

Beiheft

zum

Tropenpflanzer

Zeitschrift für das Gesamtgebiet der Land- und Forstwirtschaft warmer Länder

Organ des
Kolonial-Wirtschaftlichen Komitees E.V.

Begründet von
O. Warburg und F. Wohltmann

Herausgegeben von
A. Zimmermann Geo. Schmidt

Neue Untersuchungen und Versuche über die Fermentation des Kakaos

Von

Dr. W. Busse
Prof. Dr. W. Henneberg
Prof. Dr. T. Zeller

Preis 3 RM.

Nachdruck und Übersetzung nur mit Qualifizierung gestattet

Im Selbstverlag des Kolonial-Wirtschaftlichen Komitees
Berlin W19, Viktoriastr. 10

Buchhändlerischer Vertrieb durch
E. S. Mittler & Sohn





Kolonial-Wirtschaftliches Komitee

Berlin W 10, Viktoriastraße 33

Beiheft 1 zum „Tropenpflanzer“, Jahrgang XXXII, Nr.12, Dezember 1929

**Neue Untersuchungen
und Versuche
über die Fermentation
des Kakaos**

Von

Dr. W. Busse

Prof. Dr. W. Henneberg

Prof. Dr. T. Zeller



7. 2. 1951 110p. 3

Wojewódzki Instytut Literacki
ul. Władysława IV 1
80-001 Gdańsk

Uzasadnienie

Wzrost i kultura

1951



~~C111535~~

eu 16251



D5/A/070 2-

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Einleitung von W. Busse	5
-----------------------------------	---

Erster Teil:

Biologische Untersuchungen über die Kakaofermentation, ausgeführt im Bakteriologischen Institut der Preußischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel.

Mitgeteilt von Professor Dr. W. Henneberg.

I. Biologische Analysen der in Kamerun ausgeführten Versuchsfermentierungen	12
A. Art der Einsendung und Untersuchung in Kiel	12
B. Analyseergebnisse	13
1. Fermentierung z. T. unter Zusätzen von Reinzuchthefen	13
Schlußfolgerungen	21
2. Verwendung von Trockenhefen	22
3. Verwendung von Pilzgiften	23
a) Versuche mit dem Milchsäurepilz und Milchsäure	23
b) Versuche mit schwefliger Säure (Sulfoliquid)	24
c) Versuche mit Kaliummetabisulfit	26
d) Versuche mit anderen Giften	26
II. Untersuchungen an Kakaobohnen	27
A. Untersuchungen an Kakaobohnen aus Kamerun	27
1. Einwirkung auf die Ablösung der Pulpa	29
2. Untersuchung von unfermentierten Kakaobohnen	29
3. Nachgärungsversuche	30
4. Trocknungsversuche	30
B. Untersuchung der Kakaobohnen verschiedener Länder	31
1. Schliffige Bohnen	31
2. „White-spot“	32
III. Die Pilzarten der Kakaofermentation und der fermentierten Bohnen	32
Untersuchungen an Reinkulturen	32
A. Hefepilze	32
B. Essigbakterien	36
1. Untersuchungen über das Säuern in der Flüssigkeit	38
2. Versuche über Oxydation der Essigsäure („Entsäuerung“)	38
3. Einfluß der Essigsäure auf die Hefe	40
C. Milchsäurebakterien	41
D. Sporenbildner	41
E. Schimmelpilze	42
IV. Optimal- und Maximaltemperaturen der Pilze und die Fermentierungstemperatur	45
Schluß: Zusammenfassung und Richtlinien für weitere Untersuchungen in der Praxis	47

Zweiter Teil:

Versuchsergebnisse im Produktionsgebiet.

Von Professor Dr. T. Zeller.

Vorbemerkungen	51
I. Einfluß von Wetter, Temperatur, Masse und Durchlüftung des Gärgutes auf den normalen Gärverlauf	51
II. Einfluß des Zusatzes von Reinhefen und Hefenährlösung zum Gärgut auf den Gärverlauf	54
III. Die Wirksamkeit einheimischer Kamerunhefen	58
IV. Die Wirksamkeit von Trockenhefen	70
V. Einfluß des Zusatzes von Bac. Delbrücki und Milchsäure zum Gärgut	75
VI. Einfluß des Zusatzes chemischer Desinfektionsmittel auf den Gärverlauf	78
VII. Ein neues Fermentationsverfahren ohne Zusatz zum Gärgut .	82
VIII. Aufbereitung frischer Kakaobohnen durch Hitze	85
IX. Schluß	87

Einleitung.

Von W. Busse.

Ausgehend von der allgemein bestätigten Tatsache, daß der Kakaoaufbereitung in einigen Produktionsgebieten noch manche, die Güte des Produktes mehr oder weniger herabsetzende Mängel anhafteten, und daß verschiedene, schon vor dem Weltkrieg gewonnene Ergebnisse wissenschaftlicher Untersuchungen und praktischer Versuche nicht genügend ausgewertet worden waren, um die Methodik der Aufbereitung in jenen Gebieten zu verbessern, habe ich vor nunmehr fünf Jahren den Versuch gemacht, den gesamten Fragenkomplex einmal kritisch zu beleuchten und gleichzeitig die damals noch offenen Probleme herauszuheben¹⁾.

Vor allem lag mir daran, die Fragestellung bei der Fermentation des Kakaos von gewissen begrifflichen Unklarheiten zu befreien, die sich auf Grund abweichender theoretischer Deutung der einzelnen, sich dabei abspielenden Vorgänge und der von ihnen hervorgerufenen Erscheinungen allmählich eingenistet, und die dazu beigetragen hatten, den Fortschritt zu hemmen.

Naturgemäß verlangten bei einer derartigen Untersuchung die bei der Fermentation mitspielenden Gärungsvorgänge und nicht minder deren Erreger eine besonders gründliche Betrachtung. Handelt es sich doch — wenigstens bei der gewöhnlichen Durchführung dieser Phase der Kakaoaufbereitung — um typische Formen „wilder“ Gärungen; d. h. die Gärungserreger werden nicht in ausgewählten Arten oder Rassen planmäßig in den Prozeß eingeführt, sondern gelangen in Gemischen verschiedener Zusammensetzung und in wechselnden Mengen wahllos in das Gärgut. Über Art und Zahl der im Anfang mitwirkenden Organismen entscheidet also meistens der Zufall.

Die Versuche von Preyer und von Nicholls, sofort bei Beginn der Gärung den Verlauf der Vorgänge dadurch bestimmend zu beeinflussen, daß dem Kakao jeweils gewisse Mengen von Reihefen zugesetzt wurden, die sie aus fermentierendem Kakaomaterial isoliert und in Reinzucht vervielfältigt hatten, waren nicht zu weiterer Auswirkung in der Praxis gelangt, zunächst deswegen, weil die Entdecker sich diesen Arbeiten nicht länger widmen konnten, und auch, weil nach auswärts versandte Reinkulturen in

¹⁾ W. Busse, Ursachen und Wirkungen bei der Aufbereitung des Kakaos. „Tropenpflanzer“. 27. Jahrg. (1924), S. 69 ff.

den anderen Produktionsgebieten nicht richtig angewandt wurden. Vor allem aber zogen jene beachtenswerten Versuche keine weiteren Kreise, weil man allgemein glaubte, daß die Isolierung der an der Kakaofermentation beteiligten Hefen nur an Ort und Stelle aus dem Gärgut isoliert werden könnten, sich hierzu aber nur in den wenigsten Produktionsgebieten die nötigen Einrichtungen (wissenschaftliche Versuchsstationen usw.) befanden.

Hatten Preyer und Nicholls zwar die Anfangsgründe zur Anwendung moderner Verfahren der Gärungsphysiologie und Gärtechnik in der Kakaofermentation gelegt, so fehlte es doch noch vollkommen an einer gründlichen gärungsphysiologischen Erforschung der höchst verwickelten Vorgänge, welche durch das Zusammen- oder Gegeneinanderwirken der verschiedenen Ansiedlerorganismen im gärenden Kakao ausgelöst und beeinflußt werden. Vor allem fehlte es — abgesehen von nur wenigen exakten Beobachtungen — überhaupt an der Kenntnis der Lebensbedingungen derjenigen Hefen, welche als Erreger und Träger der Alkoholgärung die erste Phase der Kakaofermentation beherrschen — oder wenigstens beherrschen sollen. Da nun aber gerade der richtige Verlauf dieser ersten Phase und ihre Dauer von einschneidender Bedeutung für die Beschaffenheit des Kakaos werden können, erschien ein gründliches Studium der daran beteiligten Hefen als unerläßliche Voraussetzung für eine zweckmäßige Gärungsführung.

Ferner führte der Umstand, daß in verschiedenen Produktionsgebieten die Kakaofermentation durch Fremdorganismen mehr oder weniger empfindliche Störungen erleidet, welche die Güte des Produkts höchst nachteilig beeinflussen können, zu der Forderung, auch diese Organismen bezüglich ihrer Lebensbedingungen näher zu untersuchen. Nur auf diesem Wege konnte man zu geeigneten Mitteln gelangen, um gefährliche Nebengärungen wirksam zu bekämpfen.

Vor allem gilt das für die Essiggärung, die in einzelnen Gebieten bekanntlich allen Anstrengungen zu ihrer Überwindung so hartnäckigen Widerstand entgegengesetzt hatte, daß die Klagen über sauren Kakao nicht mehr verstummen wollten. Für eine wirklich planmäßige Bekämpfung fehlten aber noch jegliche Unterlagen, solange man über das biologische Verhalten der Essigbakterien aus jenen Tropengebieten nichts wußte und die in der übrigen Gärtechnik längst gebräuchlichen Vorbeugungsmittel bei der Kakaofermentation noch nicht erprobt hatte.

Hatte mich die theoretische Durchdringung des gesamten Fragen- und Aufgabenkreises von der Notwendigkeit überzeugt, all-

gemein bekannte und bewährte gärungsphysiologische Untersuchungsmethoden auf die Kakaofermentation und ihre Erreger und Begleitorganismen anzuwenden und gewisse gärungstechnische Erfahrungen aus vervollkommenen Betrieben verschiedener Art mindestens versuchsweise auch hierbei zu erproben, so versprach ich mir andererseits von der Einführung von Reinhefen in die Kakaofermentation Aussicht auf Erfolg.

Und die Tatsache, daß zahlreiche andere Hefen Dauerformen bilden, deren Entwicklungs- und Fortpflanzungsfähigkeit weder durch höhere Wärmegrade noch durch Belichtung und Trockenheit zerstört wird — wenigstens bis zu einem gewissen Grade —, legte mir die Vermutung nahe, daß solche Dauerformen auch bei den Kakaohefen auftreten könnten. Traf das zu, so war aber mit ziemlicher Sicherheit damit zu rechnen, daß sie sich auch auf ungeröstetem Rohkakao des Handels vorfinden mußten, selbstverständlich unter der Voraussetzung, daß das Material nicht bei einer unzulässig hohen Temperatur getrocknet worden war, der auch die Dauerformen nicht widerstehen.

Durch einfache Tastversuche mußte über das Vorhandensein lebender Hefezellen auf dem Rohkakao Aufschluß erhalten werden können. Fielen diese Versuche positiv aus, so hatte man es in der Hand, die Kakaohefen auch außerhalb der Produktionsgebiete zu isolieren, sie in Reinkultur weiter zu züchten und ihre Lebensbedingungen genauer zu studieren. Ferner mußte man überall dort, wo die entsprechenden Einrichtungen dazu vorhanden sind, auch Reinhefen dieser Art in beliebigen Mengen gewinnen können, um sie in den Produktionsgebieten zu Versuchen im großen zu verwenden, eventuell sogar in die Praxis der Kakaofermentation einzuführen.

Endlich war zu prüfen, ob nicht auch die Fremdorganismen der Kakaofermentation, vor allem die Erreger schädlicher Nebengärungen dem Rohkakao noch anhafteten und ebenfalls isoliert und eingehend untersucht werden konnten. Ihr Studium erschien mir, namentlich im Hinblick auf die schon erwähnten schädigenden Einflüsse der Essiggärung in gewissen Produktionsgebieten, ebenso wichtig wie die biologische Untersuchung der Kakaohefen.

Vom rein wissenschaftlichen Standpunkt aus betrachtet, mußten derartige Untersuchungen unter allen Umständen größtes Interesse bieten, da es sich bei den fraglichen Organismen — sowohl

Hefen wie Bakterien — ausschließlich um Kleinlebewesen aus den Tropen handelt, von deren geographischer Verbreitung, biologischem Verhalten, Temperatur- und Ernährungsansprüchen usw. wir, bis auf die noch lückenhaften früheren Beobachtungen an einigen wenigen Kakaohefen, überhaupt noch nichts wußten.

Zu meiner großen Freude brachte Herr Prof. Dr. H e n n e b e r g, Direktor des Bakteriologischen Instituts der Preußischen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel, den von mir aufgeworfenen Fragen sofort sein lebhaftes Interesse entgegen und erklärte sich bereit, sie in seinem Institut in Angriff zu nehmen.

Schon die ersten, gegen Ende des Jahres 1924 daselbst vorgenommenen Tastversuche ergaben die Anwesenheit von Hefen und anderen Mikroorganismen auf verschiedenen Proben von Rohkakao des Handels, die unter allen nur möglichen Vorsichtsmaßregeln aus den bis dahin nicht geöffneten Verschiffungssäcken entnommen worden waren.

Es handelte sich nunmehr darum, die angeregten wissenschaftlichen Untersuchungen in Kiel auf breiterer Unterlage auszuführen, sowohl hinsichtlich des Ausgangsmaterials als auch der Art der Untersuchungen selbst.

Dazu waren aber noch gewisse wichtige Voraussetzungen zu erfüllen.

Als staatliche Anstalt verfügt das Kieler Institut nur über einen bescheidenen Etat und war um so weniger in der Lage, irgendwelche Aufwendungen an Personal- und Materialunkosten für die vorliegenden Zwecke zu machen, als es in erster Linie den Aufgaben des Molkereiwesens zu dienen hat. Grundsätzliche Bedenken wegen der Abschweifung auf ein abseits liegendes Arbeitsgebiet waren schnell aus dem Wege geräumt, indem erfreulicherweise der damalige Dezernent im Preußischen Landwirtschaftsministerium, Herr Geh. Ober-Reg.-Rat Dr. O l d e n b u r g, dem auch an dieser Stelle für sein verständnisvolles Entgegenkommen nochmals gedankt sei, angesichts der Bedeutung der fraglichen Arbeiten alsbald sein Einverständnis erklärte.

Es handelte sich also nur noch um die Beschaffung der nötigen Geldmittel. In Erkenntnis der Bedeutung der geplanten Arbeiten machte nunmehr das Kolonial-Wirtschaftliche Komitee die Angelegenheit zu der seinigen.

Dabei hatte sich das Komitee des bereitwilligen Entgegenkommens angesehener Firmen der deutschen Kakao- und Schokoladenindustrie sowie des Herausgebers des „Gordian“, Herrn M a x R i e c k, vor allem aber der großzügigen Mitwirkung der K a k a o - E i n k a u f s - G e s e l l s c h a f t in Hamburg zu erfreuen, deren

Direktor, Herr E. Wiehr, sich warm für die Wünsche des Komitees einsetzte und es erreichte, daß seine Gesellschaft nicht nur als zentrale Instanz für die Aufbringung der Mittel wirkte, sondern auch als Spenderin an die erste Stelle trat. Hiermit erst wurde die Durchführung der Arbeiten gesichert.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, namens des Komitees, dessen Geschäftsführung mir damals oblag, auch hier noch einmal Herrn Direktor Wiehr sowie allen anderen beteiligten Stellen für ihre so wertvolle Mithilfe aufrichtig zu danken.

Im Januar 1925 wurden die Untersuchungen in Kiel, über die Herr Prof. Henneberg nachstehend berichten wird, begonnen. Das Kakaomaterial dazu — eine reichhaltige Kollektion von Proben aus fast allen Produktionsgebieten der Erde — wurde in dankenswerter Weise von einigen großen Firmen der Kakao-Industrie, von der Kakao-Einkaufs-Gesellschaft sowie von mehreren mir persönlich befreundeten Herren im Ausland zur Verfügung gestellt.

Ein glückliches Zusammentreffen der Umstände fügte es, daß im März desselben Jahres Herr Prof. Dr. Zeller, der bereits vor dem Kriege jahrelang an der Versuchsanstalt für Landeskultur in Viktoria (Kamerun) tätig gewesen war, im März 1925 als Berater einiger großer Pflanzungs-Gesellschaften nach Kamerun ging und sich ebenfalls bereitwilligst in den Dienst der Sache stellte.

Wie schon eingangs erwähnt, war es unbedingt erforderlich, die in Kiel laufenden wissenschaftlichen Untersuchungen fortdauernd durch technische Versuche in einem Produktionsgebiet selbst zu ergänzen, um für die Praxis der Kakaofermentation zu brauchbaren Resultaten zu gelangen. Vor allem galt das für die noch strittigen Fragen der Anwendung von Reinhefen und der Bekämpfung der Essigsäurebakterien. Während mehrmaliger Aufenthalte in Kamerun hat sich Herr Prof. Zeller mit äußerster Hingabe nicht nur diesen überaus mühevollen Arbeiten unterzogen, sondern er hat auch darüber hinaus nach neuen Wegen zur Verbesserung der Aufbereitungsmethodik gesucht.

Seiner Berichterstattung möchte ich nicht vorgreifen, aber es doch nicht unterlassen, ihm auch meinerseits den wärmsten Dank für sein liebevolles Eingehen auf alle persönlichen Anregungen und Wünsche hiermit noch einmal auszudrücken.

Seine Arbeit beschränkte sich aber keineswegs auf die seinerzeit von mir angeregten Versuche mit Anwendung von Reinhefen und zur Bekämpfung von Essigbakterien mit chemischen Mitteln — worin übrigens auch ich niemals die einzigen Handhaben er-

blickt habe, um die Kakaofermentation in Kamerun zu verbessern —, vielmehr griff Zeller unabhängig davon das ganze Problem als eine, durch die dortigen spezifischen Verhältnisse diktierte und daher eigengeartete, einheitliche technische Aufgabe an. Über gewisse Vorgänge, die bis dahin nahezu unverständlich waren, haben seine Beobachtungen überhaupt erst Klarheit geschaffen. Unter anderem prüfte Zeller den inzwischen von F. L. Stevens auf Grund von Laboratoriumsversuchen gemachten Vorschlag praktisch nach, die Fermentation aus der Kakaoaufbereitung ganz auszuschalten¹⁾.

Wie die Versuche des Herrn Zeller zeigten, hat sich meine Erwartung, daß durch Verwendung von Reinhefen ein Fortschritt in der Praxis der Kakaofermentierung zu erzielen sein würde, für Kamerun jedenfalls nicht bestätigt. Ebenso wenig ist es gelungen, der Essigbakterien mit Hilfe chemischer Desinfektionsmittel Herr zu werden. Die Gründe dafür sind im nachstehenden Bericht von Professor Zeller dargelegt worden. Auch die Veröffentlichung der Resultate negativ verlaufener Versuche dürfte gerade im vorliegenden Fall für alle, die sich theoretisch oder praktisch noch weiterhin mit den Fragen der Kakaofermentation beschäftigen wollen, von einigem Wert sein, weil sie manche Doppelarbeit und manche vergeblichen Mühen vermeiden hilft.

Dagegen ist die im Schlußsatz meiner eingangs zitierten Studie ausgesprochene Hoffnung, daß es gelingen möchte, durch neue Untersuchungen und Beobachtungen zur Abstellung der von Handel und Industrie gerügten Mängel gewisser Kakaoherkünfte beizutragen, fraglos erfüllt worden.

Nicht nur gelang es Zeller, durch ein von ihm ersonnenes Verfahren auch den von der Braunfäule befallenen Kakao noch zu einer recht brauchbaren Handelsware zu gestalten, wodurch für die Kameruner Pflanzler beträchtliche Werte gerettet wurden, sondern ganz allgemein ist das Ziel, das Kameruner Produkt zu verbessern, dank seinen unermüdlichen Anstrengungen erreicht worden. Auf welchen Wegen und mit welchen technischen Mitteln dieser große Erfolg erzielt wurde, scheint mir für das Endergebnis belanglos zu sein.

¹⁾ Siehe dazu P. Preuß, Die Aufbereitung des Kakaos („Tropenpflanzer“ 1926, Nr. 9) und W. Busse, Die Versuche und Vorschläge von F. L. Stevens zur Kakao-Aufbereitung. (Ebenda Nr. 10.)

Erster Teil.

Biologische Untersuchungen über die Kakaofermentation,

ausgeführt im Bakteriologischen Institut der Preußischen Versuchs- und
Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Kiel.

Mitgeteilt von W. Henneberg.

Die im Auftrage des Kolonial-Wirtschaftlichen Komitees in Berlin auf Anregung des Herrn Geheimrat B u s s e seit Januar 1925 bis Frühjahr 1928 vorgenommenen Untersuchungen wurden unter der Leitung des Referenten von Dr. S c h m i d t, Frl. K ö l z, Frl. L a n g e und Frl. B ö t h e l ausgeführt. Der Referent hat sämtliche Versuche überwacht und gemeinsam mit den Genannten besonders die mikroskopischen Analysen vorgenommen. In sechs Berichten wurden während der Arbeit die erhaltenen Versuchs- und Untersuchungsergebnisse Herrn Geheimrat B u s s e in Berlin und Herrn Professor Z e l l e r in Kamerun mitgeteilt, damit letzterer daraus für die weiteren praktischen Versuche einige Anregungen erhalten konnte. Gemeinsam mit Herrn Professor Z e l l e r wurden wiederholt die Arbeitsrichtungen mündlich oder schriftlich vereinbart. Besonders wichtig und unentbehrlich für die Kieler Arbeiten war natürlich das von Z e l l e r eingesandte Untersuchungsmaterial. Die vorher verabredete Art der Probenahme und Sendungen hat sich, wie aus dem Folgenden sich ergeben wird, außerordentlich bewährt. Unentbehrlich für unsere Untersuchungen waren auch die von den verschiedenen Seiten, vor allem von der Kakao-Einkaufsgesellschaft und von einigen Kakaofirmen uns freundlicherweise übermittelten Kakaobohnenproben. Wenn auch beständig an diesen Untersuchungen von uns gearbeitet wurde, so war doch das Thema viel zu umfangreich, um allein damit einigermaßen fertig zu werden. Daher war es uns sehr willkommen, daß sich drei Doktoranden unseres Instituts unter der Leitung des Referenten ebenfalls an der Arbeit beteiligten, indem sich jeder etwa ein Jahr besonderen Teilthema widmete: Herr v o n L i l i e n f e l d bearbeitete die Hefen, Herr E c k m a n n die Essigbakterien und Herr R e i n k e die Aspergillus-Schimmelpilze der Kakaofermentation bzw. der Kakaobohnen. Auch über diese Ergebnisse muß im folgenden kurz referiert wer-

den, da dadurch unsere Untersuchungen nach vielen Richtungen eine Ergänzung und Erweiterung erfahren. Es ist, weil eigentlich selbstverständlich, hier nicht besonders zu betonen, daß von einer Erschöpfung der Untersuchungen über die Kakaofermentation durch unsere Arbeiten gar nicht die Rede sein kann. Überall ergeben sich neue, noch unbeantwortete Fragen, die zum Teil am Schluß dieser Veröffentlichung berührt wurden. Trotzdem glaubt und hofft der Referent sagen zu dürfen, daß hier ein wertvoller Beitrag zur Erforschung der Biologie der Kakaofermentation gebracht werden konnte.

I. Biologische Analysen der in Kamerun ausgeführten Versuchsfermentierungen.

A. Art der Einsendung und der Untersuchung in Kiel.

Der Verabredung gemäß wurden uns durch Zeller von allen wichtigeren Versuchen in Kamerun Dauerpräparate in ungefärbtem und gefärbtem Zustande (Objektträgerpräparate mit Kanadabalsam und Deckglas) sowie mit paraffinierten Wattestopfen verschlossene Fläschchen mit Watte (vorher alles in Kiel sterilisiert), auf die etwas Gärflüssigkeit getropft wurde, und öfters auch Agarausstriche in Fläschchen zur nachträglichen Untersuchung bzw. Reinzüchtung der Pilze eingesandt.

Sogleich nach dem Eintreffen (etwa nach 5 bis 6 Wochen Transportzeit) wurden die Proben untersucht, vor allem mußten die „lebenden“ Einsendungen (Wattefläschchen und Agarkulturen) möglichst sofort verarbeitet werden: Die Paraffinwatte wurde durch einen luftdurchlässigen sterilen Wattestopfen ersetzt, die Kulturen zum Teil in sterile geeignete Nährflüssigkeiten zur Auffrischung gebracht. In den allermeisten Fällen waren die Einsendungen brauchbar.

Die Dauerpräparate gaben uns ein genaues unverändertes Bild der Pilzflora der fermentierenden Bohnen zur Zeit der Probenahme. Waren fortlaufend täglich Präparate angelegt, so konnten wir mit ihrer Hilfe das allmähliche Aufkommen, das Vorherrschen sowie das Wiederverschwinden der einzelnen Pilzarten im Laufe einer und derselben Gärung oft deutlich erkennen. Die Watte- und Agarkulturen ergaben dagegen kein unverändertes Bild. Empfindliche Arten waren abgestorben, vor allem, weil sie von anderen Pilzen überwuchert oder durch deren Stoffwechselprodukte abgetötet wurden. Manche Arten, die vielleicht nur in Spuren ursprünglich vor-

handen waren, konnten die Vorherrschaft erlangt haben. Die Analysenbefunde mußten also stets mit den Beobachtungen an den Dauerpräparaten verglichen werden, um nicht zu falschen Schlußfolgerungen zu kommen. Am meisten fällt das Fehlen der stets durch die Dauerpräparate nachgewiesenen Apiculatushefe in den Agar- und Wattekulturen auf. Es ist dies eine Hefe ohne Dauer孢enbildung, die auch sonst als empfindlich bekannt ist. Um möglichst alle wichtigen noch am Leben gebliebenen Pilze zum Wachstum zu bringen, wurden kleine Teile der Watte oder aus der Agarkultur in Würze mit 8 v. H. Traubenzucker gebracht und die Kulturgefäße bei 30° und 37° bebrütet. Um sporenbildende Bakterien auszuschließen, wurden in vielen Fällen Parallelkulturen mit Zusatz von etwas Milchsäure angesäuert. Um Essigbakterien und Kahlmhefen nachzuweisen, erhielten andere Gläser etwas Alkohol. Vorweg mag bemerkt sein, daß unsere Befunde fast stets mit den Angaben von Zeller über Säurebildung, Temperatursteigerungen, Kahlmhautbildungen u. dgl. übereinstimmen.

B. Analysenergebnisse.

Im folgenden sollen die Ergebnisse der mikroskopischen und biologischen Untersuchungen des von Zeller eingesandten Materials ausführlicher mitgeteilt werden, da sie sowohl wissenschaftliches wie praktisches Interesse besitzen. Am Schluß dieses Abschnittes wird eine kurze Zusammenfassung der Hauptergebnisse folgen.

1. Fermentierung z. T. unter Zusätzen von Reinzuchthefen.

Erster Gärversuch von Zeller (vor dem 17. 8. 1925):

Die Kakaobohnen waren bereits zwei Tage vorher auf der Pflanzung aus den Früchten entnommen und, mit Wellblech oder Bananenblättern bedeckt, einem starken Regen ausgesetzt, so daß die Pulpa zum größten Teil ausgewaschen war. Während der Versuchsfermentation floß kein Saft ab. Beendigung am 6. Tag. In den 3 Kästen mit je 12 Ztr. Bohnen war die Schicht etwa 1 m hoch. Ein Umschaukeln fand alle 24 Stunden statt. Probenahme 3 Stunden hinterher. Ein Essiggeruch war vom 2. bis 6. Tag vorhanden, am stärksten am 2. Tag. Die Temperaturen nach dem Umschaukeln waren am 2. Tag bereits 40 bis 44°, am 3. Tag 45 bis 50°, am 4. bis 6. Tag 50°.

Die Dauerpräparate vom 1. Tag zeigen Apiculatushefe, viel stäbchenförmige Bakterien und einige Kokken, vom 2. und 3. Tag in der Überzahl Apiculatushefe, vom 4. Tag in der Über-

zahl stäbchenförmige Bakterien, sehr wenig Apiculatushefe, sehr viel Kahlmhefen, einige Oidien, vom 5. Tage viel Kahlmhefen, vom 6. Tag fast nur Bakterien.

Die von der W a t t e hergestellten Anreicherungen (Würze und Traubenzucker bei 45°, 37° und 18°, ebenso in Würze mit 4 v. H. Alkohol bei 45°, ebenso in Würze mit 0,5 v. H. Milchsäure bei 37°) ließen Kahlmhefen, Weinhefen, Anomalushefen, Mucor, Oidien, Penicillium brevicaula, Dematium, einen säurebildenden Sporenbildner, zwei andere Sporenbildnerarten, Streptokokken (darunter glycerinaceus), Kokken, Colibakterien und Essigbakterien aufkommen.

In den S c h r ä g a g a r k u l t u r e n waren fast die gleichen Pilze: In den vom 1. bis 3. Tag (einschl.) Kahlmhefen, Oidien neben Milchsäurestreptokokken; 2. und 3. Tag Essigbakterien, 4. bis 6. Tag Weinhefen; in sämtlichen Sporenbildner.

