurde nur teilweise vergoren, durch Raffinase in d Fructose und Melibiose zerlegt, von welchen beiden Zuckerarten nur die erstere den Schizosaccharomyces-Hefen zugänglich war, während diese die Melibiose nicht mehr weiter in Galaktose und d Glucose zu spalten vermochten, wie dies von gewissen zu Saccharomyces gehörenden Weinhefen geschieht. Dass beide Hefen, unsere Schizo. spez. wie auch Schizo. Pombe die d Mannose zu vergären vermögen, ist an anderer Stelle dieser Mitteilung bereits dargelegt worden.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, weicht Schizo. spec. von Schizo. Pombe nicht stark ab; nach den Literaturangaben, z. B. von *Lindner* zu schliessen, verhält sie sich auch nicht viel anders als Schizo. mellacei, die Lävulose, Dextrose, Saccharose, Maltose, Raffinose, d Mannose und Dextrin vergärt. Einzig gegenüber der Galaktose ergibt sich ein wesentlicher Unterschied, indem unsere Schizo. spec. diese Zuckerart vergärt, Schizo. Pombe dagegen nicht. Nach *P. Lindner* vermag auch Schizo. mellacei nicht Galaktose zu zersetzen; dagegen ist diese Zuckerart Schizo. octosporus zugänglich. Da Schizo. spec., wie wir eingangs erwähnten, sich durch die Sporenzahl und Grössenverhältnisse von Schizo. octosporus leicht unterscheiden lässt, so wäre es also möglich, auf Grund einer Gärprobe mit Galaktose unsere Schizo. spec. zu identifizieren.

Analog den Gärversuchen mit den Zuckerarten wurden auch solche mit verschiedenen *organischen Säuren,* in möglichst reiner Qualität von C. F. Kahlbaum, Berlin-Zürich und E. Merck in Darmstadt bezogen, wiederum in Hefeauszug durchgeführt. Es waren in der Regel ca. 4 ‰ige Lösungen in 100 cm³ Flaschen, die man mit Wattestopfen verschloss und bei ca. 18—19° aufstellte. Die sterilen nicht mit Hefen geimpften, ebenfalls mit Wattestopfen verschlossenen Proben standen neben den mit Hefe beschickten Lösungen, um sie bei der chemischen Untersuchung, die man 2 Monate nach der Hefeaussaat durchführte, zum Vergleiche heranzuziehen. Die Ergebnisse der Säurebestimmungen, die zur Beurteilung des Assimilierungsvermögens der Hefen genügen, finden sich in nachfolgender Tabelle.

	Ohne Säurezusatz ‰	Aepfel-säure ‰	Wein-säure ‰	Essig-säure ‰	Milch-säure ‰	Bernstein-säure ‰	Zitronen-säure ‰
Steriler Hefeauszug . .	neutral	3,88	3,82	4.08	5,22	3,77	3,81
do. + Schizo. spec. .	0,10	1,37	3,78	4,02	5,17	3,77	3,67
do. + Schizo. Pombe	0,10	3,61	3,82	4,05	5,22	3,74	3,78

Es war also einzig die *Aepfelsäure, die angegriffen wurde* und zwar von unserer Schizo. spec. Eine 2. Untersuchung, ca. 1/2 Jahr nach Beginn des Versuches bei einer 2. Serie von Flaschen durchgeführt, ergab kein anderes Resultat. In der Aepfelsäurelösung mit Schizo. spec. war die Aepfelsäure jetzt sozusagen ganz verschwunden; sie enthielt noch an Gesamtsäure 0,36 ‰. Die Vergärbarkeit der Aepfelsäure durch Schizo. spec. kann uns nicht überraschen, nachdem wir schon bei den Untersuchungen über die Gärkraft im Wasserbirnsaft und namentlich im Traubensaft einen starken Säurerückgang festgestellt, der mit dem Verschwinden von Aepfelsäure zusammenhängen musste. Und wie wir dort zu dem Schluss gelangten, dass die Zersetzung der Aepfelsäure in Abweichung vom Aepfelsäureabbau durch Bakterien ohne Bildung von Milchsäure vor sich gehe, so liess sich auch in den Aepfelsäurelösungen, in denen Schizo. spec. die Aepfelsäure zerstörte, keine Zunahme an Milchsäure nachweisen. Bei der 2. Untersuchung nach 1/2 Jahr enthielt die Hefewasser-Aepfelsäurelösung mit Schizo. spec. noch 0,36 ‰ Gesamtsäure, 0,39 ‰ flüchtige Säure und 0,42 ‰ Milchsäure pro l, während in der sterilen Aepfelsäurelösung 3,88 ‰ Gesamtsäure (als Aepfelsäure berechnet), 0,49 ‰ flüchtige Säure und 0,38 ‰ Milchsäure vorhanden waren. Weitere vergleichende Untersuchungen, zu denen auch Schizo. mellacei herangezogen wurde, ergaben, dass auch diese Hefe Aepfelsäure zersetzt. Während der in einer mit Watte verschlossenen Flasche vergorene Traubenwein mit Schizo. Pombe 12,07 ‰ Gesamtsäure enthielt, betrugen die Gehalte an Gesamtsäure in den gleich behandelten Weinen mit Schizo. spec. und Schizo. mellacei 5,70 bezw. 6,00 ‰.

