

25. II 1933.
TARTU ÜLIKOOLI PIIMANDUSE KABINETI TEATED № 3.
MITTEILUNGEN DES MILCHWIRTSCHAFTLICHEN KABINETTS
DER UNIVERSITÄT TARTU IN ESTLAND № 3.

IN DER BUTTER VORKOMMENDE SPROSSPILZE UND DEREN EINWIRKUNG AUF DIE BUTTER

AUF GRUND VON UNTERSUCHUNGEN, DIE MIT DER BUTTER SCHLESWIG-
HOLSTEINISCHER UND ESTNISCHER MOLKEREIEN VORGENOMMEN WURDEN

VON

MARTIN GROSS

TARTU 1933

ESTICA

A-7793

TARTU ÜLIKOOLI PIIMANDUSE KABINETI TEATED № 3.
MITTEILUNGEN DES MILCHWIRTSCHAFTLICHEN KABINETTS
DER UNIVERSITÄT TARTU IN ESTLAND № 3.

IN DER BUTTER VORKOMMENDE SPROSSPILZE UND DEREN EINWIRKUNG AUF DIE BUTTER

AUF GRUND VON UNTERSUCHUNGEN, DIE MIT DER BUTTER SCHLESWIG-
HOLSTEINISCHER UND ESTNISCHER MOLKEREIEN VORGENOMMEN WURDEN

VON

MARTIN GROSS

TARTU 1933

TARTU ÜIKIKOOL HIRANDUSE KABIINETSIT TARTED M. A.
MÜLTIUMER DER UNIVERSITÄT TARTU
DER UNIVERSITÄT TARTU IN ESTLAND M. A.

IN DER BUTTER VORKOMMENDE
SPROSSZUFÜHRER DER BUTTER EINWIRKUNG

Est.
Bibliotheca
Universitatis
Tartuensis
~~4933:0159~~
7453

AUF GRUND VON TARTU
HOLZSCHNEIDER UND DRUCKER
TARTU

Acta et Commentationes Universitatis Tartuensis (Dorpatensis) A XXIV. 1.

Einleitung.

Die zu der vorliegenden Arbeit gehörigen Untersuchungen wurden ausgeführt in zwei Teilen: 1) im Bakteriologischen Institut der Preussischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft zu Kiel unter Leitung von Professor Dr. W. Henneberg, in der Zeit vom August 1928 bis zum September 1929 und 2) im Milchwirtschaftlichen Kabinett der Universität Tartu in der Zeit vom August 1930 bis zum Februar 1932. Die Ausführung der Untersuchungen erfolgte hauptsächlich in Kiel, während in Tartu die in Kiel gewonnenen Resultate ergänzt und kontrolliert wurden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. W. Henneberg, für die Überlassung des Themas sowie für die Unterstützung und das Interesse bei der Ausführung der Arbeit meinen besten Dank auszusprechen.

Gleichzeitig danke ich Herrn Fein, Leiter der Hamburger Butterauktion der Meiereiverbände für Schleswig-Holstein, und Herrn A. Roosileht, Leiter der Ausfuhrkontrollstation für Milchprodukte zu Tallinn, für die Zusendung der Butterproben.

Einleitung.

Typische Sprosspilze, die Familie *Saccharomycetaceae* Reess¹³⁾ und die Gruppe *Pseudosaccharomycetes* (van Laer) Janke⁹⁾ der Familie *Mucedinaceae*, nennt man gewöhnlich Hefen. Ausser den Hefen fanden sich in der von mir untersuchten Butter noch andere Pilze, bei denen die Sprossung der bezeichnendste Vermehrungsmodus ist, und zwar einzelne zur Gattung *Oospora* Wallr.⁹⁾ gehörige Pilzstämme und ein Pilzstamm aus der Gattung *Sporobolomyces* Kluyster und van Niel¹⁰⁾.

Bei der ersten Betrachtung der auf Agar gewachsenen Pilzkolonien und der Pilze unter dem Mikroskop ist es gewöhnlich nicht möglich, die Hefen z. B. von einigen *Oospora*- oder *Sporobolomyces*-Arten zu trennen. Wenn man dies berücksichtigt, so muss man vermuten, dass in vielen bisher erschienenen, die Hefenkeimzahl der Butter behandelnden Arbeiten neben den wirklichen Hefen auch andere, ihnen ähnelnde Sprosspilze zu den Hefen gerechnet sind und der so gefundene Keimgehalt als Hefenkeimzahl bezeichnet ist. Obgleich die Hefen den grössten Teil der in der Butter sich findenden Sprosspilze ausmachen, finde ich es doch richtiger, alle in der Butter vorhandenen und durch vegetative Sprossung sich vermehrenden Pilze eben Sprosspilze zu nennen.

Die Aufgabe dieser Arbeit ist den Sprosspilzkeimgehalt der Butter schleswig-holsteinischer und estnischer Molkereien zu untersuchen, die in der Butter auftretenden Sprosspilze zu beschreiben und die Frage zu klären, ob Sprosspilze als erwähnenswerte Butterschädiger in Betracht kommen.

Aus zwei Ländern nahm ich das zur Durchführung der Arbeit erforderliche Material deshalb, 1) weil die Ausführung der Arbeit an zwei Orten erfolgte und 2) weil die Übersicht über die in der Butter vorkommenden Sprosspilze möglichst vollständig sein sollte, da in der Butter des einen oder des andern Landes besondere Sprosspilze auftreten können.

Der Sprosspilzkeimgehalt der Butter.

Da die Butter fast immer mit Hefenkeimen infiziert ist, ist die Bestimmung des Hefenkeimgehalts der Butter wiederholt Gegenstand von Untersuchungen gewesen.

Rogers²⁷⁾ fand pro Gramm hermetisch in Blechdosen eingepackter Butter, die 7 Tage alt war, im Mittel 23.000 Hefenkeime, nach 14 Tagen sank die Zahl der Hefenkeime auf 2400 und nach 114 Tagen auf 150. Teichert³³⁾ ermittelte pro Gramm von 15 Proben gesalzener Sauerrahmbutter im Mittel 1.326.000 kleinzellige *Torula*-Hefenkeime, 13.000 rote Hefenkeime und 2100 Kahlhefenkeime. Sayer und Mitarbeiter³¹⁾ fanden in 1 Gramm Lagerbutter oft mehrere Millionen Hefenkeime. Orla Jensen²⁰⁾ fand in 1 ccm einer 2 Wochen alten „käsesauren“ Butter 2000–802.000 Hefenkeime, ebenso alte fehlerlose Butter enthielt in 1 ccm 0–420.000 Hefenkeime. Sandelin²⁸⁾ ermittelte im Januar bei 13 Proben von Süsrahmbutter im Mittel pro Gramm 235 Hefenkeime und bei 17 Proben von Sauerrahmbutter pro Gramm im Mittel 1787 Hefenkeime. Bei der von seiten der Monatsschrift „The World's Butter Review“³⁴⁾ im Sommer 1927 in Kanada organisierten Konkurrenz der Molkereien in Bezug auf Schimmelpilz und Hefengehalt der Butter enthielten 4–6 von einer Molkerei zur Untersuchung geschickte Butterproben pro 1 ccm im Mittel:

15/VI —15/VII	0,7—	9910,0 Hefenkeime.
15/VII —15/VIII	0,0—	3886,1 „
15/VIII—15/IX	0,0—	8926,6 „
15/IX —15/X	0,0—	23.350,0 „

Es konkurrierten 130 Molkereien. Derartige Konkurrenzen wurden auch in den folgenden Jahren veranstaltet, aber die Ergebnisse sind später nicht im einzelnen veröffentlicht worden. Wojtkiewicz⁴¹⁾ und Mitarbeiter fanden pro Gramm Butterproben, entnommen aus 47 Butterfässern, im Mittel, in den aus der Oberflächenschicht genommenen Proben 26.000 (0–100.000) und in den aus dem Innern der Butter genommenen Proben 7500 (0–35.000) Hefenkeime. Virtanen³⁷⁾ ermittelte pro Gramm mit Geschmacksfehlern behafteter Süsrahmbutter (5 Proben) 50.000–3.900.000 und pro Gramm Sauerrahmbutter (4 Proben) 500.000–2.250.000 Hefenkeime. Macy und Richie¹⁷⁾ fanden in 579 frischer Butter entnommenen Proben pro 1 ccm 0–90.000 Hefenkeime. Demeter und Maier²⁾ ermittelten, dass 10 Tage alte Sauerrahmbutter, je nach der Jahreszeit, am meisten Hefenkeime im Mai und am wenigsten im Februar enthielt; im Mai enthielten 39 Butterproben im Mittel pro 1 ccm 1.167.987 (43.000–7.500.000) und im Februar 36 Butterproben pro 1 ccm im Mittel 68.444 (400–355.000) Hefenkeime. Gross⁶⁾ fand in den Sommermonaten in 31 Proben 2 Wochen alter Sauerrahmbutter pro Gramm im Mittel 371.455 (200–5.700.000) und in

13 frischer Butter entnommenen Proben	<	100 Hefenkeime pro Gramm,
16 „ „ „ „	100—	1000 „ „
6 „ „ „ „	1000—	10.000 „ „
4 „ „ „ „	10.000—	100.000 „ „
1 „ „ „ „	250.000	„ „

Die hier gegebene Übersicht erweist, dass der Hefenkeimgehalt der Butter sehr verschieden ist.

Den Sprosspilzkeimgehalt untersuchte ich insgesamt in 356 Proben Sauerrahmbutter. 91 Keimzahlbestimmungen führte ich aus von Juli 1928 bis Februar 1929 im Bakteriologischen Institut der Preussischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Michwirtschaft zu Kiel und 265 Bestimmungen im August 1930 und im März und August 1931 im Milchwirtschaftlichen Kabinett der Universität Tartu.

Von den in Kiel untersuchten Butterproben stammten:

1) 73 Proben aus 20 schleswig-holsteinischen Molkereien. Ca. 25—50 g schwere Butterproben wurden aus den der Hamburger Butterauktion der Meiereiverbände für Schleswig-Holstein gesandten Butterfässern, auf Anordnung des Herrn Leiters der Auktion Fein, entnommen und in zu dem Zweck hingeschickte sterilisierte Glasbüchsen getan. Die Probenahme geschah mit gewöhnlichen Butterbohrern. Da das Sterilisieren der Bohrer am Orte technisch nicht durchführbar war, erfolgte die Probenahme mit unsterilisierten Bohrern. Vor jeder einzelnen Probenahme wurden aber die Bohrer gründlich mit Papier gereinigt. Von dem mit dem Bohrer herausgenommenen Butterzylinder wurde, bevor er in die Büchse kam, das obere Flächenstück entfernt. Nach Kiel wurden die Proben mit der Post gesandt. Von dem Entnehmen der Probe bis zum Giessen der Platten verging 1 Tag, das Alter der Butter betrug zur Zeit der Untersuchung 2—7 Tage. Von den zur Untersuchung geschickten Proben wurden genommen: a) 8 von Butter mit verschiedenen Geschmacksfehlern, b) 65 von Butter von bestimmten 12 Molkereien; von diesen 12 Molkereien lieferten gewöhnlich 6 (I—VI) Butter geringer Qualität und die übrigen 6 (VII—XII) hochwertige Butter zum Verkauf. Die aus Hamburg gesandten Butterproben waren alle schwach gesalzen. Ihr NaCl-Gehalt betrug nach meinen Untersuchungen 0,4%—1,3%.

2) 18 Proben aus 10 estnischen Molkereien. Diese Butterproben wurden in der Ausfuhrkontrollstation für Milchprodukte zu Tallinn genommen und in ca. 100 g grossen sterilisierten Glasbüchsen mit der Post nach Kiel geschickt. Unterwegs waren die Proben 8 Tage; das Alter der Butter betrug zur Zeit der Unter-

suchung 10—15 Tage. Von den Proben waren 12 ungesalzen und 6 schwach gesalzen (0,6%—1,5% NaCl).

Alle in Tartu untersuchten Proben erhielt ich aus Tallinn von der Ausfuhrkontrollstation für Milchprodukte. Das Entnehmen der Proben ordnete der Herr Leiter der Kontrollstation *R o o s i l e h t* an. Die Proben wurden genommen aus zum Zweck des Haltbarkeitsversuches stehen gelassenen 1 cwt schweren Butterfässern sowohl bei der ersten als bei der zweiten Schätzung; die erste Schätzung der Haltbarkeit der Butter wird beim Eintreffen der Butterfässer in der Kontrollstation vorgenommen; das Alter der Butter beträgt bei der ersten Schätzung ca. 1—7 Tage. Die zweite Schätzung wird ausgeführt mit denselben Fässern nach zweiwöchentlicher Lagerung bei einer Temperatur von $+9^{\circ}$ — $+14^{\circ}$ C. Insgesamt habe ich damit in Tartu den Sprosspilzgehalt in $2 \times 265 = 530$ Butterproben untersucht.

In Tallinn wurden die Proben mit sterilisierten Käsebohrern genommen. Zum Sterilisieren wurde der Bohrer in Spiritus gelegt und der dem Bohrer anhaftende Spiritus alsdann angezündet. Die genommenen Proben wurden mit Hilfe eines sterilisierten Schaufelchens dicht in die sterilisierten Glasbüchsen hineingestossen. Gesandt wurden die Proben dem Milchwirtschaftlichen Kabinett als Bagage. Bis zu ihrem Empfang verstrichen ungefähr 16 Stunden.

Die Bestimmung des Keimgehalts erfolgte bei Anwendung von Würzeagar mit dem pH-Wert 4,2—5,0. Bei dem angegebenen pH-Wert konnte man auf dem Würzeagar häufig auch Bakterienkolonien finden, was das Zählen der Sprosspilzkolonien erschwert. Aber bei der richtigen Verdünnung und einiger Übung lassen sich die Bakterienkolonien von den Sprosspilzkolonien verhältnismässig leicht unterscheiden. Selbstverständlich musste man zum sicheren Erkennen der Mikroben oft auch das Mikroskop zur Hilfe nehmen. Zur vollständigen Verhinderung des Wachstums der Bakterien empfehlen *White* und *Hood*³⁹⁾ Würzeagar mit Milchsäure bis zu $\text{pH} = 3,5$ anzusäuern. Da nach den Versuchen der zitierten Autoren und nach meinen eigenen Versuchen bei dem pH-Werte 3,5 des Agars in der Butter eine nahezu ebenso grosse Sprosspilzkeimzahl wie beim pH-Werte 4,2—4,6 erhalten wird, untersuchte ich die letzten 200 Butterproben beim pH-Werte 3,5 des Nähragars. Ich erhielt aber nicht mit *White* und *Hood* übereinstimmende Resultate,

denn auch beim pH-Wert 3,5 des Agars wuchsen auf 34 Platten von den 200 in verhältnismässig grosser Zahl Kolonien stäbchenförmiger Bakterien, vollständig fehlten bei der betreffenden Säuerung nur Kokken-Kolonien. Zur Bestimmung der Keimzahl nahm ich aus dem Innern der Butterprobe mit einem sterilisierten Käsebohrer ein zylinderförmiges Stückchen, von dem ich 1 g abwog. Zum Abwägen legte ich auf eine Wagschale ein sterilisiertes Uhrglas und darauf ein sterilisiertes Deckgläschen, auf dem letzteren wog ich 1 g Butter ab. Die Butter mit dem Deckgläschen brachte ich mit Hilfe eines sterilisierten Spatels in einen Kolben, in den ich schon früher 10, 50 oder 100 ccm sterilisiertes Wasser eingemessen hatte. Den Kolben stellte ich bis zum Schmelzen der Butter in Wasser von 40° C. Die im Wasser geschmolzene Butterprobe schüttelte ich ungefähr 2 Minuten. Von der gewonnenen Emulsion bereitete ich die zum Giessen der Platten erforderlichen Verdünnungen 1:100, 1:1000 und 1:10.000. Zur Bestimmung der Keimzahl in 1 g Butter legte ich das steril abgewogene Butterstückchen in eine Petrischale und stellte letztere bis zum Schmelzen der Butter in einen Thermostat bei 40° C. Wenn man auf die warme Petrischale Agar giesst, kann man die Butter ganz gehörig mit dem Agar mischen.

TABELLE 1.

Mittlerer Sprosspilzkeimgehalt der schleswig-holsteinischen Butterproben an den einzelnen Tagen der Probenahme.

Tag der Probenahme	Molkereien	Probenzahl	Lufttemperatur in °C		Sprosspilzzahl pro 1 Gramm		
			minim.	maxim.	Niedrigste	Höchste	Mittlere
5/IX 1928	I—VI	6	+ 13,2	+ 26,0	20.000	3.150.000	1.597.000
14/IX 1928	I—XII	12	+ 11,5	+ 17,0	450.000	5.200.000	2.698.000
10/X 1928	I—XII	12	+ 11,9	+ 14,3	132.000	6.800.000	2.348.000
18/XI 1928	I—VIII X—XII	11	+ 6,0	+ 9,5	71.000	11.300.000	2.795.000
23/I 1929	I—XII	12	— 2,6	+ 1,0	< 1000	5.450.000	919.000
9/II 1929	I—XII	12	— 14,8	— 7,0	< 1000	130.000	17.000

Die 73 schleswig-holsteinischen Butterproben enthielten pro Gramm im Mittel 1.755.000 Sprosspilzkeime (< 1000—11.300.000 Keime). Die Sprosspilzkeimzahl der Butter

war in starkem Masse von der Temperatur der Aussenluft abhängig. Die Lufttemperatur an den Tagen, wo Proben genommen wurden (nach Messungen der Kieler Flugstation), und der mittlere Keimgehalt der Butterproben der Molkereien I—XII sind in der Tabelle 1 dargestellt.

Wie aus den in der Tabelle gebrachten Angaben zu ersehen, blieb der mittlere Sprosspilzkeimgehalt in den Butterproben vom 5/IX bis zum 23/I ohne grössere Veränderungen, verminderte sich aber recht stark bei der grösseren Temperaturerniedrigung am 7/II. Dieselben Butterproben sind in der Tabelle 2 nach ihrem Gehalt an Sprosspilzen gruppiert: in der ersten Kolumne sind verzeichnet die vom 5/IX bis zum 18/XI genommenen Proben, als die Temperatur verhältnismässig hoch war, in der zweiten Kolumne die am 23/I genommenen und in der dritten die am 7/II genommenen Proben. Vergleicht man die vom 5/IX bis zum 18/XI genommenen Proben mit den am 7/II genommenen, so sieht man, dass der grössere Teil (75,6%)

TABELLE 2.

Einteilung der schleswig-holsteinischen Butterproben nach dem Sprosspilzgehalt.

Sprosspilze pro Gramm	Butterproben					
	5/IX—18/XI		23/I		7/II	
	Zahl	%	Zahl	%	Zahl	%
> 10.000.000	1	2,4	—	—	—	—
5.000.000—10.000.000	3	7,3	1	8,3	—	—
1.000.000—5.000.000	27	65,9	1	8,3	—	—
100.000—1.000.000	7	17,1	4	33,3	1	8,3
10.000—100.000	3	7,3	3	25,0	1	8,3
1000—10.000	—	—	3	25,0	2	16,7
< 1000	—	—	—	—	8	66,7
Zusammen	41	100,0	12	99,9	12	100,0

der vom 5/IX bis zum 18/XI genommenen Butterproben pro Gramm > 1.000.000 Sprosspilzkeime enthält und dass alle Proben vom 7/II < 1.000.000, und zwar meistens < 1000 Sprosspilzkeime pro Gramm enthalten.

Die der Butter von 18 estnischen Molkereien am 2/X und 2/XI 1928 entnommenen Proben enthielten pro Gramm im Mittel 880.000 (< 1000 — 4.800.000) Sprosspilzkeime.

Die im Milchwirtschaftlichen Kabinett der Universität Tartu untersuchten, aus Tallinn von der Ausfuhrkontrollstation für Milchprodukte gesandten 265 Butterproben enthielten bei der ersten Schätzung pro Gramm im Mittel 283.932 (0 — 4.650.000) Sprosspilzkeime. Auch in der estnischen Butter hing die Höhe der Zahl der Sprosspilze in hohem Grade von der Temperatur der Aussenluft ab, wie aus den Angaben der Tabelle 3 zu ersehen ist. In der Tabelle 3 sind die Butterproben verteilt nach der Zeit der Entnahme und nach dem Gehalt an Sprosspilzen. Es erweist

TABELLE 3.

Einteilung der estnischen Butterproben nach dem Sprosspilzgehalt und nach der Entnahmezeit.

Sprosspilzzahl pro Gramm	Butterproben			
	August 1930 und August 1931		März 1931	
	Zahl	%	Zahl	%
1.000.000 — 5.000.000	23	10,2	—	—
100.000 — 1.000.000	71	31,5	—	—
10.000 — 100.000	48	21,3	—	—
1000 — 10.000	48	21,3	4	10,0
100 — 1000	26	11,6	16	40,0
< 100	9	4,0	20	50,0
Zusammen	225	99,9	40	100,0

sich, dass der grössere Teil der im August erhaltenen Proben bedeutend mehr Sprosspilze enthält als die im März erhaltenen Proben. Zur Zeit der Entnahme der Proben betrug die Temperatur der Luft nach den Beobachtungen der meteorologischen Station der Universität Tartu: im August 1930 im Mittel $+16,4^{\circ}$ C, min. $+8,2^{\circ}$ C, max. $+27,4^{\circ}$ C, im August 1931 im Mittel $+16,2^{\circ}$ C, min. $+4,2^{\circ}$ C, max. $+29,1^{\circ}$ C und im März 1931 im Mittel $-5,9^{\circ}$ C, min. $-18,3^{\circ}$ C, max. $+9,0^{\circ}$ C.

Änderungen des Sprosspilzkeimgehalts der Butter bei der Butteraufbewahrung.

Demeter und Maier²⁾ fanden in 54 10 Tage alten Butterproben pro ccm im Mittel 552.638 Hefenkeime; als dieselben bei einer Temperatur von 0 bis $+4^{\circ}$ C aufbewahrt wurden, enthielten sie nach 8 Wochen pro ccm im Mittel 9.113.156 Hefenkeime.

Wenn man den Sprosspilzgehalt der aus Tallinn von der Ausfuhrkontrollstation der Milchprodukte bei der ersten Schätzung gesandten Butterproben vergleicht mit demjenigen der bei der zweiten Schätzung gesandten Proben, so sieht man, wie sich der Sprosspilzkeimgehalt der Butter bei zweiwöchiger Aufbewahrung der Butter bei einer Temperatur von $+9^{\circ}$ — $+14^{\circ}$ C ändert. Im Mittel enthielten die 263 Butterproben bei der ersten Schätzung pro Gramm 282.936 und bei der zweiten 356.479 Sprosspilzkeime. Durchschnittlich zeigte damit der Sprosspilzkeimgehalt bei der Aufbewahrung eine kleine Erhöhung.

Vergleicht man die Zunahme der Sprosspilze in den Butterproben mit ihrem ursprünglichen Sprosspilzkeimgehalt (siehe Tabelle 4), so zeigt sich, dass die Zunahme prozentual um so grösser war, je weniger die Butter anfänglich Sprosspilzkeime enthielt. Der Sprosspilzkeimgehalt bei den im Anfang $> 1.000.000$ solcher enthaltenden Butterproben zeigte bei zweiwöchigem Stehen sogar eine kleine Abnahme.

TABELLE 4.

Änderungen des Sprosspilzkeimgehalts der Butter während zweiwöchiger Aufbewahrung bei einer Temperatur von $+9^{\circ}$ — $+14^{\circ}$ C.

Zahl der Butterproben	Sprosspilzzahl pro 1 Gramm bei der ersten Schätzung			Sprosspilzzahl pro 1 Gramm bei der zweiten Schätzung			Zunahme (+) oder Abnahme (−) des mittleren Sprosspilzkeimgehalts in %
	niedrigster Keimgehalt	höchster "	mittlerer "	mittlerer "	niedrigster "	höchster "	
33	0	100	50	33.351	10	276.000	+ 66.602
38	110	900	386	35.290	< 50	333.500	+ 9042
52	1100	10.000	4134	56.574	200	700.000	+ 1268
50	10.950	100.000	39.342	153.932	300	1.000.000	+ 291
68	110.000	1.000.000	390.647	579.029	8100	2.700.000	+ 48
22	1.050.000	4.650.000	2.075.000	1.877.273	160.000	4.400.000	− 10

Da die Sprosspilze sauerstoffbedürftige Mikroben sind, ist wahrscheinlich der Luftmangel der Faktor, der eine grössere Zunahme der Sprosspilze in der Butter nicht zulässt.

Beziehungen zwischen Sprosspilzzahl und Butterqualität.

Shutt³²⁾ fand, dass 9 mehr als 100.000 Hefenkeime pro ccm enthaltende Butterproben bei 10° F geringere Haltbarkeit besaßen als 5 weniger als 200 Hefenkeime enthaltende Proben. Macy und Richie¹⁷⁾ fanden, dass 1) keine feste Beziehung zwischen dem Gehalt an Hefen- und Schimmelpilzkeimen und der Qualität der frischen Butter besteht, 2) der Gehalt einer einzigen Butterprobe an Hefen- und Schimmelpilzkeimen kein verlässliches Kennzeichen für die Haltbarkeit der Butter ist, 3) wenn man untereinander eine grössere Zahl von Butterproben vergleicht, die Haltbarkeit der Proben mit niedrigem Gehalt an Hefen- und Schimmelpilzkeimen durchschnittlich etwas besser ist, als die durchschnittliche Haltbarkeit der Proben mit höherem Keimgehalt. Demeter und Maier²⁾ gruppierten 422 10 Tage alte Butterproben, geschätzt mit den Punkten < 13 bis 20, nach der Punktzahl in 8 Gruppen und bestimmten für die in jede Gruppe gehörigen Butterproben den mittleren Hefengehalt. Der niedrigste mittlere Hefenkeimgehalt einer Gruppe betrug 421.326 und der höchste 809.386 (in den Einzelproben 175—840.000). Durch Vergleichen des mittleren Hefengehalts der Gruppen fanden die Verfasser keine feste Beziehung zwischen dem Hefengehalt der Butter und ihrer Qualität. Als die Butterproben bei 0°—+5° C aufbewahrt wurden, zeigte es sich, dass die nach 8- und 16wöchigem Stehen besser erhaltenen Proben im Mittel weniger Hefen enthielten als die schlechter erhaltenen. Die Verfasser folgern, dass die Hefen auf die Haltbarkeit der Butter ungünstig wirken. Den Hefengehalt der Butter der einzelnen Meiereien vergleichend fanden die Verfasser, dass der mittlere Hefengehalt bei den Meiereien, die Butter schlechterer Qualität herstellen, und bei denjenigen, die solche guter Qualität herstellen, sich nicht als besonders verschieden erweist.

Wie früher erwähnt, stammte ein Teil der aus Hamburg gesandten Butterproben, nach der Mitteilung des Herrn Leiters der Butterauktion der Meiereiverbände für Schleswig-Holstein, oft aus geringwertige Butter herstellenden Molkereien — diese sind mit den Ziffern I—VI bezeichnet —, und ein anderer Teil der Proben aus gewöhnlich hochwertige Butter herstellenden Molkereien, die mit den Ziffern VII—XII bezeichnet sind. In Tabelle 5 ist der mittlere Sprosspilzkeimgehalt der Butter aus den Molkereien I—VI und VII—XII an den einzelnen Tagen angegeben, wo Proben entnommen wurden. Die Tabelle zeigt, dass die Butter aus Molkereien mit besserer Butterqualität (VII—XII) durchschnittlich weniger Sprosspilze als die Butter aus Molkereien mit geringerer Butterqualität (I—VI) enthält.

TABELLE 5.
Sprosspilzkeimgehalt der Butter, nach den
Molkereien gruppiert.