R e i n g e z ü c h t e t aus den W a t t e a n r e i c h e r u n g e n : 1. g ä r e n d e Kahlmhefen, Optimum 37°, Wachstum und Gärung noch bei 45° (Alkohol 5 v. H. in Würze und 7,5 v. H. Traubenzucker und 7,5 v. H. Rohrzucker); 2. Weinhefe, Optimum 30° bis 37°, bei 45° kein Wachstum, Alkohol bei 37° = 7 v. H.; 3. Anomalushefe, Optimum 37°, Alkohol bei 37° = 5 v. H.; 4. Drei Arten Sporenbildner; 5. Streptococcus glycerinaceus u. dgl.; 6. Kokken; 7. Essigbakterien ohne Hautbildung.

G l ä s e r v e r s u c h (B e r i c h t II, v o m 1. 8. 1926).

Eine 10 ccm hohe Bohnenschicht wurde mit 100 ccm abgekochtem Wasser übergossen und der G ä r u n g überlassen (A) — mit Z u s a t z v o n W e i n h e f e (B) — mit Z u s a t z v o n S p a l t h e f e (C). (Die in Kiel aus dem Kameruner Material reingezüchteten bzw. aus der Kieler Sammlung stammenden Hefen waren auf W a t t e in sterilen Fläschchen nach Kamerun gesandt, da erfahrungsgemäß dies die beste Versandart war.)

Die Temperatur stieg im Höchstfall auf 33° (Außentemperatur etwa 28°). Die Dauerpräparate zeigten bei A: 1. Tag Kahlmhefen und Apiculatus und Bakterien; 2. Tag dasselbe, auch Diplokokken, besonders Apiculatushefe; 3. und 4. Tag sehr viel Essigbakterien; 5. Tag weniger Kahl- und Apiculatushefe. Die W a t t e a n r e i c h e r u n g e n (Würze mit 6 v. H. Traubenzucker 30°) vom 2. Tag Kahlhefe und Bakterien, vom 3. Tag nur Diplokokken, vom 4. Tag Kahlmhefen, wenig Weinhefen, Essigbakterien, Langstäbchen, vom 5. Tag keine Hefen, viel Essigbakterien und Sporenbildner, vom 6. Tag nur Essigbakterien und dicke Kurzstäbchen. Die D a u e r p r ä p a r a t e bei B: 1. und 2. Tag viel Weinhefen, wenig Apiculatus und Bakterien, 3. und 4. Tag ebenso, doch mehr Bak-

terien; 5. Tag ebenso, viel Essigbakterien und Kokken. Die Wattleanreicherungen vom 2. Tag wenig Weinhefe, Essigbakterien, dünne Kurzstäbchen neben sehr viel Kahlmhefen und Oidien; vom 3. und 4. Tag wenig Weinhefe, Langstäbchen neben sehr viel Kahlmhefe und Essigbakterien; vom 5. Tag sehr viel Kahlmhefe, Essigbakterien, Sporenbildner. Die Dauerpräparate bei C (ebenso wie die Wattleanreicherungen) zeigen, daß nirgends die Spalthefe zur Entwicklung kam: 2. Tag Apiculatushefe, Kahlmhefe, Oidium; 3. und 4. Tag sehr viel Kahlmhefe, Kokken, Stäbchen neben Apiculatushefe; 5. Tag sehr viel Essigbakterien, einige Sporenbildner. Die Wattleanreicherungen vom 2., 3. und 4. Tag keine Pilzentwicklung; 5. Tag Kahlmhefen, Essigbakterien, Sporenbildner; 6. Tag Essigbakterien. Eine nach 13 Tagen von Zeller auf Watte gebrachte Gärflüssigkeitsprobe ließ bei der Anreicherung ebenfalls nur Essigbakterien aufkommen.

Reinzüchtungen = drei verschiedene zur Ascendenz-Gruppe gehörige Essigbakterien. Echte, d. h. nicht gärende Kahlmhefe, gärende (auch bei 45°) Kahlmhefen.

Zeller, Versuch 6 (Bericht IV, Januar 1927) vom 7. 9. 1926 (s. Zeller S. 54 und 58ff.). Wiederholungen der Bedingungen von Versuch 3 vom 6. 8. 1926. Die Kulturen wurden schon in der Pflanzung zugesetzt. Schichthöhe 60 cm.

A. Gärende Kameruner Kahlmhefe I (von Zeller reingezüchtet); B. Weinhefe aus Accrakakao; C. nur Nährlösung. Die Nährlösung war von Zeller aus einer Abkochung von frisch aus der Frucht entnommenen Bohnen mit Zusatz von geringen Mengen von Kochsalz, Magnesiumsulfat, Ammonitrat, Kaliumphosphat und Milchsäure bereitet.

Versuch A: Am 6. Tag 41° als Maximum (9° über der Außentemperatur) und zugleich Säuremaximum 6,2¹). Abnahme bis 11. Tag 0,8; am 5. Tag überall starker Essiggeruch; am 8. Tag sind die Bohnen der Oberfläche leicht verschimmelt, am 10. Tag fertig fermentiert. Die Bohnen zeigen starke Verschimmelung. Dauerpräparate: 1. Tag Apiculatushefe, wenig Kahlmhefe, Essigbakterien, dünne Bakterien; 3. Tag viel Weinhefe neben Apiculatus und Kahlmhefe; Bakterien wie am 1. Tag; 7. Tag sehr viel Weinhefe, Apiculatushefe, Essigbakterien, dünne

¹) Die Säurezahlen-Erklärung siehe Zellers Bericht, S. 52 bzw. 60. — Z. bezeichnet den Tag, an welchem abends die Fermentationsversuche angesetzt wurden, H. aber den folgenden als ersten. (Anm. d. Schriftl.)

Bakterien (letztere auch 10. Tag). *Watteanreicherungen*: sehr viel Anomalushefe und Oidium, weniger Kahl- und Weinhefe, längliche Hefen mit runden Sporen, viel Essigbakterien und Heubazillen.

Versuch B: Am 6. Tag 42° als Maximum (10° höher als Außentemperatur), gleichzeitig Säuremaximum 7,5. Abnahme bis 10. Tag 0,8; 8. Tag wenig, 10. Tag starke Schimmelbildung, fertig fermentiert. *Dauerpräparate*: 1. Tag wenig Apiculatushefe neben Kahlhefe, keine Bakterien; 3. Tag 90 v. H. Weinhefe, 10 v. H. Apiculatushefe. Von den Bakterien sind 80 v. H. dünne Bakterien und 20 v. H. Essigbakterien; 7. Tag ebenso, doch mehr Essigbakterien als dünne Art; 10. Tag viel Weinhefen, 90 v. H. Essigbakterien, 10 v. H. dünne Art. *Watteanreicherungen*: Anomalushefe und Weinhefe, Oidium reichlich, einige Kahlhefen und Essigbakterien.

Versuch C: Am 5. Tag 42° als Maximum, 6. Tag Säuremaximum 6,3. Abnahme bis 10. Tag 0,9. *Dauerpräparate*: 1. Tag wenig Apiculatushefe, viel Milchsäurebakterien (*Streptobakterium plantarum*), wenig Essigbakterien; 3. Tag außerdem Weinhefen; 7. Tag ebenso, weniger Milchsäurebakterien; 10. Tag 90 v. H. Apiculatus, 10 v. H. Weinhefen; von den Bakterien sind 90 v. H. Essigbakterien und 10 v. H. Milchsäurebakterien. *Watteanreicherungen*: sehr viel Anomalus- und Kahlhefe, Essigbakterien, wenig Weinhefe. Das Aufkommen der Milchsäurepilze ist sehr bemerkenswert, es dürfte durch den Zusatz der Nährlösung zu erklären sein.

Zeller, Versuch 9 vom 20. 9. 1926 (Zeller s. S. 61 ff.). Glasversuch I mit in Nährlösung drei Tage vorgezuchteter Kahlhefe I; II mit Kahlhefe II; III mit Kahlhefe III (sämtliche Kahlheferassen sind von Zeller reingezüchtet); IV nur Nährlösungszusatz.

I. Zeller berichtet: Erst vom 7. Tag an Säurezunahme (2,5); 8. Tag Säuremaximum (3,1); dann schnelle Abnahme. Gärung war schon am 1. Tag sehr kräftig; ausfermentiert am 13. Tag. Nach den Präparaten viel Kahlhefe, daneben am 3. Tag Spuren, 7. Tag 5 v. H., 14. Tag 10 v. H. große Weinhefezellen, 3. bis 14. Tag Milchsäurebakterien, vom 7. Tag ab Essigbakterien.

II. Zeller: Vom 6. Tag ab steigt die Säure: Maximum (2,5) am 8. Tag, noch 2,1 am 14. Tag, Schimmel vom 7. bis 14. Tag, weniger gut ausfermentiert.

3. Tag schöne Kahlhefenverbände neben 10 v. H. kleinen Apiculatushefen und wenig Bakterien. 7. Tag außerdem 1 v. H. Wein-

hefe und Milchsäurebakterien, 14. Tag neben Kahlmhefe sehr viel Bakterien (50 v. H. Essigbakterien und 50 v. H. Milchsäurebakterien).

III. Zeller: Erst vom 3. Tag ab stark gärend, vom 7. Tag ab Schimmel; Säure am 6. Tag 2,1, 9. bis 11. Tag 2,2 bis 2,3, 13. Tag noch 2,5. Bohneninneres nach 14 Tagen noch violett.

3. Tag wenig Hefen, keine Apiculatus, öfters zarte Milchsäurebakterien; 7. Tag 2 v. H. Weinhefe, 50 v. H. Essigbakterien, 50 v. H. Milchsäurebakterien; 14. Tag sehr viel Kahlmhefen neben gleichem Bakterienbefund.

IV. Zeller: 2. Tag schleimig, 3. bis 6. Tag stark gärend, 3. Tag etwas Essiggeruch, 4. bis 10. Tag starker Essiggeruch. Bohneninneres noch violett. 7. bis 10. Tag starke Säurezunahme (3,5), dgl. noch am 13. und 14. Tag viel Säure.

2. Tag 90 v. H. Apiculatus, 9 v. H. Kahlmhefen in Verbänden, 1 v. H. Weinhefen, 10 v. H. Essigbakterien, sehr viel Milchsäurebakterien; 7. Tag 90 v. H. Weinhefe, 5 v. H. Kahlmhefe, 5 v. H. Apiculatus, viel Bakterien (60 v. H. Milchsäurebakterien und 40 v. H. Essigbakterien); 14. Tag wenig Hefe (50 v. H. Apiculatus, 50 v. H. Weinhefe), außerordentlich viel Bakterien (10 v. H. Milchsäurebakterien, 90 v. H. Essigbakterien).

Es wird aus IV ein Breifäulebakterium (*B. macerans* ähnlich), dessen Optimum bei 37°, Maximum bei 45° liegt, herausgezüchtet. Man erkennt überall eine frühzeitige Bakterieninfektion, außer in I. Am meisten Bakterien sind in IV. Von reinen Kahlmhefegärungen kann keine Rede ein, am meisten noch in I. Typisch ist, daß in IV zuerst die Apiculatushefe, dann die Weinhefe aufkommt.

Zellers Versuch 10 vom 13. 10. 1926 (Zellers Bericht S. 65ff.). Er ist wie der Versuch 9 mit vorgezüchteter Kahlmhefe I, II, III, jedoch im großen. Die Bohnen liegen 60 cm hoch in den Zementkästen. Kasten I und II erhält Zusatz von anderen Kakao-
bohnen, III besteht nur aus letzteren.

I. Zeller: 6. Tag 42° (Maximum). Säure steigt vom 5. Tag ab und erreicht am 7. Tag das Maximum (7,8). Starke Abnahme vom 9. Tag ab, 12. Tag = 0,8.

3. Tag 15 v. H. Kahlmhefen, 5 v. H. Weinhefen, 80 v. H. Apiculatus, wenig zarte Milchsäurebakterien. 6. Tag 50 v. H. Weinhefen, 50 v. H. Apiculatushefe, viel Essigbakterien, 10 v. H. Milchsäurebakterien. 9. Tag 30 v. H. Weinhefe, 70 v. H. Apiculatushefe, Bakterienbefund ebenso.



II. Zeller: 5. bis 7. Tag Temperaturmaximum 39°, Säuremaximum 7. Tag 9, Säure bis 12. Tag auf 2,2 herabgesunken.

3. Tag 20 v. H. Weinhefe, 80 v. H. Apiculatushefen (zwei Arten bzw. Rassen), ziemlich viel Milchsäurebakterien. 6. Tag 10 v. H. Weinhefe, 90 v. H. Apiculatushefen, Essigbakterien neben Milchsäurebakterien. 9. Tag 50 v. H. Weinhefe, 33 v. H. Apiculatushefe, 17 v. H. Kahlmhefen, sehr viel Essigbakterien, 5 v. H. Milchsäurebakterien, darunter auch lange Zellen.

III. Zeller: 9. Tag Temperaturmaximum 41° (am 4. Tag 39°), Säuremaximum am 7. Tag 7,4. Abnahme bis 1,7 am 12. Tag.

3. Tag 3 v. H. Weinhefen, 90 v. H. Apiculatushefen, 7 v. H. Kahlmhefen, viel Bakterien (10 v. H. Essigbakterien, 90 v. H. Milchsäurebakterien), 6. Tag ebenso, doch viel mehr Essigbakterien (90 v. H. Essigbakterien und 10 v. H. Milchsäurebakterien). 9. Tag 10 v. H. Weinhefen, 90 v. H. Apiculatushefen, noch mehr Bakterien (80 : 20).

Die Einsaathefen sind kaum aufgekommen, die Apiculatushefe herrscht vor. Frühzeitige Entwicklung von Milchsäurebakterien, auch Essigbakterien in III. Vom 6. Tag ab überall Essigbakterien. Am meisten Infektion hat III.

Zellers Versuch II vom 19. 10. 1926 (s. Zellers Bericht S. 65/66). (Hölzerne Gärkästen, Schicht 60 cm hoch.)

A. Kahlhefe I, B. Kahlhefe II, C. Kahlhefe III, D. Mimbo-Weinhefe (reingezüchtet in Kiel aus dem von Zeller eingesandten Palmwein [„Mimbo“]).

Zeller: Bereits am 7. Tag ausfermentiert, ohne Essiggeruch. Am 3. Tag bei C und D hohe Säuremengen. Temperatur wie stets in Holzkästen hoch (45—46°).

A. 3. Tag nach dem Präparatenbefund: 90 v. H. Apiculatushefen, 10 v. H. Wein- oder Kahlmhefen. 5. Tag Spur Essigbakterien neben Apiculatus, Kahlmhefen, wenig Weinhefe. Die eingesäte Kahlhefe war also wenig aufgekommen.

Die Anreicherung (von der Watte) ergab Anomalushefen, Weinhefen, Essigbakterien (Kettenform), Streptobakterium plantarum, Aspergillus flavus.

B. 3. Tag 80 v. H. Apiculatushefe, 15 v. H. Kahlhefe, 5 v. H. Weinhefe, am 5. Tag Spur Essigbakterien neben gleichem Hefebestand. Die Anreicherung wie bei A.

C. 3. Tag wenig Essigbakterien und mäßig viel Milchsäurebakterien. 90 v. H. Apiculatushefe, 10 v. H. Kahl- und Weinhefe.

Die Anreicherung von der 3. Tag-Probe ergab Oidium, Kahlmhefe, Essigbakterien, von der 5. Tag-Probe außerdem noch Monilia und Anomalous.

D. 3. Tag ziemlich viel Essig- und Milchsäurebakterien. 90 v. H. Apiculatushefe, spurenweise Mimbohefe. Die Anreicherung ergab Essigbakterien, Milchsäurebakterien, sehr viel Anomaloushefe.

Nach diesen Untersuchungen kommt die eingesäte Hefe nur sehr wenig auf, die Gärung vollzieht sich zum größten Teil durch die Apiculatushefe. Zeller hatte bei A am 2. Tag keinen Essiggeruch wahrgenommen, dagegen besonders stark bei C und D. Essigbakterien waren tatsächlich reichlich in D gewachsen, in C und D auch Milchsäurebakterien. C hatte nach Zeller am 2. bis 3. Tag 4,2 bis 4,7, D 3,8 bis 3 Säure, während A (1,8) und B (2,8) weniger säuerte. — Man kann annehmen, daß die hohe Temperatur (am 4. bis 5. Tag 44 bis 46°) das Wachstum der Hefen verhinderte, nur an der kühleren Oberfläche konnte es weiter vor sich gehen.

Zellers Versuch 12 (s. Zeller S. 66/68) vom 5. XI. 1926. Kulturen schon in der Pflanzung zugesetzt: Drei von Zeller reingezüchtete Kahlmhefen — A: Kahlmhefe 1, B: Kahlmhefe 2, C: Kahlmhefe 3, D: Mimbohefe, E: ohne Zusatz.

Nach Zellers Bericht ist bei D schon am 2. Tag, bei A, B, C, am 3. Tag und bei E am 4. Tag Essiggeruch. Fertigfermentiert am 6. Tag, C erst am 7. Tag.

Versuch A: Temperaturmaximum 3. bis 4. Tag 45° (13° höher als Außentemperatur). Säuremaximum 3. Tag 3,7, Abnahme bis 6. Tag 0,7.

Dauerpräparate: 4. Tag überwiegend Bakterien (Kurzstäbchen und Kokken), vereinzelt Sporenbildner und Apiculatushefe.

Watteanreicherung (Würze mit 8 v. H. Traubenzucker 30 und 37° nach 48 Stunden): Sehr viel Kurzstäbchen und Sporenbildner, vereinzelt Torulahefe und Kahlmhefe.

Versuch B: Temperaturmaximum 46°, Säuremaximum 4. Tag 4,2, dann Abnahme bis 6. Tag 1.

Dauerpräparate: 4. Tag überwiegend Sporenbildner, Kurzstäbchen und Kokken, daneben sehr viel Apiculatushefen. 7. Tag sehr viel Apiculatushefen, Sporenbildner, Essigbakterien, wenig Oidium.

Watteanreicherung: Sehr viel Sporenbilder, Kurzstäbchen, Kokken, daneben Kahlmhefen, Torula, Oidium.

Versuch C: Temperaturmaximum 3. bis 4. Tag 46°. Säuremaximum 4. Tag 4,0, dann Abnahme bis 6. Tag bis 0,6.

Dauerpräparate: 4. Tag sehr viel Apiculatushefe und Kurzstäbchen, wenig Sporenbildner. 7. Tag außerdem wenig Essigbakterien.

Watteanreicherungen: Einige Kahlhefen, Anomaloushefen, sehr viel Kurzstäbchen, weniger Essigbakterien, Kokken und Sporenbildner.

Versuch D: Temperaturmaximum 3. Tag 46°, Säuremaximum 4. Tag 4,3, dann Abnahme bis 6. Tag 0,7.

Dauerpräparate: 4. und 7. Tag einige Apiculatushefen, sehr viel Essigbakterien und Sporenbildner.

Watteanreicherungen: Vom 4. Tag viel Kahlhefen, einige Essigbakterien, Kurzstäbchen und Sporenbildner. Vom 7. Tag Kahlhefen, Torulahefe, wenige Weinhefe, Kurzstäbchen, Sporenbildner.

Versuch E: Temperaturmaximum 3. bis 4. Tag 46°, Säuremaximum 4. Tag 4,1, dann Abnahme bis 6. Tag 1,2.

Dauerpräparate: 4. und 7. Tag Apiculatushefe, Kahlhefen, Kurzstäbchen, Kokken und Sporenbildner.

Watteanreicherungen: Sehr viel Kurzstäbchen, einige Sporenbildner, Kahlhefe und Torula.

Zellers Versuch 15 vom 10. 12. 1926 (s. Zeller S. 67). Kulturen in der Pflanzung zugesetzt. Schichthöhe in A, B, C, D 60 cm, 3mal täglich umgeschauelt; E 110 cm, 1mal umgeschauelt. A: Kamerunkahlhefe I, B: Accraweinhefe, C: Sherryhefe, D: ohne Zusatz, E: ohne Zusatz. In A bis D ist schon am 2. Tag eine Temperatur von 45 bis 46° (12 bis 13° über der Außentemperatur), in E am 3. und 4. Tag 50° (höhere Schicht und einmal umgeschauelt). Die Säure am 3. Tag ist in E nur bis 2,6, in A bis 7,3, sonst bis 6,1 bis 6,6 gestiegen. Abnahme bis 7. Tag A bis 0,8, B 0,6, C 0,5, D dgl. und E 1,1. Essiggeruch am 2. Tag in A, B, C, am 5. Tag deutlich in E; am 7. Tag nirgends mehr Essiggeruch, ausfermentiert.

Versuch A.

Dauerpräparate: 3. Tag Kahlhefe, einige Sporenbildner. 5. Tag sehr viel Kahlhefen, einige Apiculatushefen, Langstäbchen, Kurzstäbchen, Kokken, Schimmelmycel.

Watteanreicherungen: Kahlhefe, Mouilia, Oidium, Sporenbildner, Kurzstäbchen, Kokken, Mucor, Aspergillus flavipes.

Versuch B.

Dauerpräparate: 3. Tag sehr viel Kahlhefen und Apiculatus, einige Weinhefen und Bakterien.

Watteanreicherungen: Kahlhefe, Anomalous, Torula, Oidium, Monilia, einige Weinhefen, Diplokokken, Tetrakokken, Mucor und gelber Aspergillus.

Versuch C.

Dauerpräparate: 3. Tag Apiculatushefe, Weinhefe, wenig Bakterien, 7. Tag ebenso, doch vorherrschend Langstäbchen und Essigbakterien.

Watteanreicherungen: Weinhefe = Sherryhefe, Kahlhefe, Anomalous, Torula, Oidium, Sporenbildner, Streptokokken, Essigbakterien.

Versuch D.

Dauerpräparate: 3. Tag sehr viel Apiculatus- und Kahlhefe, Sporenbildner, Kurzstäbchen und Kokken. 5. und 7. Tag ebenso vorherrschend Bakterien.

Watteanreicherungen: Kahlhefe, Anomalous, Monilia, Kurzstäbchen, Diplokokken, einige Sporenbildner, Essigbakterien, Mucor, gelber Aspergillus.

Versuche E.

Dauerpräparate: 3. Tag Kahlhefe und Apiculatushefe, keine Bakterien, 5. Tag außerdem Sporenbildner, Kurzstäbchen und Kokken.

Watteanreicherung: Kahlhefe, Anomalous, Oidium, weniger Weinhefen, Sporenbildner, Kurzstäbchen, Diplokokken, Mucor und gelber Aspergillus.

Schlußfolgerungen.

Bemerkenswert ist vor allem die frühzeitige, außerordentlich starke Bakterieninfektion, die natürlich die Hefegärung im höchsten Maße ungünstig beeinflussen mußte. (S. unten.)

Als ganz besonders wichtig muß weiter hervorgehoben werden, daß, wie wir aus den Dauerpräparaten mit aller Sicherheit schließen konnten, die zugesetzten Reinkulturhefen (und Milchsäurebakterien, s. unten) oft gar nicht oder sonst sehr wenig aufgekommen waren. Sie wurden unterdrückt durch die in größerer Menge von vornherein vorhandenen wilden Hefen (Apiculatushefe), die offensichtlich auch die besseren Wachstumsbedingungen, d. h. Ernährungs- und Temperaturverhältnisse, vorfanden. Es ist dieses sowie die Bakterieninfektion ausschlaggebend für den Verlauf der Gärungen gewesen. Man müßte also eine weit größere Einsaat von Reinhefen in An-

wendung bringen oder die Gärbedingungen für die betreffenden Einsaathefen auf irgendeinem Wege, sei es durch Zusatz von geeigneten Nährsalzen oder durch Einhaltung tieferer Temperaturen günstiger gestalten. Letzteres wurde wiederholt in unseren Berichten betont. Vielleicht ist dies bei den Zeller'schen längeren und kühleren Gärungen und schon öfters in anderen Kakaoländern berücksichtigt. Schließlich könnte man auch daran denken, die Apiculatushefe, die offenbar die hohe Temperatur besser vertragen kann, in Reinzucht zu verwenden, wenn auch die bisherigen, in den Weinkeltereien gemachten Erfahrungen dagegen zu sprechen scheinen. Man weiß hier schon lange, daß die Apiculatushefe, die regelmäßig zuerst in den Weingärungen aufkommt und erst später von den alkoholstärkeren, aromareicheren Weinhefen abgelöst wird, kein gutes Aroma erzeugt. Weitere Versuche müssen aber zeigen, ob es sich in den Kakaogärungen nicht um geeignetere Arten oder Rassen dieser Hefe handelt, und ob das durch die Hefe bedingte Aroma hier überhaupt eine wichtige Rolle spielt. Im letzteren Fall ist die Verwendung der offenbar schwieriger zur Vorherrschaft zu bringenden Weinhefen natürlich angezeigt.

2. Verwendung von Trockenhefen.

Es wäre sehr einfach, die für die Kakaogärung geeigneten Hefen in deutschen Hefefabriken züchten, trocknen und in abgewogenen Packungen ins Ausland senden zu lassen. Getrocknete Bäckerei- und Brennereihefen haben sich bereits in vielen Ländern, besonders im Ausland für Back- und Brennereizwecke sehr gut bewährt. Wie die Versuche von Zeller zeigten, brachte die Verwendung von Trockenhefe keinen besonderen Vorteil. Um die Ursache des Versagens der Trockenhefe zu erkennen, müssen die Analysenbefunde der betreffenden Versuche hier kurz erörtert werden. Benutzt wurden die von der Fa. Andersen und Nissen in Altona hergestellte und vertriebene „Florylinhefe“ (Zeller Versuch 16 vom 16. 12. und 17 vom 30. 12. 1926) bzw. die in einer anderen Hefefabrik für unsere Zwecke besonders hergestellte Trocken-Mimbohefe (Zeller Versuche 29 vom 11. 9. 1926). Im ersten Versuch wurde bei B eine aufgefrischte Florylinhefe, bei C die nur in Wasser verteilte Florylinhefe zugeführt. Die Dauerpräparate zeigten das gewohnte Bild. 2. Tag sehr viel Apiculatus, Kahl- und Weinhefe. (4. Tag bei B ebenso), 6. Tag sehr viel Bakterien. Der gleichzeitig angesetzte, nicht beimpfte (A) bzw. mit Mimbo- (D), Spalthefer (E) oder Sherryhefe (F) angestellte Versuchsbottich zeigte ein ähnliches Bild. Nirgends

waren die zugefügten Hefen aufgekommen. Dazu waren die Gärtemperaturen zum Teil auch viel zu hoch (z. B. am 2. Tag bei B 38°, C 34°, D 43°, E 45°, F 46° C).

Im Versuch 17 wurde zu A aufgefrischte und zu F in Wasser aufgeschwemmte Florylinhefe (90 g) gefügt (einmal täglich Umschauflung). Am 2. Tag waren schon 42° bei A, 46° bei F, 3. und 4. Tag 47°! Die Dauerpräparate zeigten Kahl- und Weinhefen, bei F außerdem Apiculatushefe, ähnlich wie die unbeimpften gleichzeitigen Gärungen.

Im dritten Versuch (29 vom 11. 9. 1926) mit je 26 Ztr. Bohnen erhielt A $\frac{1}{4}$ kg, B $\frac{1}{8}$ kg Trockenhefe „W“, C als Kontrolle keinen Zusatz. Die Hefe war vorher in einprozentigem Zuckerwasser aufgeschwemmt (375 g Hefe in 1125 g Wasser und 12 g Zucker). Die Dauerpräparate und Watteaufschwemmungen ließen keinen Unterschied mit der Kontrollgärung erkennen. Bemerkenswert ist hier die günstige Temperatur in den drei ersten Tagen (nach Zellers Angaben nicht über 37°). Die Einsaatmenge oder die Hefesorte war demnach ungeeignet.

3. Verwendung von Pilzgiften.

a) Versuche mit dem Milchsäurepilz und Milchsäure.

Seit langem verwendet man im Gärungsgewerbe bestimmte Pilzgifte sowohl zum Reinigen von leeren Gärbottichen, Gefäßen aller Art, Leitungsröhren, Schläuchen, Fußböden usw. wie zur Reinhaltung von Hefegärungen. Man wählt zu letzterem Zweck solche Gifte aus, gegen die die Gärhefen unempfindlicher als die zu bekämpfenden Schädlinge sind. Sehr oft wird z. B. Milchsäure, die man in den Maischen vor dem Hefezusatz durch Einbringen von geeigneten Milchsäurebakterien bei 45 bis 50° in 24 Stunden entstehen läßt, verwendet. Durch diese starke Ansäuerung werden die Kulturhefen gar nicht geschädigt, dagegen in hohem Maße die besonders schädlichen, weil Essigsäure neben Milchsäure bildenden „Flüchtige Säure-Milchsäurebakterienarten“, säureempfindliche Colibakterien, Heubazillen, Fäulnisbakterien und dergleichen. Daß Milchsäurebakterien in den Kakaogärkästen während der Fermentierung zur Entwicklung kommen können, hatten, wie oben berichtet, verschiedene Dauerpräparate, die zu verschiedenen Zeiten aus den gärenden Kakaobohnen angelegt waren, mit Sicherheit ergeben. Es wurde auf unsere Anregung hin von Zeller geprüft, ob der sogenannte Kulturmilchsäurepilz der deutschen Hefefabriken und Brennereien auch bei der Kakaofermentierung zu gleichem

Zwecke Verwendung finden könnte. Die sehr hohe Gärtemperatur in den Gärkästen erschien besonders günstig.

