

### 309. Else Dammann: Vergärung von Dextrin durch *fusarium lini* Bolley.

[Aus d. Hygien. Institut d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 26. Juli 1938.)

Kürzlich konnten Nord und Engel<sup>1)</sup> den Nachweis führen, daß Disaccharide durch *fusarium lini* B. (fLB) sowohl direkt als auch indirekt vergoren werden, und daß eine einleitende Phosphorylierung weder bei der Vergärung von Maltose noch von Lactose zu beobachten war. Die Klarstellung der Verhältnisse bei der Vergärung von Biosen veranlaßte mich, auch der Frage der Vergärbarkeit der Dextrine durch diesen Erreger näher zu treten, zumal in jüngster Zeit nur erneut die längst bekannten Tatsachen ihre Bestätigung fanden<sup>2)</sup>, daß Dextrine durch die verschiedensten Heferasen lebend nicht vergoren werden, aber daß membranfreie Hefepreparate höhere Kohlenhydrate zu vergären fähig sind.

#### Versuchsmaterial und Verfahren.

Für die folgenden Versuche wurde Dextrin reinst von Merck<sup>3)</sup> verwendet. Es reduzierte noch Fehlingsche Lösung und gab mit Jod eine rotbraune Färbung, was auf Erythroextrin schließen ließ. Die analytische Kontrolle des Reaktionsverlaufes erfolgte im Falle der Kohlensäurebestimmung wie früher. Die genaue Durchführung der Äthylalkoholbestimmung haben Dammann, Rotini und Nord<sup>4)</sup> beschrieben.

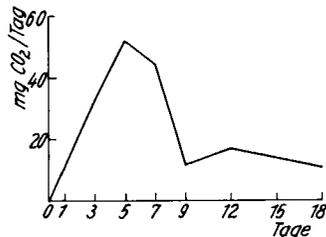
#### Auszug aus den Protokollen.

Die Deckenzüchtung von fLB wurde in großen Fernbach-Kolben vorgenommen, die stets folgende Nährlösung enthielten: 500 ccm dest. Wasser, 4,5 g Kartoffelstärke, 2 g Glucose, 0,1 g Asparagin, 0,4 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,63 g  $K_2HPO_4$ ; pH 6,8.

Das Impfmateriel für diese Nährlösung und die späteren Versuchslösungen wurde abwechselnd auf mit Wasser gequollenem Leinsamen und Glucoselösung gezüchtet. Für die Versuche kam eine 2-proz. Dextrinlösung zur Verwendung.

Je 100 ccm dest. Wasser enthielten: 2 g Dextrin, 0,02 g Asparagin, 0,08 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,125 g  $K_2HPO_4$ .

Abbild. 1 zeigt den Verlauf der Vergärung dieser Dextrinlösung, gemessen an der durchschnittlichen Tagesleistung der Kohlensäure-Entwicklung. Als Impfmateriel wurde 6 Tage altes Leinsamenmycel verwendet. In allen beobachteten Gärversuchen erreichte die Kohlensäure-Entwicklung zwischen dem 4. und 7. Tage ihr Maximum von etwa 50 mg  $CO_2$  Tagesleistung, um dann rasch auf eine tägliche  $CO_2$ -Entwicklung von



Abbild. 1. Vergärung von Dextrin durch fLB (1 g Dextrin in 50 ccm Lösung).

<sup>1)</sup> Biochem. Ztschr. **296**, 153 [1938].

<sup>2)</sup> Haehn, Glaubitz u. Gross, B. **70**, 1492 [1937]. Wegen weiterer Literatur vergl. dieselben in Ztschr. Spiritusind. **60**, 206 [1937]; s. a. Myrbäck, Örtensblad u. Ahlborg, Enzymologia **3**, 210 [1937].

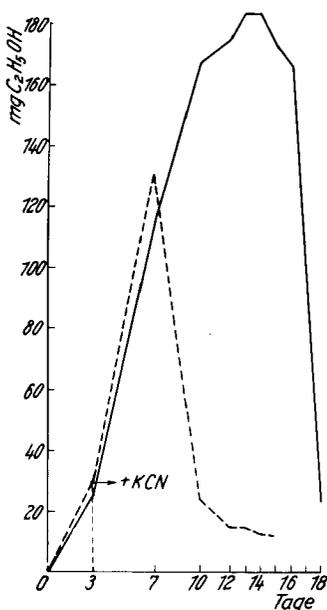
<sup>3)</sup> enthaltend 0,5% reduzierende Substanz.

<sup>4)</sup> Biochem. Ztschr. **297**, 185 [1938].