Tag der Entnahme der Proben	Mittlere Sprosspilzzahl pro 1 Gramm			
	Molkereien I—VI		Molkereien VII—XII	
	Zahl der Proben		Zahl der Proben	
15/IX 1928	6	3.163.000	6	2.233.000
11/X 1928	6	3.425.000	6	1.270.000
19/XI 1928	6	3.917.000	6	1.448.000
23/I 1929	6	1.676.000	6	161.000
7/II 1929	6	33.000	6	< 1000

Die aus Tallinn im August 1930 und 1931 geschickten Butterproben teilte ich nach der bei ihrer ersten Schätzung gefundenen Sprosspilzzahl in Gruppen und rechnete die mittlere erreichte Punktzahl für jede Gruppe aus. Diese Daten finden sich in Tabelle 6. Es lässt sich ihnen entnehmen, dass die mittlere Punktzahl für die Butter um so niedriger war, je mehr sie Sprosspilze enthielt. Besonders

TABELLE 6.
Mittlere Punktzahl der nach dem Sprosspilzkeimgehalt angeordneten Gruppen von Butterproben.

Sprosspilzzahl pro 1 Gramm	Zahl der Proben	Mittlere Punktzahl der Butterproben	Niedrigste und höchste Punktzahl der Butterproben
< 100	11	12,11	11,00—13,00
101—1000	24	12,03	10,33—13,00
1001—10.000	49	12,03	10,50—12,83
10.001—100.000	50	11,89	9,50—12,83
100.001—1.000.000	69	11,90	10,00—12,83
> 1.000.000	22	11,41	9,33—12,50

niedrig war die mittlere Punktzahl, im Vergleich mit den übrigen Proben, bei der Butter, die > 1.000.000 Sprosspilzkeime pro 1 Gramm enthielt.

In der Ausfuhrkontrollstation der Milchprodukte zu Tallinn teilt man die Butter unter Zugrundelegung der Schätzungsziffern

in drei Sorten. Die Butter ist I. Sorte, wenn sie geschätzt ist mit 12,00 und mehr Punkten, sie ist II. Sorte, wenn sie geschätzt ist mit der Punktzahl 10,00—<12,00, und III. Sorte, wenn sie geschätzt ist mit weniger als 10 Punkten. Wie sich die Butterproben unter die Sorten und nach ihrem Sprosspilzgehalt verteilen, ist aus der Tabelle 7 zu ersehen. Wie man sieht, findet

TABELLE 7.

Verteilung der Butterproben unter die Sorten und nach ihrem Sprosspilzgehalt.

Sprosspilzzahl pro 1 Gramm	Zahl der Proben insgesamt	Butter I. Sorte		Butter II. Sorte		Butter III. Sorte	
		Zahl der Proben	%	Zahl der Proben	%	Zahl der Proben	%
0—100	11	9	81,8	2	18,2	—	—
101—1000	24	17	70,8	7	29,2	—	—
1001—10.000	49	36	73,5	13	26,5	—	—
10.001—100.000	50	35	70,0	14	28,0	1	2,0
100.001—1.000.000	69	50	72,5	18	26,1	1	1,4
>1.000.000	22	10	45,5	9	40,9	3	13,6

sich unter den Butterproben mit höherem Gehalt an Sprosspilzen weniger Butter I. Sorte, als unter den Butterproben mit niedrigerem Gehalt an Sprosspilzen.

Tabelle 8 und Diagramm 1 geben ein Bild von dem mittleren Sprosspilzgehalt der Butterproben I., II. und III. Sorte. Dem-

TABELLE 8.

Mittlerer Sprosspilzgehalt der Butterproben nach den Buttersorten.

Buttersorten	Zahl der Butterproben	Sprosspilzzahl pro 1 Gramm		
		im Mittel	mindestens	höchstens
I	157	232.500	0	2.330.000
II	63	465.500	6	3.750.000
III	5	1.834.800	13.800	4.650.000

gemäss enthielten Butterproben schlechterer Sorten durchschnittlich viel mehr Sprosspilze als diejenigen besserer Sorten.

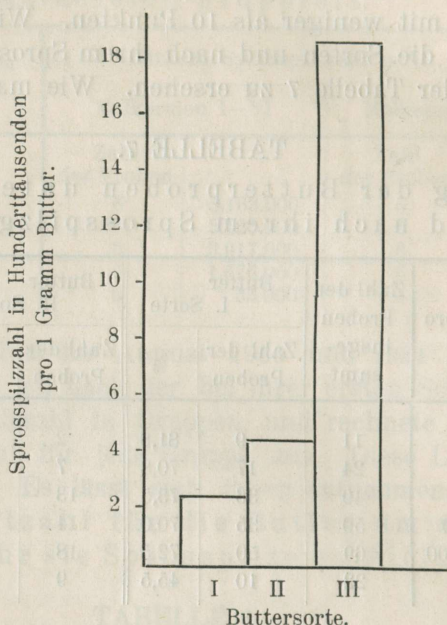


Diagramm 1. Mittlerer Sprosspilzkeimgehalt der einzelnen Buttersorten.

Daher lässt sich auch eine gewisse Beziehung zwischen der Qualität der frischen Butter und dem Gehalt an Sprosspilzen feststellen, was von den oben referierten Arbeiten verneint wird. Diese Beziehung erscheint deutlich erst bei einem höheren Gehalt an Sprosspilzen; im vorliegenden Falle zeigt sich ein grösserer Qualitätsunterschied zwischen den Butterproben mit einer Sprosspilzzahl von $> 1.000.000$ und $< 1.000.000$ pro 1 Gramm Butter.

Wie oben erwähnt, wurden die von der Ausfuhrkontrollstation für Milchprodukte in Tallinn geschickten Butterproben aus den für den Haltbarkeitsversuch an der Butter bestimmten Butterfässern genommen. Vergleichen wir den Unterschied der Punktzahlen bei der ersten und bei der zweiten Schätzung der Butterproben (die Proben sind während der Haltbarkeitsversuche im August 1930 und im März und August 1931 untersucht worden), so sehen wir, dass er durchschnittlich um so grösser war, je mehr die

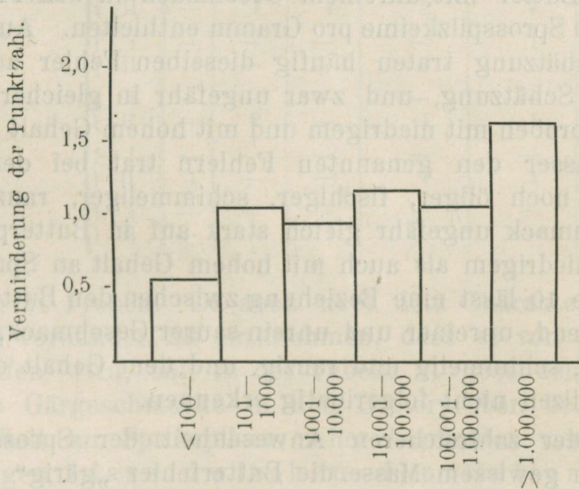
Butter Sprosspilze enthielt. Das wird erläutert durch die Tabelle 9 und das Diagramm 2. Da der Unterschied in den Punktzahlen der ersten und der zweiten Schätzung die Verschlechterung der

TABELLE 9.

Verminderung der Qualität der Butter während der Haltbarkeitsversuche bei verschiedenem Sprosspilzkeimgehalt.

Sprosspilzzahl pro 1 Gramm	Zahl der Butter- proben	Mittlere Punktzahl		Unterschied zwischen d. I. u. II. Punktzahl
		bei der I. Schätzung	bei der II. Schätzung	
<100	33	11,95	11,33	0,62
101—1000	38	11,96	10,86	1,10
1001—10.000	53	12,01	11,07	0,94
10.001—100.000	50	11,89	10,66	1,23
100.001—1.000.000	69	11,89	10,75	1,14
>1.000.000	22	11,41	9,70	1,71

Qualität der Butter, oder umgekehrt die Haltbarkeit der Butter anzeigt, so lässt sich folgern, dass zwischen dem Gehalt der Butter an Sprosspilzen und ihrer Haltbarkeit eine bestimmte



Sprosspilzzahl pro 1 Gramm Butter.

Diagramm 2. Verminderung der Butterqualität bei zweiwöchigem Haltbarkeitsversuch.

Beziehung besteht, die sich darin äussert, dass dem höheren Gehalt an Sprosspilzen eine geringere Haltbarkeit der Butter entspricht. Eine gleiche Beziehung zwischen der Haltbarkeit der Butter und dem Gehalt an Hefen konstatieren auch Macy und Richie sowie Demeter und Maier in ihren im Anfang dieses Abschnitts referierten Arbeiten.

Beziehung zwischen dem Gehalt der Butter an Sprosspilzen und den Butterfehlern.

Von den seitens der Ausfuhrkontrollstation für Milchprodukte aus Tallinn zugesandten Butterproben waren, nach Angabe der Kontrollstation, mehrere von mit mancherlei Geschmacksfehlern behafteter Butter genommen worden. In der Tabelle 10 sind die Butterproben nach den Geschmacksfehlern und dem Gehalt an Sprosspilzen gruppiert worden. Wie die Tabelle zeigt, fanden sich bei der ersten Schätzung häufiger folgende Fehler: 1) gestandener und alter Geschmack, 2) unreiner Geschmack und unrein-saurer Geschmack. Die genannten Fehler traten in den Butterproben sowohl bei niedrigem als auch bei hohem Gehalt an Sprosspilzen auf; besonders häufig war aber Butter mit unreinem Geschmack in den Proben, die $> 1.000.000$ Sprosspilzkeime pro Gramm enthielten. Auch bei der zweiten Schätzung traten häufig dieselben Fehler auf wie bei der ersten Schätzung, und zwar ungefähr in gleicher Weise in den Butterproben mit niedrigem und mit hohem Gehalt an Sprosspilzen. Ausser den genannten Fehlern trat bei der zweiten Schätzung noch öliger, fischiger, schimmeliger, ranziger und Seifengeschmack ungefähr gleich stark auf in Butterproben sowohl mit niedrigem als auch mit hohem Gehalt an Sprosspilzen. Die Tabelle 10 lässt eine Beziehung zwischen den Butterfehlern: altschmeckend, unreiner und unrein-saurer Geschmack, ölig, seifig, fischig, schimmelig und ranzig, und dem Gehalt der Butter an Sprosspilzen nicht folgerichtig erkennen.

Von der zahlreicheren Anwesenheit der Sprosspilzkeime scheinen in gewissem Masse die Butterfehler „gärig“ und „gärsauer“, sowie vielleicht auch „scharf sauer“ abzuhängen, denn bei der ersten Schätzung waren nur 2 Proben mit hohem Gehalt an Sprosspilzen gärig und gärsauer, bei der zweiten Schätzung

TABELLE 10.

Einteilung der Butterproben nach den Butterfehlern und dem Sprosspilzgehalt.

	I. oder II. Schätzung	Sprosspilzzahl pro 1 Gramm Butter und Zahl der Butterproben					
		0—100	101—1000	1001—10.000	10.001—100.000	100.001—1.000.000	< 1.000.000
Proben insgesamt		33	38	53	50	69	22
Fehlerlose Proben	{ I	26	27	39	34	51	10
	{ II	18	9	17	13	12	1
Altschmeckend	{ I	3	4	4	7	6	1
	{ II	9	7	20	16	18	6
Unreiner u. unrein-saurer Geschmack	{ I	3	4	9	6	9	8
	{ II	4	7	5	10	23	2
Kochgeschmack	{ I	1	1	—	—	—	—
	{ II	—	—	—	—	—	—
Öliger Geschmack	{ I	—	1	—	2	—	—
	{ II	—	7	7	3	3	1
Aromalos	{ I	—	—	1	—	—	—
	{ II	—	2	—	—	2	—
Seifig	{ I	—	—	—	1	—	—
	{ II	1	1	—	3	1	—
Gärig und gärsauer	{ I	—	—	—	—	1	1
	{ II	—	1	1	2	7	10
Scharf sauer	{ I	—	—	—	—	1	—
	{ II	—	—	—	2	1	2
Schimmelig	{ I	—	—	—	—	—	—
	{ II	—	2	—	1	1	—
Fischig	{ I	—	—	—	—	—	—
	{ II	1	—	—	1	1	—
Ranzig	{ I	—	—	—	—	—	—
	{ II	—	—	1	—	—	—

aber schon 21 Proben. Da auch nach dem Charakter des Fehlers Grund vorhanden ist anzunehmen, dass er von den Hefen hervorgerufen wird, soll in der Tabelle 11 gesondert das Auftreten des Gärgeschmacks in den Butterproben bei verschiedenem Gehalt an Sprosspilzen näher betrachtet werden. Die Zahlen zeigen, dass zwischen den Butterfehlern „gärig“ und „gärsauer“ und der Zahl der Sprosspilzkeime eine Beziehung besteht, denn bei einem niedrigen Gehalt an Sprosspilzen waren diese Fehler über-

haupt nicht vorhanden und von den $> 1.000.000$ Sprosspilzkeime pro Gramm enthaltenden Butterproben war fast die Hälfte mit den genannten Fehlern behaftet.

TABELLE 11.

Auftreten des Gär- und gärsauren Geschmacks in der Butter bei der während des Haltbarkeitsversuchs erfolgten zweiten Schätzung.

Sprosspilzzahl pro 1 Gramm	Butterproben insgesamt	Gärige und gärsaure Butterproben	
		insgesamt	in % d. Gesamtzahl
0—100	33	—	—
101—1000	38	1	2,6
1001—10.000	53	1	1,9
10.001—100.000	50	2	4,0
100.001—1.000.000	69	7	10,1
$> 1.000.000$	22	10	45,5

Systematische Übersicht über die aus der Butter schleswig-holsteinischer und estnischer Molkereien isolierten Sprosspilze.

In betreff der in der Butter estnischer Molkereien vorkommenden Sprosspilze sind bisher keine systematischen Untersuchungen zur Ausführung gekommen. Auch über die in schleswig-holsteinischer Butter vorkommenden Sprosspilze ist es mir nicht gelungen Arbeiten entsprechenden Inhalts zu finden. Über Butterhefen haben allerdings schon mehrere Forscher geschrieben, aber leider ist in den veröffentlichten Arbeiten die Systematisierung dieser Pilze nicht immer auf einheitlichen Grundlagen erfolgt, wie wir aus der folgenden Literaturübersicht ersehen können.

Weigmann³⁸⁾ isolierte aus verdorbener Butter einen Milchzucker vergärenden *Saccharomyces*-Hefestamm. Krüger¹¹⁾ isolierte aus käsiger Butter zwei Milchzucker nicht vergärende *Saccharomyces*-Hefestämme. Tiemann³⁵⁾ isolierte aus hochwertiger Butter einen Milchsäuregärung veranlassenden *Torula*-Hefestamm. Nach Orla-Jensen¹⁹⁾ kommen in der Butter zwei besondere Hefengruppen vor: 1) Milchzucker vergärende Hefen und 2) einige *Mycoderma*-Hefen. Erstere bilden auf dem Agar gewöhnlich dicke glattrandige Kolonien, während die anderen dünne mit Ausläufern versehene Kolonien bilden. Rogers²⁷⁾ untersuchte eine *Torula*-Hefe, die sich in der Butter recht häufig finden soll; diese Hefe bildete elliptische, $3,6-4,5 \mu \times 1,8-2,0 \mu$ grosse

an den Enden sprossende Zellen; grössere Sprossverbände bildete sie nicht. Die Hefe zersetzte Butterfett und Milch; Milch brachte sie nicht zum Gerinnen. Teichert³³⁾ fand in gesalzener Sauerrahmbutter kleinzellige *Torula*-, *Mycoderma*- und rote Hefen. Sayer, Rahn und Farrand³¹⁾ teilten die in Butter vorkommenden Hefen in Gelatine verflüssigende und nicht verflüssigende ein. Die verflüssigenden Hefen wuchsen auf Gelatine mycelförmig und bildeten nach der Verflüssigung auf der Oberfläche der Flüssigkeit eine trockene Haut. Die verflüssigenden Hefen vergärten Dextrose nicht, sie veranlassten Gerinnung und Peptonisierung der Milch bei neutraler Reaktion. Die Zellen waren elliptisch, $4 \times 6 \mu$ — $5 \times 6 \mu$ gross; unter ihnen waren auch runde, 4μ grosse Zellen. Unter den nicht verflüssigenden Hefen werden unterschieden 1) die kleine unregelmässige, 2) die runde und 3) die Maltosehefe. Die kleine unregelmässige Hefe trat in Lagerbutter unter den Hefen am häufigsten auf. Ihre Zellen waren klein, häufig nur von 2μ Durchmesser, gewöhnlich aber $3 \times 4 \mu$ gross, von elliptischer oder ovaler Form. In alten Kulturen waren die Hefezellen wurstförmig. Die Gelatinestichkultur war baumartig verzweigt. Milch veränderte sie nicht, oder machte sie im Laufe von 3—4 Wochen schwach alkalisch. Dextrose und Maltose vergäerte diese Hefe nicht. Die runde Hefe bildete einzelnstehende runde Zellen von 4 — 5μ Durchmesser, Zucker vergäerte sie nicht. In Gelatinestichkultur wuchs sie faden- oder perlschnurförmig. Die Maltosehefen waren in der Form sehr verschieden. Einige derselben vergärten Milchsucker. Dombrowski³⁾ beschrieb unter anderem 8 aus dänischer und finnländischer Butter isolierte Sprosspilzstämmen, von denen 3 *Monilia*-, 1 ein *Zygosaccharomyces*-, 1 ein *Mycoderma*- und 3 *Torula*-Pilze waren. Orla-Jensen²⁰⁾ teilte die in der Butter auftretenden Hefen in 4 Gruppen ein: 1) in Zucker vergärende Hefen; sie bilden ovale Zellen von $3 \times 6 \mu$ Grösse, auf zuckerhaltigem Agar bilden sie einen dünnen Belag; von den Disacchariden vergären sie Rohr- und Milchsucker. Die 2. Gruppe bilden Hefen mit runden oder ovalen Zellen von 2 — 3μ Grösse; in Gelatinestichkultur wachsen sie ästchenlos; besser wachsen sie im oberen Teile des Stichkanals; auf zuckerhaltigem Agar bilden sie einen dicken Belag und sondern häufig ein gelblichgrünes Pigment ab. Die 3. Gruppe bilden Hefen mit runden, länglichen, unregelmässig geformten Zellen, meist von 1 — 2μ Stärke; in Gelatinestichkultur erfolgt das Wachstum mit Ästchen; der Agarbelag ist etwas dünner als bei der 2. Gruppe. Zur 4. Gruppe gehören Pilze mit runden bis recht langen, oft verzweigten Zellen; sie wachsen in Gelatinestichkultur mit Ästchen — diese Pilze gehören augenscheinlich nicht zu den typischen Hefen. Am häufigsten traten auf in der Butter die zur 2. u. 3. Gruppe gehörigen Hefen. Sandelin^{28) 29)} isolierte aus Butter 24 Hefestämmen, von denen 23 *Torula* Hansen und 1 *Mycoderma* Hansen waren. Diese Hefen trennte Sandelin nach ihrer Fähigkeit Fett, Milchsucker und Kasein zu zersetzen in 6 Gruppen.

Zur Bestimmung der in schleswig-holsteinischer und estnischer Butter vorkommenden Sprosspilze isolierte ich aus einem Teil der zur Bestimmung des Keimgehalts der Sprosspilze verwendeten Butterproben — insgesamt 44 Proben — 283 Sprosspilzstämmen. Von den Butterproben waren 35 aus der Butter

von 17 schleswig-holsteinischen Molkereien genommen; aus ihnen isolierte ich im ganzen 247 Hefestämme. 9 Butterproben waren aus der Butter von 9 estnischen Molkereien genommen; aus diesen Butterproben isolierte ich 36 Sprosspilzstämme.

Die Isolierung und Bestimmung der Sprosspilze führte ich aus im Bakteriologischen Institut der Preussischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft. Die Sprosspilze züchtete ich und bewahrte sie auf mit Würzeagar, indem ich sie nach jedem 3. Monat überimpfte. Es bietet Interesse hierbei anzuführen, dass die Sprosspilze auf Würzeagar in mit Paraffin verschlossenen Reagenzgläsern ohne Wechsel des Nährmediums sehr lange am Leben bleiben. Als ich Kiel im Herbst 1929 verliess, verschloss ich die Reagenzgläser mit den Sprosspilzkulturen mit Paraffin. Einen Teil dieser Kulturen, die sehr verschiedenen Sprosspilzgattungen angehörten, öffnete ich in Tartu erst 2 Jahre später. Obgleich der Agarbelag in vielen Reagenzgläsern graulichbraun geworden war, waren noch alle Kulturen am Leben. Beim Isolieren legte ich darauf Gewicht, aus jeder Butterprobe möglichst alle dort vorhandenen Sprosspilzarten zu isolieren. Die Sprosspilzarten suchte ich nach dem Aussehen der Kolonien und den mikroskopischen Bildern zu trennen. Beim Isolieren suchte ich auch festzustellen, welche Sprosspilzgruppen der Zahl nach in jeder Butterprobe dominierten.

Zur Bestimmung der Sprosspilze stellte ich mit den isolierten Stämmen eine Reihe von morphologischen, kulturellen und physiologischen Versuchen und Beobachtungen an. Durch die physiologischen Versuche suchte ich auch ungefähr festzustellen, welche Sprosspilzstämme zu den Butterschädigern gehören.

Um die morphologischen Merkmale der Sprosspilze kennenzulernen, beobachtete ich die Formen der Zellen und der Sprossverbände und die Vermehrungsweisen der Pilze in Hennebergs⁷⁾ Vollmilchfederstrichkultur, auf Würzeagar, in Würze, der 2% Dextrose zugefügt war, und in Magermilch. Als Unterlage für die Untersuchungen dienten die Vollmilchfederstrichkulturen, welche ich im Laufe von 3 Monaten viermal mikroskopierte. Betrachtungen der Vollmilchfederstrichkulturen nahm ich vor 1) in der Zeit vom 5.—7. Tage, 2) vom 20.—25. Tage, 3) vom 45.—50. Tage und 4) um den 90. Tag. Bei der ersten Betrachtung zeichnete ich die 900 mal vergrösserten Pilze mit Hilfe des Zeisschen Prismas

auf Papier; alle anderen mikroskopischen Beobachtungen basierten auf diesen Zeichnungen. Wenn ich bei einer Betrachtung abweichende Formen fand, dann zeichnete ich sie zu den ersteren hinzu. Im Alter von 90 Tagen waren fast alle Vollmilchfederstrichkulturen noch am Leben, was im Widerspruch steht zu der Beobachtung von Trüper³⁴), dass Hefen in der Vollmilchfederstrichkultur im Laufe von 4—5 Wochen eingehen. Würzeagarkulturen mikroskopierte ich im Alter von 5—7 und ca. 90 Tagen. Bei den Pilzen der alten Agarkulturen führte ich auch die Sporenfärbung aus. Würzekulturen züchtete ich in Reagenzgläsern und mikroskopierte sie, wenn sie 5—10 Tage und gegen 90 Tage alt waren, besonders die auf der Flüssigkeitsoberfläche und die am Boden gewachsenen Pilze. Die Magermilchkulturen züchtete ich ebenfalls in Reagenzgläsern und mikroskopierte dieselben im Alter von 30 und 90 Tagen.

Die kulturellen Merkmale betrachtete ich auf Würzeschrägagar und in dextroshaltiger Würze. Auf Würzeschrägagar beschrieb ich den Belag im Alter von 30 Tagen, angehend die Farbe, den Glanz, die Dicke, die Konsistenz, den Charakter der Oberfläche und die Randform des Belages. Bei dextroshaltiger Würze verfolgte ich das Entstehen der Haut, die Trübung der Flüssigkeit und die Konsistenz des Bodensatzes; die Betrachtungen fanden am 2., 4., 6., 20. und 60. Tage statt. Ausserdem verfolgte ich bei ausgewählten Pilzstämmen 40 Tage lang das Wachstum in der Würzegeleinstichkultur. Diese Pilzstämmen sind bei der Beschreibung der Pilzgruppen besonders berücksichtigt worden.

Von physiologischen Versuchen führte ich aus: 1) Gärungsversuche, 2) Milchfetzersetzungversuche, 3) Milchkaseinzersetzungsversuche und 4) Gelatineverflüssigungsversuche mit ausgewählten Pilzstämmen. Die Gärungsversuche führte ich durch in Reagenzgläsern bei Zimmertemperatur. Zu den Versuchen benutzte ich die bei den morphologischen Versuchen erwähnten dextroshaltigen Würze- und Magermilchkulturen. Das Gärvermögen beurteilte ich nach der Gasentwicklung in der Flüssigkeit. Die Gasentwicklung verfolgte ich am 2., 4. und 6. Tage. Die Milchfetzersetzung verfolgte ich bei den Vollmilchfederstrichkulturen zugleich mit dem Zeichnen der Pilze. War in den Kulturen im Laufe von 20—25 Tagen die Milchfetzersetzung nicht eingetreten, so zeigten sich Fetzersetzungerscheinungen auch bei späteren Betrachtungen niemals. Die Kaseinzersetzung verfolgte ich

in Magermilch in denselben Gläsern, in denen ich die Milchgärung beobachtete. Die Kulturen bewahrte ich zu diesem Zweck 3 Monate auf. Die Kaseinzeretzung beurteilte ich nach der Farbe und den Veränderungen der Konsistenz der Magermilch. Nach 3monatiger Aufbewahrung schätzte ich den Geschmack der Milch und prüfte ihre Reaktion gegen Lackmus. Die Reinheit der Kulturen kontrollierte ich mit Hilfe des Mikroskops.

Die Pilze sind geordnet nach der von Janke⁹⁾ zusammengestellten Systematik. Ein Pilzstamm, der in Jankes System nicht unterzubringen war, stimmte nach seinen Erkennungsmerkmalen mit der von Kluyver und van Niel¹⁰⁾ beschriebenen Gattung *Sporobolomyces* überein.

Es stellte sich heraus, dass die von mir aus der Butter isolierten Pilze zu folgenden Gattungen gehören:

- I. *Mycotorula* Will,
- II. *Torulopsis* (Berlese) Janke,
- III. *Pseudomonilia* Geiger,
- VI. *Saccharomyces* Meyen,
- V. *Sporobolomyces* Kluyver und van Niel,
- VI. *Oospora* Wallr.

I. *Mycotorula* Will.

Die zu dieser Gattung gehörigen Hefen bilden gewöhnlich, besonders aber auf Würzeagar, aus Langsprossen (im Sinne von Janke) bestehendes Sprossmycel. Die Grösse der Langsprosse beträgt meist $2-4 \mu \times 15-30 \mu$. Die Enden der Langsprosse sind gewöhnlich gerundet, seltener zugespitzt. An den Enden oder Seiten der sprossmycelbildenden Langsprosse entstehen durch Sprossung kugel- und eiförmige, oder elliptische Kurzsprossen. Die Agarkolonien, besonders ältere, sind versehen mit Ausläufern, die aus Sprossmycel gebildet sind, das seinerseits aus Langsprossen besteht.

Als typische Eigenschaft der zur Gattung *Mycotorula* gehörigen Pilze wird angesehen die Bewirkung der alkoholischen Gärung. Da die von mir aus der Butter isolierten, nach morphologischen Merkmalen zur Gattung *Mycotorula* gehörigen Pilzstämme in der Mehrzahl (mit Ausnahme der 3. Gruppe) Alkoholgärung nicht hervorrufen, so ist der grössere Teil von diesen Pilzen nicht typische *Mycotorula*-Hefen. Es ist aber hierbei zu

bemerken, dass Will die Diagnose für die Gattung *Mycotorula* bei der Beschreibung der in den Brauereien vorkommenden Sprosspilze aufstellte.

Die zur Gattung *Mycotorula* gehörigen Pilzstämme teilte ich nach den morphologischen Merkmalen in 3 Gruppen. Wie aus nachfolgenden Zeilen folgt, unterscheiden sich diese Gruppen untereinander auch in vielen physiologischen Eigenschaften.