Nach Zellers Bericht (S. 75) roch der mit Bct. Delbrücki in Hefenährlösung angesetzte Glasversuch am 6. Tag nicht mehr nach Essigsäure (wie am 2. Tag), obwohl am 7. Tag das Säuremaximum eintrat. Zeller schließt daraus, daß der zugesetzte Milchsäurepilz aufkam, obwohl die Temperaturen nur 25 bis 26° (Maximum 4. Tag 28° C) waren. Es erscheint dies als ganz unwahrscheinlich. Ein Parallelglas erhielt technische Milchsäure, der Inhalt wurde dadurch aber kaum saurer (1,7 : 1,4). Die Essigbakterien wurden nicht unterdrückt. Die Ansäuerung war also zu gering. Nach unseren Laboratoriumsversuchen werden größere Mengen Milchsäure, wie z. B. 2 v. H. von allen geprüften Hefearten (Wein-, Spalt-, Kahl- und Torulahefe), aber auch von manchen Schimmelpilzen (z. B. Oidium, Cladosporium) sehr gut vertragen. — Der Großversuch (5 vom 20. 8., s. Zellers Bericht S. 76/77) erhielt in B Accrahefe und Bct. Delbrücki, in C nur Bct. Delbrücki, während der Kontrollversuch A ebenso wie Z (braunfaule Bohnen) nur mit Kahlhefe I angestellt wurden. Die Wärmegrade waren für diesen wärmeliebenden (40 bis 50°) Milchsäurepilz nicht so ungünstig (B 6. bis 7. Tag 36°, C 5. bis 6. Tag 34°). Essigbakterien- und Hefebestand war wie immer. In B fehlte der zugesetzte Milchsäurepilz nach den Dauerpräparaten am 4. und 13. Tag. C enthielt am 13. Tag mäßig viel Milchsäurebakterien (vielleicht Bct. Delbrücki). Auf Watte konnte der betreffende Pilz in B und C nicht mehr lebend gefunden werden. Die Säureverhältnisse sprechen nicht für sein Aufkommen.

Die Versuche in Kamerun verliefen demnach negativ, sei es, daß die Vorzüchtung nicht geeignet, die Einsaatmenge zu gering oder die von vornherein vorhandene natürliche Säure der Bohnen oder die vorliegenden Nährstoffe für diesen Pilz zu ungünstig waren. Auf jeden Fall würde seine Vorzüchtung unter den meist primitiven Verhältnissen im Ausland etwas umständlich sein.

b) Versuche mit schwefliger Säure (Sulfoliquid).

Viel einfacher erscheint daher die Verwendung von Giftzusätzen, z. B. von schwefliger Säure, die oftmals im Gärgewerbe mit bestem Erfolg angewandt wird. Es wurden zunächst im Laboratorium in Kiel Versuche mit „Sulfoliquid D.S.“ (ein Liter Flüssigkeit für 2,60 RM. enthält 200 g SO₂), und zwar mit gutem Ergebnis angestellt: Von der Flüssigkeit wurde ein Teil mit 19 Teilen Wasser verdünnt, davon 5 ccm zu 100 ccm Würze

(= 0,25 v. H. = 0,05 v. H. SO_2) mit Mimbo-, Sherry-, Bäckerei- oder Florylinhefe¹⁾ gefügt. Es wurden trotz künstlicher Infektionen völlig bakterienfreie kräftige Hefegärungen erzielt. — Essigbakterien (*Bct. xylinum* und *ascendens*) vertragen nur 1,5 bis 2 ccm der genannten Verdünnungslösung, bei 5 ccm der konz. Lösung, d. h. 0,05 v. H. schweflige Säure, wurde eine essigbakterienfreie Hefegärung erhalten.

In einem zweiten Versuch im Kieler Laboratorium wurden schlecht fermentierte Bohnen in Würze mit 8 v. H. Rohrzucker und 0,05 v. H. Sulfoliquid nach Zusatz von Mimbohefe, Kahlhefe oder Florylinhefe der Gärung überlassen. Die Hefen zeigten schon nach einem Tag gute Gärung. Nach 4 Tagen waren nur wenige Langstäbchen als Infektion nachzuweisen. *Bct. xylinum* wuchs in einem Fall in geringen Mengen nach etwa 72 Stunden. Der Geschmack der gewaschenen und getrockneten Bohnen war bitter und etwas unrein, was wohl auf die Verwendung der Würze zurückzuführen war.

Versuche mit Sulfoliquid in Kamerun (Nr. 23 vom 27. 8. 1927 und Nr. 26 vom 3. 9. 1927): Nach den Dauerpräparaten und Anreicherungen aus der Gärflüssigkeitswatte war bei Verwendung von Accra- bzw. Mimbohefe und von 5 ccm konz. Sulfoliquid, d. h. 1 g SO_2 auf je 26 Zentner Bohnen (Versuch 23), überall eine starke Infektion mit Essigbakterien und Sporenbildnern vorhanden. Zeller berichtet von einem schwachen Essiggeruch und einer dann folgenden starken Fäulnis des Gärgutes am 8. bzw. 11. Tag. Es dürfte eine Schwefelwasserstoffbildung durch die Sporenbildner eingetreten sein. Bemerkenswert ist die geringe Temperaturerhöhung (3. Tag 34 bis 36°, 8. Tag 37 bis 39°) und die fast ganz fehlende Säurezunahme in diesem Versuch. Letzteres gestattete offenbar den Sporenbildnern eine frühzeitige Vermehrung und Beeinflussung der Fermentierung. Die Hefeflora war wie immer: Apiculatus- und Kahlhefen in der Vorherrschaft.

Versuch 26 mit Venezuela- und Sherryhefe und 10 ccm konz. Sulfoliquid, d. h. etwa 2 g SO_2 auf die Bohnenmenge. Nach den Dauerpräparaten und Anreicherungen aus der Gärflüssigkeitswatte waren auch hier die Essigbakterien, Langstäbchen (Sporenbildner?) und Apiculatushefen keineswegs unterdrückt. Da die Gärung am 7. Tag unterbrochen wurde, läßt sich nicht sagen, ob später wieder eine „Fäulnis“ aufgekommen wäre. Jedenfalls wurde

¹⁾ Florylinhefe ist eine nach einem besonderen Verfahren getrocknete Bäckereihefe, die sehr gut ist, da sie nur wenig abgestorbene Zellen enthält.

hier die übliche Wärmesteigerung (2. Tag 36, 41 bis 42°, 4. Tag Maximum 44 bis 45°) und Säurezunahme (bis 2,9 bzw. 3,3 am 3. Tag) und Essiggeruch beobachtet.

c) Versuche mit Kaliummetabisulfit.

Nach unseren Versuchen im Kieler Laboratorium wurden bei 0,1 v. H. Kaliummetabisulfit sämtliche Bakterien am Wachstum gehindert, so daß die Weinhefegärung völlig rein blieb. Die Weinhefe wurde bei 0,3 v. H. erst in geringer Weise gehemmt: Bei der Gärung bildete die Weinhefe ohne Zusatz 8,6 v. H., mit Zusatz von 0,1 v. H. Kaliummetabisulfit = 8 v. H., bei 0,2 v. H. = 7,6 v. H., bei 0,3 v. H. = 7 v. H. Alkohol. Die Anomalushefe ohne Zusatz 5,4, bei 0,1 v. H. = 3,2 v. H. Alkohol, während die Apiculatushefe ohne Zusatz 4,3 v. H. und mit 0,05 v. H. = 4 v. H. Alkohol bildete. Bei 0,2 v. H. wurden die Kalmhefe, Anomalushefe und Torula sowie das Oidium völlig untätig bzw. abgetötet. Es ist also hiernach ein ganz vorzügliches Mittel, die Weinhefe in den Laboratoriumsversuchen zur Alleinherrschaft zu bringen. Im Gläserversuch Nr. 45 vom 27. 10. 1927 versuchte Zeller auf unsere Anregung zunächst eine Anpassung der Accra-, Venezuela- und Sherryhefe, um diese unempfindlicher gegen Kaliummetabisulfit zu machen. (Zunächst zu 100 ccm Nährflüssigkeit 5 ccm der 0,02-prozentigen Lösung, der Hefesatz dann in neue Fläschchen mit 100 ccm Nährflüssigkeit und mit 20 ccm Lösung, der Satz daraus diente zum größeren Glasversuch.)

I. = Kontrolle, II. = nur Zusatz von 10 ccm 0,02prozentiger Lösung (zu je 1,36 kg Bohnen), III. = außerdem die angepaßte Accrahefe, IV. = ebenso Venezuelahefe, V. = ebenso Sherryhefe. Zeller berichtet z. B. von I.: 4. Tag Essiggeruch, starke Säurezunahme (5. Tag 12,5), dann Säureabbau (8. Tag 1,2) und Fäulnis am 10. Tag. Bei den anderen Versuchen fast ebenso. Die Dauerpräparate und Wattaufschwemmungen ergaben stets das gleiche Bild: Überall starke Essigbakterieninfektion und dergleichen, Apiculatushefe neben Weinhefen. (Ob es die eingesäten Weinhefen waren, wurde nicht festgestellt.) Von den fauligen Gärungen lagen leider keine Präparate vor. Die angewandten Giftmengen reichten jedenfalls zur Reingärung nicht aus.

d) Versuche mit anderen Giften.

Im Anschluß hieran mögen noch die Ergebnisse einiger Laboratoriumsversuche kurz genannt sein.

Alkohol in einer Menge von 4 v. H. ließ die Sporenbildner

Mesentericus und Megaterium sowie die Schimmelpilzarten Cladosporium und Mucor nicht aufkommen.

Formaldehyd 0,05 v. H. verhinderte das Wachstum vieler Pilze, dagegen nicht bei Wein- und Spalthefen sowie beim Aspergillus.

Ammoniumfluorid 0,1 v. H. tötete nur die Kahlhefe nicht ab (auch von Zeller angewandt).

Ameisensäure 0,1 v. H. wird von Spalt- und Weinhefen gut vertragen, 0,2 v. H. vom Aspergillus.

Weinsäure 1 v. H. hemmt die Entwicklung der Bakterien, nicht bei Wein- und Spalthefen, 1,5 v. H. nicht bei Kahl- und Anomalushefen sowie Aspergillus.

II. Untersuchungen an Kakaobohnen.

A. Untersuchungen an Kakaobohnen aus Kamerun.

Bei den Versuchen in Kiel war es ein großer Übelstand, daß keine frisch aus der Frucht entnommenen Bohnen zur Hand waren, um an diesen Fermentationsversuche in kleinem Maßstab ausführen zu können. Die wenigen Versuche hierüber mögen kurz genannt sein:

Von Zeller selbst in Kamerun aus der Frucht entnommene Bohnen wurden in einem sterilen Glas nach Zusatz von sehr wenig Formaldehyd eingesandt. Die Bohnen kamen in gärendem Zustand in unsere Hände, ein Zeichen, daß die Formaldehydmenge nur äußerst gering gewesen war. Die zuerst noch rosa gefärbten Bohnen wurden nach dem Öffnen der Flasche allmählich dunkelbraun, im Innern grau. Eine Anreicherung in Würze mit Traubenzucker bei 30° ließ sehr viel Monilia, weniger Kahlhefen, Oidium, Kurzstäbchen und zum ersten Male auch die in den Dauerpräparaten (s. oben) so oft nachgewiesene Apiculatushefe zum Wachstum kommen. Weiter wurden uns ganze Früchte, die nach folgender Weise vorbehandelt waren, übermittelt. Sie waren 39 Tage unterwegs gewesen und trotzdem noch zum Teil recht gut erhalten. Zeller hatte sie zuerst mit Formalin gereinigt und dann zum Teil mit Latex von Hevea brasilienses, zum Teil von Kicxia elastica überzogen. Nach dem Festwerden des Kautschuks wurden die Früchte angeräuchert. Die Stengelschnittflächen wurden mit Siegellack verschlossen. Die Kicxia-Früchte waren bis auf einige Schimmelstellen in recht gutem Zustand, während die übrigen eine durch Schimmelpilze morsche, leicht zerdrückbare Schale und im Innern durch Mucor, Aspergillus und Cladosporium angegriffene

hellbraune, wenig feuchte Bohnen aufwiesen. Das Innere der Bohnen war hellgelb bis braunviolett. Eine Frucht hatte weißlich-rosagefärbte, im Innern bläulich-violette Bohnen. Die „braunfaul“ gewesenen und als solche bezeichneten Früchte enthielten sehr fest in der Schale liegende (auch im Innern bräunliche) Bohnen. Eine nur mit Paraffin überzogene Frucht hatte ein hellbraunes Aussehen und wenig Schimmelwachstum.

Im Innern der gut erhaltenen Früchte wurde durch Anreicherung nur *Oidium* gefunden. Die Fermentierungsversuche wurden in verschiedener Weise vorgenommen:

I. In Wasser bei 30°, keine Gärung, Entwicklung von Essigbakterien, langen Stäbchen, *Oidium* und Kahlhefen. Die Pulpa ließ sich nach 6 Tagen leicht ablösen.

II. In Wasser mit Weinhefe, anfangs gute Gärung, *Oidium*, kurze und lange Bakterien waren außer der Weinhefe aufgekommen. Die Pulpa löste sich leicht ab.

III. In Wasser mit 6 v. H. Traubenzucker und Weinhefe, nach 24 Stunden gute Gärung, zuletzt nach der Gärung *Oidium*- und Sporenbildnerentwicklung. Aromatischer Geruch.

IV. Braunfaule Bohnen in Wasser. Keine Gärung. Kahlhefen, „Fäulnisbakterien“, sowie *Oidium* (mit starkem Aroma) kamen zur Entwicklung. Die Pulpa haftete noch ziemlich fest. — In einem Parallelversuch mit 6 v. H. Traubenzucker fanden sich noch mehr Kahlhefen ein.

V. Braunfaule Bohnen in Wasser mit 6 v. H. Traubenzucker und Weinhefe. Schwache, mit wenig *Oidium* und Bakterien infizierte Gärung, gutes Aroma. Die Pulpa ist noch ziemlich fest.

Nach der nach 6 Tagen vorgenommenen Trocknung sämtlicher Proben war der Bruch ziemlich gut, die Innenfärbung bei I bis III schön braun (I und II waren von vornherein schon braun). Die „braunfaulen“ IV und V waren geschrumpft und platt, im Bruche noch fest (letzteres war noch der Fall nach 3 Wochen in der Gärflüssigkeit). Wir konnten durch die wenigen Versuche feststellen, daß auf diese Weise die natürlichen Verhältnisse wenigstens im großen und ganzen weitab von den Kakaoländern erhalten werden können. Für manche Untersuchungen könnte dies von großem Werte sein.

1. Einwirkung auf die Ablösung der Pulpa, auf den Bruch und auf das Aroma.

Für diese Versuche wurden die Bohnen der von Zeller gesandten Früchte verwendet. Wenn auch die Ergebnisse mit den praktischen Verhältnissen kaum im Einklang stehen, seien sie trotzdem hier kurz mitgeteilt. Nach einer Gärung in Würze mit 8 v. H. Zucker und 4 v. H. Alkohol und mit Essigbakterien war nach 5 und 12 Tagen die Pulpa noch sehr fest an den Bohnen, die nach der Trocknung einen festen Bruch und einen bitteren und essigsauren Geschmack besaßen. In einem gleichen Versuch, dem aber noch eine Sherryhefe zugesetzt war, hatten die Bohnen bei 37° nach 6 und 11 Tagen einen guten Bruch, doch kein besonderes Aroma, bei 43° einen festen Bruch und bitteren Geschmack, in beiden Fällen löste sich die Pulpa leicht ab. Aus einer reinen Kahlmhefegärung in Würze mit 8 v. H. Traubenzucker am 6. Tag entnommene Bohnen hatten eine ziemlich leicht sich ablösende Pulpa, einen ziemlich festen Bruch und leicht bitteren Geschmack. Nach 11 Tagen zeigten sie einen guten Bruch, jedoch ebenfalls noch einen bitteren Geschmack. Im gleichen Versuch, dem noch Essigbakterien zugesetzt wurden, war bei 37° und 43° nach 6 Tagen die Pulpa leicht ablöslich, der Bruch ziemlich fest, der Geschmack etwas bitter. Nach 11 Tagen war der Bruch gut, der Geschmack aber wohl durch Sporenbildner unangenehm und etwas säuerlich.

2. Untersuchung von unfermentierten Kakaobohnen.

Von Zeller wurden 2 Säcke unfermentierter, ungewaschener, sonnengetrockneter Kakaobohnen zur Untersuchung (3. 2. 1926) eingesandt. Sack I enthielt ausgereifte Qualitätsbohnen, das Innere rötlich-violett, Sack II unreife, von der Braunfäule befallene Bohnen. Letztere waren mit Schimmel bedeckt, zum Teil auch innen verschimmelt. Die weißen Flecke auf manchen Bohnen bestanden aus Bakteriensporen. 80 v. H. waren im Innern dunkelbraun, 20 v. H. dunkelviolett. — Durch die übliche Anreicherung wurde an den Bohnen des Sackes I Weinhefen, Kahlmhefen, Essigbakterien, Streptokokken, Pediokokken, Diplokokken und Sporenbildner nachgewiesen, an denen des Sackes II außerdem Torulahefen, Mucor und Aspergillus. Auf keine Weise gelang es, Milchsäurebakterien anzureichern. Bei 45° wuchsen nur Sporenbildner, Kokken und Mucor. Die näheren Untersuchungen der gewonnenen Reinkulturen stellten in großen Mengen Weinhefen und Kahlmhefen fest, letztere vergoren Dextrose und Rohrzucker. Ein großer Diplococcus säuerte besonders gut Dextrose bei 37° und 45°, sein Optimum war 37°.

doch war die Säuremenge gering. Auch die Pediokokken und Streptokokken säuerten in Traubenzuckerlösungen schwach. Die Sporenbildner wurden als *B. megatherium*, *mycoides* und *mesentericus* bestimmt.

3. Nachgärungsversuche.

In fünf verschiedenen Versuchsreihen wurde versucht, durch „Nachgärung“ eine normale Beschaffenheit schlecht fermentierter Bohnen zu erlangen. Ein Teil der Versuchsgläser erhielt zur Abwehr von Fäulnisbakterien 0,5 v. H. Milchsäure bzw. 0,01 v. H. Kaliummetabisulfit. Stets wurde ein gärfähiger Zucker (6 v. H. Dextrose) dem Wasser bzw. der 4°-Balling-Würze zugefügt. Als Gärerreger kam eine aus diesen Bohnen reingezüchtete Weinhefe allein oder in Mischung mit Spalthefer oder schließlich Weinhefe und gleichzeitig ein Milchsäurebakterium (*Bct. Delbrücki*) zur Anwendung. Bemerkenswert ist, daß auch meist in den mit Milchsäure, Kaliummetabisulfit oder *Bct. Delbrücki* versetzten Versuchsgefäßen Kokken, Streptokokken, Sporenbildner und Kahlmhefen, schließlich auch Essigbakterien aufkamen. Es müßten also etwas größere Mengen Pilzgifte zugesetzt werden. Rein war die Gärung in 6prozentigem Zucker-Leitungswasser mit Milchsäure bei Impfung mit Wein- und Spalthefer geblieben. Die nach 6 Tagen getrockneten Bohnen sämtlicher Versuchsgefäße hatten ihre violette Innenfärbung behalten, offenbar weil die Enzyme bereits unwirksam geworden waren.

4. Trocknungsversuche.

Versuch von Zeller (Bericht II vom 1. 8. 1926). Von nur 4 Tage (4. Tag Temperatur 30 cm tief 46°, 55 cm tief 49° C) fermentierten Bohnen wurde am 5. Tag eine größere Menge in einer Schale zuerst an der Sonne, vom 2. Tag ab im Hause getrocknet. Täglich bis zum 7. Tag wurden einige Bohnen davon (zur Analyse in Kiel) in sterile Fläschchen gebracht.

Die Anreicherung auf Würze-Agar (in Kiel) ergab bei den dreitägigen Bohnen zwei Mucorarten, *Penicillium*, grünen und gelben *Aspergillus*, *Fusarium*. Die in 7 Tagen trocken gewordenen Bohnen zeigen keine Schimmelentwicklung.

In Würze mit Traubenzucker bei 30° ließen die Bohnen vom 1. Tag sehr viel *Oidium*, Diplokokken, Stäbchen, vom 2. und 3. Tag Kahlmhefe neben Bakterien, vom 4. Tag außerdem *Torulahefe*, vom 5. und 6. Tag wenig Kahlmhefe, Streptokokken, Langstäbchen und sehr viel *Torulahefe*, vom 7. Tag nur Bakterien aufkommen. Beim Lagern der noch feuchten Bohnen an der Luft kommen die Infektionen mit Schimmelpilzen und bestimmten Hefearten (*Torula*) zustande.

B. Untersuchung der Kakaobohnen verschiedener Länder.

Es wurden etwa 100 verschiedene Proben von Kakobohnen aus fast allen Produktionsländern untersucht, um die auf den Schalen haftenden noch lebenden Pilze, die in den allermeisten Fällen sicherlich aus der „Gärung“ stammten, reinzuzüchten. Vor allem interessierten die Hefen- und Säuerungspilze, weniger die überall häufigen Sporenbildner und Schimmelpilze. Zur Anreicherung der Hefen- und Säuerungspilze wurde gewöhnliche Bierwürze mit Zuckerzusatz gewählt, die mit Milchsäure angesäuert wurde, wenn es sich um die Erlangung einer möglichst reinen Hefeansammlung handelte, dagegen zur Entwicklung der Milchsäure- und Essigbakterien ohne Zusatz gelassen wurde. Von den daraus angelegten Petrischalenkulturen wurden die Reinzuchten gewonnen. Von manchen Kakao- proben mußten, um alles möglichst vollständig und rein in Kultur zu bekommen, etwa 100 Petrischalenkulturen angestellt und untersucht werden. Nur die wichtigsten Ergebnisse seien kurz mitgeteilt:

W e i n h e f e n wurden stets besonders reichlich vorgefunden auf Bohnen von Accra, Kamerun, St. Thomé, Bahia, Venezuela, Caracas, Maracaibo Machalla, Arriba, Trinidad, Ceylon.

S p a l t h e f e n herrschten auf amerikanischen Bohnen (Venezuela, Ekuador) vor. Außerdem wurden sie gefunden auf Bohnen aus Bahia, Trinidad, Accra und Java.

A n o m a l u s h e f e wurde gefunden auf Bohnen aus Kamerun, Accra, Venezuela, Arriba und Machalla.

K a h m h e f e n auf Bohnen aus Accra, Kamerun, Maracaibo, Arriba, Trinidad, Costarica.

T o r u l a h e f e n auf Bohnen aus Kamerun, Accra, Venezuela.

O i d i u m auf Bohnen aus Kamerun, Accra, Machalla, Porto Rico.

Es ist also, was besonders nochmals hervorzuheben ist, niemals auf Trockenbohnen eine Apiculatushefe gefunden worden, obwohl diese Hefe sicherlich bei jeder Fermentierung vorhanden ist.

1. Schliffige Bohnen.

Manche Bohnen (z. B. Machalla und Arriba) wiesen im Innern eine talgig-wachsartige, schiefergraue Beschaffenheit auf. Größtenteils waren diese platt sowie mit einer festen Kruste von getrockneter Pulpa und oft auch mit einer sandigen Schicht bedeckt. Auf Agarböden traten bei diesen aseptisch von der Schale befreiten „schliffigen“ Bohnen stets weißliche Schimmelbildungen (Mucor-

mycel) auf. Es ist aber unwahrscheinlich, daß der Schimmel die Ursache der Schliffigkeit ist. Man meint, daß es unentwickelte Bohnen sind. Tatsächlich enthielten die von Zeller gesandten braunfaulen Früchte geschrumpfte plattförmige, im Innern feste Bohnen. Die feste Beschaffenheit schließt die Entwicklung von Schimmelpilzen und Bakterien aus.

2. „White-spot.“

Sicherlich nichts mit Mikroorganismen haben die sternförmigen Flecke auf der Oberfläche unter der Schale oder im Innern der Bohnen (nur bei Accra) zu tun. Es sind bundweise zusammengelagerte fadenförmige Kristalle, die in den gewöhnlichen Lösungsmitteln unlöslich waren. Diese „White-spot“-Bohnen sollen ein besonders feines Aroma besitzen.

III. Die Pilzarten der Kakaofermentation und der fermentierten Bohnen.

Untersuchungen an Reinkulturen.

In den bisherigen Abschnitten hatten wir alle möglichen Pilzarten, die bei der Fermentierung wie auf den Trockenbohnen von uns aufgefunden wurden, in der Regel nur kurz genannt. Über die wichtigsten Arten müssen noch nähere Angaben gebracht werden, da sich aus manchen Eigenschaften, wie wir am Schluß dieser Mitteilung sehen werden, wichtige Schlüsse für ihre Brauchbarkeit bzw. Unbrauchbarkeit oder Schädlichkeit sowie für die Züchtung bzw. Bekämpfung ergeben. Wir benutzen hierbei die in der Einleitung genannten drei unter der Leitung des Referenten angefertigten Dissertationen.

A. Hefepilze.

Vorweg mag hier nochmals kurz auf die den Lesern durch frühere Abhandlungen wohl schon bekannten älteren Feststellungen hingewiesen werden, da durch unsere Untersuchungsergebnisse manches bestätigt bzw. ergänzt oder als irrtümlich nachgewiesen werden konnte. Preyer hat zuerst die Hefen der Kakaogärung auf Ceylon untersucht und als *Saccharomyces theobromae* bezeichnet. Nach den Abbildungen dürfte es eine gärende Kahlhefeart gewesen sein, die nach unseren Beobachtungen wohl bei allen Fermentationen zu finden ist (s. unten). Nach Preyer sind für die mit dieser Hefe angestellte Fermentierung 23° bis 35° C günstiger als 38° bis 42°, die Gärdauer von 5 bis 6 Tagen ist richtig.

Die von ihm mit einer aus Ceylon bezogenen Hefekultur in Kamerun angestellten Kakaogärungen hatten keinen Erfolg, da, wie Fickendey meint, die Hefeeinsaatkultur gelitten hatte. Unabhängig von Preyer wandte auch Nicholls Reinkulturhefen in Westindien an. Vielleicht lag die gleiche Hefeart vor, da er Salpeter als geeignete Stickstoffquelle und die Hautbildung auf einer von ihm den Praktikern empfohlenen Nährsalzanreicherungsflüssigkeit sowie eine Optimaltemperatur von 37° bis 45° angibt. Bainbridge, Scott und Davis berichteten, daß in Südamerika und Westindien bei der Fermentierung zuerst die Apiculatushefe und Anomalushefe auftreten, die später durch die ovale und runde Saccharomyceshefe unterdrückt werden. Wir haben dies ebenfalls bei zahlreichen Kameruner Kakaogärungen durch die Dauerpräparate durchaus bestätigt. Außerdem konnten wir auf vielen Bohnenproben (s. oben) Spalthefen, Kahlmhefen und Torulahefen nachweisen. Interessanterweise ist die Kahlmhefe auf Kamerun- und Accrakakaobohnen nur vereinzelt gefunden. Jedenfalls sind die meisten, vielleicht sämtliche „Kakaohefen“ kosmopolitisch.

Wenn auch die wichtigsten Hefearten (Weinhefe, Spalthefe, gärende Kahlmhefe) von den Bohnen der verschiedenen Produktionsgebiete in mehreren Rassen von uns reingezüchtet, untersucht und, wenn sie sehr geeignet erschienen, zu den Versuchen in Kamerun ausgewählt wurden (s. oben Mimbohefe, Venezuela-, Accraweinhefe, Kamerun-Kahlmhefe), so hat über alle diese Hefearten von Lilienfeld nochmals eingehende Untersuchungen angestellt. Er untersuchte etwa 100 Hefe-Reinkulturen von Kakao-Bohnen aller Länder, besonders aus Venezuela und Kamerun. Alles, was wir festgestellt hatten, wurde von ihm bestätigt, zum Teil noch ergänzt. Drei von uns nicht gefundene Hefearten sind von ihm beschrieben. Wir müssen hier eine kurze Zusammenstellung der für die Praxis wichtigen Eigenschaften bringen:

Die Kakao-Weinhefe unterscheidet sich kaum von der europäischen Weinhefe, die in zahlreichen Rassen auf allen möglichen Früchten, besonders auf Weinbeeren, vorkommt. Wenn von Lilienfeld und der Referent sie vorläufig als *Saccharomyces ellipsoideus* var. *tropicus* bezeichnet haben, so soll dies darauf hinweisen, daß sie bei 37° etwas mehr Alkohol als unsere gewöhnlichen Weinhefen erzeugt. Sie findet sich sicherlich ebenfalls in verschiedenen Rassen, einige waren z. B. wenig gärkräftig (5 bis 6 statt 9 bis 10 v. H. Alkohol). Die Gestalt ist fast immer rundlich, selten länglich. Bei 30° bis 37° ist ihr Optimum,

bei 42° gärt sie nicht mehr, bei 45° ist sie in 48 Stunden abgestorben. Sie bildet bis 10 v. H. Alkohol.

Die Portweinhefe (Kieler Sammlung) vermochte noch bei 45° etwas zu gären.