Ueberblicken wir zum Schluss nochmals die verschiedenen Resultate unserer Untersuchungen, so sind es hauptsächlich 4 Merkmale, die für unsere Schizo. spec. charakteristisch sind: *Reichliche Sporenbildung,* wobei in der Regel *4 Sporen pro Hefe* auftreten; *rasche und starke Verflüssigung der Gelatine; Vergärung der Galaktose* und *grosse Widerstandsfähigkeit gegenüber der freien schwefligen Säure.* Diese Eigenschaften, die es stets leicht ermöglichen, unsere Schizo. spec. von den bisher bekannten Schizosaccharomycetaceen zu trennen und zu identifizieren, rechtfertigen es denn auch, abgesehen von den in den verschiedenen Nährflüssigkeiten mehr oder weniger stark ausgeprägten Eigentümlichkeiten in der morphologischen Beschaffenheit der Hefezellen, diese Hefe als besondere Art zu bezeichnen, wofür wir in Anbetracht ihrer ausgesprochenen Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, den Namen *Schizosaccharomyces liquefaciens* vorschlagen möchten.

Diagnose.

Schizosaccharomyces liquefaciens Osterw. wurde aus einem überschwefelten französischen roten Traubensaft gewonnen, bildet im Traubensaft walzen-, keulen- und handgranatenförmige oder walzenförmige und in der Mitte verdickte Zellen. Kürzere walzenförmige Hefen sind 7,9 μ lang und 3,9 μ breit, zahlreiche mittellange Hefen ca. 16 μ lang und bis 3,2 μ breit, lange Zellen bis 32 μ. Häufig sind 2 Zellen von einer Spaltung der Mutterzelle her auf schmaler Strecke im spitzen bis rechten Winkel noch miteinander verbunden. Manche Hefen sind durch eine Scheidewand in 2 Zellen geteilt. Verflüssigt innert 14 Tagen 15 %ige Gelatine mit 10 % Traubensaft in den Strichkulturen. Bildet auf Gelatine reichlich, dagegen auf Gipsblöckchen nur spärlich Sporen. Sporen kugelig oder elliptisch mit einem Durchmesser von 2,6—3,5 μ, färben sich mit Jodjodkalium blassviolett. Bildet im Theilersbirn- oder Traubensaft im Verlauf von ca. 70 Tagen bei Zimmertemperatur bis 6 Gewichtsprozent Alkohol. Optimum der Gärtätigkeit ca. 34°. Vergärt Lävulose, Dextrose, Galaktose, Saccharose, Maltose, Raffinose, d Mannose, α Methylglucosid, vergärt nicht Laktose und Melibiose und Dextrin. Zersetzt Aepfelsäure ohne Bildung von Milchsäure, dagegen nicht Weinsäure, Essigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure und Zitronensäure. Verträgt grössere Mengen freier schwefliger Säure, z. B. 555 und in einem Fall sogar 674 mg im l.

An Hand des beigegebenen Schlüssels wird es möglich sein, die verschiedenen Schizosaccharomyces-Arten, darunter auch Schizosaccharomyces liquefaciens, zu bestimmen.

Schizosaccharomyces.