1. Gruppe: Die Zellen des Sprossmycels sind so schwach untereinander verbunden, dass das Mycel gewöhnlich bei der Anfertigung des mikroskopischen Präparates zerfällt. Infolgedessen kann man in gewöhnlichen mikroskopischen Präparaten fast nur einzelnstehende Hefezellen sehen. Die Bildung von Sprossmycel kann man aber bemerken, wenn unter das Mikroskop eine ganz kleine Agarkolonie gebracht und dieselbe vom Rande betrachtet wird (siehe Tafel I, Abb. 1). Sehr zweckmässig ist es, die Entwicklung der von diesen Hefen gebildeten Zellverbände auf einer dünnen Agarschicht zu verfolgen, die gleich dem hängenden Tropfen auf der unteren Seite des Deckglases untergebracht ist. Auch in der Vollmilchfederstrichkultur bilden diese Hefen gewöhnlich nur einzeln auftretende kugel- und eiförmige oder längliche Zellen verschiedener Grösse, während Zellverbände fast vollständig fehlen. Die sprossmycelbildenden Langsprosse sind wurstförmig, von $2-3 \mu \times 10-25 \mu$ Grösse. Die Grösse der neben dem Mycel wachsenden kugel- und eiförmigen Zellen ist sehr variierend, besonders in flüssigen Nährböden; die Grösse schwankt zwischen $1 \mu \times 2 \mu$ und $4 \mu \times 6 \mu$. Die Zellen sind inhaltsarm. Auf Würzeagar bilden diese Hefen einen weissen, dicken, sauerrahmähnlichen Belag mit glatter Oberfläche. In älteren Kulturen haben die Belagränder gewöhnlich Ausläufer. Eine Haut auf der Flüssigkeitsoberfläche bilden diese Hefen entweder überhaupt nicht, oder nur in älteren Kulturen. Häufig entsteht aber auf der Flüssigkeitsoberfläche am Reagenzglase ein kleiner Ring. Die Flüssigkeit junger flüssiger Kulturen ist etwas trübe. In Würzegelestinestichkultur wachsen 2 ausgewählte Stämme (IV—2, VIII—4) fast nur im oberen Teile des Stiches in ca. 1—2 cm Tiefe von der Oberfläche. Im unteren Teile des Stiches ist kaum Wachstum zu sehen. Die Pilzkultur ist im oberen Teile des Stiches mit Ästchen versehen. Im Laufe von 40 Tagen verflüssigen diese Stämme an der Oberfläche in sehr geringem Masse Gelatine. Gärung veranlassen diese Hefepilze gewöhnlich nicht;

wenn das bei einer Einzelkultur der Fall ist, so erfolgt die Gärung kaum merklich. In Magermilch bewirkt kein einziger Stamm Gärung, aber sie verändern die Farbe der Milch nach ca. 40 Tagen ins Gelbliche, später wird sie etwas durchscheinend; bei einigen Stämmen koaguliert schliesslich die Milch gallertartig. Die Milchreaktion verändern sie gegen Ende des Versuchs in eine gegen Lackmus alkalische, und den Geschmack der Milch in einen käseartigen. Aus den Veränderungen der Eigenschaften der Milch kann geschlossen werden, dass diese Hefen langsam das Kasein zersetzen. Einige Stämme zersetzten in der Vollmilchfederstrichkultur im Laufe von 14—20 Tagen in geringem Masse Milchfett. Von den isolierten Sprosspilzen gehören in diese Gruppe 24 Stämme.

Aus dieser und den anderen Pilzgruppen wählte ich zu ergänzenden Untersuchungen einige Pilzstämme aus, die nach den Vorversuchen in ihren Eigenschaften für die Gruppe besonders typisch waren. Aus den Gruppen, bei denen alle Stämme ihren Merkmalen nach einander sehr ähnelten, bestimmte ich für ergänzende Untersuchungen 2 Stämme, während ich aus den Gruppen, bei denen sich in morphologischen, Kultur- oder auch physiologischen Merkmalen keine besondere Einheitlichkeit zeigte, um so mehr Stämme wählte, als in ihnen Typen vorkamen. Aus der vorliegenden Gruppe wählte ich zu weiteren Untersuchungen 2 Stämme: IV—2 (Tafel I, Abb. 1) und VIII—4.

2. Gruppe: Das von den Langsprossen gebildete Sprossmycel ist von beständigem Charakter, weswegen man dasselbe gewöhnlich auch in flüssigen Kulturen und in Kulturen im hängenden Tropfen finden kann. Die Langsprosse des Sprossmycels sind wurstförmig oder von keilartigem Durchschnitt; die Grösse der Zellen beträgt $2-4 \mu \times 10-30 \mu$. Die aus dem Mycel herauswachsenden Zellen sind, je nach den Stämmen, sehr verschieden gestaltet: kugel-, ei-, keilförmig, elliptisch und länglich; ihre Grösse beträgt $2-4 \mu \times 3-20 \mu$. Die Hefezellen dieser Gruppe sind etwas inhaltsreicher, als die zur 1. Gruppe gehörigen. Auf Würzeagar bildet ein Teil dieser Hefen einen weissen, dicken, sauerrahmartigen, mit Ausläufern versehenen Belag, während der andere Teil einen graulichweissen, dünneren Belag, von trockenerer Konsistenz, mit kurzen Ausläufern oder ohne solche bildet. Die Belagfläche ist bei beiden Teilen eben. Der grössere Teil dieser Hefenstämme bildet auf der Oberfläche der

flüssigen Nährsubstrate in 5—20 Tagen eine dicke, leicht zerfallende Haut, welche bei Bewegung leicht in Stücken zu Boden sinkt. In Würzegelestinestichkultur wachsen 8 ausgewählte unten genannte Stämme fast nur im oberen Teile des Stichs in der Tiefe von 1—2 cm von der Oberfläche, im unteren Teile desselben lässt sich kaum Wachstum beobachten. Die Pilzkultur ist im oberen Teile des Stichs mit Ästchen versehen. Im Laufe von 40 Tagen verflüssigen diese Pilzstämme Gelatine nicht. Ein Teil derselben veranlasst Gärung in dextroshaltiger Würze, ein anderer nicht. In Magermilch bewirken sie keine Gärung, aber dieselben Veränderungen wie die Hefen der ersten Gruppe. Viele Stämme zersetzen in Vollmilchfederstrichkultur kräftig Milchfett, indem sie die Fettkügelchen in 6—10 Tagen vollständig deformieren. Von den isolierten Sprosspilzen gehören 55 Stämme in diese Gruppe. Unter ihnen wählte ich zu weiteren Untersuchungen 9 Stämme aus: II—10 (Tafel II, Abb. 6), II—21 (Tafel II, Abb. 7), III—14 (Tafel III, Abb. 1), III—18 (Tafel III, Abb. 2), IV—3, VI—7 (Tafel I, Abb. 2), VI—14 (Tafel III, Abb. 3), IX—7 (Tafel III, Abb. 4), XII—10 (Tafel IV, Abb. 1).

3. Gruppe: Die Pilze bilden aus Langsprossen bestehendes Sprossmycel auf festen Nährböden; in flüssigen Nährsubstraten kann man aber Langsprosse nur bei einzelnen Stämmen im Bodensatz finden. Die auf festen Nährböden wachsenden Langsprosse sind wurstförmig, von $3-4 \mu \times 20-30 \mu$ Grösse. Die Sprosse entstehen nur an den Enden der Zellen. Die aus dem Mycel herauswachsenden Zellen sind länglich, $3-4 \mu \times 6-10 \mu$ gross. In flüssigen Nährsubstraten finden sich grössere oder kleinere aus Kurzsprossen bestehende Zellverbände. Die Zellen sind in flüssigen Nährsubstraten inhaltsreich, elliptisch, von $5-8 \mu \times 7-13 \mu$ Grösse. Auf Würzeagar ist der Hefebelag hellgrau, dünn, mit glänzender oder matter, glatter oder (seltener) gefalteter Oberfläche, von trockener Konsistenz. Der Rand des alten Agarbelages ist mit Ausläufern versehen. Die Zeit, in der sich die Haut auf dextroshaltiger Würze bildet, ist verschieden: ein Teil der Stämme bildet die Haut schon in 24 Stunden, ein anderer Teil in 3—5 Tagen, während ein dritter Teil sie überhaupt nicht bildet. In Würzegelestinestichkultur wachsen 2 ausgewählte Stämme (IV—19, IX—9) fast nur im oberen Teil des Stichs in 1—2 cm Tiefe von der Oberfläche, denn im unteren Teile desselben ist das Wachstum kaum merklich. Aus dem oberen Teile des

Stiches wachsen lange Ästchen hervor. Im Laufe von 40 Tagen verflüssigen diese Pilzstämmen Gelatine nicht. Alle Stämme vergären energisch dextroshaltige Würze. In Magermilch bedingt diese Hefengruppe weder Gärung noch andere Veränderungen. In Vollmilchfederstrichkultur wachsen diese Hefen schlecht. Milchlipp zersetzt keine derselben. Von den isolierten Sprosspilzen gehören 45 Stämme in diese Gruppe. Zu ergänzenden Untersuchungen bestimmte ich 2 Stämme: IV—19 (Tafel I, Abb. 3) und IX—9 (Tafel I, Abb. 4).

II. *Torulopsis* (Berlese) Janke.

Die zu dieser Gattung gehörigen Hefen bilden sowohl auf festen, als auch auf flüssigen Nährsubstraten aus Kurzsprossen bestehende Zellverbände. Zur Gattung *Torulopsis* gehören 4 besondere Hefengruppen (Gruppen 4—7).

4. Gruppe: Die Hefezellen sind sowohl bei festen, als auch bei flüssigen Nährsubstraten kugelförmig, von 3—6 μ Durchmesser. In alten Kulturen kommen Riesenzellen vor von einer Grösse bis 10 μ . Die Zellen sind inhaltsarm; in ihnen findet man gewöhnlich 1—2 grosse Öltropfen. Die Hefe bildet unregelmässige, haufenförmige Zellverbände. Auf Würzeagar bildet der grössere Teil dieser Hefen einen glänzenden, dicken, sauerrahmartigen, ganzrandigen Belag, während der andere, kleinere Teil einen dünnen, matten Belag mit gezacktem Rande bildet. Auf dextroshaltiger Würze bilden die Hefen am Rande des Reagenzglases einen Ring, lassen die Flüssigkeit klar und bewirken keine Gärung. In Würzegelestickkultur wachsen 5 der weiterhin zu erwähnenden ausgewählten Stämme besser im oberen Teile des Kanals, als im unteren, aber auch im letzteren ist das Wachstum ein verhältnismässig kräftiges. Die Pilzkultur ist im Stichtkanal ohne Ästchen. In 40 Tagen verflüssigen diese Stämme Gelatine nicht. Diese Hefen wachsen sehr gut in Magermilch, lassen aber die Milch äusserlich unverändert. Nach längerer Zeit zeigt diese Milch eine gegen Lackmus schwach saure Reaktion, und es bildet sich auf der Oberfläche ein gelbgrüner Ring. In Vollmilchfederstrichkultur spaltet kein zu dieser Gruppe gehöriger Hefestamm Milchlipp. Von den isolierten Sprosspilzen gehören zu dieser Gruppe 44 Stämme. Unter ihnen bestimmte ich zu ergänzenden Untersuchungen 5 Stämme: IV—8, VI—8 (Tafel IV, Abb. 2), VII—3, XVIII—2, XXI—2.

5. Gruppe: Die inhaltsreichen Hefezellen sind sowohl auf festen als auch auf flüssigen Nährmedien elliptischer Form, von $3-5 \mu \times 5-10 \mu$ Grösse. Grosse Zellverbände bilden diese Hefen nicht. Der Hefebelag ist auf Würzeagar dünn, von trockner Konsistenz, mit glatter Oberfläche, entweder matt oder glänzend, ganzrandig, von grauer bis graulichweisser Farbe. Dextrosehaltige Würze bleibt klar, eine Haut oder ein Ring auf der Flüssigkeitsoberfläche entsteht nicht. In Würzegelestinestichkultur wachsen 2 dazu gewählte Stämme (III—12, VIII—8) sehr schlecht. Im oberen Teil des Kanals, in 1,0—1,5 cm Tiefe von der Oberfläche, ist die Kultur mit kurzen, kaum bemerklichen Ästchen versehen. In 40 Tagen verflüssigen diese Stämme Gelatine nicht. Die Hefen veranlassen keine Gärung in dextrosehaltiger Würze und Magermilch. In letzterer treten keinerlei sichtbare Veränderungen auf. Spaltung von Milchfett wird in Vollmilchfederstrichkultur auch nicht beobachtet. Von den isolierten Sprosspilzen gehören zu dieser Gruppe 37 Stämme. Für ergänzende Untersuchungen wurden 2 Stämme ausgewählt: III—12 und VIII—8 (Tafel IV, Abb. 3).

6. Gruppe: Die Hefezellen sind sowohl auf festen, als auf flüssigen Nährsubstraten elliptisch, von $5-6 \mu \times 6-8 \mu$ Grösse, oder kugelförmig, von $5-6 \mu$ Durchmesser, sehr inhaltsreich, mit mehreren kleinen Öltropfen. In flüssigen Nährmedien treten kleinere Sprossverbände auf. Der Hefebelag auf Würzeagar ist von mittlerer Stärke und weisser Farbe, ganzrandig, von trockner Konsistenz. Der grössere Teil der zu dieser Gruppe gehörigen Hefestämme bildet auf dextrosehaltiger Würze keine Haut, nur einzelne Stämme bilden eine solche nach längerem Stehen. In Würzegelestinestichkultur wachsen 2 ausgewählte Stämme (V—15, XII—9) besser im oberen Teil des Kanals als im unteren, aber auch hier ist das Wachstum ein kräftiges. Die Pilzkultur ist im Stichkanal ohne Ästchen. In 40 Tagen verflüssigen diese Stämme keine Gelatine. Die Hefen bewirken Gärung in dextrosehaltiger Würze und Magermilch. Magermilch lässt der grössere Teil der Hefestämme äusserlich unverändert, nur ein kleinerer Teil macht sie gelblicher und bringt sie zum Gerinnen. Die Reaktion der Milch ist nach 90 Tagen entweder neutral oder sauer; der Geschmack ist der gegorene. In Vollmilchfederstrichkultur spalten diese Hefen Milchfett nicht. Von den isolierten Sprosspilzen gehören zu dieser Gruppe 15 Stämme. Unter ihnen

entnahm ich für ergänzende Untersuchungen 2 Stämme: V—15 (Tafel IV, Abb. 4) und XII—9.

7. Gruppe: Rosahefe. Die Hefezellen sind sowohl auf festen, als auch auf flüssigen Nährmedien elliptischer Form, $4-6 \mu \times 5-7 \mu$ gross, sehr inhaltsreich, und treten meist einzeln auf. Der Hefebelag ist auf Würzeagar rosa gefärbt, von feuchtem Aussehen und breiartiger Konsistenz. Die Hautbildung auf der Flüssigkeitsoberfläche fehlt bei ihnen, wohl aber bilden manche Stämme auf der Oberfläche älterer flüssiger Kulturen einen Ring. In Würzegelestinestichkultur wachsen 2 ausgewählte Stämme (I—4, IV—23) im Kanal fast gar nicht. Die Pilzkultur ist im Kanal ohne Ästchen. Nach ca. 15 Tagen verflüssigen diese Stämme wenig Gelatine, die Verflüssigung erfolgt an der Oberfläche schalenförmig. Die Hefen bedingen nicht Gärung in dextrosehaltiger Würze und in Magermilch, geben aber letzterer eine stark gelbliche Färbung und verändern die Reaktion der Milch in eine alkalische. Manche Stämme lassen die Milch gallertartig gerinnen und machen ihren Geschmack zu einem widerlichen, seifigen. In Vollmilchfederstrichkultur zersetzen diese Hefen Milchfett nicht. Von den isolierten Sprosspilzen gehören zu dieser Gruppe 15 Stämme. Unter diesen verblieben für ergänzende Untersuchungen 2 Stämme: I—4 (Tafel IV, Abb. 5) und IV—23.

III. *Pseudomonilia* Geiger.

Die zu dieser Gattung gehörigen Pseudosaccharomyceten bilden in jungen Kulturen hauptsächlich ovale, elliptische oder kugelförmige Zellen, während man in älteren Kulturen oft langes, fadenförmiges, unseptiertes Mycel finden kann, das bei der Sprossung gewöhnlicher hefenförmiger Zellen entsteht. Zur Gattung *Pseudomonilia* gehören 2 besondere Hefengruppen (Gruppe 8—9).

8. Gruppe: Die hefenförmigen Zellen sind elliptisch oder wurstförmig-länglich, von $3-4 \mu \times 5-14 \mu$ Grösse. Aus manchen Zellen wächst ein langes, fadenähnliches, unseptiertes Mycel von $1,0-1,5 \mu$ Stärke hervor, an dessen Seiten bei einzelnen Stämmen infolge Sprossung eiförmige Zellen wachsen. Die hefenförmigen Zellen wachsen zusammen zu grossen Sprossverbänden. Auf Würzeagar bilden sie einen weissen, sauerrahmartigen Belag, mit oder ohne Ausläufer, mit glatter oder rauher Oberfläche. Auf Nährflüssigkeiten geben sie in einigen Wochen eine leicht zerfallende dicke Haut. In Würzegelestinestichkultur wachsen 2 ausgewählte

Stämme (II—14, XV—4) hauptsächlich im oberen Teil des Kanals in 1,5—2,0 cm Tiefe. Die Pilzkultur ist im oberen Teil des Kanals mit Ästchen versehen. Gelatine verflüssigen diese Stämme in 40 Tagen nicht. Einige Stämme rufen in dextrosehaltiger Würze Gärung hervor, andere nicht. In Magermilch unterbleibt die Gärung, die Reaktion der Milch wird nach ca. 70 Tagen alkalisch, manche Stämme koagulieren Milch gallertartig und verleihen ihr eine gelbe Färbung, der Geschmack der Milch wird widerlich, etwas seifig. In Vollmilchfederstrichkultur spalten manche Stämme schon in 3—4 Tagen kräftig Fett, während andere letzteres überhaupt nicht angreifen. Von den isolierten Sprosspilzen gehören zu dieser Gruppe 4 Stämme, unter denen zu den Ergänzungsuntersuchungen 2 Stämme, II—14 (Tafel I, Abb. 5 und Tafel V, Abb. 2) und XV—4 (Tafel I, Abb. 6), dienen.

9. Gruppe: Die hefenförmigen Zellen sind rund, von 4—5 μ Durchmesser, oval oder elliptisch, von 3—4 \times 5—7 μ Grösse, an der einen Seite mit einer kleinen, scharfen, schnabelartigen Schwellung ausgestattet. Die Zellen sind inhaltsarm und enthalten, besonders wenn sie auf festen Nährböden wachsen, einen oder mehrere grosse Öltropfen (siehe Tafel I, Abb. 7). Die Stärke des Mycels ist ungleich; auch bei ein und demselben Faden finden sich dickere und feinere Stellen (siehe Tafel V, Abb. 3); der Durchmesser des Mycels beträgt gewöhnlich 1—3 μ . Auf Würzeagar bildet sich ein dicker, gelber, ganzrandiger Belag, der entweder von trockener Konsistenz und an der Oberfläche etwas rauh, oder von feuchtem Aussehen und glänzend ist. Auf der Oberfläche von Flüssigkeiten erzeugen diese Pilze in einigen Wochen eine dicke, rauhe Haut. In Würzelatinestichkultur wachsen 2 gewählte Stämme (II—22, VIII—14) im Innern des Stichs recht dürftig. Im oberen Teil des Kanals bildet die Pilzkultur bis zur Tiefe von 1 cm einzelne, kurze, kaum bemerkbare Ästchen. In 40 Tagen verflüssigen diese Pilzstämme Gelatine oberflächlich in geringem Masse. Dextrosehaltige Würze und Magermilch werden nicht vergärt. Magermilch bekommt durch diese Hefen anfänglich eine saure Reaktion, die die Milch in einzelnen Fällen sogar zum Gerinnen bringt; später, in 4—10 Wochen, machen die Hefen die Milch alkalisch und verwandeln sie in eine Flüssigkeit von grünlicher Farbe und scharfem Käsegeschmack. Ein Teil dieser Hefen zersetzt in Vollmilchfederstrichkultur in ca. 7 Tagen Milchfett ganz kräftig, während der andere Teil auch in 90 Tagen die

Fettkügelchen unversehrt lässt. Von den isolierten Sprossspitzen gehören in diese Gruppe 9 Stämme. Unter ihnen behielt ich zu ergänzenden Untersuchungen 2 Stämme, II—22 (Tafel I, Abb. 7 und Tafel V, Abb. 3) und VIII—14 (Tafel I, Abb. 8).

IV. *Saccharomyces* Meyen.

Die zu dieser Gattung gehörigen Hefen bilden in den Hefezellen kugelförmige oder elliptische Sporen mit einfacher Hülle. Aus der Gattung *Saccharomyces* fanden sich in Butter 2 besondere Hefengruppen (Gruppen 10—11).

10. Gruppe: Die Hefen bilden in Vollmilchfederstrichkultur oder auf Würzeagar runde Sporen von $2\ \mu$ oder elliptische von $2 \times 3\ \mu$ Grösse. In der Zellenform und in den kulturellen und physiologischen Merkmalen ähneln sie sehr den in der 6. Gruppe beschriebenen Hefen; sie unterscheiden sich von letzteren nur dadurch, dass bei einem Teil der Hefestämme der in Rede stehenden Gruppe sich viele Mutterzellen in Milchkultur nach der Sprossung von einer Tochterzelle nicht vollständig trennen, sondern mit ihr durch einen breiten Hals verbunden bleiben (siehe Tafel II, Abb. 1); auf Würzeagar und in Würze konnte ich diese Erscheinung nicht beobachten. Die verbunden gebliebenen Mutter- und Tochterzellen machen bei vorläufiger Betrachtung den Eindruck, als ob es sich um kopulierende Zellen handle; bei längerer genauer Betrachtung überzeugt man sich aber, dass derartige Verbände durch Sprossung entstehen und die Kopulation bei diesen Stämmen nicht stattfindet. Unter den Zwillingzellen enthalten die meisten Sporen. Sporen enthalten auch die anderen Zellen, aber verhältnismässig seltener. Die Hefen bewirken Gärung in Magermilch und, mit einer Ausnahme (Stamm IV—13), auch in dextroshaltiger Würze. Von den isolierten Sprossspitzen gehören in diese Gruppe 14 Stämme. Unter ihnen wurden zu ergänzenden Untersuchungen die Stämme II—1 (Tafel II, Abb. 1) und IV—13 bestimmt.

11. Gruppe: Diese Hefen bilden auf Würzeagar ausser aus Kurzsprossen bestehenden Sprossverbänden noch Sprossmycel aus Langsprossen. In flüssigen Nährmedien fehlt gewöhnlich das aus Langsprossen bestehende Sprossmycel. Die Langsprosse sind wurstförmig, $3\text{—}4\ \mu \times 20\text{—}30\ \mu$ gross, die Kurzsporse elliptisch, $4\text{—}7\ \mu \times 6\text{—}8\ \mu$ gross. Die Zellen sind inhaltsreich und enthalten kleine Öltropfen. Die im Innern der Hefezellen vorhan-

denen Sporen sind von elliptischer Form und $2,5-3,5 \mu \times 3,5-4,0 \mu$ gross; in einer Zelle bilden sich 1—4 Sporen. Die in Langsprossen befindlichen Sporen sind in Reihen, die in Kurzsprossen befindlichen in Haufen geordnet. Der Hefebelag auf Würzeagar ist hellgrau, von mittlerer Dicke, glänzend, von trockner Konsistenz. In älteren Kulturen ist der Belagrand mit Ausläufern versehen. Auf der Oberfläche von Flüssigkeiten entsteht keine Haut. In Würze-gelatinestichkultur wächst 1 gewählter Stamm (XIII—2) gut, aber besser im oberen Teil des Kanals als im unteren. Die Pilzkultur ist im Stichkanal fast bis zum Boden dicht mit Ästchen bedeckt. In 40 Tagen verflüssigen diese Stämme Gelatine nicht. Sie bewirken energische Gärung in dextrosehaltiger Würze und Magermilch; letztere verändern sie nicht sichtbar, verleihen ihr aber eine schwach saure Reaktion und gegorenen Geschmack. In Vollmilchfederstrichkultur wird Milchfett nicht zersetzt. Von den isolierten Sprosspilzen gehören zu dieser Gruppe 3 Stämme, von denen zu ergänzenden Untersuchungen Stamm XIII—2 (Tafel II, Abb. 2 und Tafel V, Abb. 1) nachgelassen wurde.

V. *Sporobolomyces* Kluyster und van Niel.

Die Diagnose der Gattung *Sporobolomyces* stellten auf 1925 Kluyster und van Niel¹⁰⁾. In diese Gattung gehören rote oder lachsfarbene, hefenähnliche, durch Sprossung sich vermehrende Pilze. Ein Teil der Pilzzellen bildet auf gutentwickelten Sterigmen sich in die Luft erhebende, nierenförmige Sporen, die nach dem Reifwerden mittels eines besonderen Mechanismus von der Mutterzelle abgeworfen werden. Wenn man sowohl auf den Boden als auch auf den Deckel einer Petrischale Nähragar bringt, die obere Hälfte der Schale mit *Sporobolomyces*-Pilzen impft und die Schale dann so stehen lässt, so entsteht, nachdem der Pilzbelag auf der oberen Hälfte der Schale zur Erscheinung gekommen ist, ein solcher auch auf der unteren Hälfte derselben, der in der Form ein Spiegelbild des oberen Belages ist. Nach Kluysters und van Niels Meinung gehört die Gattung *Sporobolomyces* zu den Basidiomyceten. In die Gattung *Sporobolomyces* gehört von den isolierten Sprosspilzen 1 Stamm.

Ein weiterer Stamm von *Sporobolomyces* wurde um dieselbe Zeit im Bakteriologischen Institut der Preussischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft aus einer von einer schles-

wig-holsteinischen Molkerei erhaltenen Butterprobe durch die Instituts-Hilfskraft Frl. Salmon isoliert.

Der Stamm des *Sporobolomyces*-Pilzes ist unten in der 12. Gruppe beschrieben.

12. Gruppe: Die Pilzzellen sind sowohl auf festen als auch auf flüssigen Nährsubstraten elliptisch, hefenförmig. An dem einen Ende vieler Zellen findet sich eine kleine schnabelartige scharfe Schwellung. Die älteren Pilzzellen enthalten gewöhnlich 2 grosse Öltropfen. An der Seite einzelner Zellen wächst ein Stielchen heraus, dessen Länge ca. $\frac{1}{2}$ der Zellenlänge beträgt; am Ende desselben bildet sich auf dem Wege der Sprossung eine Spore (siehe Tafel II, Abb. 3). Viele Zellen mit derartigen Sporen findet man in jungen Agarkulturen. Die Grösse der Zellen beträgt $4-5 \mu \times 8-10 \mu$ und die Grösse der ausgewachsenen Sporen ca. $3 \mu \times 6 \mu$. Der Belag von Würzeagar ist ohne Ausläufer, von roter Farbe, bei jungen Kulturen mit glatter Oberfläche, später gefaltet. Bei umgekehrter Petrischale bildet dieser Pilz nach einigen Tagen auf dem auf die untere Hälfte gebrachten Agar einen Pilzbelag, der das Spiegelbild des oberen ist. Auf der Oberfläche der flüssigen Kulturen bildet der Pilz nach längerer Zeit eine dicke rote Haut. In Würzegelestinestichkultur erfolgt im Innern des Stichkanals fast gar kein Wachstum. Die Pilzkultur ist im Stichkanal ohne Ästchen. Nach 15 Tagen wird Gelatine an der Oberfläche in geringem Masse verflüssigt; die Verflüssigung geht schalenförmig vor sich. Gärung wird weder in dextrosehaltiger Würze noch in Magermilch beobachtet. Magermilch wird im Laufe von ca. 10 Tagen kräftig gelb; nach 30 Tagen zersetzt der Pilz die Milch zu einer trüben Flüssigkeit, ihre Reaktion ist alkalisch und der Geschmack seifenartig widerlich. In Vollmilchfederstrichkultur zersetzt der Pilz kräftig Milchlaktose. Der *Sporobolomyces*-Stamm X—10 (Tafel II, Abb. 3) diente zu ergänzenden Untersuchungen.