Die Spaltheefe ähnelt sehr der Pombehefe, sie unterscheidet sich von ihr durch schnelleres Agarwachstum, heller gefärbte Kolonien, feinflockigen Bodensatz (d. h. sie ist untergärig). Von Lilienfeld und der Referent bezeichneten sie vorläufig als *Schizosaccharomyces Bussei*. Die Form in den Gärflüssigkeiten ist wie bei der Weinhefe rundlich. Ihr Wachstum ist viel langsamer als bei der Weinhefe und Kahlhefe. Bei 42° ist noch Wachstum und Gärung, bei 37° und 40° gärt sie noch besser als die Weinhefe, bei 45° stirbt sie bald ab. Sie stellt höhere Ansprüche an die Stickstoffnahrung, da Pepton nicht ausgenutzt wird, und bildet bei mittlerer Gärtemperatur (unter 40°, über 18°) reichlich Schwefelwasserstoff. Es kommen sporenlose Rassen vor.

Die Anomalushefe unterscheidet sich nicht von den europäischen Arten. Bei 42° wächst sie noch gut, bei 37° gärt sie weniger stark als die vorigen Hefearten (mit 2 v. H. Alkohol), auch bei 30° erzeugt sie nur 5 bis 6 v. H. Alkohol. Sie erzeugt bei der Gärung reichlich Ester, vielleicht ist dies bei der Kakaogärung wichtig. Vom Referenten und seinen Mitarbeitern wurden Anomalushefen in Gesellschaft mit Spaltheffen besonders viel auf Machalla- und Arriba-Bohnen gefunden, doch dürfte das kräftige Aroma der Ekuador-Edelkakaosorten nicht damit in Zusammenhang stehen. Über das Verhalten gegen Essigbakterien wird weiter unten (Essigbakterien) berichtet.

Die „gärende Kahlhefe“ ist wahrscheinlich identisch mit der, wie oben erwähnt, von Preyer und von Nicholls gefundenen *Saccharomyces theobromae* (Zellform, Dextrosegärung, Kahmhaut, Nitratausnützung). In den Dauerpräparaten aus Kameruner Kakaogärungen war sie an den Sproßverbänden erkennbar. Über 42° findet kein Wachstum statt, bei 37° ist das beste Wachstum, während bei 30° am meisten Alkohol gebildet wird (6,5 v. H. Alkohol, bei 37° nur 4 v. H.). Ein vom Referenten und seinen Mitarbeitern untersuchter Stamm vermochte noch bei 45° zu gären, was sehr beachtenswert ist. Milchsäure wird abgebaut.

Während die genannten vier Hefearten fast regelmäßig auf den Bohnen aller Kakaogebiete und in den Kameruner Gärungen (s. Zellers Versuch) gefunden wurden, konnten die folgenden

zum Teil nur auf Bohnen mancher Länder festgestellt werden.

Weinhefe B (Brasilien) bildet mit kleinen warzenähnlichen Erhöhungen besetzte Kolonien und meist nur eine Spore (statt vier). Sie kann nur Traubenzucker und Galaktose vergären, also nicht Rohr- und Malzzucker. Bei 45° kein Wachstum, bei 42° wenig, bei 40° geringe, bei 37° gute Gärung (7,5 v. H. Alkohol).

Eine Hefe M von Trinidadkakaobohnen bildete nierenförmige Sporen, vergor Traubenzucker, Rohrzucker und Raffinose. Über 42° kein Wachstum, bei 37° 2,7 v. H. und bei 30° 4,4 v. H. Alkohol.

Eine Hefe R von St. Thomé-Bohnen unterscheidet sich von den übrigen Arten durch die häufigen Riesenzellen, die Art der Sprossung, Schleimbildung, Hautbildung (nach einigen Wochen), mangelndes Sporenbildungs- und Gärvermögen.

Mycoderma B, echte, nicht gärende Kahlhefe von Trinidad- und Costa-Rica-Bohnen.

Nur in ganz vereinzelt Fällen fanden wir die Apiculatushefe in lebendem Zustand. Dies war nur bei den oben genannten Untersuchungen von mit etwas Formaldehyd konservierten frischen Kakaobohnen sowie bei der Untersuchung von einer Haiti-Bohnenprobe der Fall. Aus dem Innern dieser Bohnen wurde mehrfach eine Apiculatushefe, die nur ein geringes Gärvermögen aufwies, reingezüchtet.

Nach unseren Untersuchungen sind die Apiculatushefen, Weinhefen, Spalthefen (nicht in Kamerun) und die gärenden Kahlhefen, bisweilen auch Anomalushefen die Gärungserreger bei der Kakaofermentation. Das beste Aroma bedingen in Gärflüssigkeiten fraglos die Weinhefen. Bei unseren Versuchen ließ sich nicht entscheiden, ob diese auch Einfluß auf das Kakaoaroma haben können. Die mit Spalthefen angesetzten Gärungen (Zuckerlösung und Bohnen) bedingten „unrein“ und bitter schmeckende Bohnen. Das Wachstum sowie die Gärung sind bei den Spalthefen bei 30° viel langsamer als bei den Weinhefen. Ein Vorteil ist allerdings, daß die Spalthefen gegen Essigsäure weniger empfindlich sind (s. unten). Apiculatushefen gelten bei der deutschen Weingärung wegen ihres Aromabildungs-, stärkeren Säuerungsvermögens und wegen der Hemmung der Edelweihenhefen als minderwertig bzw. schädlich. Vielleicht trifft dieses auch für die Kakaogärung zu. Die Anomalushefen könnten ebenfalls auf das Aroma von Einfluß sein. Gärschwache Hefen, wie die

von uns geprüften Torulahefen und die oben genannte, durch von Lilienfeld gefundene Hefe mit nierenförmigen Sporen, werden keine Rolle spielen.

B. Essigbakterien.

Neben den Hefepilzen sind die Essigbakterien in den Kakaogärungen die häufigsten und einflußreichsten Pilze, so daß wir sie hier gleich hinter den Hefen zu behandeln haben. Von dem Berichterstatter und seinen Mitarbeitern waren bei sämtlichen Proben aus Kamerun und fast auf allen Kakaobohnen aus den verschiedenen Produktionsländern diese Bakterienarten gefunden. Eine große Reihe von Untersuchungen hierüber wurde angestellt, um die Arten, Wachstumsbedingungen, Beeinflussung der Alkoholgärung und Bekämpfungsmittel im Interesse der Praxis ausfindig zu machen (s. unten). Auf Anregung und unter Leitung des Referenten führte C. E c k m a n n eine Dissertation über „Die Essigbakterien aus der Kakaogärung“ (Verlag von Noske in Borna-Leipzig 1928) aus, aus deren Inhalt wir im folgenden das Wichtigste berichten müssen.

Bereits von P r e y e r (1901) wird berichtet, daß die Kakaogärflüssigkeit unter gewissen Bedingungen sauer wird und nach Essig riecht. Die Fermentation ist dann sofort zu unterbrechen. Die beste Gärtemperatur zur Fermentation sei 23° bis 35° C. Im Gegensatz dazu hält O s k a r L o e w (1907) die sich der Alkoholbildung anschließende Essigsäuregärung für unschädlich. Erst 4 v. H. Essigsäure macht die Enzyme der Bohnen unwirksam, kleinere Mengen wirken nur abschwächend. Nach L o e w ist die günstigste Fermentierung bei 40 bis 50°. F i c k e n d e y (1909) meinte, daß das Aroma der Kakaobohnen zum Teil der alkoholischen bzw. der essigsäuren Gärung zuzuschreiben sei. Für geradezu erforderlich wird von S c h u l t e i m H o f e die Essigsäuregärung angesehen: Die Säure tötet die Bohne ab und bedingt die Umfärbung des blauvioletten Inhalts in eine rotviolette Färbung. Für die zur erwünschten Essiggärung nötige Alkoholbildung genügt die gewöhnliche wilde Hefe. Die Essigbildung, die am 2. oder 3. Tag beginnt, kann durch Zusatz von essigsäurem Gärssaft beschleunigt werden. S a c k (1913) ist der Ansicht, daß erst durch die Essigsäuregärung die zur Abtötung der Bohnen notwendige Temperatur von 45° erzielt werden könnte. Nach H u d s o n (1907) ist die Essigbildung schädlich, so daß sie mit Alkalien zu bekämpfen sei. N i c h o l l s , der zuerst die Kakaogärungs-Essigbakterien abbildete, beobachtete, daß in den gärenden Kakaomassen die Hefe regelmäßig durch die Essigpilze abgelöst wird. Die Verwendung von Rein-

kulturhefe ist zweckmäßig. Auch in einer Arbeit von Bainbridge, Scott und Davis (1913) wird die Essiggärung erwähnt. Auf die alkoholische Gärung (erst *S. apiculatus*, dann ein ovaler und runder *Saccharomyces*) folgt die Essigbildung, der sich bei über 8 Tage dauernden Gärungen die Entwicklung von Heubazillen anschließt. Der Gärssaft enthält 4,8 v. H. Alkohol und eine auf Essigsäure berechnete Gesamtsäure von 0,78 v. H. Die Temperatur steigt in den ersten 24 Stunden auf 35° bis 40°, in den nächsten 48 Stunden auf 40° bis 45°, und kann dann weiter sogar bis auf 50° (selten 53°) hochgehen. Den Lesern dieser Zeitschrift ist bekannt, daß ganz besonders Bussé (1924) auf die Notwendigkeit der Bekämpfung der sich überall findenden schädlichen Essigbakterien durch Reinhefezusatz, Ausschweifen der Gärkästen oder Zusatz von doppelschwefligsaurem Kalk zum Gärgut hingewiesen hat.

Die Essigbakterien wurden von Eckmann von Bohnen aus dem Lager einer Hamburger Firma sowie aus den von der Kakao-Einkaufsgesellschaft freundlicherweise zur Verfügung gestellten Proben gewonnen. Eine Anreicherung in Würze mit 4 v. H. Alkoholzusatz führte in 4 bis 6 Tagen zum Ziel; die Reinzucht von etwa 60 Stämmen gelang dann leicht mittels der Petrischalenkultur. Eckmann fand unter den 60 Reinkulturen eine ganze Reihe verschiedener Arten. Auch von ihm wurden die schon vorher vom Referenten und seinen Mitarbeitern beobachteten *Bct. ascendens*, *Bct. xylinum* und nicht hautbildende Essigbakterien festgestellt, außerdem aber noch *Bct. xylinoides* und *Bct. orleanense*. Er unterscheidet eine Gruppe der „Ascendens“-ähnlichen (mit und ohne Überoxydation) und unter den Nichthautbildnern, die gleichzeitig die Essigsäure nicht wieder aufzehren können (d. h. keine Überoxydation), zwei Gruppen (Typus I überall häufig, starkes Zuckersäurevermögen, Typus II nicht in Kamerun, Brasilien, Venezuela vorkommend, Arabinose wird gesäuert). Eine andere Gruppe, Typus III, zeigt geringe Hautbildung, Überoxydation bei 30° (nicht bei 20°), während der letzte Typus IV vor allem durch die ovalen, fast runden Zellformen charakterisiert ist. Überoxydation bei 30°. Von 22 aus Accrakakaobohnen bzw. Gärflüssigkeiten vom Referenten und seinen Mitarbeitern reingezüchteten Arten waren 5 sehr starke Säurebildner (in Bier 4,3 bei 7,3 v. H. Essigsäure), die übrigen sehr viel schwächere. — Das *Bct. xylinum* wurde von Eckmann von Kamerun-, Ekuador- und Trinidadbohnen reingezüchtet, *Bct. xylinoides* von Kamerun, Nigeria, Goldküste, Ekuador und Ceylon; *Bct. orleanense* von Kamerun, Brasilien, Venezuela, Trinidad und Ceylon; *Bct. ascendens* von Kamerun, Nigeria, Goldküste,

Brasilien, Venezuela und St. Thomé; Typ I ebenso (wie *Bet. ascenden*s), außerdem noch von Ekuador, Trinidad und Ceylon; Typ II von Nigeria, Goldküste, Ekuador, St. Thomé, Trinidad, Ceylon und Java; Typ III von Kamerun, Nigeria, Goldküste und Ekuador; Typ IV von Kamerun, Ekuador und St. Thomé. Sicherlich ist dieser Befund kein regelmäßiger, sondern vom Zufall abhängig gewesen. Er wurde trotzdem hier mitgeteilt, um das kosmopolitische Vorkommen zu zeigen. Zu beachten ist, daß Eckmann auch auf Venezuela- und Ekuadorbohnen im Gegensatz zu den Befunden des Referenten und seiner Mitarbeiter Essigbakterien wiederholt beobachtete. In diesen Ländern scheint der Essigpilz nach den bisherigen Angaben keine schädliche Rolle zu spielen, was also nicht mehr durch das Fehlen der Essigbakterien erklärt werden darf.

1. Untersuchungen über das Säuern in der Flüssigkeit.

Bei der Kakaogärung wird in der Regel täglich ein- bis zweimal umgeschaufelt, um eine gleichmäßige Fermentierung der Bohnen sowie eine Herabminderung der Temperatur zu erreichen. Sicherlich wird auch durch Luftzufuhr die Hefe zur Tätigkeit angeregt. Die Essigbakterien sind als luftbedürftige Pilze besonders üppig auf der Oberfläche entwickelt und werden durch das Umschaukeln in der ganzen Masse verteilt. Eckmann konnte nachweisen, daß 11 (davon 6 Kamerun) von 20 Stämmen auch in der Flüssigkeit deutlich weitersäuern. Das Umschaukeln kann die Säuerung demnach nicht verhüten.

2. Versuche über die Oxydation der Essigsäure („Entsäuerung“).

Von Zeller war durch Titration und Sinnesprüfung beobachtet, daß die Essigsäure im Verlauf der Fermentation regelmäßig wieder abnimmt und schließlich gänzlich verschwindet. Da dies von großer praktischer Bedeutung ist, war festzustellen, durch welche Pilze die Säureverzehrung vor sich geht. Es konnte sich der Erfahrung gemäß nur um die Kahlhefen und um die Essigbakterien selbst handeln. Wenn auch durch die bei der Fermentation fast regelmäßig beobachtete hohe Temperatur und durch das Umschaukeln ein gewisser Teil der flüchtigen Essigsäure verdunstet, so wird der Hauptteil sicherlich durch die Pilze wieder weggeschafft. Die Versuche des Referenten und seiner Mitarbeiter zeigten zunächst, daß die Essigbakterien allein in Würze mit 3 v. H. Alkohol bei 30° bis zum 4. Tag 1,1 v. H. Säure bildeten, die sie bis zum 7. Tag fast völlig wieder verzehrt hatten. Bei Zusatz außerdem von 8 v. H. Traubenzucker bei stärkerer Luftzufuhr (Schalen mit fermentierten

Bohnen) war bis zum 2. Tag schon 2,2 v. H. Säure entstanden, die am 8. Tag bis 0,9 v. H. wieder verschwunden war. Die am 13. Tag noch vorhandene Säure war offenbar eine weniger leicht zu oxydierende Säure (wohl Glykonsäure aus dem Traubenzucker). In verschiedenen Versuchen mit Essigbakterien in Mischung mit Mimbo- weinhefe, gärender Kahlmhefe aus Kamerun, Anomalushefe bzw. nicht gärender Kahlmhefe, war die Säure aus dem von den ersten drei Hefen erzeugten Alkohol (Würze mit 8 v. H. Traubenzucker) gebildet; auch hier war überall (mit Ausnahme von 43° Kahlmhefe Kamerun) eine baldige Säureabnahme zu bemerken. Schnell verschwand auch die entstandene Glykonsäure bei gleichzeitiger Anwesenheit von nicht gärender Kahlmhefe. Die Anomalushefe hemmte (Würze mit 8 v. H. Traubenzucker) die Weiteroxydation der entstandenen 1,3prozentigen Essigsäure, da der Abbau in 14 Tagen nur bis 0,8 v. H. vor sich ging. Besonders hervorzuheben ist, daß bei 30° (Würze mit 3 v. H. Alkohol) in Gegenwart der gärenden Kamerun- Kahlmhefen am 3. Tag 0,45 v. H. und am 7. Tag 0,57 v. H. Essig- säure durch die Essigpilze gebildet war; schon am 11. Tag war diese völlig verschwunden, während derselbe Versuch bei 43° nur eine ganz geringe Säuremenge entstehen ließ, die sofort wieder ab- gebaut wurde. Bei einem anderen Parallelversuch mit gärender Kahlmhefe (Nr. 6) bei 43° war durch das Essigbakterium bis zum 5. Tag 0,36 v. H. Essigsäure gebildet, am 7. Tag war nur noch 0,04 v. H. davon vorhanden.

Wie frühere Versuche des Referenten und die oben mit- geteilten Untersuchungen von E c k m a n n gezeigt hatten, verhalten sich die einzelnen Essigbakterienarten betreffs der Verzehung der Essigsäure z. T. sehr verschieden. Manche bauen die Säure über- haupt nicht ab, andere nur unter bestimmten Verhältnissen (wenig Säure, höhere Temperatur). Solche Fälle werden auch in der Praxis beobachtet werden können. In manchen Versuchen baute die nicht gärende Kahlmhefe, die sonst zu den stärksten Säure- verzehrern gehört, nur langsam die Essigsäure ab. Auch hier müssen also besondere Bedingungen vorliegen. Nach F i c k e n d e y nimmt die o x y d i e r e n d e W i r k u n g der Enzyme auf die Gerb- stoffe (Braunfärbung und Aromabildung) bei z u n e h m e n d e m S ä u r e g r a d ab. Alkohol und Milchsäure beeinträchtigen in keiner Weise die Qualität der Bohnen, dagegen Essigsäure, Butter- säure und Fäulnisstoffe. Von manchen Seiten wird die Essigsäure- gärung für unbedingt erforderlich gehalten, doch dürfen die Bohnen nicht mehr säuerlich schmecken oder riechen (s. unten).

3. Einfluß der Essigsäure auf die Hefe. (Die Empfindlichkeit der Hefen gegen Essigsäure.)

Es ist seit langem bekannt, daß die Hefen besonders gegen Essigsäure sehr empfindlich sind. Sobald also bei der Kakaofeimentation eine Essigbildung auftritt, wird die Alkoholbildung der Hefen mehr oder weniger gehemmt bzw. zum Stillstand gebracht. Referent und seine Mitarbeiter stellten einige Versuchsreihen an, um die dazu nötigen Essigsäuremengen genauer festzustellen. In einer Nährflüssigkeit (Würze mit 8 v. H. Traubenzucker) wurde die Gärung der Mimbohefe schon bei einem Zusatz von 0,1 v. H. Essigsäure um 24 Stunden verzögert, bei 0,75 v. H. hörte sie am 5. Tag auf, bei 1 v. H. begann die Gärung erst am 5. Tag und kam schon nach weiteren 48 Stunden zum Stillstand. Alkohol war bei 0,1 v. H. Säure am 7. Tag = 4,8 v. H., bei 0,3 und 0,5 v. H. Säure = 4 v. H., bei 0,75 v. H. Säure am 11. Tag = 3,8 v. H. und bei 1 v. H. Säure 3,5 v. H.

Eckmann verimpfte die Kakaoweinhefe mit je einem von 20 Essigbakterienstämmen in Würze mit 8 v. H. Traubenzucker. Die Alkoholbildung erfolgte sehr träge nur bis auf 2 v. H., blieb dann stehen bis zum 5. Tag und sank nun schnell ab. Die bis dahin etwa 1,5 v. H. Essigsäure betragende Säuremenge stieg gleichzeitig stark an. Eckmann meint daher, daß die Kakaofeimentation spätestens also am 5. Tag beendet sein müsse, wie es auch in manchen Kakaoländern der Fall sei.

In einem Mischversuch von Spalthefen bzw. Weinhefen mit dem Bct. xylinum (bei 30°) fanden sich in den Versuchen des Referenten und seiner Mitarbeiter am 4. Tag schon 55 v. H. tote Hefezellen, was für eine gleiche Empfindlichkeit beider Hefearten spricht. Sonst hatte sich die Spalthefe als deutlich weniger empfindlich gezeigt.

Die Anomalushefen sollen nach Angabe mit Hilfe ihrer Esterbildung die Entwicklung der Essigpilze hemmen. Wäre dies stets der Fall, so könnte man sie als natürliche Feinde verwenden, zumal diese Hefen öfters in der Kakaogärung zu finden waren. Nach einigen Versuchen des Referenten und seiner Mitarbeiter hemmten die Anomalushefen die Aufzehrung der Essigsäure durch die Essigbakterien. Die Anomalushefe allein bildete bei 30° in Würze mit 8 v. H. Traubenzucker bis zum 2. Tag 1,2 v. H. und bis zum 8. Tag 4,2 v. H. Alkohol, mit einem aus Kameruner Material reingezüchteten und am 2. Tag zugesetzten Essigbakterium (Bct. ascendens) zusammen war am 12. Tag nur 1,4 v. H. Alkohol und 1,1 v. H. Essigsäure (10. Tag) gebildet. Die Weiteroxydation der Säure bis zum

14. Tag war äußerst gering (1 v. H.). In einem anderen Versuch wurden die Anomalushefe und der Essigpilz gleichzeitig eingimpft; Alkohol am 12. Tag 2,8 v. H., Säure am 5. Tag als Maximum 0,3 v. H., am 10. Tag 0,21 v. H. Die Essigbakterien wurden also sehr gehemmt, aber keineswegs völlig unterdrückt.

C. Milchsäurebakterien.

Wie wir oben sahen, wurden Milchsäurebakterien auf den Kakaobohnen und in den Gärungsflüssigkeiten (Watte-Fläschchen) nur vereinzelt von uns in lebendem Zustand nachgewiesen. In den Dauerpräparaten kann man nur die runden Formen (Kokken und Streptokokken) sicher erkennen. Die hier sehr oft beobachteten dünneren Stäbchen können auch die vegetativen Zellen der immer in den Anreicherungen und auf den Bohnen nachzuweisenden Sporenbildner (s. unten) sein. Nur in einigen Fällen waren kettenbildende längere Stäbchen, d. h. Milchsäurepilze, vorhanden. Sie wurden als zur Gruppe des Streptobakterium plantarum gehörig bestimmt. Außerdem wurde ein Streptokokkus glycerinaceus und verschiedene schwach säuernde Kokken reingezüchtet. Leider wurde unterlassen, eine Gärflüssigkeit chemisch auf das Vorhandensein von Milchsäure zu prüfen. Man hätte daraus erkennen können, ob Milchsäurebakterien bei der Kakaofermentation eine bemerkenswerte Rolle spielen.

Die Milchsäurepilze sind sonst als Konkurrenten der Gärhefen fast bei allen Hefegärungen zu finden. Daß die Kakaogärung nicht besonders günstig für sie ist, erkennt man an dem üppigen Aufkommen nach Zusatz einer Nährflüssigkeit (s. Versuch Zeller) sowie an dem negativen Ausfall nach Zusatz des Bct. Delbrücki (Versuche von Zeller). Die hohe Temperatur würde dieser und anderen wärmeliebenden Arten zusagen. Auch die Essigsäuremengen dürften kaum hinderlich gewesen sein.

Außer Milchsäurebakterien fanden sich natürlich viele andere Bakterienarten, wie Actinomyces, Coli- und Fäulnisbakterien in den Gärflüssigkeiten bzw. auf den Bohnen.

D. Sporenbildner.

Bei allen nicht sauren Gärflüssigkeiten können die überall in der Erde und im Staube häufigen Sporenbildner zur üppigen Entwicklung kommen, besonders wenn eine höhere Temperatur (30 bis 50°) vorhanden ist. Als z. T. sehr luftbedürftige Pilze halten sie sich vor allem auf der Oberfläche der Gärmassen auf. Eine Hefeschädigung tritt meist nicht auf. Wenn die fermentierten Kaka-

bohnen in noch feuchtem Zustand bei wärmerer Temperatur zum Trocknen ausgebreitet lagern oder später beim Transport feucht werden, können die Sporenbildner sich sehr üppig vermehren. Wir fanden sie ausnahmslos auf jeder Kakaobohne und in jeder Wattekultur (Gärflüssigkeit), wo sie oft alles andere zum Absterben gebracht hatten. Bisweilen bestanden weiße Fleckchen auf den Kakaobohnen nur aus Sporen. Reingezüchtet wurde eine ganze Reihe verschiedener Arten, die zur Mesentericus-, Mycoides- und Megatheriumgruppe gehörten. Eine Mesentericusart bildete eine dunkelgrün gelbe Haut. Auf Java- und Venezuelabohnen fand sich eine Art, deren Kolonien schleimtropfenartig, hellgelb, später dunkelbraun mit gelben Adern durchzogen waren. Die großen Zellen waren dick und stark gekörnt.

Die Tatsache, daß auf Venezuela- und anderen Edelkakaoarten aus Mittelamerika oft mehr große Sporenbildner (Ruminatus- und Megatheriumgruppe) gefunden wurden, ist möglicherweise auf die dort fehlende oder geringe Essiggärung zurückzuführen. Aus den Versuchen von Zeller, bei denen nach der Überoxydation der Essigsäure Sporenbildner und andere Fäulnispilze eine alkalische Reaktion und Fäulnisgeruch verursacht hatten, geht die Wichtigkeit der Gegenwart einer sauren Reaktion hervor. Hier erkennt man, daß die Essigpilze, wie schon von manchen Forschern erkannt wurde, auch nützlich sein können, da sie durch ihre Säurebildung alle säureempfindlichen Fäulnispilze fernzuhalten vermögen. Milchsäure, die man zu dem gleichen Zweck in den Hefefabriken und Brennereien verwendet, ist als Nichthefegift natürlich viel günstiger. Geringe Mengen von Schwefelsäure oder schwefliger Säure würden ebenfalls viel günstiger als „Antiseptica“ sein. Das völlige Wegschaffen der Essigsäure durch Überoxydation bei längerer Gärdauer und öfterem Umschäufeln ist jedenfalls mit großen Gefahren verbunden. Eine geringe Säuremenge muß unbedingt bis zum Schluß der Fermentation vorhanden bleiben. Natürlich darf hierbei kein saurer Geschmack in den Bohnen bemerkbar sein.

Anaerobe Sporenbildner, wie Buttersäurebakterien, haben wir niemals bei unseren Untersuchungen gefunden. Eine Buttersäuregärung dürfte also nur selten zu beobachten sein.

E. Schimmelpilze.

Es wurde schon oben erwähnt, daß die aus Kamerun eingesandten Agar- und Wattekulturen oftmals eine sehr störende Schimmelentwicklung zeigten. In den Anreicherungen aus letzteren

kamen stets Schimmelpilze, wie *Oidium*, *Monilia*, *Penicillium*, *Aspergillus* und *Mucor* auf. Gerade diese Arten mußten also mindestens in Sporenform in den Gärkästen vorhanden gewesen sein. Sie blieben auch in der geschlossenen Flasche in lebendem Zustand. Die Dauerpräparate enthielten nicht selten *Oidium*zellen, die also aus der gärenden Bohnenmasse stammten. Bei fast allen Bohnensorten, besonders bei Accrabohnen (ebenso bei Haiti-, Lagos-, Samana- und Arribabohnen), konnte man beim Zerbrechen mancher Bohnen (z. B. bis zu 25 v. H. nach Reinke) Schimmelbildungen im Innern oder nur unter der Schale erkennen. Sie erscheinen grau, leuchtend gelb oder grün. Es handelte sich nach unseren Beobachtungen um grüne, braune und schwarze *Aspergillus*arten, ferner (besonders in Haiti- und Lagosbohnen) um etwa 6 *Mucor*arten (*Rhizopus*, grau, lang mit schwarzen Köpfen; kurz und hellgrau; weißlich grau ohne Sporangien; braun und lange; sehr kurze braune, bei 45° noch wachsend; von 14 geprüften Stämmen zeigten nur 4 in Würze bei 37° Gärung); etwa 7 *Penicillium*arten (blauweiße und grauweiße, wegen ihrer Kolonien und Aroma zur Roquefortgruppe gehörige, glaucumähnliche und *Brevicaule*gruppe, weißgelbe Art) und schließlich um 3 *Cladosporium*-arten (dunkel-moosgrün, hellgrau-grün und grau) neben *Oidium*, *Monilia*, *Cephalothecium*, *Fusarium*, *Botrytis* und *Pyknidenschimmel*.

Am häufigsten wurde die leuchtend gelbgrüne *Aspergillus*art aufgefunden, seltener die braunen Arten. Nur letztere wuchsen noch bei 45°, ihr Optimum war überall 37°. Außer der *Aspergillus glaucum*-Gruppe besaßen sämtliche mehr oder weniger Diastase. Alle spalteten Fett und lösten geronnenes Hühner-eiweiß (Würfel) auf, und zwar manche Stämme schon in 3 bis 4 Tagen. Soweit geprüft, bilden alle Arten in Würze mit Kreide reichlich Oxalsäure. Die braunen (nicht die grünen) Arten verursachten in sterilisiertem angefeuchteten Brot eine schmierige Beschaffenheit. Ebenso töteten und zersetzten die dunkel gefärbten Arten (wie auch Reinke für „niger“, „tamaris“ und „repens“ bestätigte) keimfrei den Hülsen entnommene grüne Erbsen und aseptische, lebende Mohrrübenstücke. Bei den grünen Arten trat dies später und weniger stark auf. Auch Äpfel wurden von den braunen Arten ziemlich schnell durchwachsen. Charakteristisch für die meisten *Aspergillus*arten ist der bohnenkrautähnliche Geruch auf Lab- und Sauermilchquark.