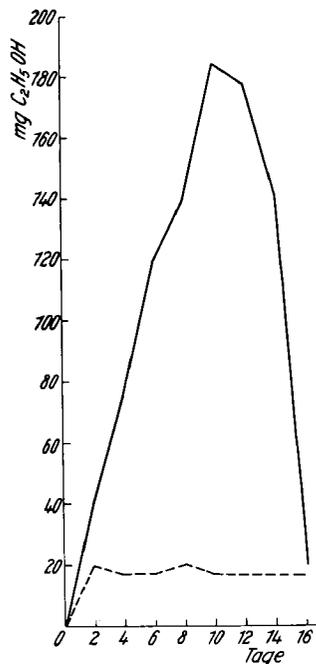
10—15 mg  $\text{CO}_2$  herabzusinken. Der Gesamtkohlensäurewert betrug nach 18 Tagen im Durchschnitt 400—450 mg  $\text{CO}_2$ .

Weiterhin verfolgte ich die Bildung und Dehydrierung des entstandenen Alkohols. Die Maximalausbeute an gefäßigem Alkohol aus 1 g Dextrin betrug 200 mg und wurde durchschnittlich in 7—13 Tagen erreicht. Als Impfmateriale kamen teils Myceldecken von f1B, teils Sporen zur Verwendung. Gleichzeitig wurde der Einfluß folgender Verbindungen geprüft: Kaliumcyanid, Hesperidin, Phloridzin und Vitamin  $\text{B}_1$ .

Die Abbildungen 2 und 3 zeigen den Verlauf der Gärung von Dextrin in An- und Abwesenheit von KCN, gemessen an den Alkoholwerten. Für alle folgenden Versuche wurden 500 ccm der 2-proz. Dextrinlösung in großen Fernbach-Kolben angesetzt.



Abbild. 2. Vergärung von Dextrin durch f1B; Wachstumsversuch.  
— Ohne Zusatz von KCN, --- mit  $m/100$ -KCN versetzt.



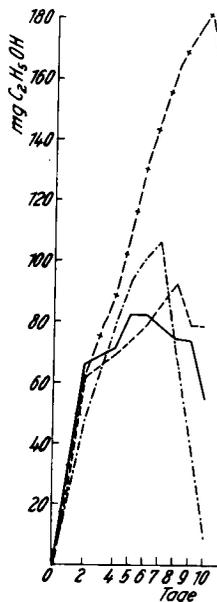
Abbild. 3. Vergärung von Dextrin durch f1B; Deckenimpfung.  
— Ohne Zusatz von KCN, --- mit  $m/100$ -KCN versetzt.

Es wurden jedesmal 25 ccm zur Probeentnahme verwendet. Die doppelte Menge des gefundenen Wertes ergab also die 1 g Dextrin entsprechende Alkoholmenge. Diese Werte sind in die Kurvenbilder eingetragen worden.

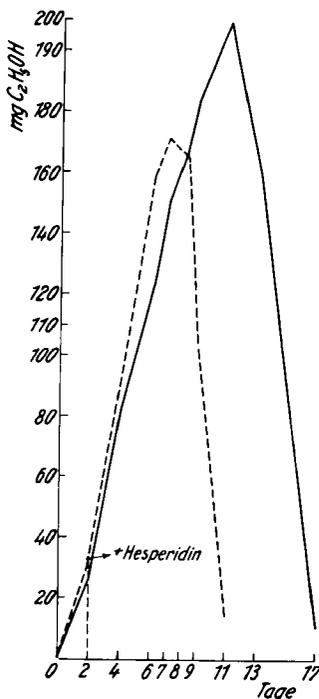
Während die Maximalausbeute an Alkohol in dem Wachstumsversuch ohne Zusatz (Abbild. 2) (Impfmateriale: 1 ccm Sporenlösung aus einer 8 Tage alten Glucosekultur) zwischen dem 13. und 14. Tage erreicht war, lag die Höchstausbeute im Deckenversuch ohne Zusatz (Abbild. 3) (Impfmateriale: 4 Wochen alte Myceldecke) am 10. Tage nach der Beimpfung. Mit der Myceldecke zusammen wurde in einen der Versuchskolben  $m/100$ -KCN gegeben und, wie aus Abbild. 3 ersichtlich, wurde die Gärung in diesem Falle fast ganz unterdrückt. Im Wachstumsversuch wurde auf Grund der bei *F. gramine-*

arum gemachten Erfahrung das KCN erst am 3. Tage nach der Beimpfung zugegeben, und es fand nun Vergärung des Dextrins statt. Die Höchstausbeute an Alkohol war um 50 mg niedriger als in dem entsprechenden KCN-freien Ansatz, aber sie wurde schon am 7. Tage nach der Beimpfung erreicht.