VI. *Oospora* Wallr.

Die in der Butter gefundenen zur Gattung *Oospora* gehörigen Sprosspilze vermehren sich hauptsächlich auf dem Wege der Sprossung, weswegen sie zu dem Typus der „Gärungsmonilia“ zu rechnen sind. Da diese Pilze aber keine Gärung veranlassen (Verursachung von alkoholischer Gärung wird von Janke

für eine typische Eigenschaft der „Gärungsmonilia“ gehalten), so sind sie eigentlich nicht typische „Gärungsmonilien“. Ausser Sprossverbänden bilden diese Pilze verhältnismässig häufig, immer aber in älteren Kulturen, typisches septiertes Mycel. Das septierte Mycel kann aus hefenförmigen Zellen entstehen und umgekehrt. Zur Gattung *Oospora* gehört von den aus Butter isolierten Sprosspilzen eine Sprosspilzgruppe (Gruppe 13).

13. Gruppe: Die hefenförmigen Pilzzellen sind elliptisch von $4-5\mu \times 6-7\mu$ Grösse, eiförmig oder länglich, von $4-5\mu \times 11-15\mu$ Grösse, und wachsen zusammen zu kleineren oder grösseren Sprossverbänden. Der Myceldurchmesser beträgt $2-4\mu$. Auf Würzeagar bilden die Pilzzellen einen dünnen hellgrauen Belag; der Rand des letzteren zeigt gewöhnlich keine Ausläufer; Ausläufer entstehen nur in einzelnen Fällen. Die Oberfläche des Agarbelags ist bei einigen Stämmen glatt, bei anderen gefaltet und sammetartig, was durch das herauswachsende Mycel bedingt wird. In Würzegelatinestichkultur wachsen 2 ausgewählte Stämme (II—7, XI—15) fast nur auf der Oberfläche der Gelatine, im Kanal aber merklich nur in 1—2 cm Tiefe. Die ausgewählten Stämme verflüssigen Gelatine energisch; die Verflüssigung beginnt an der Oberfläche und geht gleichmässig in die Tiefe. Auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatine und anderer flüssiger Nährsubstrate entsteht frühzeitig ein dicker hautartiger Belag. In Magermilch und dextrosehaltiger Würze erfolgt keine Gärung. Die Pilze zersetzen das Kasein der Milch kräftig, indem sie die Milch in einigen Tagen in eine grünliche Flüssigkeit alkalischer Reaktion verwandeln. In Vollmilchfederstrichkultur zersetzen sie Milchfett energisch, indem sie die Fettkügelchen in einigen Tagen vollständig deformieren. Von den isolierten Sprosspilzen gehören in diese Gruppe 3 Stämme, von denen zu ergänzenden Untersuchungen 2 Stämme, II—7 (Tafel II, Abb. 4 und Tafel VI, Abb. 1) und XI—15 (Tafel II, Abb. 5), dienen.

In den von mir untersuchten Butterproben fanden sich am häufigsten zu den Gattungen *Mycotorula* und *Torulopsis* gehörige Sprosspilze, und unter diesen besonders die in der 1. und 2. Gruppe beschriebenen *Mycotorula*-Hefen, die in der 4. Gruppe beschriebenen kugelförmigen und die in der 5. Gruppe beschriebenen elliptischen *Torulopsis*-Hefen. Verhältnismässig häufig fand ich auch die in der 3., 6., 7. und 10. Gruppe beschriebenen Hefen. Selte-

nere Sprosspilze waren diejenigen der 8. und 9. Gruppe aus der Gattung *Pseudomonilia*, der 11. Gruppe aus der Gattung *Saccharomyces*, der 13. Gruppe aus der Gattung *Oospora* und der 12. Gruppe aus der Gattung *Sporobolomyces*.

Was die relative Häufigkeit der einzelnen Pilzgruppen anbetrifft, so war sie in der Butter Schleswig-Holsteins und in derjenigen Estlands die gleiche, nur mit dem Unterschiede, dass Pilze der 11. Gruppe (aus der Gattung *Saccharomyces*) sich überhaupt nicht in schleswig-holsteinischer Butter und Pilze der 12. Gruppe (die Gattung *Sporobolomyces*) überhaupt nicht in estnischer fanden.

Will man die von mir in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Sprosspilze vergleichen mit den von anderen früher beschriebenen aus der Butter isolierten Sprosspilzen, so ist es ziemlich schwer zu sagen, ob es sich in der vorliegenden Arbeit um dieselben Pilzgruppen handelt. Auch in früher erschienenen Arbeiten ist die Gruppierung der Pilze hauptsächlich nach der Form der Zelle, nach kulturellen und physiologischen Merkmalen erfolgt; dabei ist es aber vielfach offen gelassen worden zu welcher Gattung eine Pilzgruppe gehört, oder die Bestimmung der Pilzgattungen ist nach abweichenden Systemen ausgeführt worden. Da die Beschreibung der Pilze immerhin auf den gleichen Unterlagen basiert, so ist es trotzdem möglich, die Gruppen der Pilze untereinander zu vergleichen. Aus dem Vergleich ergibt sich, dass die in der Butter Schleswig-Holsteins und Estlands aufgetretenen wichtigeren Sprosspilzgruppen morphologisch ähnlich sind den in der Butter anderer Länder aufgetretenen wichtigeren Sprosspilzgruppen. Z. B. lässt sich die in der oben referierten Arbeit von Sayer, Rahn und Farrand²¹⁾ beschriebene kleine unregelmässige Hefe im allgemeinen zusammenstellen mit der in meiner Arbeit beschriebenen 1. Gruppe und die runde Hefe mit der 4. Gruppe, die von Dombrowski³⁾ beschriebenen *Torula lactis* δ und ϵ wiederum mit meiner 4. Gruppe und *Mycoderma lactis* *a* mit meiner 3. Gruppe; Orla-Jensens²⁰⁾ 1. Gruppe fällt zusammen mit meiner 6., 10. und 11. Gruppe, seine 2. Gruppe mit meiner 4. und 5. Gruppe, seine 3. Gruppe mit meiner 1. und 2. Gruppe und seine 4. Gruppe mit meiner 8., 9. und 13. Gruppe. Sandelins²⁸⁾ Hefengruppe *h* stimmt augenscheinlich überein mit meiner 6. Gruppe, seine Gruppe *b* mit meiner 4., seine Gruppen *d*, *k*, *i* mit meiner 5. und seine Gruppen *a*, *c*, *e*, *f*, *j*, *l*, *m* mit meiner

1. und 2. Gruppe. Orla-Jensen²⁰⁾ zufolge treten in der Butter häufiger auf seine 2. und 3. Hefengruppe, nach mir, wie früher erwähnt, die 1., 2., 4. und 5. Gruppe der Sprosspilze, welche Pilze, wie ebenfalls schon angeführt, ähnlich sind den Pilzen der 2. und 3. Gruppe Orla-Jensens.

Als neue, bisher in der Butter nicht näher beschriebene Sprosspilze wären anzusehen von den in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Pilzen die *Pseudomonilia*-Hefe, beschrieben in der 8. und 9. Gruppe, eine *Saccharomyces*-Hefengruppe, beschrieben in der 11. Gruppe, und der *Sporobolomyces*-Pilz, beschrieben in der 12. Gruppe.

Physiologische Eigenschaften ausgewählter Sprosspilzstämme nach vorbereitenden und ergänzenden Versuchen.

Zusammenfassung der physiologischen Eigenschaften nach den Vorversuchen. Bei den Vorversuchen mit den gewählten Sprosspilzstämmen ergaben sich die in Tabelle 12 zusammengefassten physiologischen Eigenschaften. Aus der Zusammenfassung lässt sich ersehen, dass viele Sprosspilzstämme Milchfett, Kasein und Milchzucker stark zersetzen. Man kann vermuten, dass diese Pilzstämme Butterschädlinge sind. Hinsichtlich der Butterschädigung sind daher verdächtig die Pilzgruppen 2, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13.

Physiologische Eigenschaften der Sprosspilze auf Grund der ergänzenden Versuche. Ich unterzog dabei der Untersuchung folgende physiologische Eigenschaften der Sprosspilze: 1) das Gärvermögen der Pilze in Zuckerlösungen, 2) den Einfluss der Pilze auf den Säuregrad der Milch, 3) den Einfluss der Kochsalzkonzentration auf das Wachstum der Sprosspilze, 4) den Einfluss der Reaktion der Nährsubstanz auf das Wachstum der Sprosspilze und 5) den Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Sprosspilze. Ich beabsichtigte mit diesen Versuchen: 1) zu charakterisieren die ausgewählten Sprosspilzstämme, 2) klarzustellen den Einfluss verschiedener bei der Butteraufbewahrung wesentlicher Faktoren, wie der Kochsalzkonzentration, der Reaktion und der Temperatur, auf die Entwicklung der Sprosspilze.

TABELLE 12.

Zusammenfassung der physiologischen Eigenschaften der ausgewählten Sprosspilzstämme auf Grund von Vorversuchen.

Stämme	Gattungen	Gruppen	Fetzer- setzung	Kaseinzer- setzung	Gärung in		Gelatine- verflüssi- gung
					Milch	dextrose- haltiger Würze	
IV—2	<i>Mycotorula</i>	1	—	+	—	—	+
VIII—4	"	1	+	+	—	—	+
II—10	"	2	++	?	—	—	—
II—21	"	2	++	+	—	—	—
XII—10	"	2	?	+	—	—	+
III—14	"	2	—	+	—	—	—
III—18	"	2	?	+	—	—	—
VI—7	"	2	+	+	—	—	—
VI—14	"	2	++	+	—	—	—
IV—3	"	2	++	+	—	—	—
IX—7	"	2	++	+	—	—	—
IV—19	"	3	+	—	—	+++	—
IX—9	"	3	—	—	—	+++	—
VI—8	<i>Torulopsis</i>	4	—	—	—	—	—
IV—8	"	4	—	—	—	—	—
VII—3	"	4	—	—	—	—	—
XVIII—2	"	4	—	?	—	—	—
XXI—2	"	4	—	?	—	—	—
VIII—8	"	5	—	—	—	—	—
III—12	"	5	—	—	—	—	—
V—15	"	6	—	—	+++	+++	—
XII—9	"	6	—	—	+++	+++	—
I—4	"	7	?	+	—	++	++
IV—23	"	7	—	+	—	—	++
II—14	<i>Pseudomonilia</i>	8	—	?	—	—	—
XV—4	"	8	++	?	—	—	—
II—22	"	9	+	++	—	—	+
VIII—14	"	9	+	++	—	—	+
II—1	<i>Saccharomyces</i>	10	—	—	+++	++	—
IV—13	"	10	—	—	++	—	—
XIII—2	"	11	—	—	+++	+++	—
X—10	<i>Sporobolomyces</i>	12	++	++	—	—	++
II—7	<i>Oospora</i>	13	+++	+++	—	—	+++
XI—15	"	13	+++	+++	—	—	+++

Bemerkung. In der Tabelle bedeutet: — zersetzt nicht, vergärt nicht; + zersetzt oder vergärt, aber schwach; ++ zersetzt oder vergärt stark; +++ zersetzt oder vergärt sehr stark.

Eigenschaften der Sprosspilze bezüglich der Vergärung von Zucker. Die Fähigkeit der Sprosspilze Zucker zu vergären prüfte ich im Lindnerschen Kleingärversuch. Zu den Gärversuchen dienten Dextrose, Galactose, Lactose, Saccharose, Maltose und bei einigen Stämmen auch Laevulose. Die Gärgläser hielt ich während der Versuchszeit, 10 Tage, bei Zimmertemperatur. Die Resultate der Gärversuche

TABELLE 13.

Vermögen der Sprosspilzstämmen Zucker zu vergären.

Stämme	Gattungen	Gruppen	Dextrose	Galactose	Laevulose	Lactose	Saccharose	Maltose	Bemerkungen
VIII—4	<i>Mycotorula</i>	1	+	—	—	—	+	—	} Langsame Gärung
IV—2	"	1	+	—	—	—	+	—	
II—10	"	2	?	—	—	—	—	—	
H—21	"	2	?	?	—	—	—	?	
XII—10	"	2	?	?	—	—	—	—	
III—14	"	2	+	+	—	—	—	—	
III—18	"	2	+	—	—	—	—	—	
VI—7	"	2	+	—	—	—	—	—	
VI—14	"	2	?	—	—	—	—	—	
IV—3	"	2	?	—	—	—	—	—	
IX—7	"	2	—	—	—	—	—	—	
IV—19	"	3	+	—	—	—	—	—	
IX—9	"	3	+	—	—	—	—	—	
VI—8	<i>Torulopsis</i>	4	—	—	?	—	?	—	
IV—8	"	4	—	—	?	—	?	—	
VII—3	"	4	—	—	—	—	—	—	
XXIII—2	"	4	—	—	?	—	?	—	
XXI—2	"	4	—	—	—	—	—	—	
VIII—8	"	5	?	—	—	—	—	—	
III—12	"	5	?	—	—	—	—	—	
V—15	"	6	+	+	—	+	+	—	
XII—9	"	6	+	+	—	+	+	—	
I—4	"	7	—	—	—	—	—	—	
IV—23	"	7	—	—	—	—	—	—	
II—14	<i>Pseudomonilia</i>	8	+	+	—	—	—	—	
XV—4	"	8	—	—	—	—	—	—	
II—22	"	9	—	—	—	—	—	—	
VIII—14	"	9	—	—	—	—	—	—	
II—1	<i>Saccharomyces</i>	10	+	+	—	+	+	—	
IV—13	"	10	—	+	—	+	—	—	} Langsame Gärung
XIII—2	"	11	+	+	—	+	+	—	
X—10	<i>Sporobolomyces</i>	12	—	—	—	—	—	—	
II—7	<i>Oospora</i>	13	—	—	—	—	—	—	
XI—15	"	13	—	—	—	—	—	—	

sind in der Tabelle 13 dargestellt. In der Tabelle sind mit + bezeichnet die Fälle, in denen eine Gärung sicher vor sich ging, und mit ? diejenigen, bei denen unter dem Glase nur ein Gasbläschen von 1—3 mm zu beobachten war. Dass es sich auch in den mit ? bezeichneten Fällen unzweifelhaft um eine schwache Zuckervergärung und nicht um eine zufällige Täuschung handelt, z. B. durch Glykogenzersetzung, ergibt sich daraus, dass bei Wiederholung der Versuche mit ein und demselben Hefestamm, das Gasbläschen bei den mit ? notierten Zuckerlösungen stets und bei den mit — notierten Zuckerlösungen niemals entstand.

Als bedeutsamere Resultate der Gärversuche lassen sich folgende anführen:

1) Die in der Tabelle 13 verzeichneten Sprosspilzstämme vergären Maltose nicht, mit Ausnahme eines mit ? vermerkten Falles. Augenscheinlich ist die Vergärung der Maltose den in Butter und Milch auftretenden Sprosspilzen nicht speziell eigen, denn auch keiner der Hefepilze, die Dombrowski³⁾ aus Butter, Milch und anderen Milchprodukten, oder die Sandelin²⁸⁾ aus Butter und die Trüper³⁶⁾ aus Milch isolierte, vergäerte Maltose; nur Sayer, Rahn und Farrand³¹⁾ fanden in der im Kühlhause gestandenen Butter unter anderen auch Maltose vergärende Hefen; auch nach Orland-Jensen¹⁹⁾ tritt in Butter häufig eine Maltose vergärende *Mycoderma*-Art auf. Man kann daher schliessen, dass die in der Gärungsindustrie vorkommenden Hefen, besonders die Kulturhefen, in der Butter in grösseren Mengen nicht auftreten.

2) Nicht alle Sprosspilze, welche Disaccharide vergären, vergären beide Komponenten der Disaccharide in reiner Form. Im vorliegenden Falle vergärt die *Saccharomyces*-Hefe IV—13 wohl Lactose und eine ihrer Komponenten: Galactose, aber nicht Dextrose. Die *Torulopsis*-Hefen VI—8, IV—8 und XXI—2 vergären, wenn auch kaum merklich, Saccharose und Laevulose, vergären aber, ebenso wie IV—13, keine Dextrose. Dass der Stamm IV—13 die Eigenschaft besitzt Lactose zu vergären und Dextrose nicht zu vergären, bemerkte ich schon beim Vorversuch, denn dieser Stamm vergäerte wohl Magermilch, rief aber in dextrosehaltiger Würze nicht die geringste Gasausscheidung hervor. Dass Hefen nur eine Komponente der Disaccharide vergären

und Dextrosevergärung nicht veranlassen, ist eine verhältnismässig seltene, aber auch schon früher bekannte Erscheinung; so z. B. fand Mazé¹⁸⁾, dass von 11 aus Weichkäsen isolierten Hefenstämmen, die Lactose vergärten, 1 Stamm Lactose und Galactose vergärte, aber in dem Falle, dass die Lösung ausser Dextrose keinen anderen Zucker enthielt, die Dextrose unvergärt liess.

Einfluss der Sprosspilze auf den Säuregrad der Milch.

Sandelin²⁹⁾ verfolgte den Einfluss von 14 aus Butter isolierten Hefestämmen auf den Säuregrad der Milch. Von diesen Hefestämmen erhöhten 2 Stämme und erniedrigten 12 Stämme den Säuregrad der Milch.

Um die Frage, welchen Einfluss die von mir isolierten Sprosspilze auf den Säuregrad der Milch ausüben, zu lösen, liess ich 100 ccm mit Sprosspilzen infizierter Milch in Kolben bei einer Temperatur von 22° C stehen und titrierte darauf die Milch am 3., 10., 20. und 30. Tage mit n/10 NaOH-Lösung unter Benutzung des Indikators Phenolphthalein. Wieviel von der Lauge zum Neutralisieren der 100 ccm Milch erforderlich war, ist in der Tabelle 14 angegeben. Wie aus der Tabelle zu ersehen, ist der Einfluss der morphologisch in eine und dieselbe Gruppe gehörigen Pilze auf die Milch verhältnismässig gleichartig. Unter Berücksichtigung der verbrauchten Laugenmenge und der Änderungen des Aussehens der Milch lässt sich behaupten, dass:

1) die 3. Pilzgruppe der Gattung *Mycotorula*, die 5. Pilzgruppe der Gattung *Torulopsis* und 1 Pilzstamm der 8. Gruppe der Gattung *Pseudomonilia* die Milch unverändert lassen;

2) die 1. und 2. Pilzgruppe der Gattung *Mycotorula*, die 7. Gruppe der Gattung *Torulopsis*, 1 Pilzstamm der 8. Gruppe der Gattung *Pseudomonilia*, 1 Pilzstamm der Gattung *Sporobolomyces* und die 13. Gruppe der Gattung *Oospora* den Säuregrad der Milch erniedrigen oder die Milch alkalisch machen;

3) die 4. Pilzgruppe der Gattung *Torulopsis* (mit einer Ausnahme), die 6. Pilzgruppe der Gattung *Torulopsis*, die 9. Pilzgruppe der Gattung *Pseudomonilia* und die 10. und 11. Pilzgruppe der Gattung *Saccharomyces* den Säuregrad der Milch erhöhen; hierbei ist hinzuzufügen, dass die Pilze der 9. Pilzgruppe der Gattung *Pseudomonilia*, wie die Vorversuche zeigten, der Milch im Laufe längerer Zeit eine alkalische Reaktion verleihen;

4) alle Milchzucker vergärenden Hefestämmen sowohl der Gattung *Torulopsis* als auch der Gattung *Saccharomyces* den Säure-

TABELLE 14.

Einfluss der Sprosspilzstämme auf den Säuregrad der Milch und auf ihr Aussehen.

Stämme	Gattungen	Gruppen	Zum Neutralisieren von 100 ccm Milch gebraucht ccm n/10 NaOH-Lö- sung am				Bemerkungen
			3. Tage	10. Tage	20. Tage	30. Tage	
VIII—4	<i>Mycotorula</i>	1	20	19	12	3	Am 20. Tage: nach der Farbe der Milch zu urteilen — Zersetzungsbeginn; am 30. Tage: Farbe graulich.
IV—2	"	1	20	15	6	4	desgl.
II—10	"	2	20	18	14	9	Am 30. Tage: Milch äusserlich unverändert.
II—21	"	2	20	20	14	9	Am 30. Tage: Milch dickgelegt, Molke wenig abgetrennt.
XII—10	"	2	20	18	13	9	Am 20. Tage: Milch am Kolbenboden dick; am 30. Tage: von gelblicher Farbe, enthält Kaseinstückchen.
III—14	"	2	20	15	5	2	Am 30. Tage: Milch von graulicher Farbe.
VI—7	"	2	20	19	16	10	Am 30. Tage: Milch äusserlich unverändert.
VI—14	"	2	20	19	13	8	Am 30. Tage: Milch graulich.
IV—3	"	2	20	15	11	8	desgl.
IX—7	"	2	20	20	16	9	desgl.
IV—19	"	3	20	19	18	18	Am 30. Tage: Milch äusserlich unverändert.
IX—9	"	3	20	18	18	18	desgl.
VI—8	<i>Torulopsis</i>	4	20	20	20	21,5	desgl.
IV—8	"	4	20	23	28	32	Am 30. Tage: an d. Oberfläche grünlicher Ring, sonst unverändert.
VII—3	"	4	20	23	25	25	Am 30. Tage: Milch äusserlich unverändert.
XVIII—2	"	4	20	20	20	18	desgl.
XXI—2	"	4	20	24	24	25	desgl.
VIII—8	"	5	20	20	20	20	desgl.
III—12	"	5	20	19	18	18	desgl.
V—15	"	6	25	35	37	44	Am 10. Tage: Milch beim Kochen dickgelegt; am 30. T.: Farbe der Milch unverändert.
XII—9	"	6	24	34	34	34	desgl.

TABELLE 14 (Fortsetzung).

Stämme	Gattungen	Gruppen	Zum Neutralisieren von 100 ccm Milch gebraucht ccm n/10 NaOH-Lö- sung am				Bemerkungen
			3. Tage	10. Tage	20. Tage	30. Tage	
I—4	<i>Torulopsis</i>	7	20	20	15	18	Am 20. T.: Milch gelblich; am 30. T.: Milch in trübe Flüssigkeit verwandelt.
IV—23	"	7	20	13	5	alka- lisch	desgl.
II—14	<i>Pseudomo- nilia</i>	8	20	13	3	1,5	Am 30. T.: Milch gelblich.
XV—4	"	8	20	20	20	20	Am 30. T.: Milch äus- serlich unverändert.
II—22	"	9	20	20	27	52	Am 30. T.: Milch dick- gelegt.
VIII—14	"	9	20	20	28	35	Am 20. T.: Milch gelblich u. dickgelegt; am 30. T.: Milch in trübe Flüs- sigkeit verwandelt.
II—1	<i>Saccharo- myces</i>	10	30	39	40	40	Am 30. T.: Milch beim Kochen dickgelegt, Far- be unverändert.
XIII—2	"	11	21	35	39	56	Am 20. u. 30. T.: Milch beim Kochen dickgelegt, Farbe unverändert.
X—10	<i>Sporobolo- myces</i>	12	20	18	15	7	Am 30. T.: Milch voll- ständig zersetzt, zäh- flüssig.
II—7	<i>Oospora</i>	13	22	23	alka- lisch	alka- lisch	Am 5. T.: Milch völlig zersetzt.
XI—15	"	13	20	22	7	alka- lisch	Am 10. T.: Milch völlig zersetzt.
	Kontrolle		20	20	20	20	Am 30. T.: Milch unver- ändert.

grad der Milch erhöhen. Bei den Milchzucker vergärenden Hefen scheint die Fähigkeit den Säuregrad der Milch zu erhöhen allgemein vorhanden zu sein, denn auch die von Trüper³⁶⁾ aus Milch isolierten 19 Milchzucker vergärenden Hefestämme, ebenso wie auch 1 von Sandelin²⁸⁾ aus Butter isolierter Hefestamm, der Milchzucker vergärte, erhöhten den Säuregrad der Milch.

Einfluss des Kochsalzgehalts des Nähragars und der Butter auf das Wachstum der Sprosspilze in den entsprechenden Medien. Der Einfluss des Kochsalzes als eines Butter konservierenden Stoffes auf die Butterschädiger, darunter auch die Hefen, ist wiederholt untersucht worden.

Fettick⁴⁾ fand, dass sich die Hefen noch in 6% Kochsalz enthaltender Butter vermehren können. Die von Rahn²⁵⁾ und seinen Mitarbeitern aus Butter isolierte kleine unregelmässige Hefe wuchs noch auf 24% NaCl enthaltendem Agar. Brown¹⁾ fand, dass von 31 aus Butter isolierten Hefestämmen 15 noch auf einer Nährsubstanz, die 12% NaCl enthielt, wachsen konnten. Dombrowski³⁾ prüfte das Vergärungsvermögen von 3 aus Milch und Milchprodukten isolierten, Milchzucker vergärenden Hefestämmen in einer NaCl enthaltenden Zuckerlösung; kein einziger dieser Hefestämmen vergärte 15% NaCl enthaltende Zuckerlösung. Sandelin²⁸⁾ isolierte aus Butter 24 Hefestämmen: diese Hefen wuchsen in einer 10% NaCl enthaltenden Labmolke, während sie in einer 20% NaCl enthaltenden Labmolke sich nicht mehr vermehrten. Macy¹⁵⁾ bestimmte den Keimgehalt von Schimmelpilzen und Hefen in 2700 Butterproben. Aus den Untersuchungen ging hervor, dass der Hefekeimgehalt der Butter von dem NaCl-Gehalt abhängig war: einem höheren NaCl-Gehalt entsprach durchschnittlich ein niedrigerer Hefekeimgehalt und umgekehrt. Trüper³⁶⁾ untersuchte den Einfluss von Kochsalz auf 19 aus Milch isolierte, Milchzucker vergärende Hefestämmen: war zum Nährmedium 10% NaCl zugesetzt, so vergärten die Hefen den Zucker nicht mehr gut; ein Nährmedium mit 15% NaCl verhinderte die Gärung vollständig. Wojtkiewicz⁴¹⁾ und dessen Mitarbeiter fanden, dass auf Butter gestreutes Salz pro Gramm bis 10.000 Hefekeime enthielt. Sie nehmen an, dass Hefen in nassem Salz wachsen können, wenn in dasselbe aus der Butter Nährstoffe eingedrungen sind. Macy¹⁶⁾ untersuchte den Gehalt an Hefen von 483 gesalzenen und 123 ungesalzenen Butterproben vor der Aufbewahrung im Lager und nachher. Der Hefekeimgehalt der gesalzenen Butter erhöhte sich bei 32,3% und verminderte sich bei 62,3% der Proben, derjenige der süssen Butter bei 71,4% resp. 25,2% der Proben.

Aus den Angaben der Literatur geht hervor, dass das Kochsalz auf die Zunahme der Hefenkeimzahl hindernd wirkt. Welche Konzentration von Kochsalz erforderlich ist, um das Wachstum von Hefen in Nährmedien und in der Butter zu verhindern, darüber gehen die Resultate der Arbeiten auseinander. In einigen Arbeiten ist diese Frage übrigens nicht näher untersucht worden.