Auf Anregung und unter Leitung des Berichterstatters hat Reinke die *Aspergillus*gruppe, die besonders häufig auf dem

Kakaobohnen des Handels vorkommt, eingehend untersucht (Dissertation, Kiel 1927, Druck bei Nölke in Bordesholm). Es wurden 40 Bohnenproben aus 18 verschiedenen Produktionsgebieten, 3 Fermentationsflüssigkeiten, ganze Kakaofrüchte sowie 2 Plantagen-Erdproben aus Kamerun auf Schimmelpilze untersucht. Insgesamt wurden 300 Reinzuchten gewonnen, die zu 30 bis 40 Arten gehörten, und zwar 142 *Aspergillus*-Stämme, unter denen sich 12 Arten bestimmen ließen. Als wärmeliebende Schimmelpilze gehören die *Aspergillus*-arten wohl zu den häufigsten Tropenschimmelpilzen. Öfters konnten von Reinke bis zu 5 Species von ein und derselben Bohnenprobe reingezüchtet werden. Am häufigsten (auf etwa 75 v. H. der Proben) waren *Aspergillus flavus* und *niger* anzutreffen, dann folgen in der Häufigkeit (etwa 50 v. H.) *Aspergillus Sydowi* und *tamarii*, dann *Aspergillus repens*, *terreus*, *carbonarius* und schließlich die nur vereinzelt gefundenen *Aspergillus versicolor* var. α *flavipes*, *candidus*, *giganteus*, *ochraceus* und *versicolor*. Es ist sicherlich ein Zufall, daß z. B. *Aspergillus terreus* nur auf Bohnenproben aus Südamerika gefunden wurde. Höchstwahrscheinlich sind alle diese Arten kosmopolitisch. — Von den sonstigen Angaben von Reinke interessiert uns hier folgendes: Im Innern mancher Bohnen aus Accra, Lagos und Haiti wurden *Aspergillus niger* und *tamarii*, aus Haitibohnen auch *Aspergillus carbonarius*, in Accra- und Haitibohnen *Aspergillus flavus*, in St. Thomé *Aspergillus repens*, in Brasilien *Asp. terreus*, in Lagos *Asp. ochraceus* gefunden. Von den braungelben Perithezien des *Asp. repens* waren manche Bohnen (aus St. Thomé) völlig eingehüllt. — In der Misselele = Erdprobe konnten *Asp. niger*, *flavus*, *repens* und *versicolor*, in der Victoria = Erdprobe *Asp. niger*, *flavus* und *giganteus* aufgefunden werden. Bei 45° wuchsen außer einer *Mucor*-art der *Asp. terreus*, bei 42° *Asp. niger* und *flavus*, alle drei haben ihr Optimum bei 37°, sind also wärmeliebend und könnten sich demnach bereits auf der Oberfläche der warmen, fermentierenden Bohnen entwickeln. Kühlere Temperaturen (20 bis 25°) sind für *Asp. candidus*, *ochraceus*, *repens*, *versicolor*, *Sydowi* und *flavipes* besonders günstig.

Wenn auch Preyer „*Penicillium glaucum*“ auf fermentierenden Kakaobohnen und Zeller bisweilen „Schimmelbildung“ auf den an der Oberfläche im Gärkasten lagernden Bohnen feststellte, so tritt die Verschimmelung erst beim langsamen Trocknen an der Luft und beim Feuchtlagern auf dem Seetransport auf. Je mehr Pulparesten an den Bohnen haften, einen desto günstigeren Nährboden finden die Schimmelpilze. Gewaschene oder terrierte

Bohnen sind nach Reinke schimmelarm oder schimmelfrei. Die Schimmelpilze können das Äußere und das Aroma nachteilig verändern, so daß die Bohnen minderwertig sind. Wie Schulte im Hofe feststellte, genügt ein Wassergehalt der Bohnen von 20 v. H. zum Verschimmeln, bei 25 v. H. Wassergehalt verschimmelten die Bohnen auf der Horde vollständig. Wie oben angegeben, sind manche Arten auch Schädlinge der lebenden Samen und Pflanzen, vielleicht dringen diese auch am leichtesten in die fermentierenden Bohnen ein.

IV. Optimal- und Maximaltemperaturen der Pilze und die Fermentierungstemperatur.

Aus den Berichten der verschiedenen Forscher geht hervor, daß bei der Fermentierung der Bohnen die Temperatur in kurzer Zeit sehr hoch gehen kann: Wärmegrade bis 45° , sogar bis 50° sind oftmals beobachtet. Der Einfluß auf die Bohnen wird natürlich auch von der Dauer der hohen Temperatur abhängig sein. Man kann als sicher annehmen, daß die Abtötung der Bohnen um so schneller vor sich geht, je früher die hohe Temperatur (Atmungswärme der Bohnen sowie Gärungswärme) eintritt. Nach Fickendeney sind hohe Temperaturen bis zu einem bestimmten Grade auch für die Enzymtätigkeit, die erst nach dem Absterben der Bohnen voll einsetzt, sehr günstig. Stevens ist der Ansicht, daß überhaupt nur eine kurze Erhitzung auf 45 bis 60° genüge, um die Enzyme in Tätigkeit zu setzen, so daß eine Ausfermentierung vor sich gehen kann. Nach allen unseren Untersuchungen sind aber die hohen Temperaturen für die alkoholische Gärung, d. h. für die Gärhefen, höchst ungünstig. Über 40° versagen fast sämtliche Weinhefen, nur die Apiculatushefen, Mimbohefe, Spaltheffe und gärende Kahmhefe gären noch etwas bei 43° . In 48 Stunden bei 45° waren alle Hefen abgestorben. Das Gär optimum liegt fast stets bei 30 bis 37° . Diese Zahl gilt auch für Preyer als die günstigste Fermentierungstemperatur, während Loew 40 bis 50° und Sack 45° angeben. Vielleicht erklärt sich diese auffallende Verschiedenheit in den Angaben z. T. durch die Art der Messung; in der oberen Gärmasse herrscht eine niedrigere Temperatur als in der Tiefe, eine Messung in einer gut durchgerührten Masse gibt wieder eine andere Temperatur. Man kann als sicher annehmen, daß in den oberen Schichten eine gute Entwicklung der verschiedenen Pilze stattfindet, während unten durch die Hitze

alles zum Stillstand bzw. Absterben gebracht sein kann. Andererseits ist es sehr wohl möglich, daß sowohl bei einer kürzer andauernden hohen Temperatur wie bei einer länger andauernden niedrigeren gleich gute Erfolge erzielt werden können. Hierüber werden bereits Erfahrungen in verschiedenen Ländern vorliegen. Außer den Hefe-Temperaturen interessieren besonders die Optimal- und Maximaltemperaturen für die Essigbakterien, da diese Bakterienarten fast allgemein für die größten Schädlinge der Kakaofermentation gehalten werden. Die vom Referenten in früheren Versuchen festgestellten Maxima sind für das *Bct. ascendens*, deren Vertreter von uns und von Eckmann fast regelmäßig auf den Kakaobohnen gefunden wurden, 44° , für *Bct. aceti* Hansen, *Pasteurianum* und *Kützingianum* 42° , für andere 36 bis 40° , während die Optimalzahlen meist 30 bis 35° (bei *Bct. curvum* $36,5$) sind. Unglücklicherweise sind dies, wie wir sahen, die Hefe-Temperaturen, so daß wir die Essigbakterien nicht durch die höhere Temperatur fernhalten können, ohne auch die Hefe zu schädigen.

Die meisten in Betracht kommenden Essigbakterienarten (außer Eckmanns Typus I und Typus II, nach dem Referenten auch *Bct. oxydans* und *industrium*) und ebenso die Kahlhefen vermögen die Essigsäure durch Weiteroxydation wegzuschaffen (s. oben). Manche können dies nur bei 30° (nicht bei 20°), sämtliche aber nur, wenn es sich um geringere Säuremengen und nicht abgeschwächte Zellen handelt. Solche Verhältnisse liegen aber bei der Kakaofermentation vor, wie Zellers Titrationen bewiesen. Man kann annehmen, daß bei höheren Wärmegraden (z. B. 40 bis 45°) fast nur die wärmevertragenden Kahlhefearten als Säureverzehrer in Betracht kommen.

Die Sporenbildner wachsen bei Temperaturen zwischen 30 und 45° , teilweise bis 55° sehr schnell. Schließlich haben als Schädlinge der trocknenden Bohnen auch die Schimmelpilze für uns großes Interesse. Beim häufigen Umschaukeln werden sie auf der Oberfläche der fermentierenden Masse nicht zur Entwicklung kommen. Bei 45° wachsen noch gut eine *Mucor*- und *Aspergillus*-art, *Aspergillus terreus*, bei 42° der *Aspergillus niger* und *flavus*, ihre Optimaltemperaturen sind 37° . Andere Arten wachsen zwischen 20 und 25° am besten. Man sieht daraus, daß die ohne Trocknungsapparate langsamer trocknenden Bohnen stets sehr ge-

fährdet sind, so daß eine schnelle und ausreichende Trocknung unbedingt stattfinden muß. In Trockenapparaten sollen 65 bis 70° nach Fickendey wegen der Schonung der Enzyme vermieden werden.

Schluß.

Zusammenfassung und Richtlinien für weitere Untersuchungen in der Praxis.

Die Kakaobohnen enthalten, wenn sie in die Gärkästen gebracht sind, regelmäßig durch Kontaktinfektion eine außerordentlich verschiedenartige Hefen-, Bakterien- und Schimmelpilzflora, von der bestimmte Arten während der Fermentation zur Vermehrung kommen und den Gärverlauf mehr oder weniger beeinflussen. Die Flora wird in ihrer Zusammensetzung bestimmt besonders durch die Ernährungs-, Temperatur- und Reaktionsverhältnisse. Es handelt sich um einen anfangs sehr schwach sauren, wasserreichen, zuckerhaltigen, wenig Eiweiß- und Mineralsalz enthaltenden Nährboden, der für viele Pilzarten günstig ist. Besonders geeignet ist er für die Gruppe der Gärhefen, die daher ausnahmslos frühzeitig zur Entwicklung kommen. Natürlich können sich gleichzeitig auch viele Bakterienarten entwickeln. Die überall vorkommenden Apiculatushefen gelangen aber in den allermeisten Fällen zuerst zur Vorherrschaft, dann werden sie abgelöst durch die alkoholgärungsstärkeren Weinhefen bzw. Spalthefen. Sobald Alkohol erzeugt ist, also metabiontisch, stellen sich ein die alkoholliebenden Essigbakterien, die Alkohol in Essigsäure verwandeln, und gleichzeitig die Alkohol und Essigsäure verzehrenden, nicht gärenden Kahlhefen- und Oidiumarten. Durch die Atmung der anfangs noch lebenden Kakaobohnen und durch die Tätigkeit der Organismen tritt aber ziemlich bald eine ganz beträchtliche Temperaturerhöhung auf. Säure und hohe Temperatur sind nun von größtem Einfluß auf die Flora; nur was unter diesen Verhältnissen zu wachsen vermag, kommt auf. Sämtliche „Kältepilze“ gehen zugrunde oder werden untätig. Sind nur geringe Säuremengen entstanden, so entwickeln sich die wärmeliebenden, gegen mehr Säure empfindlichen Pilze, wie die überall massenhaft vorkommenden Sporenbildner „Heubazillen“. Von den wärmevertragenden, zuckerliebenden Milchsäurebakterien kommen die nicht an besondere gute Stickstoffquellen angepaßten Arten (Kokken, Streptokokken) und ebenso die wärmevertragenden gärenden Kahlhefen auf, da sie ziemlich unempfindlich gegen ziemlich hohe Essigsäure- und Alkoholgrade sind. Wärme und größere Säuremengen vertragen

aber auch manche Essigbakterienarten, die dann die Essigsäure weiter zu Kohlensäure und Wasser verwandeln. Schneller findet dies bei nicht so hohen Wärmegraden statt. Sobald die Säure verschwunden ist und auch infolge des Absterbens der Bohnen die Temperatur zu sinken beginnt, kommt eine Fäulnisflora (im weiteren Sinne) auf. Viele Sporenbildner und wohl auch echte Fäulnisbakterien zersetzen das Eiweiß und verursachen ein sehr übles „unreines“ Aroma. Der Praktiker pflegt seit alters die fermentierenden Bohnen wiederholt umzuschaukeln, wodurch zunächst eine Temperaturherabsetzung, wenn auch besonders anfangs nur in geringem Grade und vorübergehend, und vor allem auch eine Lüftung, d. h. Sauerstoffzufuhr, stattfindet. Anaerobe Pilze, die auch höhere Stickstoffansprüche stellen, können jedenfalls kaum aufkommen, um so mehr werden die sauerstoffbedürftigen wie Hefen, aerobe Sporenbildner und Essigbakterien, zum Wachstum und zur „Gärung“ angeregt. Würde man das Umschaukeln unterlassen, so würde schon durch die hohe Temperatur fast alles zugrunde gehen. Durch die Sauerstoffzufuhr werden die Essigbakterien zur Verzehrung der Essigsäure angeregt, was zur Verhütung von essigstichigen Kakaobohnen sich als unbedingt notwendig erweist. Gelingt dies vollständig, so ist die sehr oft stattgehabte Essigbildung, falls sie nur in geringem Grade vorhanden war, wohl ganz unbedenklich. Sie war in diesem Fall sogar nützlich, da die stets den Geschmack verschlechternde, daher sehr schädliche Fäulnisbakterienflora verhütet und vielleicht eine schnelle Abtötung der Bohnen erzielt wurde. Sobald die Fermentation beendet ist, muß wegen des nun fehlenden Säureschutzes sofort die Gärung der Bohnen unterbrochen werden, da sonst eine Aromaverschlechterung durch die Fäulnis droht.

Untersucht müßte noch werden, ob eine gewöhnlich im Gärungsgewerbe als harmlos angesehene Milchsäuregärung in geeignetem Grade die oft schädliche, weil zu starke Essigsäurebildung zu verdrängen vermag. Bei Nährlösungszusatz kamen, wie wir nachwiesen, die anspruchsvolleren Milchsäurepilze (*Streptobakterium plantarum*) auf. Ebenso würden sie bei größerem Zuckergehalt (Zusatz von süßen Früchten oder dergleichen, Rohrzucker, Zuckerrohrmelassen), auch geschützt durch eine stärkere Alkoholbildung, wohl leicht zur Entwicklung zu bringen sein. Die Alkoholgärung würde auf jeden Fall verstärkt werden, was auf das Absterben der Bohnen beschleunigend einwirken dürfte. Milchsäure und Alkohol würden die Fäulnispilze am Aufkommen verhindern, die Milchsäure würde, nachdem sie ihre Schuldigkeit getan hat, durch

die Kahlhefen und dergleichen genau wie die Essigsäure wieder fortgeschafft werden können. Bei sämtlichen Analysen der Zeller'schen Versuche hat sich ergeben, daß die Zusätze von Reinhefen in der angewandten Menge und unter den herrschenden Verhältnissen gar keinen Zweck hatten, weil die stärkere, von vornherein vorhandene Heimatheflora über sie den Sieg davontrug. Geradezu katastrophal wirkte die weit über dem Optimum und oft sogar über dem Maximum liegende Wärme (44° und mehr). Freilich schaltete man durch die Hitze sehr viele Schädlinge aus, die bei geringer Wärme sicher aufkommen. Es bleibt also zu prüfen der Reinhefezusatz in genügender Menge und bei frühzeitigster Einsaat Hand in Hand mit einer ausreichenden, auch durch Einsaat sicher gestellten Milchsäuregärung und gleichzeitig eine kühlere, nicht über 40° steigende Temperatur bei der Fermentation. Selbstverständlich ist immer ausschlaggebend der rechtzeitige und richtige Fermentationsgrad und das Aroma der Bohnen. Wenn die Fermentation in anderen Ländern viel weniger Schwierigkeit als in Kamerun macht, so kann dies zurückzuführen sein auf die Art der Kakaobohnen, z. B. mehr Eiweiß- und Zuckergehalt (der Zucker schwankt zwischen 8 und 14 v. H.), leichteres Absterben, größeren Enzymgehalt oder auf die Technik der Gärführung, z. B. richtige Temperatureinhaltung durch niedrige Bohnenschichten, häufigeres Umschaukeln, richtige Gärdauer. Irrtümlich ist jedenfalls die Ansicht, daß in den betreffenden Ländern weniger Essigbakterien vorkämen, da sie auf allen Bohnen sämtlicher Länder nachgewiesen wurden. Der Wert und besonders das gute Aroma sowie die innere Struktur und die Art der Schale der Bohnen sind natürlich in erster Linie durch die Kakaosorte, durch die Ernährung und das Klima bedingt. Was die Fermentation in der Veredelung auch geringer Sorten ausmacht, wird sich ergeben, wenn zunächst einmal die wirklichen Optimalbedingungen dabei innegehalten werden. Nach unseren Untersuchungen muß eine unter praktischen Verhältnissen ohne größere Kosten und Mühen mögliche reine, d. h. durch Säure irgendeiner Art oder größeren Alkoholgehalt geschützte Hefegärung erstrebt werden. Die weiteren Untersuchungen in der Praxis werden leicht feststellen können, welche Hefeart evtl. Hefemischung das feinste Aroma gibt. Ein schlechtes Aroma kann nämlich nicht nur durch die leicht aufkommenden Fäulnispilze (Sporenbildner, Kolibakterien, Kokken und dergleichen), sondern auch durch ungeeignete Hefesorten, wie z. B. durch die stets vorhandene, die Gärung hauptsächlich ausführende *Apiculatus*-hefe oder durch irgendeine gärende Kahlhefesorte, verursacht werden.

Es würde weiter auch noch die Heißfermentation eingehender zu prüfen sein, indem die Temperatur durch hohe Bohnenschichten in wärmehaltenden Kästen (Holz) möglichst bei 50 bis 60° eingehalten wird. Hierbei ist natürlich die Beeinflussung der Bohnenbeschaffenheit (Aroma, Bruch, Farbe) durch geringere Lüftung, d. h. seltenes Umschaukeln sowie durch die Zeitdauer der hohen Wärmegrade ausschlaggebend. Das Absterben der Bohnen erfolgt selbstverständlich sehr schnell, was vielleicht für die Enzyme von großem Einfluß ist. Die Pilzflora ist unter diesen Verhältnissen eine ganz andere: Nur anfangs entwickelt sich die übliche Hefeflora (etwa bis 40°) und vielleicht auch eine sehr geringe Menge Essigbakterien. Bei und über 50° können nur bestimmte thermotolerante Heubazillenarten noch wachsen, ebenso die ausgesprochenen thermophilen Arten, die noch untersucht werden müßten. Dazu gehören auch nach unserer Erfahrung Arten mit Säurungsvermögen (Milchsäure und wenig Essigsäure). Zu untersuchen ist, ob diese das Bohnenaroma ungünstig beeinflussen können. Die Pulpa löst sich, wie Stevens feststellte, nach einer 36 Stunden andauernden Temperatur von 45 bis 60° leicht ab, bei der Nachfermentation bei kühlerer Temperatur würden kaum Essigbakterien, die sicherlich durch die Hitze abgetötet sind, sich von neuem entwickeln bzw. eine schädliche Rolle spielen können, zumal die vorhandenen Alkoholmengen sehr gering und zum größten Teil bei der Hitze entwichen sind.

Zweiter Teil.

Versuchsergebnisse im Produktionsgebiet.

Von T. Zeller.

Vorbemerkung.

Wie B u s s e schon in seiner Einleitung bemerkte, fiel mir im Rahmen der Gesamtarbeit die Aufgabe zu, die im Kieler Institut angestellten wissenschaftlichen Untersuchungen in dem Kakao-Produktionsgebiet Kamerun durch technische Versuche zu ergänzen. War doch hier die Möglichkeit gegeben, an frischem Gärmaterial alle einschlägigen Fragen im großen unter den Verhältnissen der Praxis zu studieren und so für den praktischen Pflanzler nach einem Weg zu suchen, unter den gegebenen Verhältnissen und mit im Großbetrieb anwendbaren Mitteln zu einer Verbesserung der Qualität seines Produktes zu gelangen.

Ein Teil der Versuche, mehr als Tastversuche anzusehen, wurde in Gläsern, die übrigen wurden in den Gärkästen des Großbetriebes angestellt, die teilweise aus Holz, teilweise aus Zement bestanden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle der Leitung der Westafrikanischen Pflanzungsgesellschaft „Victoria“ in Kamerun für die verständnisvolle und weitgehende Unterstützung meiner praktischen Arbeiten meinen aufrichtigen Dank zu sagen.

I. Einfluß von Wetter, Temperatur, Masse und Durchlüftung des Gärgutes auf den normalen Gärverlauf.

Zunächst wurde geprüft, wie sich der Verlauf der auf den Kameruner Pflanzungen üblichen Fermentation in hölzernen Gärkästen hinsichtlich der Temperatur der Gärmasse und ihres Gehaltes an Essigsäure gestaltete. Die Gärmasse erhielt bei diesem Versuch keinerlei Zusatz. Hier sei eingeschaltet, in welcher Weise der Gehalt an Essigsäure bei allen Versuchen bestimmt wurde: 20 oben aus der Mitte des Gärkastens entnommene Kakaobohnen gleicher Größe wurden in

100 ccm Wasser aufgeschwemmt. 20 ccm dieser Aufschwemmung wurden dann mit $\frac{1}{10}$ normaler Natronlauge unter Anwendung von Phenolphthalein als Indikator titriert. Die verbrauchten Kubikzentimeter Natronlauge wurden dann als „Säuregrad“ bezeichnet.

Reihen von Vorversuchen zeigten, daß diese Methode zur Bestimmung des „Säuregrades“ der Gärmasse gut vergleichbare Resultate ergibt.

Da auch die Außentemperatur einen Einfluß auf den Gärverlauf ausübt, so wurde diese stets ebenfalls, und zwar zur Zeit der Probenahme gemessen und in °C angegeben.

Die für den nachstehend geschilderten Versuch verwendeten Kakaobohnen waren am Morgen in der Pflanzung aus den Früchten genommen worden und langten abends im Gärhause an, wo sie in hölzerne Kästen gefüllt wurden. Am nächsten Tage, der bei allen Versuchen als „erster“ Tag bezeichnet wird, wurden die ersten Proben entnommen, und zwar mittags, da die Bohnen jeweils des Morgens und des Abends umgeschaufelt wurden (also in der Mitte zwischen den beiden Umschauelungen). Folgende Tabelle gibt die entsprechenden Daten an:

	Luft- temperatur	Temperatur der Gärmasse	Säuregrad
1. Tag	—	32	3,8
2. „	—	41	6,2
3. „	—	46	4,0
4. „	26	46	2,7
5. „	28	46	2,4
6. „	28	45	5,3
7. „	25	45	5,0
8. „	30	46	2,4
9. „	25	45	2,0
10. „	23	45	0,8

Am 10. Tage waren die Bohnen ausfermentiert und säurefrei. Bemerkenswert ist das nochmalige Ansteigen des Säuregrades am 6. und 7. Tage, dem dann ein schnelles Sinken folgt. Diese Erscheinung war auch bei anderen Versuchen öfter zu bemerken.

Die Temperatur der Gärmasse zeigte keine besonderen Beziehungen zur Außentemperatur und zum Säuregrad.

Es wurde nun weiter geprüft, welchen Einfluß die Höhe der Schichtung der Bohnen in den Gärkästen auf die Temperatur der Gärmasse hat, und ebenso der Einfluß des häufigeren oder weniger häufigen Umschaufelns der Bohnen.

Nachstehende Zahlen zeigen, daß durch flachere Schichtung und öfteres Umschaufeln der Bohnen in dem im Großbetriebe praktisch

möglichen Maße eine Erniedrigung der Temperaturen bis zu dem für die Lebenstätigkeit der Kakaohefen optimalen Grade nicht erreicht werden konnte. Eine noch flachere Schichtung der Bohnen kann in der Praxis nur durch Vergrößerung der Gärhäuser, ein noch häufigeres Umwenden der Bohnen nur durch mechanische Vorrichtungen erreicht werden.

Höhe der Schichtung in cm	Umschaufeln täglich	Höchste Temperatur
100	1 mal	48
100	1 "	46
110	1 "	50
110	1 "	47
110	2 "	47
80	1 "	44
65	2 "	46
60	1 "	45
60	2 "	43
60	3 "	46

Der vorstehend geschilderte Versuch wurde in veränderter Form wiederholt. Hierbei wurden die Temperatur und der Säuregrad mittags zur Zeit der Probenahme festgestellt. Zu bemerken ist hierbei, daß der vorstehend geschilderte Versuch in der stärksten Regenzeit, in der also die Luft den größten Feuchtigkeitsgehalt hat, der nach der Praxis einen großen Einfluß auf den Gärverlauf ausübt, angestellt wurde. Der nachstehende Versuch wurde zu einer Zeit verhältnismäßig geringer Regenfälle angestellt. Wie bekannt, verläuft die Kakao-Fermentation bei hoher Luftfeuchtigkeit langsamer als bei niedriger. So verlief die Gärung im ersten Falle in 10, im zweiten in 6 Tagen.

Folgende Tabellen zeigen die Ergebnisse des zweiten Versuches. Es lagen bei:

A die Bohnen 110 cm hoch und wurden täglich 1 mal umgeschauelt
 B " " 110 " " " " " " " 2 " "
 C " " 60 " " " " " " 1 " "
 D " " 60 " " " " " " 2 " "

	Temperatur der Luft	Temperatur der Gärmasse				Säuregrad			
		A	B	C	D	A	B	C	D
1. Tag . . .	32	37	38	36	34	4,1	4,1	3,9	4,7
2. " . . .	29	42	43	43	43	4,2	5,7	3,7	2,9
3. " . . .	32	47	46	41	43	2,6	3,7	4,0	2,6
4. " . . .	32	47	46	45	43	5,2	3,7	6,1	1,1
5. " . . .	29	47	45	38	40	2,0	2,0	0,5	0,7
6. " . . .	31	43	47	42	43	1,3	0,9	0,3	0,4

Es ergibt sich aus der vorstehenden Tabelle zunächst, daß bei flacherer Schichtung der Bohnen die Temperatur der Gärmasse nicht so hoch steigt wie bei höherer Schichtung; was ja nicht überrascht. Der Versuch zeigt ferner, daß der Säuregrad bei hoher Schichtung der Bohnen langsamer abnimmt als bei flacher Schichtung. Hierbei scheint es ohne Belang zu sein, ob man bei hoher Schichtung die Bohnen täglich ein- oder zweimal umschaufelt. Der hohe Säuregrad bei A am 4. Tage braucht nicht dagegen zu sprechen, sondern kann als ein nochmaliges Aufflackern des Säuregehaltes angesehen werden, wie es oft beobachtet worden ist. Ein Vergleich zwischen C und D scheint aber zu zeigen, daß der Säuregrad um so schneller sinkt, je öfter man die Bohnen umschaufelt.

Ein kleiner Sonderversuch in Zement-Gärkästen zeigte, daß bei einer Schichtung der Bohnen von 110 cm und einmaligem Umschaukeln die höchste Temperatur 45°, bei einer Schichtung von 60 cm und zweimaligem Umschaukeln 42° betrug.

Im übrigen wird auf die Unterschiede der Temperaturen in Gärkästen von Holz und Zement noch später zurückzukommen sein.

II. Einfluß des Zusatzes von Reinhefen und Hefe-Nährlösung zum Gärgut auf den Gärverlauf.

Nach diesen Vorversuchen allgemeiner Art wurde nun dazu übergegangen, zu prüfen, welchen Einfluß ein Zusatz von Reinhefen und von Hefe-Nährlösung zum Gärgut auf den Gärverlauf hat. Besonders kam es darauf an, ob die angewandten Reinhefen imstande sein würden, wilde Hefen und Essigbakterien zu unterdrücken und die Fermentation als reine alkoholische Gärung durchzuführen.

Die Hefe-Nährlösung wurde in der Weise hergestellt, daß frische Kakaobohnen längere Zeit mit heißem Wasser behandelt wurden. Die überstehende Flüssigkeit wurde dann abfiltriert und mit geringen Mengen von Kochsalz, Magnesiumsulfat, Ammonnitrat, Kaliumphosphat und Milchsäure versetzt. Diese Lösung wurde sodann an drei aufeinanderfolgenden Tagen je eine halbe Stunde in einem mit Musselinstoff verschlossenen Glase gekocht.

An Hefen wurden zur Gruppe der Weinhefen gehörige Hefen aus Venezuela und Accra verwandt, die in steriler Nährlösung aufgefrischt worden waren und möglichst gleichmäßig im Gärgut verteilt wurden.

Zunächst wurden frische Kakaobohnen in Zement-Gärkästen 60 cm hoch geschichtet. Ein Kasten (A) blieb ohne Zusatz, ein

anderer Kasten (B) erhielt einen Zusatz von Weinhefe aus Venezuela. Die Bohnen wurden täglich einmal umgeschaufelt. Es ergaben sich folgende Resultate:

	Temperatur im Gärkasten.		Säuregrade.	
	A	B	A	B
1. Tag	30	31	4,6	3,4
2. "	31	32	—	—
3. "	36	36	2,2	4,2
4. "	36	40	—	—
5. "	35	36	0,4	1,3
6. "	37	36	0,8	1,1
7. "	37	40	0,4	0,4
8. "	31	38	1,1	1,6
9. "	37	40	0,7	0,6
10. "	41	37	0,7	0,9
11. "	44	39	1,2	0,7
12. "	44	40	0,4	0,4

Die vorstehenden Zahlen zeigen zunächst, daß die Temperatur in dem Gärkasten ohne Zusatz in den ersten neun Tagen fast immer niedriger war als in dem mit Hefe beimpften Kasten, d. h. daß in letzterem die Gärung intensiver verlief. In den letzten drei Tagen trat jedoch der umgekehrte Zustand ein, daß die Gärung in dem beimpften Kasten schneller nachließ.