- Vergären Saccharose
  - bilden Sporen
    - vergärt Galaktose, verflüssigt leicht die Gelatine, bildet sehr viel Sporen auf der Nährgelatine, verträgt viel freie SO_2 : Schizosaccharomyces liquefaciens Osterw.
    - vergären Galaktose nicht
      - verzehrt Aepfelsäure : Schizo. mellacei Jörgensen.
      - verzehrt Aepfelsäure nicht: Schizo. Pombe P. Lindner.
  - bildet keine Sporen : Schizosaccharomyces asporus Eykmann.
- Vergärt die Saccharose nicht, bildet in der Regel 8 Sporen, aber auch 4 : Schizosaccharomyces octosporus Beyerinck.

Zum Schluss mag noch die Frage berührt werden, ob die gegen freie schweflige Säure so widerstandsfähige Hefe Schizosaccharomyces liquefaciens irgendwie eine praktische Bedeutung erlangen könnte. Wo Obst- und Traubensäfte vergären, wird sie kaum jemals sich bemerkbar machen können; die gärkräftigeren Hefearten und Rassen entwickeln sich rascher, zumal sie auch die tieferen Temperaturen, die sehr oft im Gärkeller herrschen, leichter überwinden als Schizo. liquefaciens, welche Hefe ja nur bei höheren Tem-

peraturen, 28—34°, rasch gärt. Sicher wird diese aber dann gute Dienste leisten und zur Geltung gelangen, wenn die gewöhnlichen Gärhefen durch schweflige Säure abgetötet oder für längere Zeit im Wachstum gehemmt werden, also in überschwefelten Obst- und Traubensäften, wie solche hie und da vorkommen, namentlich seit das Kaliummetasulfit in die Kellerpraxis Eingang gefunden und sich dort grosser Beliebtheit erfreut, gelegentlich aber, sei es aus Unkenntnis, sei es aus Bequemlichkeit, dass man die Dosen nicht abwiegt, im Uebermass dem Safte zugefügt wird. Stumm gebrannte Säfte in Gärung zu bringen ist nun aber, sofern man nicht zuwarten will, bis alle freie schweflige Säure verschwunden, eine etwas umständliche Sache, indem man nach dem Staffelverfahren zunächst eine kleinere Menge fremden gärenden Saftes mit einer kleineren Partie des stumm gebrannten mischt, um dann zu dem Gemisch im Stadium kräftiger Gärung eine weitere stumm geschwefelte Menge zu fügen und so das Experiment wiederholt bis alles in Gärung übergegangen. Vereinfacht wird dieses Verfahren kaum durch die Anwendung einer an schweflige Säure gewöhnten Hefe, von sog. Sulfithefen, die grösseren Mengen freier schwefliger Säure, wie sie oft in stummgebrannten Säften vorkommen, eben bei weitem nicht gewachsen sind und beim direkten Zusatz ebenfalls abgetötet würden. Dagegen wird man vom Staffelverfahren Umgang nehmen können, sofern man sich der Hefe Schizosaccharomyces liquefaciens bedient, wobei eine höhere Gärtemperatur, die ja bei stumm gebrannten Säften unbedenklich angewendet werden darf, sowie die Verwendung reichlicher Anstellhefe eine frühzeitig eintretende Gärung sehr begünstigen. Bei den ersten Anzeichen alkoholischer Gärung aber wird man nicht verfehlen, eine bewährte kräftige Weinheferasse dem Safte zuzufügen, die nun, da die freie schweflige Säure durch den Gärungsaldehyd gebunden worden, nicht mehr Gefahr läuft, vergiftet zu werden.

Schizosaccharomyces liquefaciens wird an die Zentralstelle für Pilzkulturen in Baarn (Holland) abgegeben werden.

Der mikrochemische Nachweis der Ameisensäure im Bienendarm und im Bienengift.

Von E. ELSER.

(Aus der Schweizerischen milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Versuchsanstalt auf dem Liebefeld bei Bern. Vorsteher: Prof. Dr. R. Burri.)

Auf Grund seiner ausführlichen Untersuchungen über die Verwendbarkeit der Vakuumdampfdestillation beim Ameisensäurenachweis kommt *Th. Merl*, München[1]) zum Schluss, dass der Bienenkörper weder im Ab-

[1]) *Th. Merl:* Ueber die Verwendbarkeit der Vakuumdampfdestillation beim Ameisensäure-Nachweis, Z. U. N. G. 1914, Bd. 27, S. 733; Der Bienenkörper als Ameisensäureträger, Z. U. N. G. 1921, Bd. 42, S. 250.