Um den Einfluss des Kochsalzes auf die von mir isolierten Sprosspilze festzustellen, verglich ich das Wachstum der Pilze auf 0%, 3%, 6%, 12% und 20% NaCl enthaltendem Würzeagar. Die Sprosspilze züchtete ich in Petrischalen. Zu diesem Zweck goss ich in jede Schale eine gleichgrosse Menge Agar und impfte 3 Sprosspilzkolonien auf die erstarrte Agarfläche. Die Platten hielt ich bei einer Temperatur von 22° C 10 Tage lang, nach deren Ablauf ich den Durchmesser der Kolonien mass. Der Durchmesser der auf Agar gewachsenen Sprosspilzkolonien ist in Tabelle 15 angegeben. Die in der Tabelle 15

TABELLE 15.

Einfluss des Kochsalzes auf das Wachstum der Sprosspilze auf Agar.

Stämme	Gattungen	Gruppen	NaCl-Gehalt des Agars in % und Durchmesser der Kolonien in mm				
			0%	3%	6%	12%	20%
			mm	mm	mm	mm	mm
VIII-4	<i>Mycotorula</i>	1	5-6	5-6	5	1	—
IV-2	"	1	5-6	5-6	5-6	1	—
II-10	"	2	6	5	4	—	—
II-21	"	2	10	8	6	4	—
XII-10	"	2	4	4	3-4	2-3	—
III-14	"	2	5-6	5-6	3-4	1	—
III-18	"	2	5-6	5-6	4	—	—
VI-7	"	2	6	5-6	3-4	1-2	—
VI-14	"	2	6	5-6	4	1-2	1
IV-3	"	2	6	4-5	4	—	—
IX-7	"	2	6	5	4	?	—
IV-19	"	3	6-7	6	4	—	—
IX-9	"	3	7	6	4	—	—
VI-8	<i>Torulopsis</i>	4	7	6	5	3	1
IV-8	"	4	8	7	5	3	1
VII-3	"	4	7	6-7	5	3	0,5
XVIII-2	"	4	7	6-7	5	3	0,5
XXI-2	"	4	7-8	7	6-7	2-3	—
VIII-8	"	5	7-8	4	2-3	—	—
III-12	"	5	5	4-5	1	—	—
V-15	"	6	4-5	4	3	—	—
XII-9	"	6	5	4	3	—	—
I-4	"	7	6-7	5	5	—	—
IV-23	"	7	15-16	8	5	2-3	—
II-14	<i>Pseudomonilia</i>	8	4-5	5-6	3-4	1	—
XV-4	"	8	4-5	3	2-3	0,5	—
II-22	"	9	6	6-7	3	—	—
VIII-14	"	9	4-5	4-5	2-3	—	—
II-1	<i>Saccharomyces</i>	10	5	4	2-3	—	—
XIII-2	"	11	6-8	4	2	—	—
X-10	<i>Sporobolomyces</i>	12	11	7	5	—	—
II-7	<i>Oospora</i>	13	23	13	8	—	—
XI-15	"	13	6-7	4-5	3	—	—

verzeichneten Masse der Sprosspilzkolonien beweisen, dass NaCl das Wachstum aller Stämme] der Sprosspilze gehindert hat. Ein 3% NaCl-Gehalt des Agars äussert allerdings noch fast gar keinen hemmenden Einfluss auf das Wachstum der Sprosspilze; ein 6% NaCl-Gehalt hindert das Wachstum einzelner Stämme schon merklich, obgleich diese NaCl-Konzentration noch keinen Stamm veranlasst sein Wachstum vollständig einzustellen; bei einem 12% NaCl-Gehalt stellen aber schon 17 Pilzstämme ihr Wachstum vollständig ein, und die übrigen 16

Pilzstämme zeigen eine merkliche Hemmung des Wachstums; ein 20% NaCl-Gehalt bewirkt das vollständige Aufhören des Wachstums von 28 Pilzstämmen, und die übrigen 5 Stämme zeigen dabei auch nur ein kümmerliches Wachstum.

Am widerstandsfähigsten sind dem Einfluss des NaCl gegenüber die kugelförmigen *Torulopsis*-Hefen der 4. Gruppe. Alle Milchzucker vergärenden Hefen sowohl der *Torulopsis*- als auch der *Saccharomyces*-Gattung besitzen nur ein schwaches Widerstandsvermögen gegen NaCl, denn keiner dieser Stämme entwickelte sich auf 12% NaCl enthaltendem Agar.

Beim Vergleichen des Einflusses von NaCl auf die Sprosspilze auf Agar und in der Butter muss man den Umstand im Auge behalten, dass das NaCl der Butter in Lösung in den in der Butter befindlichen Wassertropfen enthalten ist, weswegen der NaCl-Prozentsatz der Butterlake bedeutend höher ist als der auf die ganze Butter entfallende NaCl-Prozentsatz. Da die Mikroben der Butter gerade in den Wassertropfen wachsen, muss man, um den Einfluss des NaCl der Butter auf die Sprosspilze klarzulegen, nicht mit dem NaCl-Gehalt der Butter rechnen, sondern mit demjenigen der Butterlake. Da Butter im Mittel 12—16% Wasser enthält, so ist der NaCl-Prozentsatz der Butterlake ca. 6—8 mal oder im Mittel 7 mal so gross als derjenige der ganzen Butter. Demnach beträgt in 0,5%, 1%, 2% und 3% NaCl enthaltender Butter der Gehalt an NaCl in der Butterlake ungefähr 3,5%, 7%, 14% und 21%. Man muss annehmen, dass das NaCl in der Butterlake den gleichen Einfluss auf die Sprosspilze ausübt, wie im Agar. Da in 12% NaCl enthaltendem Agar die Vermehrung vieler Sprosspilze sistiert ist, so muss man annehmen, dass auch ein gleich grosser NaCl-Gehalt der Butterlake oder ein ca. 2% NaCl-Gehalt der Butter die Vermehrung des grösseren Teiles der Sprosspilze sistiert, und dass in ca. 3% NaCl enthaltender Butter die Zahl der Sprosspilze bei der Aufbewahrung der Butter nicht mehr nennenswert zunimmt. Dass diese Annahme richtig ist, das erweist ein mit einigen Sprosspilzstämmen ausgeführter Versuch. Zum Versuch wählte ich 2 Milchzucker vergärende Hefestämme (V—15, II—1), deren Wachstum auf 12% NaCl enthaltendem Agar vollständig sistiert wurde, und 2 *Torulopsis*-Hefestämme der 4. Gruppe (VI—8, IV—8), auf deren Wachstum das NaCl am schwächsten wirkte. Mit

den angegebenen Pilzen infizierte ich sterilisierten Süssrahm und stellte aus ihm nach einem später zu beschreibenden Verfahren Süssrahmbutter her, die ich im Klümpchenzustande mit sterilem NaCl salzte. Die zum Versuch angefertigten Butterproben hielt ich 2 Wochen bei einer Temperatur von 17°—20° C. Die Versuchsergebnisse finden sich in der Tabelle 16. Aus der

TABELLE. 16

Einfluss des Kochsalzes auf die Vermehrung der Sprosspilze in der Butter.

Pilzstämme	Wasser-% der Butter	NaCl-%		Hefenkeimgehalt pro 1 Gramm		
		der Butter	der Butterlake	bei Versuchsbeginn	4 Tage alt	14 Tage alt
I—1	nicht bestimmt	ungesalzen		155.000	6.500.000	7.000.000
"	12,0	0,29	2,4	151.000	4.000.000	3.700.000
"	11,5	0,69	6,0	68.000	1.250.000	1.310.000
V—15	nicht bestimmt	ungesalzen		60.000	7.400.000	7.200.000
"	11,4	0,47	4,1	66.000	4.200.000	3.800.000
"	11,2	2,28	20,4	28.000	36.000	32.000
IV—8	nicht bestimmt	ungesalzen		181.000	5.100.000	6.400.000
"	11,4	1,05	9,2	21.000	6.400.000	5.400.000
"	11,2	1,99	17,8	8.800	217.000	277.000
VI—8	nicht bestimmt	ungesalzen		69.000	4.900.000	5.500.000
"	11,4	0,47	4,1	15.400	1.500.000	6.100.000
"	11,8	1,85	15,7	5.200	50.000	98.000

Tabelle ersehen wir, dass die Vermehrung der Pilzstämme II—1 und V—15 in der Butter schon merklich gehemmt ist, wenn die Butter ca. $\frac{1}{2}$ % NaCl (die Butterlake 4,1%—6,0% davon) enthält; in ungefähr 2% NaCl enthaltender Butter (in 20,4% NaCl enthaltender Butterlake) vermehrte sich der Stamm V—15 überhaupt nicht mehr nennenswert. Die Stämme IV—8 und VI—8, die auf Agar grössere NaCl-Konzentrationen ertrugen, sind auch gegen den Einfluss des NaCl in Butter weniger empfindlich als die Stämme II—1 und V—15; so äussert ein ca. 1% NaCl-Gehalt der Butter (ein 9,3% NaCl-Gehalt der Butterlake) auf die Vermehrung des Stammes IV—8 keinerlei Einfluss, während ein nahezu 2%-iger NaCl-Gehalt der Butter (oder ein 15,7—17,8% NaCl-Gehalt der Butterlake) das Wachstum dieser Pilzstämme stark hemmt.

Die Pilzstämme II—1 und V—15 rufen in ungesalzener Butter bei günstiger Temperatur stets einen starken Gärgeschmack und -geruch hervor; wenn aber die Vermehrung der Hefen infolge des grossen NaCl-Gehalts gehemmt ist, dann bleibt auch der Gärgeschmack und -geruch aus. Beobachtungen in betreff der Geschmacks- und Geruchsfehler der mit den Pilzstämmen II—1 und V—15 infizierten Butter sind in der Tabelle 17 zu finden.

TABELLE 17.

Konservierender Einfluss des Kochsalzes hinsichtlich der Vorbeugung des Gärgeruchs und -geschmacks der Butter, die durch Hefen hervorgerufen werden.

Pilzstämme	NaCl-% der Butter	Beobachtungen in betreff des Buttergeschmacks und -geruchs
II—1	ungesalzen	Am 3. Tage merkbar kräftiger Gärgeruch und -geschmack.
„	0,29	Gärgeruch und -geschmack merkbar erst am 4. Tage.
„	0,69	Nach 7 Tagen ist kaum Gärgeruch und -geschmack merkbar; im Alter von 14 Tagen ist dieser Geruch und Geschmack bedeutend schwächer als bei ungesalzener Butter.
V—15	ungesalzen	Wie bei II—1 in ungesalzener Butter.
„	0,47	Schwacher Gärgeruch und -geschmack am 4. Tage; im Alter von 14 Tagen ist dieser Geruch und Geschmack bedeutend schwächer als bei ungesalzener Butter.
„	2,28	Gärgeruch und -geschmack bei 2 Wochen alter Butter nicht zu bemerken.

Da alle geprüften Milchzucker vergärenden Hefestämme auf Agar dem NaCl gegenüber in gleicher Weise empfindlich sind, so kann man die beim Versuch erhaltenen Daten auch hinsichtlich anderer Milchzucker vergärender Hefestämme verallgemeinern.

Verfolgt man die Resultate der 1930 und 1931 in den Sommermonaten in der Ausfuhrkontrollstation für Milchprodukte zu Tallinn ausgeführten Haltbarkeitsversuche nach den Berichten der Kontrollstation^{23) 24)}, so zeigt sich, dass der zur Zeit der II. Schätzung der Haltbarkeitsversuche in der Butter gefundene Gär- und gärsäure Geruch und Geschmack öfter auftritt in ungesalzener und schwach gesalzener Butter, als in stärker gesalzener, was die Angaben der Tabelle 18, die nach den Be-

richten der Kontrollstation zusammengestellt sind, zeigen. Da der Tabelle 11, Seite 20 zufolge sich ergibt, dass der bei den Haltbarkeitsversuchen auftretende Gär- und gärsaurer Geruch und Geschmack hauptsächlich durch die Sprosspilze hervorgerufen wird, so beweist auch die in der Tabelle 18 gemachte Zusammenfassung, dass es mittels NaCl möglich ist die Sprosspilze der Butter zu bekämpfen.

TABELLE 18.

Auftreten des Gär- und gärsaurer Geruchs und Geschmacks bei Haltbarkeitsversuchen an der Butter je nach dem Gehalt der Butter an Kochsalz.

NaCl-% der Butter	Insgesamt Butterproben	Butterproben mit Gär- und gärsaurer Geruch und Geschmack	
		zusammen	in % % der Gesamtzahl
ungesalzen	750	66	8,8%
0,00—0,50	217	20	9,2%
0,51—1,00	348	12	3,4%
1,01—1,50	144	3	2,1%
1,51—2,00	23	1	4,3%
> 2,00	3	0	0,0%

Aus weiter unten behandelten Versuchen, Tabelle 21 und 22, geht hervor, dass von den zu ergänzenden Untersuchungen übriggelassenen Sprosspilzstämmen Butterschädiger sind, ausser den Milchzucker vergärenden Pilzstämmen, noch die Pilzstämme II—10, IX—7, IV—23, XV—4, X—10, II—7 und XI—15; da aus Tabelle 15 zu ersehen ist, dass kein einziger dieser Stämme sich auf 12% NaCl enthaltendem Agar vermehrt, so lässt sich schliessen, dass es durch Zusetzen von $1\frac{1}{2}$ —2% NaCl zur Butter möglich ist gegen die durch Sprosspilze verursachten Butterfehler erfolgreich zu kämpfen.

Zusammenfassend kann man auf Grund der mit Kochsalz ausgeführten Versuche folgern:

1) Ebenso wie auf Agar, hemmt Kochsalz das Wachstum der Sprosspilze auch in der Butter.

2) Den Kochsalzprozentatz der Butter, der die Vermehrung der Sprosspilze hemmt, findet man nach den Agarversuchen, wenn man den das Wachstum der Sprosspilze auf Agar hemmenden Kochsalzprozentatz durch 6 bis 8, oder im Mittel durch 7 teilt.

3) Wenn die Butter $1\frac{1}{2}$ — 2% Kochsalz enthält, so wird die Vermehrung vieler Sprosspilze, darunter auch der Milchzucker vergärenden Hefen, in der Butter gehemmt.

4) Wenn die Butter $2\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}\%$ Kochsalz enthält, dann können sich in der Butter nur einzelne Sprosspilzgruppen vermehren, und auch die Vermehrung dieser Pilze ist stark eingeschränkt.

5) Durch starkes Salzen ($1\frac{1}{2}$ — 3% NaCl) der Butter ist es möglich, den durch Sprosspilze veranlassten Butterfehlern vorzubeugen.

Einfluss der Reaktion des Nähragars auf das Wachstum der Sprosspilze auf ihm. Zur Lösung der Frage, wie die Reaktion des Nähragars auf das Wachstum der aus Butter isolierten Sprosspilze wirkt, verglich ich das Wachstum der Sprosspilze auf Würzeagar mit den pH-Werten 3,50, 4,47, 6,65 und 7,01. Auf Agar züchtete ich die Sprosspilze ebenso wie bei dem früher beschriebenen Kochsalzversuch. Der Durchmesser der 10 Tage alten Sprosspilzkolonien in mm ist in der Tabelle 19 angeführt.

Die Tabelle zeigt, dass von 32 Pilzstämmen am besten wuchsen:

7 Pilzstämme auf Agar mit dem pH-Wert 3,50						
2	"	"	"	"	"	3,50—4,47
11	"	"	"	"	"	4,47
3	"	"	"	"	"	3,50—6,65
6	"	"	"	"	"	6,65
2	"	"	"	"	"	4,47—7,01
1	"	"	"	"	"	6,65—7,01.

Demnach wächst ein grösserer Teil der Buttersprosspilze auf Agar mit dem pH-Wert 4,47 etwas besser als auf Agar mit den pH-Werten 3,50 oder 6,65. Überhaupt waren die Unterschiede in der Grösse der Masse der auf Agarsorten mit den pH-Werten 3,50, 4,47 und 6,65 gewachsenen Pilzkolonien nicht besonders gross, nur auf Agar mit dem pH-Wert 7,01 bildete die Mehrzahl der Pilze merklich kleinere Kolonien als auf saureren Agarsorten.

TABELLE 19.

Einfluss des pH-Wertes des Agars auf das Wachstum der Sprosspilze auf ihm.

Stämme	Gattungen	Gruppen	pH-Wert des Agars und Durchmesser der Kolonien in mm			
			3,50	4,47	6,65	7,01
			mm	mm	mm	mm
VIII-4	<i>Mycotorula</i>	1	14	13-15	13-15	11-12
IV-2	"	1	16-20	15-16	13	12-13
II-10	"	2	8-10	10	7	5-6
II-21	"	2	9	10	8-9	8
XII-10	"	2	10	9-10	8	7-8
III-14	"	2	12	11-12	9	8-10
VI-7	"	2	8-9	8-9	8	7
VI-14	"	2	8-9	9-10	7-8	7-8
IV-3	"	2	7	6-7	6	5
IX-7	"	2	11	10	10	8
IV-19	"	3	10	12	10	7-8
IX-9	"	3	12-14	15	11-13	10
VI-8	<i>Torulopsis</i>	4	14	12-13	14	12
IV-8	"	4	11	11	11	9
VII-3	"	4	13-15	16	15-18	12
XVIII-2	"	4	9-10	9-10	7-8	8
XXI-2	"	4	10-11	11-12	10	10-11
VIII-8	"	5	13-15	13	8-9	7
III-12	"	5	13	13-14	14-15	12
V-15	"	6	8	7-8	8-9	7-8
XII-9	"	6	12	11-12	11-12	10-13
I-4	"	7	10	11	12	11
IV-23	"	7	7-8	11	13	11-12
II-14	<i>Pseudomonilia</i>	8	10-12	12	9	7
XV-4	"	8	6	6	7	7
II-22	"	9	8-9	9-10	8-9	7-8
VIII-14	"	9	8	10-11	9	7
II-1	<i>Saccharomyces</i>	10	8	8-9	8-9	8-9
XIII-2	"	11	12-13	13-14	10-11	10
X-10	<i>Sporobolomyces</i>	12	6	9	10-12	9-10
II-7	<i>Oospora</i>	13	22-25	26-31	25-31	22
XI-15	"	13	8	10	9-10	10

Auf den saureren Agarsorten wuchs besser die Mehrzahl der zur Gattung *Mycotorula* gehörigen Pilze, während die zur Gattung *Torulopsis* gehörigen Pilze grösstenteils am besten wuchsen auf Agar mit dem pH-Wert 6,65.

Der vorliegende Versuch bestätigt, dass zur Bestimmung der Keimzahl der Buttersprosspilze Würzeagar mit dem pH-Wert 3,5 sehr gut geeignet ist.

Die Versuchsergebnisse lassen vermuten, dass wahrscheinlich kein grosser Unterschied besteht zwischen der Vermehrung der Sprosspilze in Sauer- und

in Süsrahmbutter, denn der pH-Wert des Serums der Sauer- und der Süsrahmbutter schwankt normal ungefähr zwischen 4,4 und 6,7.

Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Sprosspilze. Zum Zweck der Klarstellung der Frage, wie die Temperatur auf das Wachstum der Sprosspilze wirkt,

TABELLE 20.

Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Sprosspilze auf Agar.

Stämme	Gattungen	Gruppen	Wachstumstemperatur und Durchmesser der Kolonien in mm						
			5-8°	9-11°	17-18°	23°	30°	37°	45°
			mm	mm	mm	mm	mm	mm	mm
VIII-4	<i>Mycotorula</i>	1	2-3	4	5-6	12	10	7-8	—
IV-2	"	1	1-2	3	5-6	10-12	12	10-11	—
II-10	"	2	3	4	6	8-9	6	?	—
II-21	"	2	1-2	3	5	9	2	?	—
XII-10	"	2	1	2	4	9-10	4	?	—
III-14	"	2	3	6	5-6	12	?	—	—
VI-7	"	2	3	4	6	9-10	6	?	—
VI-14	"	2	3-4	4	6	8-9	6	?	—
IV-3	"	2	3-4	4	6	7	6	?	—
IX-7	"	2	3-4	4	6	8-9	5	—	—
IV-19	"	3	2	6-7	6-7	13	10	3	—
IX-9	"	3	2	5	7	10-11	19	4-5	—
VI-8	<i>Torulopsis</i>	4	3	5	7	11-12	7	?	—
IV-8	"	4	3	5-6	8	11-12	2	—	—
VII-3	"	4	3	5-7	7	13	3	?	—
XVIII-2	"	4	3	5	7	10-12	5	?	—
XXI-2	"	4	3	6-7	7-8	13	?	—	—
VIII-8	"	5	2-4	4-5	7-8	10	—	—	—
III-12	"	5	2-3	3	5	16	13	11	—
V-15	"	6	1-2	3	4-5	11	6-7	—	—
XII-9	"	6	1-2	2	5	11	7-8	2-3	—
I-4	"	7	3-4	5	6-7	10-11	6-7	?	—
IV-23	"	7	3-4	5-6	7	13-15	9	2	—
II-14	<i>Pseudomonilia</i>	8	2	4-5	6	8	6	?	—
XV-4	"	8	1	2	4-5	7-8	7	6	—
II-22	"	9	2-3	4	6	10-11	4	—	—
VIII-14	"	9	2	3	4-5	10-11	4-5	—	—
II-1	<i>Saccharomyces</i>	10	1	4	5	10-11	8	4-5	—
XIII-2	"	11	2	5	6-8	13-14	17	19	18
X-10	<i>Sporobolomyces</i>	12	4-5	6	7	10	3-4	—	—
II-7	<i>Oospora</i>	13		7-8		21-24	23	—	—
XI-15	"	13	2-3	3-4	6-7	11	—	—	—

führte ich ebensolche Versuche aus, wie zur Klarstellung des Einflusses des Kochsalzes und der Reaktion auf das Wachstum dieser Pilze. Ich verglich das Wachstum der Sprosspilze auf Würzeagar bei 7 verschiedenen Temperaturintervallen, und zwar 1) bei $+5^{\circ}$ — $+8^{\circ}$, 2) bei $+9^{\circ}$ — $+11^{\circ}$, 3) bei $+17^{\circ}$ — $+18^{\circ}$, 4) bei $+23^{\circ}$, 5) bei $+30^{\circ}$, 6) bei $+37^{\circ}$ und 7) bei $+45^{\circ}$ C.

Der Durchmesser der auf Agar gewachsenen Sprosspilzkolonien ist in der Tabelle 20 angegeben. Wie aus der Tabelle zu ersehen, liegt für 29 Pilzstämme die optimale Wachstumstemperatur zwischen 17° und 30° C, für 2 zwischen 23° und 37° C und für 1 (XIII—2) zwischen 30° und 45° C. Das Maximum der Wachstumstemperatur befindet sich für die Mehrzahl der Pilzstämme zwischen 30° und 37° C und für einen kleineren Teil derselben zwischen 37° und 45° C. Das Minimum der Wachstumstemperatur liegt für alle Stämme entweder zwischen $+5^{\circ}$ und $+8^{\circ}$ C oder darunter, denn bei einer solchen Temperatur vermehren sich noch alle Sprosspilzstämme, wiewohl ihre Vermehrung dann stark herabgesetzt ist.

Die Versuchsergebnisse lassen den Schluss zu, dass man durch Aufbewahrung der Butter bei $+5^{\circ}$ — $+8^{\circ}$ C die Vermehrung der in der Butter befindlichen Sprosspilze wohl stark hemmen, nicht aber vollständig sistieren kann. Dass die Hefen in der Butter selbst bei 0° — $+4^{\circ}$ C sich vermehren können, geht aus der schon früher zitierten Arbeit von Demeter und Maier²⁾ hervor.

Der Einfluss der einzelnen Sprosspilzstämme auf die Butter.

Reinmann²⁶⁾ isolierte aus Butter einen Sprosspilz, den er nicht näher beschrieben hat, ferner eine weisse und eine rosafarbige Hefe. Der nicht näher bestimmte Sprosspilz zersetzte Butterfett, indem er in 1 Monat den Säuregrad des Fettes von 3,1 auf 24,5 erhöhte und den Geruch der Butter in einen widerlichen veränderte. Die weisse Hefe veranlasste in der Butter keinerlei Veränderungen, während die rosa Hefe die Butter an der Oberfläche rot färbte. Orla-Jensen¹⁹⁾ bereitete aus sterilisiertem und nachher mit Sprosspilzen infiziertem Rahm Butter; 3 Milchzucker vergärende Hefestämme, unter ihnen 2 *Saccharomyces*- und 1 *Torula*-Hefe, veranlassten in der Butter während 2 Monaten keinerlei Veränderungen, während 1 *Mycoderma*-Hefestamm der Oberflächenschicht der Butter in derselben Zeit einen schwachen Estergeruch verlieh. Butterfett wurde von keiner dieser Hefen zersetzt. Bei Rogers²⁷⁾ Versuchen zersetzte

eine häufig in der Butter auftretende *Torula*-Hefenart Butterfett, indem sie den Säuregrad des Fettes erhöhte — in einem Falle im Laufe von 42 Tagen von 0,6 auf 9,3, und in einem anderen Falle im Laufe von 58 Tagen von 0,29 auf 14,13. Unter den von O r l a - J e n s e n ²⁰⁾ isolierten Hefen, besonders aus der 3. Hefengruppe, zersetzten einzelne Hefestämme das Butterfett. Dieses Vermögen der Hefen steigerte sich, wenn sie in der Butter zusammen mit Milchsäurebakterien wuchsen. Als Beispiel werden 3 Hefestämme angeführt: von diesen zersetzte die Hefe A allein kein Fett, aber zusammen mit Milchsäure-Streptokokken erhöhte sie im Laufe eines Monats den Butterfett-Säuregrad von 1,7 auf 5,8; die Hefe B zersetzte Fett auch allein, und zwar erhöhte sie den Säuregrad von 1,7 auf 8,7 und zusammen mit den Milchsäure-Streptokokken auf 45,2; 1 roter *Torula*-Hefestamm zersetzte allein kein Fett, aber zusammen mit den Milchsäure-Streptokokken erhöhte er den Säuregrad des Fettes im Laufe 1 Monats von 1,6 auf 14,2. Nach O r l a - J e n s e n ²¹⁾ können die Milchzucker vergärenden Hefen in der Butter die Entwicklung von Gasblasen veranlassen und der Butter einen hefigen Geschmack geben. Manche Hefenarten geben der Butter fischigen und tranigen Geschmack. Wenn fettzersetzende Hefen und Milchsäurestäbchen zusammen wachsen, wird die Butter käsesauer. S a n d e l i n ²⁵⁾ prüfte die Fettzersetzungsfähigkeit von 15 Hefestämmen bei Zimmertemperatur im Laufe von 2 Monaten in Süss- und Sauerrahm, und zwar bei den Hefen allein und zusammen mit *Streptococcus lactis*; es zeigte sich, dass der grössere Teil der Hefen Butterfett zersetzte; bei den Hefestämmen, einen ausgenommen, steigerte sich das Fettzersetzungsvermögen, wenn sie zusammen mit *Streptococcus lactis* wuchsen. S a n d e l i n kommt bei seinen Versuchen zu dem Schluss, dass die geringe Haltbarkeit der Sauerrahmbutter im Vergleich mit der Süssrahmbutter zum Teil dadurch bedingt ist, dass die Hefen zusammen mit den Milchsäurebakterien die Butterbestandteile kräftiger zersetzen. G r i m e s ⁵⁾ untersuchte den Einfluss verschiedener Hefen auf die Haltbarkeit von im Kühlhause stehender Butter; diese Hefen äusserten auf Butter, die 6—7 Monate bei einer Temperatur von — 6° F aufbewahrt wurde, keinerlei Einfluss. Nach W e i g m a n n ³⁹⁾ können einige Hefen den Buttergeschmack ranzig, ölig und hefig machen, während andere Hefenarten in der Butter angenehme Aromastoffe erzeugen. H u n z i k e r ⁸⁾ erwähnt, dass Hefen der Butter einen bitterlichen und hefigen Geschmack verleihen. Nach S a n d e l i n ³⁰⁾ können Hefen in Butter Gär- und Hefengeschmack hervorrufen. V i r t a n e n ³⁷⁾ untersuchte 1928 im Sommer einen in finnländischer Butter zahlreich aufgetretenen Fehler, der als Gärgeschmack bezeichnet wurde; er kam zu dem Schluss, dass dieser Fehler nicht durch Hefen hervorgerufen wird, sondern durch eine *Bct. punctatum*-Art. V i r t a n e n schloss auf Grund seiner Untersuchungen, dass die Hefen gegenwärtig nicht berücksichtigenswerte Butterschädlinge seien. K o r o l e f f ¹²⁾ fasst das Resultat seiner Untersuchungen in betreff der Butterhefen auf folgende Weise zusammen: „die verbreitete Meinung, dass die Hefen ein schädliches Element in der Butterflora sind, ist ein Missverständnis und muss vollständig abgelehnt werden“. Alle von ihm untersuchten Hefen: Milchzucker vergärende Hefen, Bierhefe, die sog. „holländische“ Hefe und selbst *Mycoderma casei* sollen ausnahmslos die Haltbarkeit der Butter verbessert haben. P a l l a d i n a und M a s j u k e w i t s c h ²²⁾ stellten Versuche mit 4 Hefestämmen an und fanden, dass die Hefen doch nicht so, wie K o r o l e f f es annimmt, die Haltbarkeit der Butter verbessern.