Am 7. Tage war die Gärmasse praktisch säurefrei, doch waren die Bohnen noch nicht ausfermentiert, so daß der Versuch fortgesetzt werden mußte. Buttersäurebildung trat nicht ein. Die Säuregrade der beimpften Gärmasse waren bis zum 6. Tage höher als diejenigen der unbeimpften Masse: ein unerwartetes und zunächst unklares Resultat. Jedenfalls war eine günstige Wirkung der Venezuela-Hefe auf den Gärverlauf nicht erkennbar.

Es wurde deshalb ein weiterer Versuch in gleicher Weise angestellt, bei dem ein Gärkasten (A) einen Zusatz von Hefe von Accra, ein zweiter (B) einen Zusatz von Hefe von Venezuela und ein dritter (C) einen Zusatz von Hefe-Nährlösung erhielt. Die Schichtung und Umschau felung der Bohnen erfolgte wie vorher.

Folgende Tabelle zeigt die Versuchsergebnisse:

	Temperatur der Luft	Temperatur der Gärmasse			Säuregrade		
		A	B	C	A	B	C
		1. Tag	28	28	28	28	1,8
2. "	25	31	33	33	1,4	1,3	1,1
3. "	27	39	36	37	1,5	2,2	3,2
4. "	27	42	40	36	2,6	4,9	4,5
5. "	31	39	41	39	2,9	6,8	6,2
6. "	30	41	40	39	1,3	2,8	3,0

	Temperatur der Luft	Temperatur der Gärmasse			Säuregrade		
		A	B	C	A	B	C
		7. Tag	29	39	40	37	1,9
8. „	28	39	37	38	1,5	2,2	2,6
9. „	25	39	40	33	1,6	2,2	1,4
10. „	30	40	40	37	0,9	2,0	2,5
11. „	28	39	41	40	0,9	1,1	1,4

Wie der Versuch des ersten Abschnittes schon zeigte, so ist auch hier eine Beeinflussung der Temperaturen in der Gärmasse durch die Außentemperatur kaum erkennbar. Dazu sind auch die Schwankungen der Außentemperatur zu gering gewesen. Allenfalls könnte man Beziehungen zwischen der Temperatur der Luft und derjenigen des mit Hefe-Nährlösung versetzten Gärkastens in dem Sinne erkennen, daß ein Steigen und Fallen der ersteren eine gleichsinnige Bewegung der letzteren mit sich brachte. In allen Fällen aber hielten sich die Temperaturen in Grenzen, welche die Lebensfähigkeit der Hefen kaum beeinträchtigt haben dürften. In allen Stadien der Gärung lagen aber die Temperaturen der Gärkästen erheblich über der Außentemperatur, so daß von einer freudigen Gärung gesprochen werden kann. An der Temperatur gemessen, war der Gärverlauf in den mit Hefe beimpften Kästen ziemlich gleichmäßig rege, während die Gärung in dem nur mit Nährlösung versetzten Gärgut etwas langsamer verlief. Die Bohnen verursachen die Wärme zum großen Teil durch gesteigerte Atmungs-tätigkeit während des Absterbens der Gewebe.

Aus den Zahlen der Säuregrade ergibt sich, daß die Accra-Hefe die alkoholische Gärung am wirksamsten verlängert hat, und daß bei ihr die Bildung von Essigsäure den geringsten Grad erreicht hat. Das ist eine Bestätigung des Satzes, daß von den einheimischen Hefen die günstigsten Wirkungen zu erwarten sind. Denn die Hefen der Goldküste dürften den Kameruner Hefen näher stehen als diejenigen von Venezuela. Auch der Abbau der gebildeten Essigsäure vollzog sich bei der Accra-Hefe am schnellsten.

Die Venezuela-Hefe zeigt zwar deutlich eine günstige Wirkung auf den Gärverlauf, kommt aber der Accra-Hefe nicht gleich. In allen drei Gärkästen wird das Maximum der Essigsäurebildung am fünften Tage erreicht.

Es erschien nun zweckmäßig, die Reinhefen den frischen Kakao-bohnen nicht erst im Gärhaus zuzusetzen, sondern so früh wie möglich, um ein Aufkommen wilder Hefen und von Essigbakterien

zu verhindern. Es wurde daher ein Versuch unternommen, Hefen und Nährlösung schon dem frisch den Früchten entnommenen Kakao in der Pflanzung an Ort und Stelle zuzusetzen. Trockenes Wetter begünstigte diesen Versuch. Nach der Ankunft im Gärrhaus wurden die Bohnen wie üblich in hölzerne Gärkästen gefüllt. Es hatten erhalten die Bohnen im Gärkasten:

- A = Zusatz von Hefe von Venezuela Nr. II. (Kieler Bezeichnung.)
 B = „ „ „ „ Accra Nr. IX. „ „
 C = „ „ Hefe-Nährlösung.

Die Bohnen lagen in den Gärkästen nur 40 cm hoch und wurden alle 12 Stunden umgeschauelt.

Folgende Tabelle zeigt die Versuchsergebnisse:

	Temperatur der Luft	Temperatur			Säuregrade		
		der Gärmasse			A	B	C
		A	B	C			
1. Tag	25	40	40	40	4,0	5,1	6,5
2. „	30	44	40	43	4,4	4,1	4,4
3. „	28	45	40	44	3,4	1,6	4,4
4. „	29	43	47	45	1,4	1,1	1,2
5. „	26	40	39	42	1,1	0,4	2,1
6. „	30	42	40	41	0,4	0,8	0,7
7. „	30	40	42	42	0,6	0,2	0,4
8. „	29	43	45	43	0,4	0,3	0,6
9. „	28	38	39	41	0,3	0,3	0,4

Vor der Deutung vorstehender Zahlen sei hier eine Einschaltung von allgemeiner Bedeutung gemacht. Der anfänglich, im vorliegenden Falle am 1. bis 3. Tage, vorhandene hohe Säuregrad ist nicht etwa auf das Vorhandensein von Essigsäure zurückzuführen, sondern rührt von der natürlichen Fruchtsäure der *Pulpa* her. Schon der Geruch ließ dieses erkennen. Zur Bestätigung wurden folgende Proben angestellt.

1. Aus der soeben geöffneten Frucht wurden die Bohnen entnommen und der Säuregrad sofort nach der üblichen Methode bestimmt. Es ergaben sich: a) 5,2, b) 4,4, c) 4,9; im Mittel 4,8 Säuregrade.
2. Ein Teil der Bohnen blieb in einer bedeckten Schale 24 Stunden stehen. Es wurden dann folgende Säuregrade festgestellt: a) 3,7, b) 3,5, c) 5,1; im Mittel 4,1.
3. Zwei ganze Früchte blieben ungeöffnet 24 Stunden liegen. Dann wurden die Bohnen entnommen und der Säuregrad
 - a) sofort bestimmt. Resultat: 4,9. Fruchtgeruch.
 - b) nach 4 Tagen bestimmt. Resultat: 5,7. Starker Essiggeruch.
 - c) nach 7 Tagen bestimmt. Resultat: 1,0. Geruchlos.

Diese Proben bestätigen, daß der anfänglich in frisch aufgebrochenen Kakaobohnen vorhandene Säuregrad nicht von Essigsäurebildung herrühren kann. Denn eine solche konnte noch gar nicht eingetreten sein. Ferner zeigt sich, daß der Säuregrad anfänglich abnimmt, um nach einigen Tagen infolge Bildung von Essigsäure wieder anzusteigen. Der darauffolgende Abbau der Essigsäure läßt dann den Säuregrad wieder sinken.

Die Großversuche bestätigen, wie auch im vorliegenden Falle, stets ein anfängliches Zurückgehen des Säuregrades. Essiggeruch war erst am vierten Tage, und zwar nur im Gärkasten A (Venezuela-Hefe) bemerkbar, nicht dagegen in den beiden anderen Kästen. Der verhältnismäßig hohe Säuregrad im Gärkasten C (Nährlösung) am 4. Tage läßt darauf schließen, da kein Essiggeruch bemerkbar, daß die Fruchtsäure hier langsamer abgebaut worden ist als bei den mit Hefen beimpften Bohnen. Am 6. Tage waren auch die Bohnen im Kasten A säurefrei, aber sie waren noch nicht fertig ausfermentiert. Am 7. Tage waren die Bohnen im Kasten C fertig fermentiert, nicht dagegen diejenigen bei A und B. Daraus scheint hervorzugehen, daß die einheimischen Kamerun-Kakao-Hefen durch Zusatz der Hefe-Nährlösung zur Herrschaft gekommen sind und nicht nur die Essiggärung verhindert, sondern auch die kürzeste Fermentationsdauer ermöglicht haben.

Am 8. Tage waren auch die Bohnen in den Kästen A und B ausfermentiert. Aus betriebstechnischen Gründen mußten die Bohnen noch einen Tag in den Gärkästen verbleiben, ohne daß jedoch erneute Bildung von Essigsäure oder Buttersäure auftrat.

Die Bohnen aus Gärkasten B (Accra-Hefe) sahen äußerlich am besten aus und sind auch von Fachleuten am günstigsten beurteilt worden. Auch in diesem Falle zeigte sich also wieder, daß die Weinhefe von Accra der Weinhefe von Venezuela überlegen war.

Ferner scheint aus diesem Versuche hervorzugehen, daß der frühzeitige Zusatz von Reinhefe die Essiggärung wenigstens nahezu verhindern kann.

III. Die Wirksamkeit einheimischer Kamerunhefen.

Von der Annahme ausgehend, daß Kakaohefen, die in Kamerun stets in gärendem Kakao gefunden werden, besonderen Einfluß auf die Fermentation des Kakaos in Kamerun haben müßten, wurden

drei Kakaohefen isoliert. Sie wurden K_1 , K_2 und K_3 genannt und später im Kieler Institut als gärende Kakaohefen identifiziert. Es waren also keine Weinhefen. Leider gelangte diese Feststellung erst nach Beendigung der mit diesen Hefen angestellten Gärversuche nach Kamerun. Da jedoch diese Versuche dennoch von Interesse sind, soll über sie ebenfalls berichtet werden.

Es wurde dann in Kiel noch eine vierte Kamerunhefe, und zwar aus dorthin übersandtem Kameruner Palmwein („Mimbo“) gewonnen, die eine Weinhefe darstellte.

Im ersten Versuche dieser Gruppe wurde den frisch den Früchten entnommenen Kakaobohnen schon in der Pflanzung zugesetzt: Kamerunhefe K_1 , Weinhefe Accra und Hefe-Nährlösung. Die Bohnen langten am Vormittag des gleichen Tages im Gärhaus an; das Wetter war trocken. Die Bohnen wurden in Gärkästen aus Zement gefüllt, in denen sie 60 cm hoch lagen. Nur aus dem mit Kamerunhefe K_1 versetzten Gärkasten lief reichlich Flüssigkeit ab, bei den anderen beiden nicht. Es war versetzt Kasten A mit Kamerunhefe K_1 , Kasten B mit Weinhefe Accra und Kasten C mit Hefe-Nährlösung. Am Morgen nach dem Einfüllen der Bohnen wurde aus Kasten A sehr starkes, aus Kasten B mäßiges und aus Kasten C stärkeres Abfließen von Flüssigkeit beobachtet. Am zweiten Tage fand kein Abfließen mehr statt. Am Mittag des Tages des Einfüllens wurden sogleich Proben entnommen und bei einer Außentemperatur von 27° festgestellt:

	A	B	C
Temperatur im Gärkasten	25	25	26
Säuregrad	2,6	2,4	2,5

Es handelt sich hierbei selbstverständlich um die natürliche Fruchtsäure.

Am 3. Tage zeigten die gleichaltrigen, in Holz-Gärkästen liegenden Bohnen der Pflanzungsgesellschaft äußerlich schon eine braune Färbung, während die Bohnen in den zementierten Versuchskästen noch weiß-rosa waren. Im Innern sahen die Versuchsbohnen auch bedeutend weniger fermentiert aus als die Bohnen in den Holzkästen. Diese Unterschiede erklären sich zwanglos daraus, daß die Gärung in den wärmeren Holzkästen intensiver verläuft als in den kälteren Zementkästen. Vom 2. Tage an wurde der Kakao der Pflanzungsgesellschaft (W. A. P. V.), der keine Zusätze erhalten hatte, mitbeobachtet. Es wurden folgende Feststellungen gemacht:

	Luft	Temperaturen				Säuregrade			
		A	B	C	W.A.P.V.	A	B	C	W.A.P.V.
1. Tag.	30	30	30	30	—	2,7	2,4	2,7	—
2. " . .	30	35	33	38	42	2,4	3,3	2,3	4,7
3. " . .	30	39	41	40	45	5,6	6,0	6,1	5,3
4. " . .	32	38	40	42	47	4,2	5,0	5,5	3,7
5. " . .	32	41	42	40	43	6,2	7,5	6,3	6,3
6. " . .	29	39	41	35	41	5,0	6,1	4,5	5,0
7. " . .	31	37	38	39	43	3,9	4,0	5,5	5,1
8. " . .	29	40	38	37	43	1,4	2,3	2,4	1,6
9. " . .	30	39	41	36	42	1,6	1,4	1,4	1,4
10. " . .	28	39	40	38	42	0,8	0,8	0,9	1,4

Was zunächst die Temperaturen in den Versuchsgärkästen anlangt, so dürften in keinem Falle die Grenzen überschritten sein, innerhalb deren die Weinhefen noch wirksam sind. Meist halten sich die Temperaturen sogar in der Nähe des Wachstumsoptimums dieser Hefen. Stets aber lagen sie erheblich über der jeweiligen Außentemperatur. Die Temperaturen des mitbeobachteten W. A. P. V.-Kakao lagen meist höher als diejenigen der Zementkästen.

Hinsichtlich der Säuregrade ist im allgemeinen bei A, B und C das gleiche Bild zu beobachten, nämlich ein Ansteigen bis zum 3. Tag; ein leiser Rückgang am 4. Tag; Wiederausteigen am 5. Tag. Vom 6. Tage an, bei C vom 7. Tage an, erfolgt dann der Abbau der Essigsäure, der ohne Unterbrechung bis zum 10. Tage andauerte. Dieser Abbau erfolgte am schnellsten bei dem mit der Kamerunhefe K_1 versetzten Kakao. Das gleiche Bild zeigte auch der W. A. P. V.-Kakao, der aber am 10. Tage noch nicht den niedrigen Säuregrad erreicht hatte wie die anderen Proben.

Am Morgen des 3. Tages war in den Kästen B und C ein schwacher Essiggeruch wahrnehmbar, nicht dagegen bei A. Am 5. Tage trat in allen Kästen ein starker Essiggeruch auf, eine Wahrnehmung, die den festgestellten Säuregraden entspricht.

Schon am 6. Tage fiel auf, daß die Bohnen in den Kästen A, B und C trocken und nicht mehr schleimig waren, während der W. A. P. V.-Kakao noch ganz feucht war.

Hierbei mag eingeschaltet werden, daß zu beobachten war, daß Kakaobohnen, die 10 Tage fermentiert waren, nur 2 bis 3 Tage zum völligen Trocknen in der Trockentrommel brauchten, während 6 bis 7 Tage fermentierte Bohnen 5 bis 6 Tage zum Trocknen benötigten. Diese Erscheinung war stets zu beobachten.

Am 10. Tage waren die Bohnen in den Kästen A, B und C völlig ausfermentiert, während dies bei dem W. A. P. V.-Kakao erst am 11. Tage der Fall war. Die Fermentation in den Zementkästen war also merkwürdigerweise schneller vor sich gegangen als diejenige in Holzkästen.

Der vorstehend geschilderte Versuch zeigt nun, daß der Zusatz von Kamerunhefe K_1 , von Weinhefe Accra und von Hefe-Nährlösung die alkoholische Gärung um einen Tag verlängern konnte gegenüber dem Kakao ohne Zusatz. Ferner, daß die Kamerunhefe K_1 den Abbau der Essigsäure am schnellsten bewirkte. Auch beschleunigte der Zusatz von Hefen und Nährlösung den Ablauf der Fermentation. Der durch die Kamerunhefe K_1 erfolgte schnelle Abbau der Essigsäure dürfte seine Erklärung darin finden, daß diese Hefe zu den Kahlhefen gehört, die oft als Essigzehrer wirken.

Zu bemerken ist noch, daß die Temperaturen in den Zementgärkästen stets niedriger waren als in den Holzkästen. Da aber im Interesse der Tätigkeit der Weinhefen möglichst niedrige Temperaturen anzustreben sind, so scheinen Zementkästen den Vorzug vor Holzkästen zu verdienen.

Durch einen in Gläsern angestellten Tastversuch sollte nun zunächst die Wirksamkeit der drei Kamerunhefen K_1 , K_2 und K_3 , die sich, wie erwähnt, als Kahlhefen herausstellten, erprobt werden. Die Hefen wurden vorher in Nährlösung aufgefrischt. Dann wurden sterilisierte Gläser von 20 cm Höhe und 12 cm Durchmesser mit steril aus kurz vorher geernteten Früchten entnommenen Bohnen beschickt. Die Gläser wurden mit Musselinstoff verschlossen. Die Bohnen lagen in den Gläsern 10 cm hoch. Auf diese wurden je 500 ccm Nährlösung mit den Hefen gegeben. Jedes Glas erhielt dabei den ganzen Inhalt eines Kulturröhrchens Hefe. Ein viertes Glas erhielt nur Hefe-Nährlösung.

Es erhielt:

Glas Nr.	I.	Zusatz von	Kamerunhefe	K_1 ,
" "	II.	" "	" "	K_2 ,
" "	III.	" "	" "	K_3 ,
" "	IV.	" "	Hefe-Nährlösung.	

Es wurden täglich festgestellt: die Lufttemperatur, die Temperatur in den Gläsern und die Säuregrade. Letztere wurden in der Weise ermittelt, daß 1 ccm der Flüssigkeit in den Gläsern mit $\frac{1}{10}$ -n-Natronlauge titriert wurden. Die verbrauchten Kubikzentimeter Lauge wurden als Säuregrade bezeichnet. Natürlich können diese „Säuregrade“ nur unter sich, nicht

aber mit den „Säuregraden“ der Großversuche in Vergleich gesetzt werden.

Um das Umschaulern der Bohnen im Großbetrieb nachzuahmen, wurde der Inhalt der Gläser täglich mit einem sterilen Glasstab kräftig durchgerührt.

Die Gläser standen die ersten 4 Tage bei Zimmertemperatur, wurden dann aber, um die Gärung mehr in Fluß zu bringen, im Kakaohaus zwischen zwei Heißluftbehältern aufgestellt.

Es wurden ermittelt:

	Luft	Temperaturen				Säuregrade			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV
1. Tag . . .	25	25	25	25	25	1,7	1,4	1,5	1,3
2. " . . .	23	23	23	23	23	1,6	1,9	1,6	1,8
3. " . . .	24	24	24	25	24	1,0	1,0	1,1	1,7
4. " . . .	25	25	25	25	26	1,0	1,5	1,3	2,5
5. " . . .	—	35	34	35	35	1,0	1,6	1,5	1,9
6. " . . .	—	36	30	36	30	0,9	2,0	2,1	2,7
7. " . . .	—	29	29	29	29	2,5	2,1	1,9	3,5
8. " . . .	—	34	31	31	34	3,1	2,5	1,8	3,4
9. " . . .	—	37	33	32	36	2,7	2,3	2,2	3,5
10. " . . .	—	38	32	32	36	3,0	2,3	2,3	3,1
11. " . . .	—	33	32	32	33	1,5	2,4	2,3	1,8
12. " . . .	—	35	34	32	34	2,1	1,3	1,9	2,7
13. " . . .	—	36	42	31	31	1,9	2,1	2,5	3,2
14. " . . .	—	36	35	33	33	1,2	2,1	2,2	3,1

Von der Verbringung der Gläser an den neuen Standort an, also vom 5. Tage an, wurde die Lufttemperatur täglich dreimal gemessen und dabei folgende Zahlen erhalten:

	Morgens	Mittags	Abends		Morgens	Mittags	Abends
5. Tag . . .	32	36	31	10. Tag . . .	32	35	31
6. " . . .	29	32	30	11. " . . .	31	35	32
7. " . . .	29	31	31	12. " . . .	30	36	34
8. " . . .	30	36	32	13. " . . .	30	32	30
9. " . . .	31	36	31	14. " . . .	33	—	—

Während also die Außentemperatur morgens und abends ziemlich gleich war, stieg sie mittags stets an. Die Temperaturen in den Gläsern und die Säuregrade wurden immer mittags festgestellt. Wie die Tabelle zeigt, liegen die Temperaturen in den Gläsern, wenn man die Mittagszahlen in Betracht zieht, nur selten über der Außentemperatur. Meist bleiben sie sogar darunter. Daß aber trotzdem Gärung stattgefunden hat, zeigte die starke Gasbildung in den Gläsern. Während sich im Glase Nr. I die Gasbildung schon am 1. Tage zu starker Schaumbildung steigerte, war sie in den übrigen Gläsern zunächst schwach und steigerte sich erst am

3. Tage zur Schaumbildung. Am 4. Tage war in allen Gläsern starke Gasbildung, aber keine Schaumbildung mehr bemerkbar. Am 6. Tage begann die Gasbildung im Glase Nr. I nachzulassen, um am 8. Tage ganz aufzuhören.

Im Glase II ließ die Gasbildung vom 9. Tage an nach, um am 13. ganz aufzuhören. Im Glase III ließ die Gasbildung am 8. Tage nach, um am 12. aufzuhören. Im Glase IV ließ die Gasbildung am 8. Tage nach, um am 12. Tage aufzuhören.

Ein anderes Bild ergibt sich, wenn man bei der Außentemperatur das Mittel aus den dreimaligen täglichen Feststellungen nimmt. Dann ergeben sich nämlich folgende Werte:

1. Tag 25	6. Tag 30	11. Tag 33
2. " 23	7. " 30	12. " 33
3. " 24	8. " 33	13. " 31
4. " 25	9. " 33	14. " 33
5. " 33	10. " 33	

Maßgebend sind die Temperaturen vom 5. Tage an. Im Glase Nr. I (Hefe K_1) lag die Temperatur meist über der Außentemperatur. Hier hat also offenbar, wie auch an der Gasbildung erkennbar, eine normale Gärung stattgefunden. Die höchste Temperatur wurde am 10. Tage mit 38° bei einer Außentemperatur von 33° beobachtet.

Im Glase II (Hefe K_2) lag die Temperatur meist in der Nähe der Außentemperatur und blieb sogar zeitweilig unter ihr. Am 13. Tage herrschten im Glase 42° , bei einer Lufttemperatur von 31° .

Glas III (Hefe K_3) zeigte ein ähnliches Bild. Die höchste Temperatur wurde am 4. Tage mit 36° bei einer Außentemperatur von 30° erreicht.

Im Glase IV (Hefe-Nährlösung) hielt sich die Temperatur meist oberhalb der Außentemperatur. Die höchste Temperatur wurde am 9. und 10. Tage mit 36° bei einer Lufttemperatur von 33° erreicht.

Die höchsten Temperaturen erreichte die Hefe K_1 , die fast immer über denjenigen der anderen Gläser liegen.

Die Betrachtung der Säuregrade gibt nur bei Glas I (Kamerunhefe K_1) ein einigermaßen klares Bild von dem Verlauf der Gärung. Die übrigen Daten sind unklar.

Ein deutlicheres Bild vermag uns die Geruchsprobe zu geben.

Die Bohnen im Glase I rochen bis zum 2. Tage rein aromatisch, um dann bis zum 6. Tage einen aromatisch-säuerlichen Geruch zu haben. Erst am 7. Tage stellte sich ein ganz schwacher Essiggeruch ein. Dieser blieb bis zum 9. Tage bestehen, ohne jedoch stärker zu

werden. Vom 10. bis 12. Tage war der Geruch indifferent, um am 13. Tage wieder angenehm zu werden.

Bei Glas Nr. II herrschte bis zum 7. Tage ein schön aromatischer Geruch, wurde dann indifferent, um am 13. Tage wieder angenehm zu werden. Essiggeruch war niemals wahrnehmbar.

Bei Glas Nr. III herrschte ebenfalls bis zum 6. Tage ein schön aromatischer Geruch, der sich bis zum 6. Tage zu einem besonders schönen Aroma steigerte. Dann wurde der Geruch indifferent, um am 13. Tage wieder aromatisch zu werden. Essiggeruch war auch hier niemals wahrnehmbar.

Im Glase Nr. IV wich der aromatische Geruch am 3. Tage einem schwachen Essiggeruch, der sich bis zum 6. Tage zu großer Schärfe steigerte. Er milderte sich vom 7. Tage an, war aber noch bis zum 10. Tage deutlich wahrnehmbar. Dann blieb der Geruch bis zum Schluß indifferent.

Den höchsten Säuregrad weist das Glas mit Hefe-Nährlösung auf, nämlich 3,5, der am 7. und 9. Tage erreicht wird. Es folgt Hefe K_1 mit 3,1 am 8. Tage. Säuregrade von 2,5 erreichten Hefe K_2 am 8. und K_3 am 13. Tage.

Daß die mit Hefe-Nährlösung versetzten Bohnen die stärkste Essigsäurebildung zeigten, deutet darauf hin, daß ein günstiger Einfluß der angewandten Hefen in I, II und III stattgefunden hat.

Eine Betrachtung der fermentierten Bohnen ergab folgendes. Die mit Hefe K_1 versetzten Bohnen waren am besten ausfermentiert. Dann folgten die mit den Hefen K_2 und K_3 versetzten Bohnen, während die mit Hefe-Nährlösung behandelten noch einen violetten Bruch zeigten.

Nach dem Waschen und Trocknen zeigten die mit Hefen behandelten Bohnen einen schön braunen Bruch, sie saßen locker in der Schale, hatten einen angenehmen Geschmack, aber nur ein schwaches Aroma.

Es war nun das Verhalten dieser drei Kamerunhefen durch einen **Großversuch** nachzuprüfen. Sie wurden in Nährlösung aufgefrischt, in der sie gut angewachsen waren. Der Versuch wurde mit frischen Bohnen in Zementgärkästen angesetzt, in denen sie 60 cm hoch geschichtet waren. Das Umschäufeln der Bohnen fand alle 12 Stunden statt. Da wegen Mangel an Zementkästen keine unbeimpften Bohnen in den Versuch einbezogen werden konnten, wurde als Notbehelf der in Holzkästen befindliche Kakao der Pflanzungsgesellschaft (W. A. P. V.), der gleichaltrig war, vom 3. bis zum 8. Tage mitbeobachtet.

Temperaturen und Säuregrade wurden in der üblichen Weise mittags, also zwischen zwei Umschauelungen, festgestellt.

Es erhielten an Zusätzen:

Gärkasten Nr. I.	Kamerunhefe	K ₁ ,
„ „ II.	„	K ₂ ,
„ „ III.	„	K ₃ .

Folgende Daten wurden ermittelt:

	Luft	Temperaturen				Säuregrade			
		I	II	III	W.A.P.V.	I	II	III	W.A.P.V.
1. Tag.	28	32	30	31	—	2,8	2,7	2,7	—
2. „	29	30	32	31	—	2,2	1,9	1,3	—
3. „	29	33	30	34	46	0,8	1,1	1,1	4,9
4. „	26	38	34	39	44	2,0	1,5	1,7	4,8
5. „	31	41	39	39	44	2,8	2,2	2,9	1,7
6. „	28	42	38	40	44	2,9	3,2	3,5	1,7
7. „	29	39	39	37	44	7,8	9,0	7,4	1,8
8. „	30	40	38	36	44	6,2	6,3	3,6	0,6
9. „	29	39	38	41	—	3,2	3,6	3,4	—
10. „	31	38	35	39	—	1,3	2,6	1,9	—
11. „	27	38	35	38	—	1,6	2,1	1,5	—
12. „	—	—	—	—	—	0,8	2,2	1,7	—

Die Temperaturen in den Zementkästen I bis III halten sich im allgemeinen in Grenzen, die der Lebenstätigkeit von Weinhefen nicht abträglich sind. Meist sind sie sogar deren Wirksamkeit günstig. Die hier zugesetzten Hefen waren allerdings, wie erwähnt, gärende Kahlhefen. Die Temperaturen im Kasten II bleiben meist hinter denen der Kästen I und III zurück.

Die Säuregrade erreichten in allen Kästen am 7. Tage eine ganz abnorme Höhe, während der W. A. P. V.-Kakao die Essigsäure zwar schnell bildete, sie aber am 5. Tage schon wieder abgebaut hatte.

Es ergibt sich aus diesem Versuche, daß die drei Kamerunhefen zweifellos die alkoholische Gärung verlängert haben. Die reichliche Menge Alkohol ging dann sehr stark in Essigsäure über, deren Abbau längere Zeit erforderte. Nutzen haben also die angewandten Hefen nicht gebracht.