In weiteren Versuchen in blausäurefreiem und blausäurehaltigem Milieu mit 10 Tage alten *Fusarium*decken wurde das Kaliumcyanid 2 Tage nach der Beimpfung zugegeben, einmal mit dem KCN zusammen die entsprechende Menge *n*-Schwefelsäure. Es war jedoch kein Unterschied zu bemerken. Die Maximalausbeute lag in allen Versuchen am 7. Tage und war in diesem Falle bei den KCN-haltigen etwas höher.



Abbild. 4. Vergärung von Dextrin durch flB; Deckenimpfung. — Ohne jeden Zusatz, ---- mit  $m/300$ -KCN, - - - - mit 1 g Phloridzin auf 500 ccm Lösung, - - + - + mit 0.5 g Hesperidin auf 500 ccm Lösung.



Abbild. 5. Vergärung von Dextrin durch flB. Wachstumsversuch. — Ohne Zusatz, - - + 0.5 g Hesperidin auf 500 ccm Lösung.

Aus 1 g Glucose können theoretisch 488.9 mg  $\text{CO}_2$  und 511.1 mg  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$  entstehen. Die durchschnittliche Maximalausbeute an Alkohol, die man praktisch fassen kann, beträgt 380 mg. Bei der Dextrinvergärung erhielt ich höchstens 200 mg Alkohol. Nimmt man an, daß die Dehydrierung des entstandenen Alkohols in gleichem Ausmaße erfolgt wie bei der Glucosegärung, so kann man schließen, daß jeweils beim Abrechnen der Beobachtung des Versuches mindestens 40% des in Lösung gewesenen Dextrins vergoren worden sind.

Abbild. 4 zeigt den Ablauf einer Dextrinvergärung durch flB-Decken (7 Tage alt) bei verschiedenen Zusätzen. In Anwesenheit von Hesperidin wurde die höchste Alkoholausbeute nach 10 Tagen nachgewiesen. Die Maximalalkoholwerte bei KCN- und

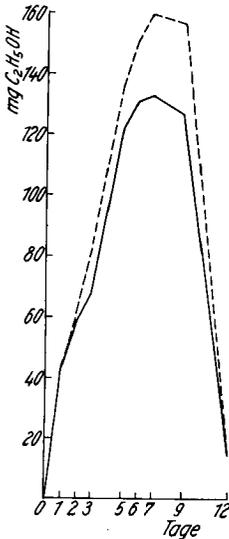
Phloridzin-Zusatz wurden schon am 7. und 8. Tage erreicht, sie liegen aber sehr viel niedriger.

Abbild. 5 gibt das Bild einer Dextrinvergärung in An- und Abwesenheit von Hesperidin wieder (Impfmateriale: 10 Tage altes Leinsamenmycel). Die größte Alkohol-



Abbild. 5a. f1B auf Dextrin-Nährlösung gewachsen; 4 Tage altes Mycel. Links mit Hesperidin, rechts ohne Hesperidin.

ausbeute ist in dem Versuche mit Hesperidin schon am 7. Tage erreicht, ohne Hesperidin erst am 14. Tage nach der Beimpfung, allerdings ist sie im zweiten Falle um 30 mg höher. Es war jedoch in dem hesperidinhaltenen Versuche sehr viel mehr Mycel gebildet worden als im hesperidin-freien Versuche.



Abbild. 6. Vergärung von Dextrin durch f1B; Deckenimpfung — ohne Vitamin-B<sub>1</sub>-Zusatz, --- mit 500 γ Vitamin B<sub>1</sub> auf 500 ccm Lösung.

Abbild. 5a zeigt die Myceldichten am vierten Tage nach der Beimpfung und am zweiten Tage nach der Hesperidinzugabe. Die Zugabe von Vitamin B<sub>1</sub> zur Dextrinlösung (Abbild. 6) — Impfmateriale: 14 Tage alte f1B-Decken — ergab keinen bemerkenswerten Unterschied zu einer einfachen Dextrinvergärung.

### Zusammenfassung.

Neben den bereits nachgewiesenen Enzymen enthält f1B auch ein Enzym, das es befähigt, Dextrin unter Bildung von CO<sub>2</sub> und Alkohol zu vergären.

Der Zusatz von KCN usw. übt keinen wesentlichen Einfluß auf den Verlauf der Dextrinvergärung aus.

Ob die Vergärung des Dextrins eine direkte ist, oder ob erst eine Spaltung in einfache Zucker vorausgeht, habe ich noch nicht geprüft. Daß die Möglichkeit einer direkten Vergärung besteht, bewiesen aber die Beobachtungen bei der Vergärung von Disacchariden.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für die Erteilung eines Stipendiums und für die Ermöglichung der Durchführung der Arbeit durch Bereitstellung einer Sachbeihilfe.