Wie die berücksichtigten Arbeiten erkennen lassen, gibt es in der Literatur gegenwärtig drei verschiedene Ansichten in betreff der in der Butter vorhandenen Hefen: 1) die Hefen sind Butterschädiger, 2) die Hefen sind in der Butter überhaupt von keinerlei Bedeutung und 3) die Hefen verbessern die Haltbarkeit der Butter und sind infolgedessen für die letztere erwünschte Mikroorganismen. Am anerkanntesten und am besten begründet ist von diesen Ansichten die erste.

Auch nach den bisher gewonnenen Resultaten der vorliegenden Arbeit leuchtet es ein, dass die Sprosspilze, von denen die überwiegende Mehrzahl Hefen sind, als Butterschädlinge betrachtet werden müssen; das ergibt sich aus den Beziehungen zwischen dem Sprosspilzgehalt einerseits und der Qualität der Butter, ihrer Haltbarkeit und einzelnen ihrer Fehler andererseits. Dasselbe lässt sich auch schliessen aus Versuchen, die zum Zweck einer Gruppierung der Sprosspilze unternommen wurden; diese Versuche zeigten, dass viele Sprosspilze Milchbestandteile zersetzen und den Geschmack der Milch unangenehm machen.

Zur gründlicheren Klarlegung der Frage, ob die Sprosspilze Butterschädiger sind oder nicht, führte ich eine Reihe von Versuchen aus, indem ich aus sterilisiertem und nach dem Sterilisieren mit Sprosspilzen infiziertem Rahm Butter herstellte und dann verfolgte, wie sich beim Aufbewahren der Geschmack und Geruch der infizierten Butterproben und der Säuregrad des Butterfettes änderte. Zu den Versuchen nahm ich die oben angegebenen ausgewählten Sprosspilzstämme. Ausgeführt wurden die Versuche in den Sommermonaten des Jahres 1929 in Kiel und in etwas abgeänderter Form im Herbst 1931 in Tartu. In Kiel war mein Versuchsverfahren folgendes: in sterile 1-Liter-Kolben füllte ich $\frac{1}{2}$ Liter Süssrahm, der 20—25% Fett enthielt; den Rahm sterilisierte ich im Autoklav 10 Minuten lang bei 115° C. Um den Rahm nicht zu lange in der hohen Temperatur zu lassen, öffnete ich den Autoklav möglichst gleich nach dem Fallen des Dampfdruckes und stellte die Kolben mit dem Rahm zum Abkühlen in fließendes kaltes Wasser. Den so abgekühlten Rahm kühlte ich noch ca. 3 Stunden lang im Kühlschrank bei einer Temperatur von +5° C. Mit jedem Sprosspilzstamm stellte ich parallel Süss- und Sauerrahmbutter her. Zu dem zur Herstellung von Sauerrahmbutter dienenden Rahm fügte ich nach dem Abkühlen hinzu 50 ccm Kieler Rahmsäuerungskultur

pro Kolben. Zum Infizieren des Rahmes mit Sprosspilzen gebrauchte ich ca. 1 Woche alte Sprosspilzkulturen auf Würzschrägagar; den Pilzbelag spülte ich vom Agar mit sterilem Wasser in den Rahmkolben. Den infizierten Rahm liess ich ca. 18 Stunden lang in einem dunklen Raume bei 17° — 25° C. Das Schlagen der Butter geschah am folgenden Tage. Vor dem Schlagen kühlte ich den Rahm ca. 1 Stunde lang bei $+5^{\circ}$ C im Kühlschrank und bestimmte den Säuregrad des Rahmes nach Soxhlet-Henkell. Der Säuregrad des Süsrahms betrug $5,2^{\circ}$ — $7,5^{\circ}$ S.-H. und derjenige des Sauerrahms $24,0^{\circ}$ — $34,0^{\circ}$ S.-H., öfter $25,0^{\circ}$ — $28,0^{\circ}$ S.-H. Das Buttern wurde in sterilen 2-Liter-„Rex“-Konservengläsern vorgenommen; letztere befestigte ich an der horizontalen Welle der umdrehbaren Laboratorium-Butterungsmaschine, wo auf einmal 2 Gläser untergebracht werden konnten. Das Buttern stellte ich ein nach dem Erscheinen von 1—2 mm grossen Butterklümpchen, was nach ungefähr 30 Minuten eintrat. Vor dem Absondern der Buttermilch kühlte ich die zu Klümpchen geschlagene Butter bei $+5^{\circ}$ C im Kühlschrank. Die Buttermilch sonderte ich mit Hilfe des sterilen Aluminiumdurchschlags ab, auf den ich den ganzen Glasinhalt ausgoss. Vom Durchschlag brachte ich die Butterklümpchen in eine sterile Schale, wo ich sie zweimal mit sterilem Wasser wusch. Das Waschen und Pressen erfolgte mit einem sterilisierten Holzspatel. Das Absondern der Buttermilch, das Waschen und das Pressen der Butter nahm ich in einem kleinen, mit Formalin, Wasserdampf und Sublimat desinfizierten Glaskasten vor. Die Hände desinfizierte ich beim Waschen der Butter mit Alkohol. Die Butterproben hielt ich an einem dunklen Orte bei einer Temperatur von 18° — 23° C. Die Butterproben schätzte ich nach ihrem Geschmack und Geruch am Tage der Butterung, dann am 10. und am 30. Tage. Am 10. und am 30. Tage bestimmte ich auch den Säuregrad des Butterfettes (die Anzahl ccm $\frac{n}{1}$ NaOH, die zum Neutralisieren von 100 g Butterfett erforderlich sind). Um subjektivem Einfluss bei der Schätzung möglichst vorzubeugen, zog ich immer zum Schätzen noch 1—2 andere Personen hinzu. Die Keimzahl der Sprosspilze bestimmte ich in der Versuchsbutter auf Würzeagar am 1., 10. und 30. Tage. Die mikrobiologische Kontrolle der Butterproben führte ich aus durch Anreicherungen in Würze, Dextrosebouillon und gewöhnlichem

peptonhaltigem Bouillon. Nur einzelne Butterproben waren mit Schimmelpilzen infiziert — diese Proben wurden vom Versuch ausgeschlossen. Bakterieninfektion kam in keinem Falle vor. In Tartu änderte ich die Versuchstechnik. Ich führte nämlich in Tartu alle Operationen, beginnend mit dem Sterilisieren des Rahmes und endend mit der Butterung, in einem und demselben Gefäss durch, wozu Aluminiumgefässe von 2 Liter Inhalt dienten. Während des Butterns schloss ich die Gefässe mit einer dicken, sterilisierten Glasplatte; den Zwischenraum zwischen der Platte und dem Gefäss dichtete ich mit einem sterilisierten Gummiring ab (s. Tafel VI, Abb. 2). In Tartu infizierte ich den Rahm nur mit 1 Ösevoll Sprosspilzkultur. Die Butterproben hielt ich 2 Wochen lang bei einer Temperatur von 13°—17° C. Ihre Schätzung erfolgte am 1. und am 14. Tage. Die Resultate der in Kiel ausgeführten Versuche sind in Tabelle 21 und diejenigen der in Tartu ausgeführten in Tabelle 22 wiedergegeben. In die Tabellen sind nicht eingetragen die Schätzungsergebnisse des 1. Tages, da alle Butterproben am 1. Tage ausser Kochgeschmack keinen besonderen Nebengeschmack oder -geruch aufwiesen.

In betreff der in Kiel hergestellten Versuchsbutter (Tabelle 21) ist zu bemerken, dass einzelne der bei verhältnismässig hoher Temperatur längere Zeit aufbewahrten Butterproben, sei es aus rein chemischen Gründen oder unter dem Einfluss von Milchsäurebakterien, einen etwas ranzigen oder unreinen Geschmack und Geruch bekamen, denn ein schwach ranziger Geschmack und Geruch trat auch bei einer nicht mit Sprosspilzen infizierten Kontrollprobe auf. Wenn man noch den Umstand berücksichtigt, dass bei der Feststellung eines schwach ranzigen oder unreinen Geschmacks und Geruchs häufig Meinungsverschiedenheiten zwischen den einzelnen die Butter schätzenden Personen vorkamen, so ist es nicht möglich sicher zu sagen, dass bei diesen Versuchen der schwach ranzige oder unreine Geschmack und Geruch unbedingt durch die zum Infizieren der Butter benutzten Sprosspilze verursacht worden ist. Unter den Sprosspilzstämmen Schädiger und Nichtschädiger unterscheidend, bezeichne ich die Sprosspilzstämmen, welche in der infizierten Butter die obengenannten Butterfehler nach sich zogen, im Sinne der Butterschädigung als zweifelhafte Stämme.

Unter Zugrundelegung der Resultate der in der Tabelle 21 aufgezählten Versuche sind von den 31 untersuchten Sprosspilzstämmen

TABELLE 21.

Einfluss der Sprosspilze auf den Geschmack und Geruch der Butter und auf den Säuregrad des Butterfettes (Zusammenfassung der in Kiel ausgeführten Versuche).

Stämme	Gattungen	Gruppen	Alter d. Proben in Tagen	Süssrahmbutter		Sauerrahmbutter	
				Geschmack- und Geruchschätzung	Säuregrad des Butterfettes	Geschmack- und Geruchschätzung	Säuregrad des Butterfettes
IV—2	<i>Mycotula</i>	1	10	normal	1,0	normal	1,8
"	"	1	30	Geschmack unrein, Geruch etwas ranzig	2,3	etwas ranzig	2,0
VIII—4	"	1	10	normal	1,1	normal	1,5
"	"	1	30	desgl.	1,8	etwas ranzig	1,8
II—10	"	2	10	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	2,3	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	3,2
"	"	2	30	desgl.	3,4	stark ranzig	9,4
II—21	"	2	10	normal	1,5	normal	2,0
"	"	2	30	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	6,3	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	3,8
XII—10	"	2	10	normal	2,0	desgl.	3,0
"	"	2	30	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	6,5	desgl.	6,3
III—4	"	2	10	normal	2,3	normal	3,5
"	"	2	30	etwas ranzig	3,3	Geschmack normal, Geruch unrein	5,5
III—18	"	2	10	normal	1,3	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	1,3
"	"	2	30	desgl.	0,8	desgl.	1,0
VI—7	"	2	10	desgl.	2,5	normal	2,5
"	"	2	30	desgl.	3,0	desgl.	3,0
VI—14	"	2	10	nicht hergestellt		Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	3,6
"	"	2	30			desgl.	4,0
IV—3	"	2	10	normal	2,9	normal	3,1
"	"	2	30	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	2,8	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	3,4
IX—7	"	2	10	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	4,3	etwas ranzig	4,5
"	"	2	30	Geschmack unrein, Geruch ranzig	4,9	stark ranzig	9,1
IX—9	"	3	10	normal	2,4	normal	2,0
"	"	3	30	verschimmelt		desgl.	1,5

Tabelle 21 (Fortsetzung).

Stämme	Gattungen	Gruppen	Alter d. Proben in Tagen	Süßrahmbutter		Sauerrahmbutter	
				Geschmack- und Geruchschätzung	Säuregrad des Butterfettes	Geschmack- und Geruchschätzung	Säuregrad des Butterfettes
VI—8	<i>Torulop- sis</i>	4	10	normal	3,2	normal	3,8
"	"	4	30	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	4,0	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	3,7
IV—8	"	4	10	normal	1,6	normal	1,9
"	"	4	30	desgl.	1,8	desgl.	2,3
VII—3	"	4	10	desgl.	2,8	desgl.	4,3
"	"	4	30	Geschmack normal, Geruch etwas unrein	1,8	Geschmack normal, Geruch etwas un- rein	2,1
XVIII—2	"	4	10	normal	1,3	normal	1,3
"	"	4	30	desgl.	1,8	desgl.	2,5
XXI—2	"	4	10	desgl.	1,3	desgl.	1,3
"	"	4	30	desgl.	1,5	desgl.	1,5
VIII—8	"	5	10	desgl.	1,5	desgl.	1,5
"	"	5	30	verschimmelt		etwas unrein	1,4
III—12	"	5	10	normal	1,7	normal	1,3
"	"	5	30	verschimmelt		desgl.	1,3
V—15	"	6	10	starker Gärge- schmack und -geruch	2,0	starker Gärge- schmack und -geruch	2,3
"	"	6	30	desgl.	1,3	desgl.	1,0
XII—9	"	6	10	desgl.	1,5	desgl.	1,5
"	"	6	30	desgl.	1,3	desgl.	1,5
I—4	"	7	10	etwas ranzig, Ober- fläche rosa	3,3	etwas ranzig, Ober- fläche rosa	2,0
"	"	7	30	desgl.	2,3	desgl.	2,5
IV—23	"	7	10	widerlich, ganz unbrauchbar	2,0	widerlich, aber weniger als bei Süßrahmbutter, Oberfläche rosa	1,8
"	"	7	30	desgl.	4,3	desgl.	4,8
XV—4	<i>Pseudo- monilia</i>	8	10	normal	7,3	normal	4,0
"	"	8	30	Geschmack wider- lich, Geruch unrein, ganz unbrauchbar	13,0	Geschmack wider- lich, Geruch unrein, ganz unbrauchbar	17,3
II—22	"	9	10	normal	2,0	normal	2,2
"	"	9	30	verschimmelt		desgl.	3,0
VIII—14	"	9	10	normal	1,7	desgl.	2,0
"	"	9	30	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	4,0	etwas ranzig	3,3
II—1	<i>Saccha- romyces</i>	10	10	kräftiger Gärge- schmack und -geruch	1,1	kräftiger Gärge- schmack und -geruch	1,0
"	"	10	30	desgl.	1,0	desgl.	1,2

Tabelle 21 (Fortsetzung).

Stämme	Gattungen	Gruppen	Alter d. Proben in Tagen	Süßrahmbutter		Sauerrahmbutter	
				Geschmack- und Geruchschätzung	Säuregrad des Butterfettes	Geschmack- und Geruchschätzung	Säuregrad des Butterfettes
XIII—2	<i>Saccharomyces</i>	11	10	kräftiger Gärge- schmack und -geruch	1,0	kräftiger Gärge- schmack und -geruch	1,3
X—10	" <i>Sporobolomyces</i>	11	30	desgl.	1,3	desgl.	1,3
		12	10	Geschmack normal, Geruch widerlich	1,8	Geschmack normal, Geruch widerlich, aber weniger als bei Süßrahm- butter	1,3
"	"	12	30	ganz unbrauchbar, Oberfläche rosa	8,5	ganz unbrauchbar, aber minder wi- derlich als bei Süßrahmbutter, Oberfläche rosa	2,5
II—7	<i>Oospora</i>	13	10	widerlich, ganz un- brauchbar	26,3	widerlich, ganz un- brauchbar (Ge- schmack aber nicht so schlecht, wie bei Süß- rahmbutter)	10,0
XI—15	"	13	30	desgl.	53,5	desgl.	17,0
		13	10	Geschmack scharf- sauer, widerlich, besonders an der Oberfläche, Ge- ruch normal	3,2	ebenso wie bei Süßrahmbutter, aber etwas schwä- cher	1,8
"	"	13	30	Geschmack so wie bei 10-tägiger Butter, Geruch etwas ranzig	4,7	so wie bei Süß- rahmbutter, aber etwas schwächer	2,3
	Kontrolle						
	I		10	} nicht hergestellt		normal	3,2
	"		30		desgl.		4,0
	II		10	normal	1,5	desgl.	1,9
	"		30	desgl.	1,8	etwas ranzig	4,0
	III		10	desgl.	1,7	normal	2,1
	"		30	desgl.	1,8	desgl.	1,8
	IV		10	desgl.	1,0	desgl.	1,3
	"		30	verschimmelt		verschimmelt	

men unter den gegebenen Bedingungen anzusehen:

1) 11 als unzweifelhafte Butterschädiger (nämlich II—10, IX—7, V—15, XII—9, IV—23, XV—4, II—1, XIII—2, X—10, II—7, XI—15), denn alle diese Pilzstämmen verändern den Geschmack und Geruch der Butter in unerwünschter Weise, die Mehrzahl macht die Butter sogar vollständig ungenießbar.

TABELLE 22.

Einfluss der Sprosspilze auf den Geschmack und Geruch der Butter und auf den Säuregrad des Butterfettes (Zusammenfassung der in Tartu ausgeführten Versuche).

Stämme	Gattungen	Gruppen	Alter der Proben in Tagen	Süßrahmbutter		Sauerrahmbutter	
				Geschmack- und Geruchschätzung	Säuregrad des Butterfettes	Geschmack- und Geruchschätzung	Säuregrad des Butterfettes
IV—2	<i>Mycotora</i>	1	14	normal	0,8	normal	1,0
VIII—4	"	1	14	desgl.	1,0	desgl.	1,0
II—10	"	2	14	desgl.	1,4	desgl.	1,2
XII—10	"	2	14	desgl.	1,0	desgl.	1,0
III—14	"	2	14	desgl.	0,8	Geschmack normal, Geruch etwas ranzig	1,5
VI—7	"	2	14	desgl.	1,0	normal	1,0
VI—14	"	2	14	desgl.	1,2	desgl.	1,2
IV—3	"	2	14	desgl.	1,2	desgl.	1,2
IX—7	"	2	14	desgl.	0,8	desgl.	1,0
IX—9	"	3	14	desgl.	1,0	desgl.	1,2
VI—8	<i>Torulopsis</i>	4	14	desgl.	0,8	desgl.	1,0
IV—8	"	4	14	desgl.	1,0	desgl.	0,8
VII—3	"	4	14	desgl.	0,8	desgl.	0,8
XVIII—2	"	4	14	desgl.	1,2	desgl.	1,0
XXI—2	"	4	14	desgl.	1,0	desgl.	1,0
V—15	"	6	14	kräftiger Gärgeruch u. -geschmack	2,0	kräftiger Gärgeruch u. -geschmack	2,8
XII—9	"	6	14	desgl.	0,8	desgl.	1,0
I—4	"	7	14	unreiner Geruch und Geschmack	1,0	unreiner Geruch und Geschmack	1,0
IV—23	"	7	14	schlechter Geruch und Geschmack	2,0	schlechter Geruch und Geschmack	1,0
II—14	<i>Pseudomonilia</i>	8	14	normal	1,0	normal	1,0
XV—4	"	8	14	desgl.	1,2	ranzig	3,6
II—22	"	9	14	desgl.	1,0	normal	1,0
VIII—14	"	9	14	desgl.	0,8	desgl.	1,0
II—1	<i>Saccharomyces</i>	10	14	kräftiger Gärgeruch u. -geschmack	1,2	kräftiger Gärgeruch u. -geschmack	1,2
XIII—2	"	11	14	desgl.	1,0	desgl.	1,0
X—10	<i>Sporobolomyces</i>	12	14	normal	0,8	normal	1,0
II—7	<i>Oospora</i>	13	14	widerlich, ganz unbrauchbar	20,0	widerlich, ganz unbrauchbar	4,6
XI—15	"	13	14	ranziger Geruch, die Oberflächenschicht widerlich, scharf sauer, im Innern der Geschmack normal	1,8	so wie bei Süßrahmbutter	1,2

2) 13 Pilzstämme (IV—2, VIII—4, II—21, XII—10, III—14, III—18, VI—14, IV—3, VI—8, VII—3, VIII—8, I—4, VIII—14) als im Sinne der Butterschädigung zweifelhafte Stämme.

3) 7 Pilzstämme (VI—7, IX—9, IV—8, XVIII—2, XXI—2, III—12, II—22) als die Butter nicht schädigende Stämme, denn sie veranlassen keine bemerkenswerten Veränderungen des Geschmacks und Geruchs der Butter.

Welcher Gattung und welcher Gruppe die die Butter schädigenden, die zweifelhaften und die nicht schädigenden Stämme nach Tabelle 21 angehören, das zeigt zusammenfassend die

TABELLE 23.

Die Sprosspilzstämme, danach angeordnet, ob sie die Butter schädigen, zweifelhaft sind oder sie nicht schädigen. (Zusammenfassung nach Tabelle 21.)

Sprosspilze		Den Versuchen unterzogene Stämme insgesamt	Butterschädigende Stämme	Zweifelhafte Stämme	Nicht schädigende Stämme
Gattungen	Gruppen				
<i>Mycotorula</i>	1	2	—	2	—
"	2	9	2	6	1
"	3	1	—	—	1
<i>Torulopsis</i>	4	5	—	2	3
"	5	2	—	1	1
"	6	2	2	—	—
"	7	2	1	1	—
<i>Pseudomonilia</i>	8	1	1	—	—
"	9	2	—	1	1
<i>Saccharomyces</i>	10	1	1	—	—
"	11	1	1	—	—
<i>Sporobolomyces</i>	12	1	1	—	—
<i>Oospora</i>	13	2	2	—	—

Tabelle 23. Wir sehen hier, dass Butterschädiger in jeder der in der Butter gefundenen Sprosspilzgattungen vorkommen. Dass in den Gruppen 2, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13 Butterschädiger enthalten sind, haben schon die Vorversuche als sehr wahrscheinlich erwiesen (Zusammenfassung in Tabelle 12), denn viele Stämme der zur 2. Gruppe gehörigen Pilze zersetzen in Vollmilchfederstrichkultur kräftig Milchlaktose; die zur 6. Gruppe gehörigen Pilzstämme vergären ausnahmslos

Milchzucker; die der 7. Gruppe angehörigen Pilzstämme zersetzen ausnahmslos Kasein und machen den Geschmack der Milch seifenartig widerlich; von den Pilzstämmen der 8. Gruppe zersetzen einige kräftig Milchfett; die Stämme der 10. und 11. Gruppe vergären ausnahmslos Milchzucker; die Stämme der 12. Gruppe zersetzen Milchfett und Kasein; die Stämme der 13. Gruppe zersetzen sehr kräftig Milchfett und Kasein. Auf Grund der Versuche könnte man vermuten, dass auch die der 9. Gruppe angehörigen Sprosspilze Butterschädiger sind, denn einige der hierher gehörigen Pilzstämme zersetzen in Vollmilchfederstrichkultur verhältnismässig kräftig Milchfett (auch die zum Versuch verwendeten Pilzstämme II—22 und VIII—14, siehe Tabelle 12), und im Laufe längerer Zeit in Magermilch Kasein; beim Versuch mit Butter liess aber der eine dieser Gruppe angehörige Hefestamm den Geschmack und Geruch der Butter unverändert, während der Geruch der mit dem anderen Stamm infizierten Butter etwas ranzig wurde. Auf Grund der Vorversuche kann man auch vermuten, dass die in die 3., 4. und 5. Gruppe gehörenden Sprosspilze keine Butterschädiger sind, denn diese Pilze lassen beim Vorversuch alle Milchbestandteile und auch den Geschmack der Milch unverändert. Der Versuch mit Butter bestätigt dieses Verhalten fast in vollem Masse, denn die Mehrzahl dieser Pilze lässt den Säuregrad des Butterfettes sowie den Geschmack und Geruch der Butter unverändert, während nur einzelne Pilzstämme zu den zweifelhaften Pilzen gehören.

Die Schädigung der Butter durch die Sprosspilze scheint zu erfolgen hauptsächlich entweder infolge Zersetzung des Butterfettes oder infolge Vergärung des Milchzuckers, denn die zur *Mycotorula*-Gattung gehörigen Butterschädiger, die Pilzstämme II—10 und IX—7, erhöhen den Säuregrad des Butterfettes — ersterer bis 9,4 und letzterer bis 9,1, der Stamm der *Pseudomonilia*-Gattung XV—4 erhöht den Säuregrad des Butterfettes bis 17,3, der Pilzstamm der *Sporobolomyces*-Gattung X—10 bis 8,5 und der Stamm der *Oospora*-Gattung II—6 bis 53,5. Zu bemerken ist hierbei, dass bei weitem nicht alle in der Vollmilchfederstrichkultur Milchfett zersetzenden Pilzstämme den Säuregrad des Fettes in der Butter erhöhen, noch den Geschmack und Geruch der Butter merklich verändern. Das Obige ergibt sich aus einem Vergleich der Tabellen 12 und 21.

Die Milchzucker vergärenden Hefestämme (V—15, XII—9, II—1, XIII—2) verursachen alle ausnahmslos in der Versuchsbutter einen kräftigen Gärgeruch und -geschmack.

Unklar ist, welche Zersetzungsprozesse in der Butter die butterschädigenden Pilzstämme IV—23 und XI—15 verursacht haben; in betreff des letzteren kann man wohl vermuten, dass die Schädigung durch Fettzersetzung bedingt ist, denn dieser Pilzstamm zersetzt in Vollmilchfederstrichkultur kräftig Milchfett.

Beim Vergleich der Schädigung von Süß- und Sauerrahmbutter zeigt sich, dass manche Pilzstämme mehr die Süßrahmbutter, andere mehr die Sauerrahmbutter schädigen. Von den fettzersetzenden Pilzstämmen zersetzen die zu den Gattungen *Mycotorula* und *Pseudomonilia* gehörigen Sprosspilze (II—10, IX—7, XV—4) kräftiger das Fett der Sauerrahmbutter (was der Säuregrad des Butterfettes erweist), während die den Gattungen *Sporobolomyces* und *Oospora* angehörigen Pilzstämme (X—10, II—7) kräftiger das Fett der Süßrahmbutter zersetzen. Dass der Pilzstamm II—7 das Fett der Süßrahmbutter viel kräftiger als dasjenige der Sauerrahmbutter zersetzt, das beweist auch der in Tartu ausgeführte Versuch (Tabelle 22), während X—10 beim letzteren Versuch infolge geringer Vermehrung die Butter überhaupt nicht schädigte. Folglich trifft die Ansicht Orla-Jensens²⁰⁾ und Sandelins²⁸⁾, dass Hefepilze mit Milchsäurebakterien in Symbiose wachsend das Butterfett kräftiger zersetzen, als allein wachsend, für die hefenartigen Sprosspilze nicht immer zu.

Auch die rosa Hefe IV—23 und *Oospora* XI—15 schädigen Süßrahmbutter schneller und kräftiger als Sauerrahmbutter. Dagegen schädigen die Sauerrahmbutter kräftiger und schneller als die Süßrahmbutter alle Milchzucker vergärenden Hefestämme (V—15, XII—9, II—1, XIII—2).