Mit den Kamerunhefen K₁, K₂ und K₃, die damals noch nicht als gärende Kahlhefen erkannt waren, wurden nun noch eine Reihe von Großversuchen ausgeführt, auf die hier nur deshalb und in aller Kürze eingegangen werden soll, weil dabei auch die Mimboweinhefe herangezogen wurde.

Bei einem Versuch in Holzkästen wurden zugesetzt dem

Kasten A: Kamerunhefe K ₁ ,	Kasten C: Kamerunhefe K ₃ ,
„ B: „ K ₂ ,	„ D: Mimboweinhefe.

Nur die beobachteten Säuregrade seien hier wiedergegeben:

	A	B	C	D
1. Tag	2,9	2,1	2,8	2,4
2. "	1,8	2,8	4,2	3,8
3. "	2,2	2,6	4,7	3,0
4. "	2,4	1,5	1,6	1,8
5. "	0,9	1,2	0,6	0,5
6. "	0,5	0,4	0,4	0,7
7. "	0,5	0,3	0,3	0,2
8. "	0,5	0,5	0,3	0,4

Die Temperaturen in den Gärkästen lagen meist bei 43 bis 45°.

Am 2. Tage war bei A kein Essiggeruch wahrnehmbar, bei B ein schwacher, bei C ein sehr starker und bei D ein deutlicher. Vom 5. Tage an war in keinem Kasten mehr Essiggeruch wahrnehmbar, dagegen zeigte der gleichartige W. A. P. V.-Kakao am 5. Tage noch einen sehr starken Essiggeruch bei 3,1 Säuregraden.

Eine günstige Wirkung der angewandten Hefen, und zwar nicht nur der Mimboweinhefe, ist jedenfalls hier erkennbar.

Ein gleichartiger Kontrollversuch in hölzernen Gärkästen, bei dem auch ein nicht beimpfter Kasten mitbeobachtet wurde, zeigte ebenfalls Temperaturen von 43 bis 45°, öfter sogar 46°.

An Zusätzen erhielten Kasten A: Hefe K₁, B: Hefe K₂, C: Hefe K₃, D: Mimboweinhefe und E: keinen Zusatz.

Die Säuregrade betragen:

	A	B	C	D	E
1. Tag	2,4	1,8	2,1	2,8	1,9
2. "	1,6	1,7	1,2	4,2	2,1
3. "	3,7	4,2	4,0	4,3	3,4
4. "	1,3	2,3	1,8	1,7	4,1
5. "	1,1	1,5	0,7	1,1	1,1
6. "	0,7	1,0	0,6	0,7	1,2
7. "	1,3	1,1	1,6	1,4	1,5

Am 2. Tage war der Geruch der Bohnen in den Kästen A, B, C und E aromatisch, während auffallenderweise, was auch die Säurezahlen bestätigen, bei D (Mimboweinhefe) Essiggeruch auftrat. Am 3. Tage war in allen Kästen starker Essiggeruch wahrnehmbar; am 4. Tage nur bei E, was die Säuregrade wiederum bestätigen. Am 5. Tage trat, wie öfter beobachtet, bei A bis D nochmals ein ganz leichter Essiggeruch auf, bei E war er noch deutlich. Am 6. Tage waren die Bohnen in den Kästen A bis D fertig ausfermentiert. In Rücksicht auf die noch nicht ganz fertigen Bohnen im Kasten E wurde der Versuch noch einen Tag fortgesetzt, wobei wieder ein leichtes Ansteigen des Säuregrades stattfand.

Abschließend läßt sich sagen, daß eine gewisse günstige Wirkung der angewandten Hefen bei den hier beschriebenen Versuchen zweifellos erkennbar war. Das Ziel, die Durchführung einer reinen alkoholischen Gärung, ist aber nicht erreicht worden.

Die Kamerunhefe K_1 scheint sich von allem vier angewandten Hefen am besten bewährt zu haben und auch die Mimboweinhefe noch zu übertreffen.

Es erschien nun weiterhin zweckmäßig, die Kahmhefe K_1 , die sich noch am besten bewährt hatte, mit weiteren verschiedenen Weinhefen zu vergleichen. Gleichzeitig sollte der Einfluß flacher und hoher Schichtung der Bohnen sowie der des häufigeren Umschau felns auf den Gärverlauf geprüft werden. Außer der Hefe K_1 wurden noch Kakaohefe von Accra- und Sherryhefe verwandt, die vorher in Nährlösung aufgefrischt worden waren. Die Gärung fand in hölzernen Gärkästen statt. Die Gärkästen erhielten die Zusätze beim Einfüllen der Bohnen. Die Kamerunhefe K_1 , inzwischen als Alkoholzeherer erkannt, wurde erst am Mittag des nächsten Tages zu den Bohnen gegeben, um die alkoholische Gärung nicht zu stören.

Mit Ausnahme des Kastens E wurden die Bohnen täglich dreimal umgeschau felt, nämlich morgens 6, mittags 2 und abends 9 Uhr. In den Gärkästen A bis D lagen die Bohnen 60 cm hoch, im Kasten E 110 cm hoch. Hier wurden die Bohnen nur einmal täglich umgeschau felt. Die Kästen wurden wie folgt behandelt:

- A: Zusatz von Kamerunhefe K_1 ,
- B: " " Accrahefe,
- C: " " Sherryhefe,
- D: kein Zusatz; 60 cm hoch; dreimal umgeschau felt,
- E: " " ; 110 " " ; einmal umgeschau felt.

Die Feststellung der Temperaturen und Säuregrade erfolgte jeweils mittags um 2 Uhr vor dem Umschau feln.

Sofort nach dem Eintreffen der Bohnen im Gärhaus wurden die natürliche Fruchtsäure bestimmt und folgende Säuregrade festgestellt: A: 4,4 B: 4,0 C: 4,3 D: 3,6 E: 5,2

Es wurden ferner folgende Feststellungen gemacht:

		Temperaturen.					
		Luft	A	B	C	D	E
1. Tag	31	39	37	36	36	35
2. "	34	46	46	45	44	44

	Luft	A	B	C	D	E
3. Tag	31	45	46	46	45	50
4. "	32	46	45	45	44	50
5. "	31	44	43	43	44	46
6. "	31	47	46	42	46	47
7. "	28	45	45	45	45	46

Säuregrade.

	A	B	C	D	E
1. Tag	2,5	3,3	2,5	2,1	3,4
2. "	3,5	3,1	2,5	3,3	2,0
3. "	7,3	6,3	6,1	6,6	2,6(!)
4. "	3,5	3,0	2,7	2,3	2,3
5. "	2,8	2,0	1,2	1,3	2,3
6. "	1,6	1,2	1,1	1,1	1,9
7. "	0,8	0,6	0,5	0,5	1,1

Abgesehen vom Gärkasten E sind die Temperaturen in allen Kästen und während der ganzen Gärdauer ziemlich gleich und halten sich auf einer Höhe, welche der Wirksamkeit der Weinhefen wenig günstig ist. Das gilt besonders für Kasten E, in dem die Bohnen 110 cm hoch lagen und nur einmal täglich umgeschaufelt wurden.

Die Säuregehalte erreichten in allen Fällen außer Kasten E am 3. Tage eine sehr beträchtliche Höhe, um dann mehr oder weniger gleichmäßig zu sinken.

Der auffallend niedrige Säuregrad im Kasten E ist vielleicht so zu erklären, daß das einmalige Umschaukeln gegenüber dem dreimaligen der anderen Kästen weniger Möglichkeit zur Infektion durch Essigbakterien bietet.

Die Geruchsprobe ergab am 1. Tage in keinem der Kästen Essiggeruch, am 2. Tage dagegen schon in allen; merkwürdigerweise im Kasten C am stärksten. Am 3. Tage trat überall starker Essiggeruch auf. Am 5. Tage war bei B, C und D kein Essiggeruch mehr wahrnehmbar; bei A ein schwacher, bei E ein deutlicher. Die Bohnen der Kästen C und D waren trockner als diejenigen in den anderen Gärkästen. Am 6. Tage waren die Bohnen in allen Kästen fertig ausfermentiert. Bei C und E leichter Essiggeruch. Am 7. Tage war dieser überall verschwunden. Der Versuch scheint zu zeigen, daß 1. keine der angewandten Hefen die alkoholische Gärung verlängern oder gar die Essigbildung verhindern konnte, 2. der Abbau der Essigsäure durch die Hefen nicht gefördert wurde, 3. daß ein dreimaliges Umschaukeln der Bohnen die Temperatur in den Gärkästen mit normaler Schichtung der Bohnen in diesem Falle nicht herabdrücken konnte, und 4. daß das häufigere Umschaukeln

der Bohnen der Infektion des Gärgutes durch Essigbakterien Vorschub leistet.

Am Schluß der Beschreibung dieser Gruppe von Versuchen sei noch kurz eines kleinen Versuches Erwähnung getan, der Aufklärung darüber bringen sollte, ob die mangelhafte Wirkung der bisher dem Gärgut zugesetzten Reihefen etwa auf zu geringe Einsaatmengen zurückzuführen war.

Zu diesem quantitativen Versuch wurde die Kamerunhefe K_1 verwendet, die immerhin gewisse günstige Eigenschaften gezeigt hatte.

Die Hefe wurde in großen Gläsern angezüchtet und dem in hölzernen Gärkästen befindlichen frischen Kakao zugesetzt. Die Bohnen waren 80 cm hoch geschichtet und wurden alle 12 Stunden umgeschauelt.

Es erhielten:

Gärkasten A: Zusatz von 2 Gläsern mit Hefe,
 " B: " " 3 " " "
 " C: keinen Zusatz.

Die Bohnen langten mit folgendem Gehalt an natürlicher Fruchtsäure im Gärhaus an: A: 3,4; B: 5,9; C: 7,4.

Folgende Feststellungen wurden gemacht:

	Temperaturen				Säuregrad		
	Luft	A	B	C	A	B	C
1. Tag	32	37	35	34	4,7	4,1	5,4
2. "	32	42	40	36	2,0	1,0	1,9
3. "	31	42	44	44	2,4	2,4	3,0
4. "	31	38	44	41	1,8	2,2	1,1
5. "	32	40	41	43	0,6	0,4	0,5

Der Versuch wurde Ende November durchgeführt, wo es in Kamerun schon recht trocken ist. So erklärt sich der schnelle Ablauf der Fermentation.

Die Temperaturen lagen durchschnittlich ziemlich gleich.

Hinsichtlich des Verlaufs der Bildung und des Abbaues der Essigsäure ist eine gewisse Wirkung der verstärkten Hefegabe nicht zu verkennen. Aber auch sie reichte nicht aus, um die Bildung von Essigsäure zu verhindern. Am 3. Tage trat in allen drei Kästen Essiggeruch auf, der bei C am stärksten war. Am 4. Tage wurde der Geruch schwächer, um am 5. Tage ganz zu verschwinden.

IV. Die Wirksamkeit von Trockenhefen.

Die Versuche dieser Gruppe sollten dazu dienen, die Einwirkung von Trockenhefen auf die Kakaofermentation festzustellen und sie mit anderen Hefen zu vergleichen. Die Versuche wurden teils im Laboratorium in Gläsern, teils im großen im Betriebe ausgeführt.

Am Tage den Früchten entnommene Kakaobohnen langten abends im Gärhause an und wurden sofort in die Gärkästen gefüllt. Aus Mangel an Zementkästen mußten auch hölzerne Gärkästen verwandt werden.

Es erhielten an Zusätzen:

Zementkasten	A:	kein Zusatz,
"	B:	Florylinhefe, aufgefrischt,
"	C:	" 1 lb. in Wasser verteilt.
Holzkasten	D:	Mimboweinhefe,
"	E:	„Neue“ Spaltheefe,
"	F:	Sherryhefe.

Die Bohnen lagen in den Gärkästen 60 cm hoch und wurden alle 12 Stunden umgeschaufelt.

Am Tage der Ablieferung enthielten die Bohnen an Fruchtsäure: A: 5,1; B: 6,5; C: 6,5; D: 4,8; E: 4,0; F: 3,8.

Es ergaben sich folgende Beobachtungsergebnisse:

Temperaturen.							
	Luft	A	B	C	D	E	F
1. Tag	. . 33	33	35	33	37	37	36
2. "	. . 30	39	38	34	43	45	46
3. "	. . 31	42	38	40	45	41	44
4. "	. . 31	41	42	42	44	42	44
5. "	. . 33	40	40	40	44	40	45
6. "	. . 31	40	40	37	44	36	44
7. "	. . 34	41	37	39	42	37	42

Säuregrade.							
		A	B	C	D	E	F
1. Tag	2,8	2,2	3,3	4,5	3,2	3,6
2. "	5,0	1,8	3,2	7,5	7,0	7,1
3. "	5,9	5,3	2,7	6,9	4,6	6,1
4. "	3,5	3,4	5,6	2,0	2,5	2,7
5. "	3,1	2,6	3,6	1,9	1,6	2,0
6. "	2,2	3,2	2,8	1,0	0,6	1,0
7. "	1,6	1,5	1,1	0,3	0,3	0,5
8. "	0,9	1,1	1,6	0,2	0,2	0,2

Die Temperaturen in den Kästen A bis C einerseits (Zement) und D bis F andererseits (Holz) können nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden.

In allen Kästen und an allen Tagen lagen die Temperaturen wesentlich über der jeweiligen Lufttemperatur. Während sich die Temperaturen in den Zementkästen A bis C in Grenzen hielten, die eine nutzbringende Tätigkeit der Weinhefen ermöglichen, war dies in den wärmeren Holzkästen weniger der Fall.

Wie eine Betrachtung der Zahlen für die Säuregrade zeigt, kann von einer Verlängerung der alkoholischen Gärung über den in Kamerun üblichen Zeitraum nur bei C (Florylin-Hefe in Wasser) die Rede sein. In allen anderen Kästen trat die Essigsäure am 2. Tage (A, D, E, F) oder am 3. Tage (B) auf. Nur im Kasten C war am 3. Tage noch keine Essigsäure wahrnehmbar. Hier trat sie erst am 4. Tage auf.

Während am 2. Tage bei A nur ein schwacher Essiggeruch bemerkbar war, trat er schon an diesem Tage bei A, E und F sehr stark auf. Die Säurezahlen bestätigen dies.

Am 4. Tage war bei A nur noch ein verhältnismäßig schwacher Essiggeruch bemerkbar, bei B ein etwas deutlicherer und bei C ein sehr deutlicher. Die Gärkästen D, E und F zeigten an diesem Tage keinen Essiggeruch mehr.

Am 5. Tage war nur noch bei A und C Essiggeruch bemerkbar. Der Abbau der Essigsäure erfolgte dann schnell.

Um die Wirkung des Florylins nochmals zu prüfen, wurden frische Kakaobohnen in hölzerne Gärkästen gebracht. Hier lagen sie in den Kästen I und III 110 cm hoch, während aus Mangel an Bohnen die Schichtung im Kasten II nur auf 80 cm gebracht werden konnte. Die Bohnen wurden täglich einmal umgeschauelt.

Es erhielten:

- Gärkasten I: aufgefrischte Florylinhefe,
 „ II: 90 g in Wasser verteilte Florylinhefe,
 „ III: keinen Zusatz.

Die Bohnen erhielten an natürlicher Fruchtsäure bei I : 3,5; bei II: 4,7; bei III: 3,8.

Folgende Feststellungen wurden gemacht:

	Luft	Temperaturen			Säuregrade		
		I	II	III	I	II	III
1. Tag	32	39	36	37	4,0	4,7	4,1
2. „	29	42	46	42	4,1	4,9	4,2
3. „	32	47	47	47	3,2	4,4	2,6
4. „	32	45	45	47	6,3	2,2	5,2
5. „	29	45	45	47	2,2	2,1	2,0
6. „	31	42	42	43	2,3	1,5	1,3
7. „	—	—	—	—	0,3	0,2	—

Die Temperaturen lagen in allen Kästen weit über der jeweiligen Außentemperatur. Auffallend ist hierbei, daß die Wärme im Gärkasten II, in dem die Bohnen nur 80 cm hoch lagen, ebenso hoch stieg wie im Kasten I mit 110 cm Schichthöhe. Am höchsten lagen die Temperaturen im Kasten III, der keinen Hefezusatz erhalten hatte.

Hinsichtlich der Bildung und des Abbaues der Essigsäure hat hier, ebenso wie in dem vorher beschriebenen Versuch, die in Wasser verteilte Florylinhefe am günstigsten gewirkt. In dem mit ihr beimpften Kasten II war am 2. und 3. Tage ein nicht starker Essiggeruch bemerkbar, der von da ab ganz verschwand.

Bei I und III erreichte die Essigsäurebildung erst am 4. Tage ihren Höhepunkt, ohne daß jedoch bis dahin eine reine alkoholische Gärung stattgefunden hätte.

Das Kieler Bakteriologische Institut übersandte zwei Trockenhefen, die in Deutschland in größeren Mengen aus Mimbohefe hergestellt worden waren. Sie trugen die Bezeichnung W und GL. Mit beiden Hefen wurden Tastversuche in Gläsern und Großversuche im Betriebe angestellt.

Zunächst sei über einen Glasversuch mit der Hefe W berichtet. Es wurden vier der üblichen großen Versuchsgläser mit frischen Kakaobohnen gefüllt, und zwar erhielten die Gläser A_1 und A_2 je 1,36 kg Bohnen, die Gläser B_1 und B_2 je 0,68 kg Bohnen. Die Mengen an Trockenhefe wurden, Weisungen aus Kiel entsprechend, wie folgt abgestuft: es erhielten an Trockenhefe W die Gläser

A_1 : 0,131 g A_2 : 0,065 g B_1 : 0,261 g B_2 : 0,13 g

Die Hefe wurde in der Weise zugegeben, daß 0,587 g davon in 176 ccm Wasser verteilt wurden, in dem vorher 0,0176 g Zucker aufgelöst worden waren. Von dieser Lösung erhielt Glas A_1 : 39 ccm, A_2 : 19 ccm, B_1 : 79 ccm und B_2 : 39 ccm. Die Flüssigkeitsmenge in den Gläsern wurde durch Zusatz von Wasser auf 200 ccm gebracht. Die Gärmasse wurde dann kräftig durchgerührt. Es wurden täglich die Geruchsproben vorgenommen und die Säuregrade festgestellt.

Die Säuregrade wiesen nur insofern Unterschiede auf, als diejenigen in den Gläsern B_1 und B_2 stets etwas höher waren als diejenigen in den Gläsern A_1 und A_2 . Einen gewissen Aufschluß gab immerhin die Geruchsprobe. In den Gläsern A_1 und A_2 war der Geruch anfangs aromatisch, wurde vom 3. Tage an indifferent und

am 9. Tage faulig. Im Glase B₁ blieb der Geruch bis zum 4. Tage aromatisch, wurde dann indifferent, ohne später in Fäulnisgeruch überzugehen. Im Glase B₂ blieb der Geruch bis zum Schluß des Versuches aromatisch.

Starke Gasbildung während der Versuchsdauer zeigte Gärung an, die Bohnen bräunten sich auch äußerlich, fermentierten aber nicht aus.

Die Dosierung der Hefe im Glase B₂ (0,26 g Hefe auf 1,36 kg Kakao) scheint jedenfalls die beste gewesen zu sein, da hier der aromatische Geruch bis zum Schluß des Versuches anhielt.

Der vorstehend geschilderte Glasversuch mit Trockenhefe W wurde dann im großen wiederholt. Es wurden, wie immer, je 1300 kg frische Kakaobohnen in Zementkästen gefüllt, die 60 cm hoch darin lagen. Gärkasten A erhielt einen Zusatz von 0,25 kg Trockenhefe, was der Dosierung des Glases B₂ im Glasversuch entsprach. Gärkasten B erhielt einen Zusatz von 0,125 kg Hefe, entsprechend der Dosierung des Glases A₁ im vorigen Versuch. Gärkasten C blieb ohne Zusatz.

Die Hefeaufschwemmung wurde hergestellt, indem 12 g Zucker in 1125 ccm Wasser gelöst und 375 g Trockenhefe W hinzugefügt wurden. Von dieser Flüssigkeit erhielt Kasten A 750 ccm, Kasten B 375 ccm.

Es ergaben sich folgende Zahlen:

	Temperaturen				Säuregrade		
	Luft	A	B	C	A	B	C
1. Tag	26	32	31	31	2,0	1,6	2,0
2. "	27	35	33	34	1,6	1,6	1,0
3. "	25	37	35	36	2,0	1,7	1,2
4. "	26	39	38	38	2,2	1,6	1,8
5. "	25	39	37	39	2,4	2,9	2,4
6. "	26	40	38	40	5,1	5,8	5,3
7. "	26	40	39	39	1,6	2,6	2,3
8. "	26	41	39	41	1,4	2,0	2,2
9. "	25	39	40	38	0,8	0,9	0,9

Die Temperaturen, die in allen Kästen erheblich über der Außentemperatur lagen, wichen nicht wesentlich voneinander ab, so daß in dieser Hinsicht, also auf die Intensität des Gärverlaufes, ein Einfluß des Hefezusatzes nicht erkennbar ist.

Auch in den Säuregraden tritt eine merkliche Wirkung der Hefe W auf den Gärverlauf kaum in die Erscheinung. Es könnte allenfalls gesagt werden, daß der stärkere Zusatz im Kasten A den Abbau der Essigsäure beschleunigte.

Weitere Schlüsse lassen sich aus diesem Großversuch ebenso wie aus dem Versuch in Gläsern auf die Wirksamkeit der Trockenhefe W nicht ziehen.

Auch mit der Trockenhefe GL wurde ein Vorversuch in Gläsern und ein Großversuch angestellt.

Bei dem Glasversuch enthielt jedes Glas 1,36 kg Kakaobohnen und

Glas I	einen Zusatz von 0,52 g Trockenhefe GL in Aufschwemmung,
„ II	„ „ „ 0,26 g „ „ „ „
„ III	„ „ „ 0,13 g „ „ „ „
„ IV	blieb ohne Zusatz.

Um der Praxis des Umschäufelns näherzukommen, wurden die Bohnen täglich umgefüllt. Die Temperaturen waren in den Gläsern während der Beobachtungszeit annähernd gleich und lagen etwa 3 bis 4° über der Lufttemperatur. Die Säuregrade wurden in der Weise bestimmt, daß je 20 Bohnen in 100 ccm Wasser aufgeschwemmt und mit $\frac{1}{10}$ n-NaOH titriert wurden. Es ergaben sich dabei folgende Werte:

	I	II	III	IV
1. Tag	1,5	1,7	4,3	4,0
2. „	7,6	7,6	9,2	9,5
3. „	8,2	9,8	7,8	8,5
4. „	5,6	5,2	5,0	5,4
5. „	3,6	4,3	5,6	4,1
6. „	2,2	2,5	2,3	2,8
7. „	1,5	2,7	1,1	1,0
8. „	0,7	0,6	0,3	0,5
9. „	0,4	0,2	0,3	0,2

Der Zusatz von stärkeren Dosen Hefe konnte zwar anfangs die Bildung von Essigsäure etwas verringern, aber nicht verhindern. Später waren Unterschiede in den Säuregraden der verschiedenen behandelten Bohnen nicht mehr erkennbar.

Eine merkliche Wirkung der Trockenhefe GL konnte in diesem Vorversuche jedenfalls nicht festgestellt werden.

Der Großversuch wurde wiederum in Zementkästen mit je 1300 kg Bohne angestellt. Es erhielten an Zusätzen

Gärkasten I:	$\frac{1}{2}$ kg Trockenhefe GL in Aufschwemmung,
„ II:	$\frac{1}{4}$ „ „ „ „
„ III	blieb ohne Zusatz.

Die Temperaturen in den verschiedenen behandelten Gärkästen ließen Unterschiede nicht erkennen.

Die Säuregrade ergaben folgendes Zahlenbild:

	I	II	III		I	II	III
1. Tag	1,5	1,4	1,1	6. Tag	2,3	2,9	2,6
2. Tag	1,1	1,7	1,4	7. Tag	3,3	5,4	5,7
3. Tag	1,8	1,9	1,4	8. Tag	1,4	2,1	2,2
4. Tag	2,4	2,4	2,1	9. Tag	1,4	2,0	1,7
5. Tag	5,8	7,0	5,7	10. Tag	0,5	0,9	1,0

In diesem Großversuche konnte eine Wirkung der Trockenhefe GL nur insofern festgestellt werden, als sie bei stärkerer Gabe den Abbau der Essigsäure beschleunigte.

V. Einfluß des Zusatzes von Bac. Delbrücki und Milchsäure zum Gärgut.

Es lag nun nahe, nach der Analogie der Brennerei und der Hefefabrikation zu untersuchen, ob der Kulturmilchsäurebazillus, Bac. Delbrücki, vielleicht auch bei der Gärung der Kakaobohnen fähig sei, schädliche Bakterien wie die Essigbakterien fernzuhalten.

Zu diesem Zweck wurde zunächst ein Vorversuch in Gläsern angestellt. Die Gläser wurden mit je 500 ccm Hefenährlösung beschickt und sterilisiert. Glas A wurde zunächst mit Bac. Delbrücki beimpft und zwei Tage später mit dem Inhalt eines ganzen Kulturröhrchens dieses Pilzes versehen. Die sterile Nährlösung in Glas B wurde mit Milchsäure angesäuert.

Sodann wurden Kakaobohnen steril aus den Früchten entnommen und in die Gläser gebracht. In jedem Glase befanden sich die Bohnen von 10 Früchten, die in 12 cm hoher Schicht lagen. Hefen wurden nicht zugesetzt. Die Gärmasse wurde täglich mit einem sterilen Glasstab durchgerührt.

Die Säuregrade wurden in der bei Glasversuchen üblichen Weise bestimmt, sind also mit denjenigen bei Großversuchen ermittelten nicht vergleichbar.

Für die Temperaturen ergaben sich folgende Zahlen:

	Luft	A	B		Luft	A	B
1. Tag	25	26	26	8. Tag	27	25	25
2. Tag	25	26	25	9. Tag	25	26	26
3. Tag	26	25	25	10. Tag	24	25	25
4. Tag	27	28	27	11. Tag	25	26	26
5. Tag	24	26	26	12. Tag	25	25	25
6. Tag	25	25	25	13. Tag	26	27	27
7. Tag	24	25	25	14. Tag	25	26	26

Die Temperaturen in den Gläsern zeigen keine wesentlichen Unterschiede. Auch von der Außentemperatur unterscheiden sie sich wenig, liegen sogar an zwei Tagen unter dieser.

		Säuregrade.			
		A	B	A	B
1. Tag	1,4	1,7	8. Tag 3,6 5,6
2. Tag	2,5	2,7	9. Tag 2,8 5,9
3. Tag	2,9	3,0	10. Tag 2,3 5,8
4. Tag	2,9	2,8	11. Tag 1,9 5,8
5. Tag	3,5	3,2	12. Tag 1,8 5,6
6. Tag	3,6	3,6	13. Tag 1,3 4,2
7. Tag	4,4	5,1	14. Tag 1,5 3,7

Die Säuregrade gehen in beiden Gläsern bis zum 6. Tage konform und beginnen erst am 5. Tage zu steigen. Während bei A der hohe Säurestand nur einen Tag anhielt, um dann in regelmäßiger Linie abzufallen, hielt sich die Säure bei B sechs Tage lang auf einer Höhe, die weit über dem höchsten Säurestand von A lag. Das Absinken der Säure bei B geht langsam vor sich und hat selbst am 14. Beobachtungstage noch nicht ihr Ende erreicht.

Bei A trat am 2. Tage ein scharfer Essiggeruch auf, der auch am 3. Tage noch anhielt. Am 4. und 5. Tage war der Essiggeruch nur noch schwach wahrnehmbar, um vom 6. Tage an vollständig zu verschwinden. Der hohe Säuregrad am 7. Tage rührte jedenfalls nicht von Essigsäure her, sondern dürfte auf Milchsäure zurückzuführen gewesen sein.

Bei B trat am 2. Tage ein sehr schwacher Essiggeruch auf, der bis zum 5. Tage anhielt. Vom 6. bis 9. Tage war der Essiggeruch sehr scharf, am 10. Tage immer noch deutlich. Vom 12. Tage ab nahm die Gärmasse einen indifferenten Geruch an, trotzdem der Säuregrad noch hoch war. Es handelte sich also auch hier nicht um Essigsäure.

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die Zugabe weder von Bac. Delbrücki noch von Milchsäure die Essigsäuregärung verhindern oder aufhalten konnte.

Es wurde nun noch zur Prüfung der Wirksamkeit des Bac. Delbrücki bei der Kakaogärung ein Versuch im großen angestellt.

Hierbei wurden die Zusätze den Kakaobohnen schon in der Pflanzung, also so frühzeitig wie möglich, gegeben. Die Zementgärkästen, in welche dann die Bohnen verbracht wurden, enthielten nun folgende Zugaben:

- Kasten A: Kamerunhefe K₁,
- „ B: Weinhefe Accra + Bac. Delbrücki,
- „ C: Bac. Delbrücki.