Wenn man die Resultate der in Kiel ausgeführten Versuche (Tabelle 21) mit den in Tartu bei geringerer Wärme und kürzerer Dauer durchgeführten Versuchen (Tabelle 22) vergleicht, so sieht man, dass die der *Mycotorula*-Gattung angehörigen Sprosspilzstämme II—10 und IX—7 unter den im letzteren Versuch vorliegenden Bedingungen die Butter nicht merklich schädigen. Unter diesen Bedingungen schädigt der Pilzstamm X—10 der *Sporobolomyces*-Gattung, dessen Keime in der Versuchs-

butter allerdings sehr selten waren, die Butter ebenfalls nicht. Butter schädigen sowohl unter den in Kiel als unter den in Tartu durchgeführten Versuchsbedingungen die Pilzstämme IV—23, XV—4, II—7, XI—15, V—15, XII—9, II—1 und XIII—2 (letztere 4 sind Milchzucker vergärende Hefestämme), also im ganzen 8 Sprosspilzstämme. Die Sprosspilze, die sich bei diesen Versuchen als Butterschädiger erwiesen haben, sind in der Praxis unzweifelhaft zu fürchten, denn die bei den Versuchen vorhanden gewesenen Lagerungsbedingungen der Butter sind in der Praxis im Sommer recht häufig nicht zu vermeiden.

Als die am meisten zu fürchtenden Butterschädiger sind unter den den Versuchen unterworfenen Sprosspilzen die zur *Oospora*-Gattung gehörigen Pilzstämme II—7 und XI—15 zu betrachten, denn diese beiden machen die Butter sehr schnell ungeniessbar; aber derartige Pilze finden sich in der Butter verhältnismässig selten. Im Sinne der Häufigkeit des Auftretens sind unter den Sprosspilzen bedeutsamere Butterschädiger die Milchzucker vergärenden Hefen (im vorliegenden Versuch die Pilzstämme V—15, XII—9, II—1 und XIII—2), weil diese Pilze verhältnismässig häufig in der Butter vorkommen. Dass Milchzucker vergärende Hefen in der Praxis häufig Butterfehler verursachen, bezeugen auch die oben in Tabelle 11 gebrachten Angaben; diese zeigen bei einer Zunahme der Sprosspilzkeime ein häufigeres Vorkommen des Gärgeschmacks in der Butter.

Da die in der Butter am häufigsten vorkommenden Sprosspilze aus den Pilzgruppen 1, 2, 4, 5 keine nennenswerten Butterschädiger sind, so ist es verständlich, warum auch viele Butterproben mit hohem Gehalt an Sprosspilzkeimen gut haltbar sind.

Den Wert oder die Haltbarkeit der Butter erhöhende Eigenschaften, wie Koroleff¹²⁾ solche glaubt annehmen zu dürfen, habe ich bei meinen Versuchen an keinem der Sprosspilzstämme feststellen können.

Der Sprosspilzkeimgehalt der Versuchsbutter und seine Veränderungen bei der Aufbewahrung der Butter.

Den Sprosspilzkeimgehalt der Versuchsbutter bestimmte ich zu dem Zweck, um den Infektionsgrad der Butterproben zu kontrollieren und die Veränderungen des Sprosspilzkeimgehalts bei der Aufbewahrung von Süss- und Sauerrahmbutter zu vergleichen.

Bei den in Kiel ausgeführten Versuchen infizierte ich den zur Butterbereitung verwendeten Rahm so stark mit Sprosspilzen, dass die frischen Butterproben 85.000—9.950.000, die Mehrzahl der Proben > 500.000 Sprosspilzkeime pro Gramm Butter enthielten. In vielen Butterproben nahm, wahrscheinlich infolge des hohen Gehalts an Keimen, die Sprosspilzkeimzahl bei der Aufbewahrung überhaupt nicht zu, sondern zeigte oft sogar eine kleine Abnahme. Zieht man diesen Umstand in Betracht, so ist es nicht möglich, auf Grund der in Kiel ausgeführten Versuche die Vermehrung der Sprosspilze in Süss- und Sauerrahmbutter zu vergleichen. Um die Vermehrung der Sprosspilze in Süss- und Sauerrahmbutter vergleichen zu können, infizierte ich bei den in Tartu ausgeführten Versuchen den zur Butterbereitung bestimmten Rahm bedeutend schwächer als in Kiel; in Kiel nämlich fügte ich, wie früher erwähnt, dem $\frac{1}{2}$ Liter Rahm den ganzen Agarbelag von einer 1 Woche alten Schrägagarkultur zu, während ich in Tartu in $\frac{3}{4}$ Liter Rahm 1 Ösevoll des Agarkulturbelages hineintat. Der Sprosspilzkeimgehalt der in Tartu angefertigten Versuchsbutter — in frischem Zustande und am 14. Tage, bei einzelnen Proben auch am 4. Tage — ist in der Tabelle 24 angegeben.

Wenn man den in der Tabelle 24 sich findenden Sprosspilzkeimgehalt der Süss- und der Sauerrahmbutter vergleicht, so muss man im Auge behalten, dass die Keimzahlen dieser Buttersorten untereinander nicht gut vergleichbar sind, denn bei der Bestimmung des Keimgehalts nach der Plattenmethode erhält man nicht absolute, sondern relative Zahlen. Im fettfreien Teil der Sauerrahmbutter ist das Kasein flockig ausgefällt; es ist daher wahrscheinlich, dass die Sprosspilzkeime in der Sauerrahmbutter beim Guss der Platten in grösseren Häuf-

TABELLE 24.

Sprosspilzkeimgehalt der Versuchsbutter beim Versuchsbeginn und nach der Aufbewahrung der Butter.

Stämme	Gattungen	Gruppen	Sprosspilzkeimgehalt pro Gramm						Zunahme der Sprosspilzkeime in %	
			in Süsrahmbutter			in Sauerrahmbutter			in Süsrahmbutter	in Sauerrahmbutter
			bei Beginn	am 4. Tage	am 14. Tage	bei Beginn	am 4. Tage	am 14. Tage		
IV-2	<i>Mycotorula</i>	1	170.000	nicht bestimmt	6.800.000	32.000	nicht bestimmt	7.200.000	3.900	22.400
VIII-4	"	1	323.000	" "	31.100.000	90.000	" "	72.200.000	9.530	80.120
II-10	"	2	146.000	" "	9.900.000	21.000	" "	3.600.000	6.680	17.040
XII-10	"	2	36.000	" "	1.905.000	4.000	" "	362.000	5.190	8.950
III-14	"	2	69.000	" "	8.000.000	39.000	" "	730.000	11.490	1.770
VI-7	"	2	77.000	" "	9.400.000	17.100	" "	4.100.000	12.110	23.880
VI-14	"	2	43.000	3.020.000	5.600.000	98.000	2.160.000	1.310.000	12.920	2.100*)
IV-3	"	2	20.000	nicht bestimmt	8.900.000	8.400	nicht bestimmt	2.260.000	44.400	26.800
IX-7	"	2	63.000	" "	6.900.000	33.000	" "	1.180.000	10.850	3.480
IX-9	"	3	65.000	" "	2.300.000	17.600	" "	2.900.000	3.440	16.380
VI-8	<i>Torulopsis</i>	4	<100	" "	6.000.000	10.200	" "	1.500.000	>5.999.900	14.610
IV-8	"	4	700	" "	7.200.000	4.400	" "	2.200.000	1.028.470	49.900
VII-3	"	4	51.000	" "	2.910.000	9.700	" "	880.000	5.610	8.970
XVIII-2	"	4	58.000	2.800.000	11.000.000	29.000	3.500.000	12.800.000	18.870	44.040
XXI-2	"	4	2.100	nicht bestimmt	7.800.000	1.400	nicht bestimmt	1.810.000	371.330	129.190
V-15	"	6	58.000	" "	4.400.000	27.200	" "	2.100.000	7.490	7.620
XII-9	"	6	44.000	" "	6.200.000	10.300	" "	2.300.000	13.990	22.230
I-4	"	7	12.000	" "	4.300.000	<100	" "	208.000	35.730	>207.900
IV-23	"	7	227.000	4.340.000	7.300.000	24.000	4.650.000	8.300.000	3.120	34.480
II-4	<i>Pseudomonilia</i>	8	240.000	nicht bestimmt	5.400.000	18.600	nicht bestimmt	4.200.000	2.150	22.480
XV-4	"	8	64.000	" "	4.100.000	347.000	" "	9.400.000	6.310	2.610
II-22	"	9	99.000	" "	620.000	9.600	" "	970.000	530	10.000
VIII-14	"	9	<100	" "	198.000	400	" "	165.000	>197.000	41.150
II-1	<i>Saccharomyces</i>	10	181.000	7.000.000	6.000.000	42.000	3.800.000	3.200.000	3.210	7.520
XIII-2	"	11	36.000	2.700.000	3.500.000	29.000	3.400.000	4.300.000	9.620	14.730
X-10	<i>Sporobolomyces</i>	12	<100	<100	36.000	<100	<100	23.000	>35.900	>22.900
II-7	<i>Oospora</i>	13	71.000	170.000	6.000	31.000	180.000	320.000	140*)	930
XI-5	"	13	400	nicht bestimmt	420.000	<100	nicht bestimmt	3.100.000	104.900	>3.099.900

*) Da am 14. Tage der Keimgehalt der Sprosspilze niedriger als am 4. Tage war, ist die Zunahme des Keimgehalts nach dem Keimgehalt der 4-tägigen Butter berechnet worden.

chen auch nach dem Schütteln der Butterprobe an den Kaseinflocken haften bleiben, während die in Süssrahmbutter sich vorfindenden Verbände von Pilzkeimen beim Schütteln sich in kleinere Häufchen zerteilen. Beim Mikroskopieren sowohl der Süss- als auch der Sauerrahmbutter nach dem Schütteln in geschmolzenem Zustande war ein Unterschied in der Grösse der Häufchen der Pilzkeime allerdings nicht zu bemerken. Dass die in der Sauerrahmbutter befindlichen Verbände von Pilzkeimen beim Schütteln sich doch nicht so gründlich zerteilen, wie die in der Süssrahmbutter sich findenden Pilzkeimverbände, darauf weist der Umstand hin, dass die ungefähr gleich stark mit Sprosspilzen infizierte frische Sauerrahmbutter in der Mehrzahl der Fälle auf Agar weniger Sprosspilzkeime als die Süssrahmbutter zeigt; dies ergibt sich beim Vergleich der entsprechenden Zahlen der Tabelle 24. Obgleich der Keimgehalt der Sprosspilze in Süss- und Sauerrahmbutter direkt nicht gut vergleichbar ist, kann man doch eine gewisse vergleichende Übersicht über die Zunahme der Sprosspilzkeime gewinnen, wenn man diese Zunahme in Prozenten des anfänglichen Keimgehalts ausdrückt. Die Zunahme der Keime in Prozenten des Keimgehalts der frischen Butter ist ebenfalls in Tabelle 24 aufgeführt. Diese Zahlen zeigen, dass bei 18 Sprosspilzstämmen die prozentuale Zunahme der Keimzahl in der Sauerrahmbutter grösser als in der Süssrahmbutter und bei 10 Stämmen in der Süssrahmbutter grösser als in der Sauerrahmbutter war. Absolut genommen war aber die Zunahme der Keime bei den 10 Sprosspilzstämmen grösser in der Sauerrahmbutter und bei den 18 Stämmen grösser in der Süssrahmbutter. Aus diesen Vergleichen lässt sich schliessen, dass die Sprosspilze der Butter sich in Süss- und Sauerrahmbutter durchschnittlich in gleicher Weise vermehren. Diesen Schluss bestätigen die in Tabelle 19 zusammengefassten Versuche, die zeigten, dass der grössere Teil der im vorliegenden Versuch nachgeprüften Sprosspilzstämmen ebenso gut auf Agar mit dem pH-Wert 6,65 wie auf solchem mit dem pH-Wert 4,47 wuchs, welche pH-Werte ungefähr dem pH-Werte des fettfreien Teiles der Sauer- und der Süssrahmbutter entsprechen; denn den einzelnen Bestimmungen zufolge betrug der pH-Wert des fettfreien Teiles der frischen Versuchsbutter bei der Sauerrahmbutter 4,74—4,92 und bei der Süssrahmbutter 6,29—6,60.

Diskussion.

In der vorliegenden Arbeit sind 356 Sauerrahmbutterproben auf ihren Sprosspilzkeimgehalt untersucht worden. Von diesen Butterproben stammten 73 aus Molkereien Schleswig-Holsteins und 283 aus Molkereien Estlands. Das Alter von 265 Butterproben betrug 1—7 Tage, während 18 Proben 10—15 Tage alt waren. Der Gehalt an Sprosspilzkeimen war je nach den Butterproben sehr schwankend: so enthielt die schleswig-holsteinische Butter pro Gramm < 1000 — $11.300.000$ Sprosspilzkeime und die estnische Butter 0 — $4.650.000$ Sprosspilzkeime. Der Gehalt der Butter an Sprosspilzkeimen hing in hohem Grade von der Temperatur der Aussenluft ab; so enthielt die in der warmen Jahreszeit hergestellte Butter merklich mehr Sprosspilzkeime, als die in der kalten Jahreszeit hergestellte. Durchschnittlich enthielt die Butter aus Molkereien, die gewöhnlich hochwertige Butter herstellen, weniger Sprosspilze, als die Butter aus Molkereien, wo häufig Butter schlechterer Qualität hergestellt wird.

Die Vermehrung der Sprosspilze in den Butterproben, die 2 Wochen lang in einem Raum mit einer Temperatur von $+9^{\circ}$ — $+14^{\circ}$ C gehalten wurden, hing in hohem Grade von dem anfänglichen Gehalt der Butterproben an Sprosspilzkeimen ab; so war die Zunahme der Sprosspilzkeime, in Prozenten des anfänglichen Keimgehalts berechnet, bei den Butterproben im Mittel um so geringer, je mehr die Proben beim Beginn der Lagerung Sprosspilzkeime enthalten hatten.

Zwischen dem Gehalt der einige Tage alten Butter an Sprosspilzkeimen und der Butterqualität konnte man eine gewisse Beziehung konstatieren, denn Butterproben mit geringem Gehalt an Sprosspilzen schätzte man durchschnittlich höher, als solche mit höherem Gehalt an Sprosspilzen. Eine ebensolche Beziehung konnte man konstatieren auch zwischen der Haltbarkeit der Butter und dem Gehalt an Sprosspilzen; Butterproben mit hohem Gehalt an Sprosspilzen waren nämlich während des 2wöchigen Haltbarkeitsversuchs bei $+9^{\circ}$ — $+14^{\circ}$ C weniger haltbar, als solche mit niedrigem Sprosspilzgehalt. Hinsichtlich der Beziehung zwischen den Butterfehlern und dem Gehalt an Sprosspilzkeimen zeigte es sich, dass eine Beziehung zwischen Gär- und gärsauerm Geschmack und Geruch und dem Sprosspilz-

keimgehalt besteht, denn bei Butterproben mit geringem Sprosspilzgehalt kamen bei den Haltbarkeitsversuchen derartige Butterfehler überhaupt nicht vor, während von den Butterproben mit mehr als 1.000.000 Sprosspilzkeimen pro Gramm 45,5% solche Fehler aufwiesen.

Um eine Übersicht zu gewinnen über die Pilzgattungen, zu denen die in der Butter vorkommenden Sprosspilze gehören, isolierte ich aus 35 Butterproben, die aus 17 Molkereien Schleswig-Holsteins stammten, 247 Sprosspilzstämmen und aus 9 von 9 Molkereien Estlands stammenden Butterproben 36 Sprosspilzstämmen; zusammen isolierte ich demnach 283 Sprosspilzstämmen. Die isolierten Sprosspilze gehörten zu folgenden Pilzgattungen: 1) *Mycotorula* Will, 2) *Torulopsis* (Berlese) Janke, 3) *Pseudomonilia* Geiger, 4) *Saccharomyces* Meyen, 5) *Sporobolomyces* Kluyver und van Niel und 6) *Oospora* Wallr. Nach ihren morphologischen und physiologischen Merkmalen teilte ich die Pilze in 13 Gruppen ein; von diesen Pilzgruppen kamen 11 sowohl in der Butter Schleswig-Holsteins als auch in derjenigen Estlands vor. In der Butter traten am häufigsten auf *Torulopsis*-Hefen mit kugelförmigen bzw. elliptischen Zellen (die Gruppen 4 und 5) und 2 *Mycotorula*-Hefengruppen (die Gruppen 1 und 2); diese häufiger auftretenden Sprosspilzgruppen stimmen nach ihrer morphologischen Beschreibung überein mit den von Orla-Jensen²⁰⁾ und anderen früher aus Butter isolierten Hefengruppen. Einige seltener in der Butter vorkommende Sprosspilzgruppen werden erstmalig hier beschrieben (aus der *Pseudomonilia*-Gattung Gruppe 8 und 9, aus der *Saccharomyces*-Gattung Gruppe 11 und aus der *Sporobolomyces*-Gattung Gruppe 12).

Unter den aus Butter isolierten Sprosspilzstämmen wählte ich 33 Stämme zu ergänzenden physiologischen Untersuchungen aus und zur Klärung der Frage, ob die Sprosspilze Butterschädiger sind oder nicht. Schon bei den Vorversuchen zeigte es sich, dass viele Pilzstämmen Milchbestandteile, wie Fett, Kasein und Milchzucker, zersetzen und somit wahrscheinlich Butterschädiger sind. Von den physiologischen Eigenschaften der Sprosspilze untersuchte ich ergänzend: 1) das Gärvermögen der Pilze in Zuckerlösungen, 2) den Einfluss der Pilze auf den Säuregrad der Milch, 3) den Einfluss der Konzentration des Kochsalzes auf das Wachstum der Sprosspilze, 4) den Einfluss der Reaktion

des Nährsubstrats auf das Wachstum der Sprosspilze und 5) den Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Sprosspilze. Als Resultat der Gärversuche ist anzuführen, dass es unter den ausgewählten Stämmen keine Maltose vergärenden Pilze gab; daraus wäre zu entnehmen, dass die in der Gärungsindustrie auftretenden Hefen, besonders die Kulturhefen, sich in der Butter nicht zahlreich finden. Manche Disaccharide vergärende Pilzstämmen vergärten nicht beide Komponenten derselben, so z. B. vergärte der Pilzstamm IV—13 Lactose und Galactose, aber nicht Dextrose. Derartige Fälle sind bisher nur selten beobachtet worden. In Magermilch übten von 32 Pilzstämmen 7 im Laufe von 30 Tagen keinen bemerkenswerten Einfluss auf die Reaktion und die Farbe der Milch aus; 15 Pilzstämmen erniedrigten deutlich den Säuregrad der Milch, manche von ihnen machten die Reaktion der Milch gegen Phenolphthalein alkalisch, die Mehrzahl dieser Stämme zersetzte Kasein; 9 Pilzstämmen erhöhten den Säuregrad der Milch (zu den letzteren gehörten alle Milchzucker vergärenden Hefen). Dem Nähragar zugesetztes Kochsalz hemmte kräftig das Wachstum der Pilze auf Agar. Bei 12% NaCl-Gehalt des Agars entwickelten sich von 32 Pilzstämmen nur 15; auch ihr Wachstum war dabei stark gehemmt. Auf 20% NaCl enthaltendem Agar entwickelten sich nur 5 Pilzstämmen, und auch diese nur schwächlich. Am besten ertrugen die hohe NaCl-Konzentration die kugelförmigen *Torulopsis*-Hefen (Gruppe 4). Auch in der Butter hemmte NaCl das Wachstum der Sprosspilze, ebenso wie auf Agar; dabei war für die Butter nicht mit dem NaCl-Gehalt der ganzen Butter, sondern mit dem NaCl-Gehalt der Butterlake, der 6—8 mal höher ist als ersterer, zu rechnen. Durch Zusetzen von $1\frac{1}{2}$ —3% NaCl zur Butter ist es möglich, die Vermehrung der Sprosspilze in der Butter zu hemmen und den durch diese Pilze veranlassten Butterfehlern vorzubeugen. Veränderungen der Reaktion des Nähragars in den Grenzen des pH-Wertes 3,50—6,65 äusserten auf das Wachstum der Sprosspilze keinen grösseren Einfluss, aber auf Agar mit dem pH-Wert 7,01 entwickelten sich fast alle Sprosspilze etwas langsamer. Es lässt sich hieraus folgern, dass Agar mit dem pH-Wert 3,5 zur Bestimmung des Sprosspilzkeimgehalts der Butter gut geeignet ist und dass wahrscheinlich kein grosser Unterschied zwischen der Vermehrung der Sprosspilze in der Süss- und in der Sauerrahmbutter besteht. Die Temperaturversuche ergaben, dass bei dem

grösseren Teil der Sprosspilze der Butter das Optimum für ihr Wachstum in den Grenzen 17° — 30° C, das Maximum zwischen 30° und 37° C und das Minimum zwischen $+8^{\circ}$ und $+5^{\circ}$ C, oder darunter liegt.

Zur Lösung der Frage, ob Sprosspilze Butterschädiger sind oder nicht, stellte ich aus sterilisiertem und dann mit Sprosspilzen infiziertem Rahm Butter her. Es zeigte sich, dass ein Teil der Sprosspilze (11 Stämme) Butter schädigt bei einer bis zu 1 Monat dauernden Lagerung bei 18° — 23° C (bei 13° — 17° C und 2wöchiger Lagerung schädigten merklich die Butter von den angegebenen Pilzstämmen noch 8 Stämme). In betreff eines anderen Teiles der Sprosspilze (13 Stämme) war es nicht möglich in dieser Hinsicht ein sicheres Urteil zu fällen, während ein dritter Teil (7 Stämme) aus Sprosspilzen bestand, die unter den gewährten Versuchsbedingungen an der Butterschädigung unbeteteiligt waren. Kein einziger der nachgeprüften Sprosspilzstämmen verbesserte den Wert der Butter in frischem Zustande, noch verlängerte er die Haltbarkeit der Butter. Butterschädiger fanden sich in jeder der in der Butter gefundenen Pilzgattungen. Die schlimmsten Butterschädiger waren die zur Gattung *Oospora* Wallr. gehörigen, in der 13. Gruppe beschriebenen Pilzstämmen, aber derartige Sprosspilze fanden sich in der Butter verhältnismässig selten. Da alle Milchzucker vergärenden Hefestämme der Butter Gärgeschmack und -geruch verliehen und sich damit als Butterschädiger erwiesen, so sind, wenn man das häufige Auftreten dieser Pilze in der Butter in Betracht zieht, die Milchzucker vergärenden Hefen unter den Sprosspilzen die wichtigsten Butterschädiger. Dass die Milchzucker vergärenden Hefen auch in der Praxis wichtige Butterschädiger sind, bestätigen die von der Ausfuhrkontrollstation für Milchprodukte in Tallinn ausgeführten Haltbarkeitsversuche an der Butter, bei denen ein grosser Teil der Butterproben mit hohem Gehalt von Sprosspilzen Gär- und gärsauren Geruch und Geschmack aufwies. Da in der Butter die am häufigsten vorkommenden Sprosspilze — die Gruppen 1, 2, 4, 5 — nicht nennenswerte Butterschädiger sind, so ist es verständlich, warum auch viele Butterproben mit hohem Gehalt an Sprosspilzen hochwertig und gut haltbar sind.

Die Frage, ob die Sprosspilze Butterschädiger sind oder nicht, untersuchte ich parallel an der Süss- und an der Sauerrahmbutter. Es zeigte sich, dass manche Sprosspilzstämmen stärker Süssrahm-

butter schädigten, andere wieder stärker Sauerrahmbutter. Beim Vergleich der Zunahme der Sprosspilzkeime in Süß- und in Sauerrahmbutter erwies es sich, dass die Zunahme der Sprosspilzkeime in beiden Buttersorten durchschnittlich gleich gross ist.

Wenn man die Resultate der Arbeit zusammenfasst, so kommt man zu dem Schlusse, dass die Sprosspilze in der Butter unerwünschte Mikroben sind, denn aus der vorliegenden Arbeit ergab sich: a) dass durchschnittlich Butterproben mit höherem Gehalt an Sprosspilzkeimen schon im Alter von einigen Tagen eine schlechtere Qualität aufwiesen als solche mit niedrigerem Gehalt an Sprosspilzkeimen, b) dass Butterproben mit höherem Gehalt an Sprosspilzkeimen durchschnittlich weniger haltbar waren als solche mit niedrigerem Gehalt an Sprosspilzkeimen, c) dass in den Butterproben des Haltbarkeitsversuchs die Butterfehler Gär- und gärsaurer Geruch und Geschmack um so häufiger auftraten, je mehr die Butter Sprosspilzkeime enthielt, d) dass in den aus sterilisiertem und mit Sprosspilzen infiziertem Rahm hergestellten Butterproben unter 31 Versuchssprosspilzstämmen 11 Stämme verschiedene Butterfehler veranlassten, während keiner dieser Pilzstämme die Eigenschaften der Butter verbesserte.

Zusammenfassung.

1. In der vorliegenden Arbeit ist in Molkereien Schleswig-Holsteins und Estlands hergestellte Butter auf ihren Gehalt an Sprosspilzen untersucht worden.

2. Die Zahl der Sprosspilze in der Butter hing in hohem Grade von der Temperatur der Aussenluft ab. In den Wintermonaten befanden sich in der Butter bedeutend weniger Sprosspilze als in den Sommermonaten.

3. In den einige Tage alten Butterproben konnte man eine Beziehung zwischen der Butterqualität und dem Gehalt an Sprosspilzkeimen konstatieren; es enthielten nämlich die besseren Buttersorten durchschnittlich weniger Sprosspilze als die Buttersorten von geringerem Wert.

4. Es konnte eine Beziehung konstatiert werden zwischen der Haltbarkeit der Butter und dem Gehalt an Sprosspilzkeimen, denn Butterproben mit höherem Sprosspilzgehalt waren durchschnittlich weniger haltbar als Butterproben mit geringerem Gehalt an Sprosspilzen.

5. Es liess sich konstatieren eine Beziehung zwischen den Butterfehlern Gär- und gärsaurer Geschmack und -geruch und dem Gehalt der Butter an Sprosspilzen, denn die angeführten Butterfehler traten in der Butter beim Haltbarkeitsversuch um so häufiger auf, je mehr die Butter Sprosspilze enthielt.

6. Bei den aus Butter isolierten Sprosspilzen wurde bestimmt, zu welcher Gattung sie gehören; die Pilze wurden nach ihren morphologischen und physiologischen Merkmalen in Gruppen geteilt.

7. Unter den aus der Butter isolierten Pilzstämmen wählte ich einige aus und prüfte folgende ihrer physiologischen Eigenschaften: a) ihr Vermögen Zucker zu vergären, b) ihren Einfluss auf den Säuregrad und das Aussehen der Milch, c) den Einfluss des Kochsalzgehalts des Nähragars und der Butter auf das Wachstum der Sprosspilze in den entsprechenden Medien, d) den Einfluss der Reaktion des Nähragars auf das Wachstum der Sprosspilze und e) den Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Sprosspilze.

8. Ich prüfte den Einfluss ausgewählter Sprosspilzstämmen auf Süss- und Sauerrahmbutter, die aus sterilisiertem Rahm hergestellt war, und verglich die Zunahme ihrer Keimzahl in der Süss- und der Sauerrahmbutter.

9. Bei den Butterversuchen erwies sich ein Teil der Sprosspilzstämmen als Butterschädiger, in betreff eines anderen Teiles der Stämme liess sich in dieser Beziehung kein sicheres Urteil abgeben, während ein dritter Teil der Stämme sich unter den gewährten Versuchsbedingungen im Sinne der Butterschädigung als unbeteiligt erwies. Kein einziger der Versuchssprosspilzstämmen verbesserte die Eigenschaften der Butter.

10. Unter den butterschädigenden Sprosspilzstämmen schädigten einige stärker die Süssrahmbutter, andere stärker die Sauerrahmbutter.

11. Bei den Versuchen nahm die Zahl der Sprosspilzkeime in der Süss- und in der Sauerrahmbutter ungefähr in gleichem Masse zu.

12. Wegen der Beziehungen zwischen der Zahl der Sprosspilzkeime und der Butterqualität sowie zwischen der Zahl der Sprosspilzkeime und der Haltbarkeit der Butter, und ferner weil die Versuche ergaben, dass viele Sprosspilzstämmen Butterschädiger sind, muss man die Sprosspilze in der Butter als unerwünschte Mikroorganismen ansehen.

Literaturnachweis.

- 1) Brown, C. W., Some actions of microorganisms upon the constituents of butter. Zbl. Bakter. II Ref. **31**, 69 f. (1912).
- 2) Demeter, K. J. und F. X. Maier, Über mikrobiologische Beschaffenheit und Qualitätsbefund von Sauerrahmbutter. Milchwirtsch. Forschungen **11**, 418—518 (1931).
- 3) Dombrowski, W., Die Hefen in Milch und Milchprodukten. Zbl. Bakter. II **28**, 345—403 (1910).
- 4) Fettick, O., Quantitative und qualitative Untersuchungen über die Bakterien, Hefen und Pilze der Butter und über den Einfluss des Kochsalzes auf dieselben. Arbeiten der Versuchsst. f. Molkereiw Kiel **1909**, H. 7.
- 5) Grimes, M., A study of the action of certain bacteria, yeasts and molds on the keeping quality of butter in cold storage. J. Dairy Sci. **6**, 427—445 (1923).
- 6) Gross, M., Tähtsamad võid infitseerivad pärmi- ja pärmilähedaste pungseente allikad mõnes kodumaa piimatalitises. Tartu 1931.
- 7) Henneberg, W., Die Wichtigkeit der Federstrichkulturen für die bakteriologischen Untersuchungen in milchwirtschaftlichen Laboratorien. Molkereiztg Hildesheim **1928**, Nr. 131.
- 8) Hunziker, O. F., The Butter Industry. La Grange, Illinois, 1927.
- 9) Janke, A., Allgemeine technische Mikrobiologie I. Die Mikroorganismen. Dresden u. Leipzig 1924.
- 10) Kluyver, A. J. und C. B. van Niel, Über Spiegelbilder erzeugende Hefearten und die neue Hefengattung *Sporobolomyces*. Zbl. Bakter. II **63** (1925).
- 11) Krüger, zitiert nach Sandelin²⁸).
- 12) Koroleff, zitiert nach Palladina und Masjukewitsch²²).
- 13) Lindner, P., Ordnung *Saccharomycetinae* in: Kryptogamenflora der Mark Brandenburg. Bd. VII. H. 1. Leipzig 1905.
- 14) Löhnis, F., Handbuch der landwirtschaftlichen Bakteriologie. Berlin 1910.
- 15) Macy, H., Mold and yeast counts and their relation to the composition of butter. J. Dairy Sci. **10**, 384—395 (1927).
- 16) Macy, H., Quantitative changes in the microflora of butter during the storage. J. Dairy Sci. **13**, 266—272 (1930).
- 17) Macy, H. and H. B. Richie, The mold and yeast count as an index of the keeping quality of butter. J. Dairy Sci. **12**, 351—366 (1929).
- 18) Mazé, P., Quelques nouvelles races de levures de lactose. Zbl. Bakter. II Ref. **12**, 312—314 (1904).

- 19) Orla-Jensen, Studien über das Ranzigwerden der Butter. Zbl. Bakter. II **8**, 248—252 (1902).
- 20) Orla-Jensen, Bakteriologische Studien über dänische Butter. Zbl. Bakter. II **29**, 610—616 (1911).
- 21) Orla-Jensen, Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. Jena 1913.
- 22) Palladina, O. K. und W. A. Masjukewitsch, Über die Einwirkung verschiedener Hefearten auf das Wachstum und die physiologischen Eigenschaften der Milchsäurebakterien und Schimmelpilze. Festschrift i Anl. af Prof. Dr. Phil. & Sc. Orla-Jensens Jubilæum som Forsker i et trediedel Aarhundrede og som Lærer ved den Polytek-niske Læreanstalt i et kvart Aarhundrede 89—95 (1931).
- 23) Pöllumajanduseturg **1930**, 169—173, 423—427.
- 24) Pöllumajanduseturg **1931**, 507, 527—528, 675—679, 695.
- 25) Rahn, O., C. Brown und L. M. Smith, Die Haltbarkeit der Butter in Kalthäusern. Zbl. Bakter. II **26**, 47—54 (1910).
- 26) Reinmann, R., Untersuchungen über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter. Zbl. Bakter. II **6**, 209—214 (1900).
- 27) Rogers, L. A., Über die Ursachen der bei in Büchsen verpackter Butter vorkommenden Zersetzungen. Zbl. Bakter. II **12**, 388—396, 597—602 (1904).
- 28) Sandelin, A. E., Die Hefen der Butter. Annales Acad. Sc. Fennicae A **12**, No. 6 (1919).
- 29) Sandelin, A. E., Über die Einwirkung einiger aus Butter isolierten Hefearten auf die Bestandteile der Milch. Annales Acad. Sc. Fennicae A **19**, No. 3 (1923).
- 30) Sandelin, A. E., Voinvalmistus. Helsinki 1928.
- 31) Sayer, W., O. Rahn und B. Farrand, Die Haltbarkeit der Butter in Kalthäusern. Zbl. Bakter. II **22**, 22—32 (1909).
- 32) Shutt, D. B., The relation between yeasts and moulds and the keeping quality of butter. J. Dairy Sci. **7**, 357—360 (1924).
- 33) Teichert, zitiert nach Löhnis¹⁴).
- 34) The World's Butter Review **1**, Nos. 5, 6, 7, 8 (1927).
- 35) Tiemann, zitiert nach Löhnis¹⁴).
- 36) Trüper, E., Über Milchzucker vergärende Hefen der Rohmilch. Milch-wirtsch. Forschungen **6**, 351—402 (1928).
- 37) Virtanen, A. I., Käyneen maku voissa. Karjantuote **11**, 727—733 (1928).
- 38) Weigmann, H., zitiert nach Dombrowski³).
- 39) Weigmann, H., Die Pilzkunde der Milch. Berlin 1924.
- 40) White, A. H. and E. G. Hood, A study on methods for determining numbers of moulds and yeasts in butter. I. The relation of the pH of the medium. J. Dairy Sci. **14**, 463—476 (1931).
- 41) Wojtkiewicz, A., E. Mischustin, E. Rudakow und Runow, Berichte der Bakt. Agr. Sta. Leningrad **1928**, Nr. 25.

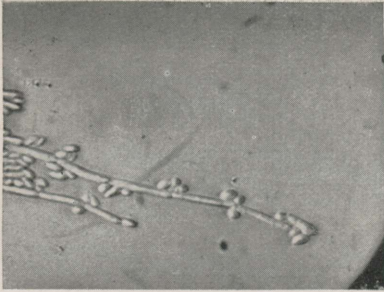


Abb. 1

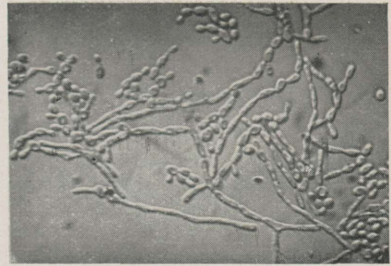


Abb. 2

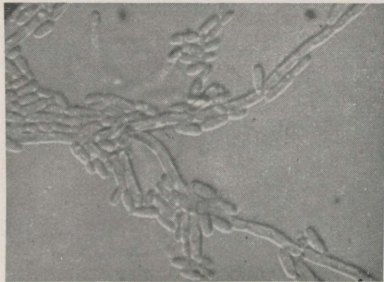


Abb. 3

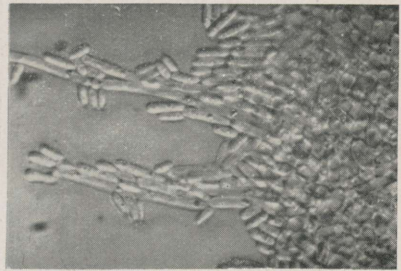


Abb. 4

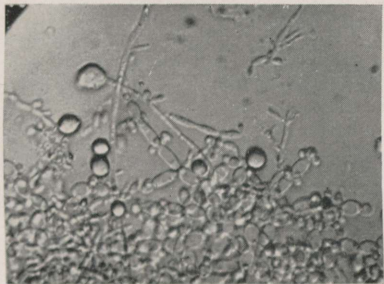


Abb. 5

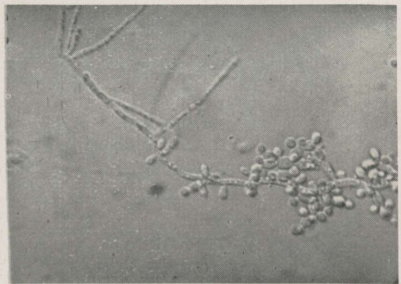


Abb. 6



Abb. 7



Abb. 8

Tafel II.

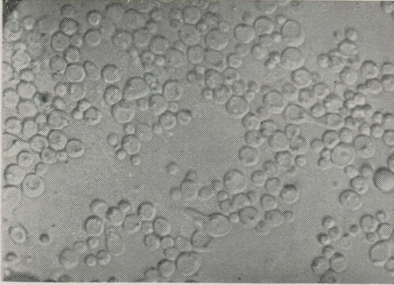


Abb. 1



Abb. 2

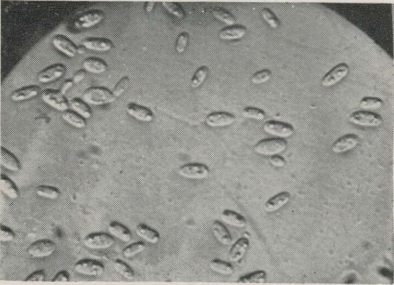


Abb. 3

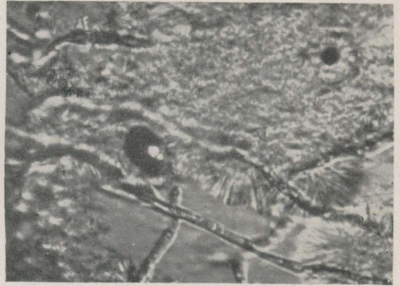


Abb. 4

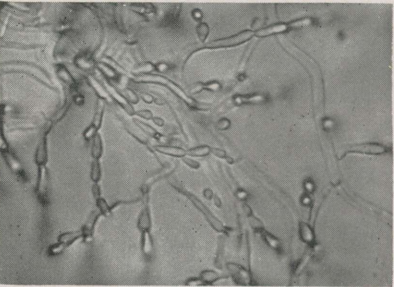


Abb. 5

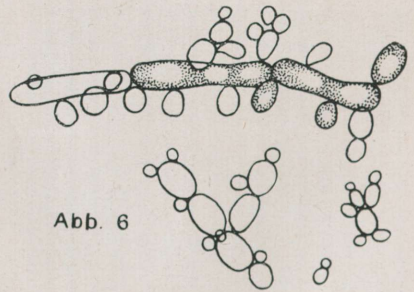


Abb. 6

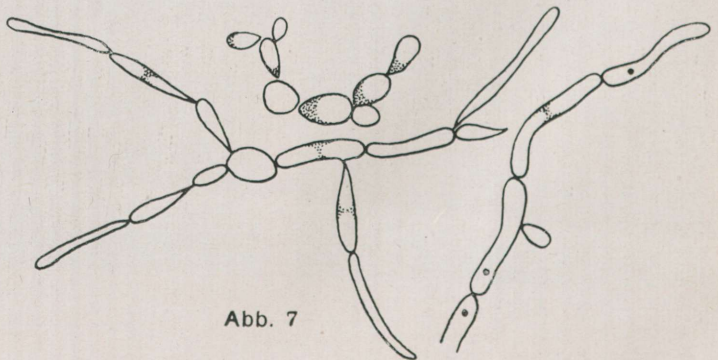


Abb. 7

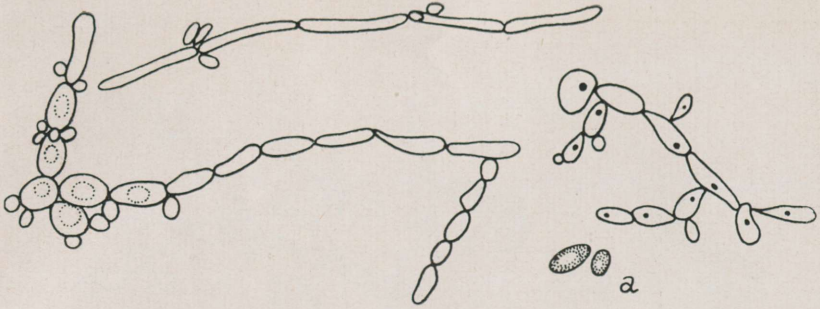


Abb. 1

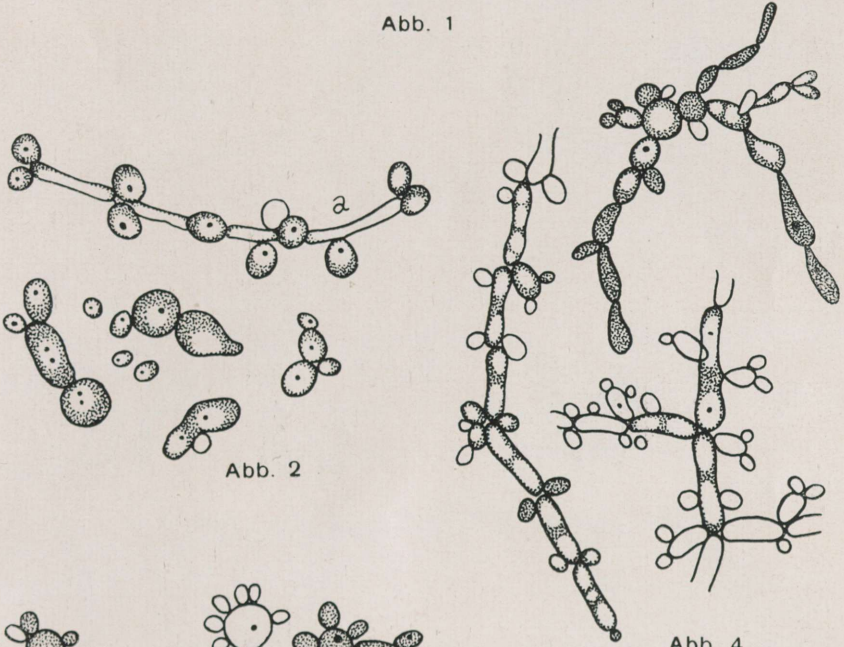


Abb. 2

Abb. 4

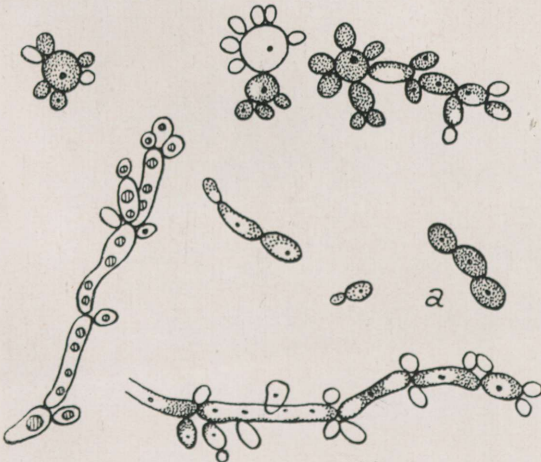


Abb. 3

Tafel IV.

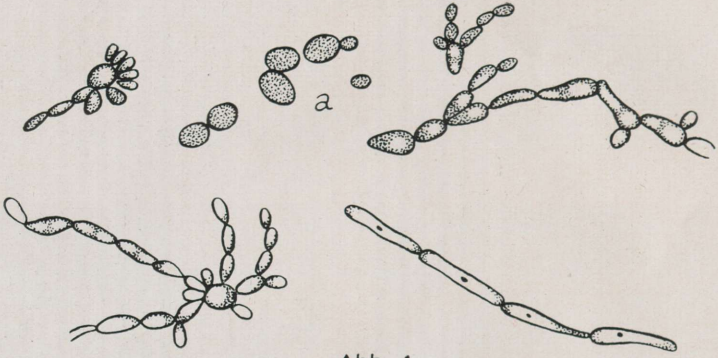


Abb. 1



Abb. 2



Abb. 3



Abb. 4



Abb. 5

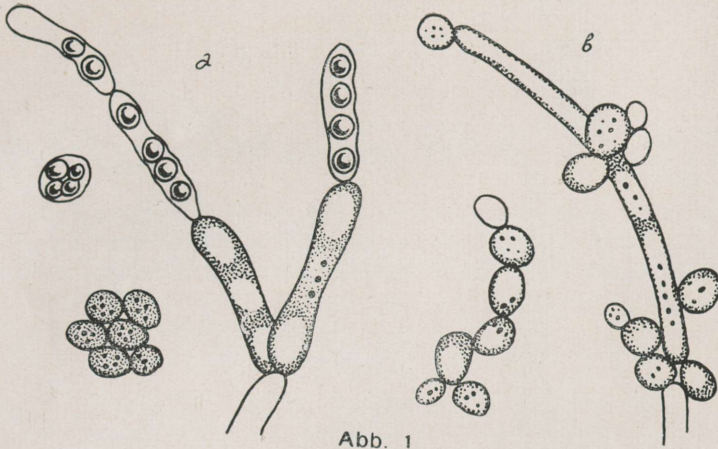


Abb. 1

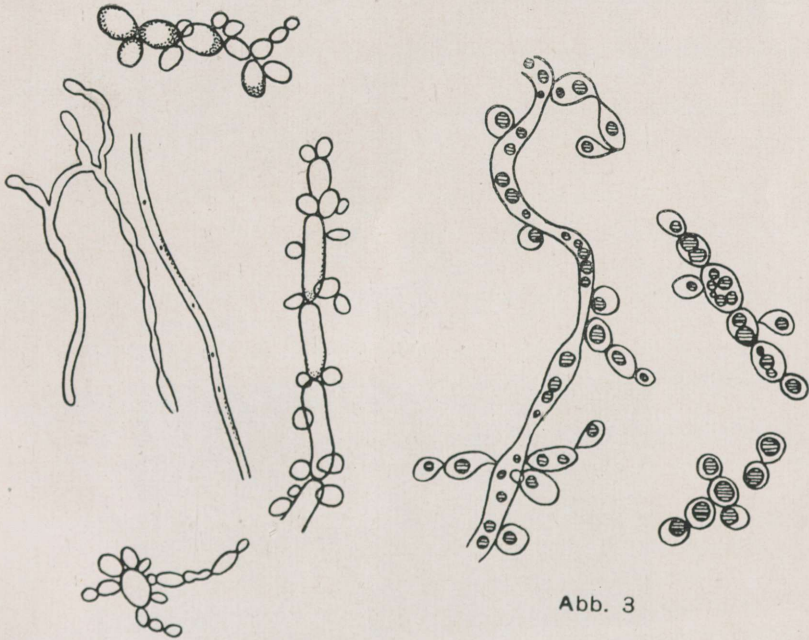


Abb. 2

Abb. 3

Tafel VI.

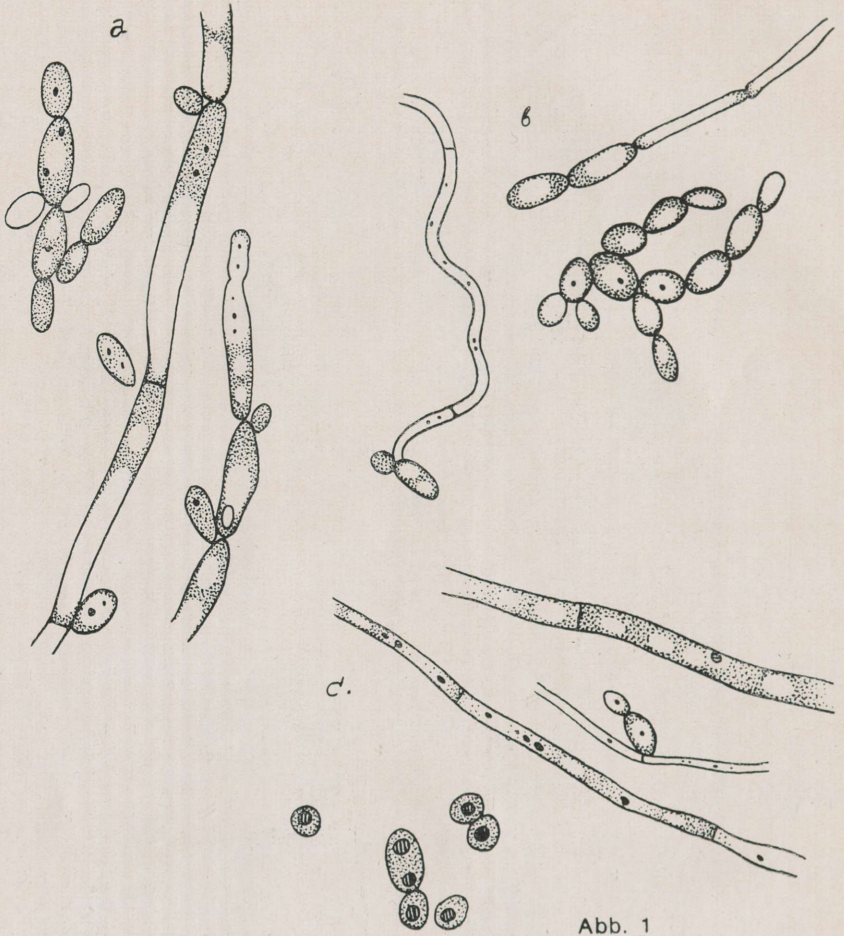
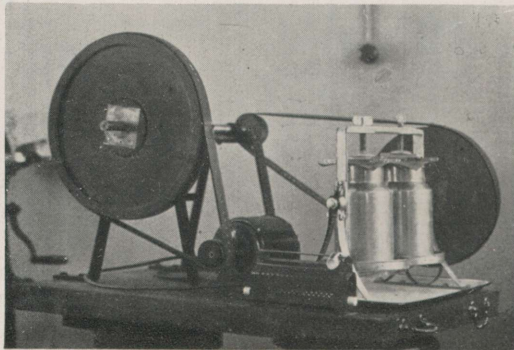


Abb. 1

Abb. 2



Erklärung der Tafeln.

Die auf den Tafeln I—VI abgebildeten Sprosspilze sind photographiert bei 500maliger und gezeichnet bei 900maliger Vergrößerung. Die Aufnahmen sind gemacht im Bakteriologischen Institut der Preussischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft zu Kiel. Die Zeichnungen sind ausgeführt mit Hilfe des Zeiss'schen Zeichenapparats.

T a f e l I.

- Abbildung 1: Stamm IV—2 der *Mycotorula*-Gattung auf Würzeagar.
" 2: Stamm VI—7 der *Mycotorula*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.
" 3: Stamm IV—19 der *Mycotorula*-Gattung auf Würzeagar.
" 4: Stamm IX—9 der *Mycotorula*-Gattung auf Würzeagar.
" 5: Stamm II—14 der *Pseudomonilia*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur. Vergleiche Tafel V, Abb. 2.
" 6: Stamm XV—4 der *Pseudomonilia*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.
" 7: Stamm II—22 der *Pseudomonilia*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur. Auf der Abbildung sind nur hefenförmige Zellen zu sehen. Vergleiche auch Tafel V, Abb. 3.
" 8: Stamm VIII—14 der *Pseudomonilia*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.

T a f e l II.

- Abbildung 1: Stamm II—1 der *Saccharomyces*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.
" 2: Stamm XIII—2 der *Saccharomyces*-Gattung auf Würzeagar. In einzelnen Langsprossen sind Sporen sichtbar. Vergleiche auch Tafel V, Abb. 1.
" 3: Stamm X—10 der *Sporobolomyces*-Gattung in einfachem Klatschpräparat. Das Präparat wurde aus einer Würzeagar-Kolonie hergestellt.
" 4: Stamm II—7 der *Oospora*-Gattung in Butter. Man sieht Kristalle der Fettsäuren des zersetzten Butterfetts. Vergleiche auch Tafel VI, Abb. 1.
" 5: Stamm XI—15 der *Oospora*-Gattung auf Würzeagar.
" 6: Stamm II—10 der *Mycotorula*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.
" 7: Stamm II—21 der *Mycotorula*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.

Tafel III.

- Abbildung 1: Stamm III—14 der *Mycotorula*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur. Die Zellenform a dominiert.
- „ 2: Stamm III—18 der *Mycotorula*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur. Die Form a ist in Vollmilchfederstrichkultur selten, aber in Würze häufig vertreten.
- „ 3: Stamm VI—14 der *Mycotorula*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur. In Würze ist nur die Form a vertreten.
- „ 4: Stamm IX—7 der *Mycotorula*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.

Tafel IV.

- Abbildung 1: Stamm XII—10 der *Mycotorula*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur. Es dominiert die Zellenform a.
- „ 2: Stamm VI—8 der *Torulopsis*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.
- „ 3: Stamm VIII—8 der *Torulopsis*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.
- „ 4: Stamm V—15 der *Torulopsis*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.
- „ 5: Stamm I—4 der *Torulopsis*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur.

Tafel V.

- Abbildung 1: Stamm XIII—2 der *Saccharomyces*-Gattung. Form a ist vertreten auf Würzeagar und Form b in Vollmilchfederstrichkultur. In mehreren Zellen bei Form a sind Sporen sichtbar. Langsprosse kommen in Vollmilchfederstrichkultur nur selten vor. Vergleiche auch Tafel II, Abb. 2.
- „ 2: Stamm II—14 der *Pseudomonilia*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur. Vergleiche auch Tafel I, Abb. 5.
- „ 3: Stamm II—22 der *Pseudomonilia*-Gattung in Vollmilchfederstrichkultur. Vergleiche auch Tafel I, Abb. 7.

Tafel VI.

- Abbildung 1: Stamm II—7 der *Oospora*-Gattung. Form a in Vollmilchfederstrichkultur, Form b im hängenden Würzetropfen und Form c in Molke. Vergleiche auch Tafel II, Abb. 4.
- „ 2: Laboratoriumsbuttermaschine des Milchwirtschaftlichen Kabinetts der Universität Tartu.

Inhalt.

Vorwort	3
A. Einleitung	5
B. Der Sprosspilzkeimgehalt der Butter	6
Änderungen des Sprosspilzkeimgehalts der Butter bei der Butter- aufbewahrung	11
Beziehung zwischen Sprosspilzzahl und Butterqualität	13
Beziehung zwischen dem Gehalt der Butter an Sprosspilzen und den Butterfehlern	18
Systematische Übersicht über die aus der Butter schleswig-holstei- nischer und estnischer Molkereien isolierten Sprosspilze	20
Physiologische Eigenschaften ausgewählter Sprosspilzstämme nach vorbereitenden und ergänzenden Versuchen	37
1) Zusammenfassung der physiologischen Eigenschaften nach den Vorversuchen	37
2) Physiologische Eigenschaften der Sprosspilze auf Grund der ergän- zenden Versuche	37
a) Eigenschaften der Sprosspilze bezüglich der Vergärung von Zucker	39
b) Einfluss der Sprosspilze auf den Säuregrad der Milch	41
c) Einfluss des Kochsalzgehalts des Nähragars und der Butter auf das Wachstum der Sprosspilze in den entsprechenden Medien	43
d) Einfluss der Reaktion des Nähragars auf das Wachstum der Sprosspilze auf ihm	50
e) Einfluss der Temperatur auf das Wachstum der Sprosspilze	52
Der Einfluss der einzelnen Sprosspilzstämme auf die Butter	53
Der Sprosspilzkeimgehalt der Versuchsbutter und seine Veränderun- gen bei der Aufbewahrung der Butter	66
C. Diskussion	69
D. Zusammenfassung	73
Literaturnachweis	75
Erklärung der Tafeln	77

+

i Est.
A-7793