Es wurden folgende Feststellungen gemacht:

	Luft	Temperaturen			Säuregrade		
		A	B	C	A	B	C
1. Tag	—	32	30	28	2,2	6,4	3,3
2. "	28	34	33	31	5,5	4,7	2,1
3. "	28	35	33	32	9,6	7,1	5,4
4. "	29	37	34	32	5,4	7,4	5,2
5. "	26	39	35	34	2,7	3,5	5,0
6. "	29	39	36	34	4,8	4,9	6,8
7. "	28	38	36	33	3,3	5,7	6,2
8. "	25	35	34	33	1,9	3,0	4,8
9. "	27	36	35	34	1,2	1,6	2,1
10. "	29	37	36	33	3,3	4,9	6,7
11. "	30	37	36	36	3,3	4,2	3,6
12. "	30	35	36	34	1,1	1,0	2,4
13. "	30	36	36	34	0,7	0,8	1,5

Die Temperaturen hielten sich, wie die Tabelle zeigt, naturgemäß stets über der jeweiligen Außentemperatur. Bei einem Vergleich der Temperaturen in den einzelnen Gärkästen fällt auf, daß fast stets die Temperatur im Gärkasten A am höchsten war, dann folgte Kasten B; im Kasten C war die Temperatur fast immer am niedrigsten. Anscheinend hat die Kamerunhefe K_1 die Gärung am kräftigsten angeregt, die Weinhefe Accra blieb in diesem Punkte hinter ihr zurück, und Bac. Delbrücki blieb ohne Einfluß auf die Intensität des Gärungsverlaufes.

Bei der Betrachtung der Säuregrade fällt zunächst deren intermittierender Charakter auf. In den Kästen A und B geht die Kurve dreimal aufwärts, um immer wieder abzusinken. Im Kasten C verläuft sie nicht so regelmäßig, hat aber ähnliche Tendenz.

Die Geruchsprobe ergab, daß im Gärkasten A erst am 3. Tage ein schwacher Essiggeruch auftrat, der vom 4. bis zum 7. Tage sehr scharf war. Am 8. Tage war kein Essiggeruch bemerkbar, am 9. Tage ein schwacher, der bis zum 11. Tage anhielt. Von da ab war im Kasten A kein Essiggeruch mehr wahrnehmbar. Weder die Säurezahlen noch das bisherige Verhalten der Kamerunhefe K_1 erklären diese Beobachtung ausreichend. Gärkasten A war nicht mit Bac. Delbrücki versetzt worden; es kann also das Bild nicht durch das Auftreten von Milchsäure verwirrt worden sein. Da auch die Kästen B und C ein ähnliches Bild zeigen, so darf auch hier kaum auf die Einwirkung von Milchsäure geschlossen werden.

Im Gärkasten B trat am 4. Tage Essiggeruch auf, der sich am 5. Tage verstärkte, am 6. und 7. Tage deutlich blieb, um am 8. Tage nur noch schwach aufzutreten. Am 10. und 11. Tage wurde der Essiggeruch wieder deutlicher und war stärker als in den Kästen A und C. Vom 12. Tage an verschwand der Essiggeruch ganz.

Ein ähnliches Bild zeigen die Bohnen im Kasten C. Auch hier trat am 4. Tage Essiggeruch auf, der sich bis zum 8. Tage verstärkte. Am 9. Tage war Essiggeruch nicht bemerkbar, doch trat er am 10. Tage wieder deutlich auf, um am 11. und 12. Tage schwach zu werden und von da ab ganz zu verschwinden.

So unklar auch die Ergebnisse der Versuche dieser Gruppe erscheinen, das Eine geht aus ihnen klar hervor, daß Milchsäure unter den gegebenen Verhältnissen der Kakaogärung nicht in der Lage ist, die Tätigkeit der Essigbakterien wirksam zu bekämpfen.

VI. Einfluß des Zusatzes chemischer Desinfektionsmittel auf den Gärverlauf.

Es sollte nun auch geprüft werden, ob in Analogie mit der Praxis der Weinbereitung durch Desinfektionsmittel das Auftreten schädlicher Organismen, besonders der Essigbakterien, verhindert werden könnte. Es wurden zu diesem Zwecke „Sulfoliquid“, Kaliummetabisulfit und Ammoniumbifluorid angewandt.

Zur Prüfung des „Sulfoliquid“ wurde zunächst ein Tastversuch in Gläsern angesetzt, bei dem das Desinfektionsmittel in einer Verdünnung 1 : 19 Verwendung fand. In jedem Glase befanden sich 1,36 kg frische Kakaobohnen. Von der Sulfoliquid-Lösung erhielten an Zusatz Glas I: 2 ccm, Glas II: 4 ccm, Glas III: 8 ccm, Glas IV: 12 ccm und Glas V: 13 ccm. Zwei weitere Gläser VI und VII erhielten keinen Zusatz. In jedes Glas wurden 300 ccm Wasser gegeben.

Die Säuregrade wurden täglich in der bei Glasversuchen üblichen Weise festgestellt. Sie stiegen in den mit Sulfoliquid versetzten Gläsern I und II bis zum 4. Tage an, während der Höhepunkt der Säurebildung in den mit stärkeren Dosen versetzten Gläsern III bis V erst am 5. Tage eintrat. In den Gläsern ohne Sulfoliquid trat der Höhepunkt der Säurebildung schon am 3. Tage ein. Es ist also erkennbar, daß das Sulfoliquid eine gewisse günstige Wirkung auf die Verlängerung der alkoholischen Gärung ausgeübt hat, und zwar am meisten bei den stärkeren Gaben.

Diesem Ergebnis entsprach auch die Prüfung des Geruches der einzelnen Gläser. Der aromatische Geruch der alkoholischen Gärung hielt am längsten bei den mit den stärkeren Gaben von Sulfoliquid versetzten Gläsern an.

Gegen Schluß des Versuches trat in allen Gläsern Fäulnisgeruch infolge von Buttersäuregärung auf, und zwar am frühesten bei den Gläsern ohne Sulfoliquid. Eine gewisse günstige Wirkung dieses Desinfektionsmittels war also erkennbar.

Nach diesem Vorversuch wurde nun ein Großversuch mit Sulfoliquid in Zementkästen angestellt, der jedoch völlig mißlang. Die Beschickung der Gärkästen mit frischen Kakaobohnen war die übliche. An Zusätzen erhielten:

- Gärkasten I: Accraweinhefe + 5 ccm konz. Sulfoliquid,
 " II: Mimboweinhefe + 5 " " "
 " III: 5 ccm konz. Sulfoliquid.

Das Sulfoliquid wurde, um eine bessere Verteilung im Gärkasten zu erzielen, in Wasser gelöst.

Am 4. Tage trat in allen Kästen Essiggeruch auf, der sich dann steigerte und im Kasten I am stärksten hervortrat. Der Essiggeruch hielt vier Tage an, um dann schwächer zu werden.

Am 9. Tage trat im Gärkasten III ein derartig übler Geruch auf, daß die Bohnen dem Kasten entnommen werden mußten. Sie wurden gewaschen und dann an der Sonne getrocknet. Sie behielten den üblen Geruch bei, waren im Innern noch blau und schmeckten etwas nach Schwefel. Am 11. Tage trat im Gärkasten II der gleiche üble Geruch auf, jedoch noch nicht im Kasten I. Der Versuch wurde abgebrochen.

Trotz dieses Mißerfolges wurde noch ein Großversuch mit Sulfoliquid in hölzernen Gärkästen angesetzt. Die Kästen erhielten folgende Zusätze:

- A: Venezuelaweinhefe + 10 ccm konz. Sulfoliquid (in Wasser),
 B: Sherryhefe + 10 " " " " "
 C: 1 Liter Wasser + 10 " " " "
 D: kein Zusatz.

Die Beobachtungen ergaben folgende Zahlen:

	Luft	Temperaturen				Säuregrade			
		A	B	C	D	A	B	C	D
1. Tag	26	33	32	30	31	3,2	3,5	2,4	2,7
2. "	27	41	42	36	41	2,9	2,8	2,6	2,0
3. "	26	43	44	43	45	3,0	3,2	3,3	2,9
4. "	27	44	44	42	45	2,7	2,9	2,5	2,3
5. "	23	43	44	42	44	1,2	2,0	1,6	2,5
6. "	26	42	43	42	44	1,0	1,8	0,6	2,1

Am 2. Tage trat bei A und B ein deutlicher, bei C und D ein schwächerer Essiggeruch auf. In allen vier Kästen deutlicher Essig-

geruch bis zum 4. Tage. Dann Abnahme, die im Kasten A am schnellsten vor sich ging. Im unbehandelten Kasten D hielt sich der Essiggeruch am längsten. Eine gewisse Wirkung des Sulfoliquids scheint erkennbar zu sein.

Um nochmals Verluste an Kakao zu vermeiden, wurde der Versuch am 7. Tage abgebrochen, und die Bohnen wurden an die Sonne gebracht. Die Bohnen waren zum Teil ausfermentiert, und zwar am besten diejenigen des Kastens A.

Das Sulfoliquid konnte jedenfalls die Bildung von Essigsäure bei der Kakaofermentation nicht verhindern. Vielleicht ist der Grund dafür darin zu suchen, daß sich die Verteilung des Desinfektionsmittels im Gärgut nicht in dem Maße bewerkstelligen läßt, wie es bei Flüssigkeiten, z. B. beim Wein, der Fall ist.

Es wurde dann nochmals ein Versuch mit Sulfoliquid in Gläsern, in denen die Verteilung des Desinfektionsmittels leichter zu erreichen ist, angestellt. Am 3. und 4. Tage trat wieder starker Essiggeruch auf, und am 8. Tage begann wieder der üble, faulige Geruch bemerkbar zu werden.

Des weiteren wurden vier Versuche mit Kaliummetabisulfit in Gläsern angestellt, das in einer 0,02prozentigen Lösung angewandt wurde. Es wurden, wie stets, 1,36 kg frische Kakaobohnen in die Gläser gefüllt.

Der erste Versuch mit einer Dosierung von 10, 50 und 100 ccm der Lösung von Kaliummetabisulfit je Glas ergab kein klares Resultat. Es trat überhaupt keine Gasbildung auf. Die Bohnen zeigten weder einen aromatischen noch Essiggeruch, sondern rochen während der ganzen Versuchsdauer indifferent. Der Versuch konnte nicht zu Ende geführt werden, da am 8. Tage Schimmelbildung auftrat.

Bei dem zweiten Versuch erhielt ein Glas einen Zusatz von 10 ccm, das zweite von 5 ccm der Lösung von Kaliummetabisulfit, während das dritte ohne Zusatz blieb. Es trat zunächst eine sehr starke Gärung auf, die aber bald nachließ. Am 4. Tage trat in allen drei Gläsern ein gleichmäßig sehr starker Essiggeruch auf, der im Verlauf der nächsten Tage abnahm. Am längsten hielt er sich in dem Glase mit der stärkeren Dosis Kaliummetabisulfit.

Bei einem dritten Versuch wurden dem einen Glase 10, dem zweiten 50 ccm, der 0,02prozentigen Lösung von Kaliummetabisulfit zugesetzt, während ein drittes Glas ohne Zusatz blieb. Auch bei diesem Versuch hat sich das Desinfektionsmittel als unwirksam erwiesen, da in allen Gläsern eine

starke Essigsäurebildung auftrat. Am 10. Tage trat fauliger Geruch und alkalische Reaktion in allen Gläsern auf.

Es wurde endlich noch ein vierter Versuch mit Kaliummetabisulfit angestellt, bei denen Hefen zugesetzt wurden, die in folgender Weise an schweflige Säure gewöhnt wurden.

Je ein Kölbchen mit 100 ccm Hefe-Nährlösung erhielt einen Zusatz von 5 ccm einer 0,02prozentigen Lösung von Kaliummetabisulfit. Es wurden sodann in je ein Kölbchen Venezuela-, Accra- und Sherry-Hefe eingimpft. Die Hefen wuchsen kräftig an. Nach drei Tagen wurde je ein weiteres Kölbchen mit 20 ccm der obigen Lösung beschickt und die Bodensätze der mit Hefen beimpften Gläser hinzugefügt. Die drei Hefen wuchsen wieder kräftig an. Nach zwei Tagen wurden dann die mit je 1,36 kg Kakaobohnen beschickten Gärgläser mit folgenden Zusätzen versehen:

- Glas Nr. I: ohne Zusatz,
 „ „ II: 10 ccm der 0,02prozentigen Lösung von Kaliummetabisulfit,
 „ „ III: 10 „ „ 0,02 „ „ „ „ „ „
 + der Lösung mit Accrahefe,
 „ „ IV: 10 ccm der 0,02 prozentigen Lösung von Kaliummetabisulfit
 + der Lösung mit Venezuelahefe,
 „ „ V: 10 ccm der 0,02prozentigen Lösung von Kaliummetabisulfit
 + der Lösung mit Sherryhefe.

Die in üblicher Weise festgestellten Säuregrade ergaben:

	I	II	III	IV	V
1. Tag . . .	5,1	4,9	5,2	5,5	4,9
2. „ . . .	2,4	2,3	2,5	5,2	3,1
3. „ . . .	2,8	10,6	1,7	2,0	2,6
4. „ . . .	11,0	11,4	2,1	2,5	11,5
5. „ . . .	12,5	10,5	6,2	12,7	5,8
6. „ . . .	8,7	3,6	13,7	11,4	4,0
7. „ . . .	6,2	1,2	6,7	5,0	0,8
8. „ . . .	1,2	0,5	1,8	1,5	0,3

Wie sich aus den Zahlen der Säuregrade ergibt und wie es auch der Geruch in den Gläsern bestätigte, konnte in keinem Falle die Bildung von Essigsäure vermieden werden.

Bei Zusatz von Kaliummetabisulfit ohne Hefe war der Essiggeruch am stärksten.

Bei den mit Accra- und Venezuelahefe versetzten Gläsern blieb der Geruch länger aromatisch als in den anderen Gläsern. In dem mit Sherryhefe versetzten Glase trat die Essigsäure zwar etwas früher auf als bei der Accra- und Venezuelahefe, verschwand aber schneller.

Auch dieser Versuch hat also bestätigt, daß Kaliummetabisulfit nicht imstande ist, bei der Kakaofermentation die Bildung von Essigsäure zu verhindern. —

Als letztes Desinfektionsmittel wurde noch das Ammoniumbifluorid in zwei Versuchen in Gläsern geprüft. Zu je 1,36 kg Kakaobohnen wurden von einer 0,02prozentigen Lösung dieses Mittels 10, 20, 50 und 100 ccm zugesetzt. Es gelang in keinem Falle, die alkoholische Gärung zu verlängern oder die Essigsäuregärung zu unterdrücken.

VII. Ein neues Fermentationsverfahren ohne Zusatz zum Gärgut.

In vorstehenden Mitteilungen ist der wesentliche Inhalt der Arbeiten geschildert worden, die in den letzten Jahren auf Veranlassung des Kolonialwirtschaftlichen Komitees in Kamerun unternommen und zum Abschluß gebracht worden sind. Sie hatten als Hauptziel, das Wesen der Kakaofermentation weiter zu erforschen, um den Weg zu finden, in reiner alkoholischer Gärung ein Produkt zu erzielen, das allen Anforderungen des Marktes genügt und vor allen Dingen frei von dem von der Essiggärung herrührenden scharfen, sauren Geruch und Geschmack ist.

Als Fazit dieser Versuche muß gesagt werden, daß die Anwendung von Reinhefen, die in der heimischen Gärungsindustrie so große Erfolge erzielt, in der Kakaofermentation keinen vollen Erfolg brachte. Zwar konnten wiederholt günstige Einwirkungen der angewandten Reinhefen auf den Gärverlauf festgestellt werden, und manche wichtige Beobachtung konnte dabei gemacht werden. Aber es ist nicht gelungen, eine Reinhefe zu finden, die imstande wäre, die Essigsäuregärung zu verhindern und die Kakaofermentation als reine alkoholische Gärung durchzuführen.

Auch Versuche, mit Hilfe von Bac. Delbrücki und Milchsäure zum Ziele zu gelangen, scheiterten ebenso, wie die angewandten und in der heimischen Gärungstechnik bewährten Desinfektionsmittel keine Hilfe brachten.

Es hat sich als wichtiges Resultat ergeben, daß die Vergärung der Kakaobohnen hinsichtlich der sich dabei abspielenden biologischen Vorgänge mit den bekannten Vorgängen in der heimischen Gärungsindustrie nicht ohne weiteres verglichen werden kann, sondern, daß wir hier ganz andersgearteten Problemen gegenüberstehen. Das Substrat, die klimatischen Faktoren und insbesondere auch Art

und Virulenz der infizierenden Mikroorganismen sind sehr unterschiedlich und in der Auswirkung ihrer spezifischen Eigenschaften noch nicht genügend studiert. Vielleicht trägt auch das hier beigebrachte Material dazu bei, das Problem der Aufbereitung frischer Kakaobohnen unter von den bisherigen Anschauungen abweichenden Gesichtspunkten zu betrachten.

Nachdem nun der Verfasser im Verlaufe seiner Untersuchungen zu der Erkenntnis gelangte, daß es unter den Verhältnissen der Praxis auf keine Weise möglich war, die Essigsäuregärung bei der Kakaofermentation ganz zu verhindern, ergab sich für ihn eine ganz neue Fragestellung. Das Ziel konnte nach dieser Erkenntnis nicht mehr sein, die Essigsäuregärung zu verhindern, sondern es mußte sich nur noch darum handeln, diese unschädlich zu machen. Letzteres zu erreichen, ist dem Verfasser dann auch gelungen.

Er hatte beobachtet, daß im normalen Gärverlauf der Gehalt des Gärgutes an Essigsäure vom 2. bis 3. Tage an zunahm, am 5. oder 6., seltener am 7. Tage seinen Höhepunkt erreichte, um von da ab langsam abzufallen.

Nun hatten die Kameruner Pflanze von alters her die Gewohnheit, am 6. oder 7. Tage, also gerade dann, wenn der Essigsäuregehalt des Gärgutes den höchsten Stand erreicht hatte, die Gärung abubrechen und die Bohnen der Trocknung zuzuführen. Natürlich mußten solche Bohnen einen starken Geruch und Geschmack nach Essig behalten, selbst wenn bei langsamer Trocknung noch eine gewisse Nachgärung stattfand.

Der Verfasser ging nun dazu über, die Fermentation bis über das in der Praxis bis dahin übliche Maß hinaus auszudehnen und die sich dabei abspielenden Vorgänge zu studieren. Dabei stellte sich heraus, daß nach Überschreiten des Höhepunktes des Essiggehaltes die Essigsäure in jedem Falle in gradliniger Abwärtsbewegung wieder abgebaut wird, bis sie vollständig verschwunden ist. Nur zuweilen findet kurz vor dem völligen Verschwinden der Säure noch einmal ein geringes Ansteigen der Säurekurve statt.

Dieser Abbau der Essigsäure wird in der Hauptsache durch Kahlhefen und die Essigbakterien selbst besorgt und bleibt niemals aus. Treibt man jedoch den Abbau der Essigsäure bis zum Nullpunkt, so tritt die noch schädlichere Buttersäuregärung auf, die zur Fäulnis der Kakaobohnen führt.

Diese Tatsachen benutzte nun der Verfasser zur Ausarbeitung

eines in der Praxis brauchbaren Verfahrens zur Aufbereitung der Kakaobohnen zu einem praktisch säurefreien Produkt.

Die äußeren Vorbedingungen dafür waren, die Bohnen unter Verhältnisse zu bringen, welche eine zu starke Erhitzung verhindern und eine gute Durchlüftung des Gärgutes gewährleisten. Ferner mußte eine ständige Kontrolle des Gärverlaufes stattfinden und diese so einfach sein, daß sie auch der ungeübte Praktiker leicht und sicher durchführen kann.

Nach diesem Verfahren behandelt man die frischen Kakaobohnen in folgender Weise:

Die Bohnen werden in den Gärkästen nur flach geschichtet, und zwar, wie die Versuche ergaben, am besten 60 cm hoch. Im Verlauf der Gärdauer werden sie alle 12 Stunden umgeschaufelt. Dabei läßt man die Gärung in gewohnter Weise vor sich gehen, ohne sich über das Auftreten der Essigsäure zu beunruhigen. Man nimmt eben das Auftreten der Essigsäure als etwas Unabwendbares hin und läßt die Essigsäuregärung sich totlaufen.

Hierbei liegt die einzige Schwierigkeit darin, den Zeitpunkt nicht zu verfehlen, zu welchem die Essigsäuregärung beendet und die Buttersäuregärung noch nicht eingetreten ist. Hierfür hat der Verfasser dem Praktiker eine einfache Untersuchungsmethode an die Hand gegeben, welche es ihm ermöglicht, das Herannahen des kritischen Zeitpunktes festzustellen. Diese Methode hat sich gut bewährt und wird in folgender Weise ausgeführt.

Aus der Mitte des Gärkastens werden zwischen zwei Umschaukelungen 20 Bohnen entnommen und in einem Glase mit 100 ccm Wasser durchgerührt. Von der Flüssigkeit werden 20 ccm mit einigen Tropfen Phenolphthalein-Lösung versetzt und mit $\frac{1}{10}$ n-Natronlauge oder Kalilauge titriert, bis die Flüssigkeit eben rot bleibt. Die verbrauchten Kubikzentimeter Lauge geben dann den „Säuregrad“ der Bohnen an. Werden weniger als 1,5 ccm Lauge bis zur Rotfärbung der Flüssigkeit verbraucht, so können die Bohnen als praktisch säurefrei betrachtet und, sofern sie genügend ausfermentiert sind, dem Gärkasten entnommen werden. Unter einen Verbrauch von 1,0 ccm Lauge soll man nicht heruntergehen, um die Gefahr der Buttersäuregärung zu vermeiden. Hat man alle Kautelen bei diesem Verfahren beobachtet, so werden alle diejenigen Veränderungen im Äußern und Innern der Bohnen eingetreten sein, die wir durch die Fermentation erreichen wollen, und die Trocknung kann beginnen.

Die Dauer der Gärung der Kakaobohnen ist bekanntlich stark von dem Feuchtigkeitsgehalt der Luft abhängig. In der trockenen

Jahreszeit wird das vorstehend geschilderte Verfahren etwa 8 Tage, in der schweren Regenzeit bis zu 14 Tagen beanspruchen.

Der auf diese Weise aufbereitete Kamerunkakao wird vom Markte günstig beurteilt. Wie aus den Preisnotierungen der Kakao-Zeitschrift „Gordian“ zu errechnen ist, hat der Kamerunkakao seit Einführung dieser Aufbereitungsmethode — also seit 1926 — bessere Preise erzielt als früher. Er hat meistens die Preishöhe von Accra I erreicht oder sogar übertroffen und stand mit Bahia I besonders in letzter Zeit im Durchschnitt ziemlich gleich, auch vorübergehend 1927 mit Trinidad I.

Die im vorstehenden geschilderte Fermentationsmethode hat sich auf fast allen Kameruner Pflanzungen eingebürgert.

VIII. Aufbereitung frischer Kakaobohnen durch Hitze.

Im Jahre 1926 veröffentlichte der Professor an der Universität Illinois F. L. Stevens¹⁾ Laboratoriumsversuche über die Aufbereitung frischer Kakaobohnen, die geeignet erschienen, einen Umschwung der bisherigen Auffassungen über das Wesen der Kakaofermentation herbeizuführen. Nach Stevens ist der wirkliche Vorgang bei der Aufbereitung frischer Bohnen überhaupt keine Fermentation. Seiner Ansicht nach handelt es sich dabei in der Hauptsache um zwei Vorgänge, nämlich um das Abtöten der Bohnen durch Hitze und das Wirksammachen oxydierender Enzyme. Hält man hierbei fremde Keime fern, so müsse man — wie er meint — einen innen braunfarbenen, aromatischen, nicht schimmelnden und nicht sauren Kakao erhalten.

Preuß²⁾ und Busse³⁾ äußerten sich zu den Vorschlägen von Stevens und forderten, daß dessen Laboratoriumsversuche zunächst einmal durch Versuche im großen nachgeprüft würden.

Der Verfasser nahm die Nachprüfung der Versuche von Stevens in Angriff und führte eine lange Reihe von Großversuchen durch, zu denen ihm allerdings nur ganz primitive Hilfsmittel zur Verfügung standen.

Zunächst arbeitete er mit einem kleinen, heizbaren Holzkasten, der 30 kg frische Bohnen aufnehmen konnte. Die Bohnen wurden 24 Stunden lang unter zeitweiligem Umrühren auf 50 bis 60° C er-

1) F. L. Stevens, The Curing of Cacao. The Tropical Agriculturist 1926, Nr. 6.

2) P. Preuß, Die Aufbereitung des Kakaos. Tropenpflanzer 1926, S. 343.

3) W. Busse, Die Versuche und Vorschläge von F. L. Stevens zur Kakaoaufbereitung. Tropenpflanzer 1926, S. 406.

hitzt, dann mit Wasser von 45° C gewaschen und in den Kasten zurückgebracht. Unter mäßiger Luftzufuhr wurden sie dann weiter 4 Tage lang auf 50 bis 60° C gehalten, wonach die Aufbereitung beendet war.

Es wurde ein Produkt erzielt, das äußerlich schön braun und frei von Pulparesten war. Die Form der Bohnen war ziemlich bauchig, der Bruch braun, der Kern saß meist, aber nicht immer, locker in der Schale, das Aroma aber war wenig ausgeprägt und der Geschmack ziemlich bitter.

Ein erstklassiges Produkt konnte jedenfalls bei diesen primitiven Versuchen nicht erzielt werden, wenn auch die Bohnen vollkommen säurefrei waren.

Es wurden deshalb Versuche in größerem Maßstabe angestellt, zu denen ein Holzkasten Verwendung fand, der 3 t frischer Kakaobohnen aufnehmen konnte. Die Beheizung wurde durch ein System von Dampfrohren besorgt, das es ermöglichte, die notwendigen Temperaturen innezuhalten. Die Durchlüftung erfolgte durch seitliche Klappen. Die Kakaobohnen lagen auf hölzernen Hürden über den Heizrohren und wurden alle 6 Stunden (auch nachts) mit hölzernen Rechen umgewendet.

Diese Großversuche führten zu einem vollen Erfolg. Um Materialverluste zu vermeiden, wurden zunächst Versuche mit braunfaulen Kakaobohnen, die auf den Kameruner Pflanzungen leider in großen Mengen anfallen, angestellt. Diese braunfaulen Bohnen schienen für die Versuche auch deshalb besonders geeignet zu sein, weil sie nur eine schwache Schleimhülle besitzen und deshalb schlecht gären.

Es gelang, die braunfaulen Bohnen in ihrer Qualität so weit zu verbessern, daß sie auf dem Markte weit bessere Preise erzielten als früher.

Die Aufbereitung der braunfaulen Kakaobohnen nach dem vorstehend kurz skizzierten Verfahren findet in Kamerun schon in größerem Umfange statt.

Die Erfolge dieses Verfahrens bei der Aufbereitung braunfauler Kakaobohnen ermutigten nun dazu, dieses auch bei guten Bohnen anzuwenden.

Es wurde auch hierbei ein Produkt erzielt, welches günstig beurteilt wurde.

IX. Schluß.

Wie in der „Vorbemerkung“ zu diesem Bericht bereits gesagt wurde, fiel dem Verfasser im Rahmen der Gesamtarbeit die Aufgabe zu, die einschlägigen Fragen im großen unter den Verhältnissen der Praxis zu studieren und für den praktischen Pflanzeur nach einem Weg zu suchen, mit im Großbetrieb anwendbaren Mitteln zu einer Verbesserung der Qualität seines Produktes zu gelangen.

Die Anwendung von Reinhefen und Desinfektionsmitteln sowie von Milchsäure und dem Milchsäurepilz förderten zwar manche wichtige Erkenntnis ans Licht, die für weitere Arbeiten von Wert sein dürften, geben aber dem Praktiker zunächst noch kein sicheres Mittel an die Hand, zu einer Verbesserung seines Produktes zu gelangen.

Wie im Kapitel VII dargelegt wurde, hat der Verfasser ein neues Fermentationsverfahren ausgearbeitet, welches es dem Pflanzeur ermöglicht, auf eine einfache Weise zu einer wesentlichen Verbesserung seines Kakaos zu gelangen. Dieses Verfahren wird in Kamerun schon seit nunmehr 3 Jahren angewandt und hat, wie erwähnt, zu einer günstigeren Beurteilung des Kamerunkakaos auf dem Markte geführt.

Ferner gelang es dem Verfasser, wie im Kapitel VIII ausgeführt wurde, den braunfaulen Kakao durch ein einfaches und kurzes Verfahren zu einem Produkt zu machen, das auf dem Markte wesentlich günstigere Preise erzielt als der nach der alten Methode aufbereitete.

Wie im letzten Kapitel dann noch kurz erwähnt wurde, konnten auch gute Kakaobohnen auf dem gleichen Wege zu einem günstig beurteilten Produkt aufbereitet werden.

Anmerkung. Bei aufmerksamer Lektüre der Berichte der Herren Henneberg und Zeller wird der Leser in einigen Punkten gewisse Widersprüche entdecken. Diese erklären sich im wesentlichen daraus, daß Schlußfolgerungen aus wissenschaftlichen Versuchen unter Umständen durch die Praxis nicht bestätigt werden, besonders dann nicht, wenn sie auf Erfahrungen beruhen, die größtenteils in der gemäßigten Zone gewonnen wurden, die Durchführung in der Praxis aber von anders gearteten Bedingungen des Klimas und sonstigen Faktoren der Tropen beeinflusst wird.

Die Schriftleitung.

★
Ernst Siegfried Mittler und Sohn
Buchdruckerei G. m. b. H.
Berlin SW 68, Kochstr. 68-71
★



(26)
BIBLIOTEKA
UNIERSYTECKA
GDAŃSK

СІІ 16151

№ 1

1929r.

