

# Über das fettspaltende Ferment der höheren Pilze

von

Dr. Julius Zellner.

(Vorgelegt in der Sitzung am 8. März 1906.)

Gelegentlich meiner Untersuchung des Fliegenpilzes<sup>1</sup> hatte ich gefunden, daß in dem Rohfett (Petrolätherextrakt) desselben die Fettsäuren größtenteils in freiem Zustande vorliegen, das Fett also in weitgehendem Grade gespalten ist. Ferner wurde gezeigt, daß diese Spaltung des Fettes im lebenden Pilze beginnt, sich während des Trocknens und längeren Liegens fortsetzt, ohne jedoch vollständig zu werden, und daß auch andere Fette durch Berührung mit dem Pilzpulver langsam, aber in ziemlich erheblichem Grade verseift werden, ein Vorgang, welcher fermentativer Natur zu sein scheint.

In der vorliegenden Mitteilung möchte ich über Versuche berichten, welche ich an anderen Pilzen in gleicher Richtung angestellt habe. Zu diesem Zwecke wurden natürlich nach Tunlichkeit Arten aus verschiedenen Gruppen der höheren Pilze ausgewählt; es waren dies folgende Spezies:

1. Parasolpilz (*Lepiota procera*), Familie Leucosporeen;
2. Wollschwamm (*Galorrheus vellereus*), Familie Leucosporeen;
3. Samtfuß (*Rhymovis atrotomentosa*), Familie Dermii;
4. Eierschwamm (*Cantharellus cibarius*), Familie *Cantharelli*;
5. Schöner Löcherpilz (*Boletus elegans*), Familie Polyporeen;

---

<sup>1</sup> Monatshefte für Chemie, 1905, p. 253.

6. Semmelschwamm (*Polyporus confluens*), Familie Polyporeen;

7. Ausgeschweifeter Stachelpilz (*Hydnum repandum*), Familie Hydneen;

8. Gelbe Bärenratze (*Clavaria flava*), Familie Clavariaceen;

9. Warziger Staubpilz (*Lycoperdon gemmatum*), Familie Gasteromyceten.

Sämtliche Pilze wurden erst an der Luft, schließlich bei einer 35° nicht übersteigenden Temperatur getrocknet, in einer Fleischhackmaschine zerkleinert und endlich durch ein Sieb von etwa 1 mm Maschenweite abgesiebt. In den so erhaltenen neun Pilzproben wurde nach achtwöchentlichem Liegen die Feuchtigkeit und die Menge des Rohfettes (Petrolätherextraktes) und in letzterem die Säure- und Verseifungszahl bestimmt. Die erhaltenen Zahlen sind folgende:

1. *Lepiota*. 1·152 g Pilzpulver verloren beim Trocknen bei 110° 0·128 g H<sub>2</sub>O. 14·182 g Pilzpulver, mit Petroläther erschöpft, lieferten 0·456 g Fett, welches 2·5 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur Neutralisation und weiter 0·8 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur vollständigen Verseifung brauchte.
2. *Galorrheus*. 1·388 g verloren beim Trocknen 0·132 g Feuchtigkeit. 17·085 g lieferten 1·4465 g Fett, welches 6·8 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur Neutralisation und weitere 2·2 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur Verseifung benötigte.
3. *Rhymovis*. 1·585 g verloren beim Trocknen 0·165 g H<sub>2</sub>O. 14·860 g Pilzpulver ergaben 0·447 g Fett und dieses bedurfte 1·2 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur Neutralisation und weiters noch 1·2 cm<sup>3</sup> zur Verseifung.
4. *Cantharellus*. 2·573 g Pilzpulver zeigten einen Trockenverlust von 0·246 g. 16·565 g ergaben 0·653 g Fett, welches mit 2·4 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge neutralisiert und mit weiteren 2·6 cm<sup>3</sup> verseift wurde.
5. *Boletus*. 1·393 g verloren beim Trocknen 0·161 g H<sub>2</sub>O. 15·149 g lieferten 0·383 g Fett. 0·507 g des Pilzfettes benötigten 2·4 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur Neutralisation und fernerhin 0·8 cm<sup>3</sup> zur Verseifung.
6. *Polyporus*. 2·620 g Pilzpulver zeigten einen Trockenverlust von 0·207 g. 14·155 g Pilzpulver lieferten 3·231 g

Fett, welches mit  $5.2 \text{ cm}^3$  halbnormaler Lauge neutralisiert und durch weitere  $3.6 \text{ cm}^3$  verseift wurde. Bei einem zweiten Versuch verbrauchten  $2.590 \text{ g}$  Rohfett  $7 \text{ cm}^3$  halbnormale Lauge zur Verseifung.

7. *Hydnum*.  $1.841 \text{ g}$  verloren beim Trocknen  $0.172 \text{ g}$   $\text{H}_2\text{O}$ .  $15.915 \text{ g}$  Pilzpulver ergaben  $0.740 \text{ g}$  Rohfett; dieses benötigte  $3.25 \text{ cm}^3$  halbnormaler Lauge zur Neutralisation und weitere  $1.7 \text{ cm}^3$  zur Verseifung.
8. *Clavaria*.  $1.603 \text{ g}$  verloren beim Trocknen  $0.149 \text{ g}$   $\text{H}_2\text{O}$ .  $16.401 \text{ g}$  lieferten  $0.503 \text{ g}$  Fett, das mit  $2.2 \text{ cm}^3$  halbnormaler Lauge neutralisiert und ferner durch  $1.9 \text{ cm}^3$  verseift wurde.
9. *Lycoperdon*.  $1.139 \text{ g}$  zeigten einen Trockenverlust von  $0.116 \text{ g}$ . Aus  $13.703 \text{ g}$  Pilzpulver wurden  $0.163 \text{ g}$  Fett erhalten, welches  $0.7 \text{ cm}^3$  halbnormaler Lauge zur Neutralisation und noch  $0.6 \text{ cm}^3$  zur Verseifung erforderte.

Die Versuchsergebnisse sind nebst Bemerkungen über sonstige Eigenschaften der Pilzfette in der Tabelle I zusammengestellt.

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich, daß sämtliche untersuchten Pilzfette in beträchtlichem Grade (zur Hälfte bis zu zwei Dritteln) gespalten sind. Nimmt man hinzu, daß der Fliegenpilz<sup>1</sup> nach achtwöchentlichem Liegen ein Rohfett liefert, welches die Säurezahl  $125.2$  bei einer Verseifungszahl von  $227$  zeigt, also  $55\%$  freie Säure enthält, daß ferner freie Fettsäuren, wenn auch meist nicht quantitativ bestimmt, in den Fetten von *Galorrheus piperatus*,<sup>2</sup> von *Boletus edulis*,<sup>3</sup> *Tuber cibarium*<sup>4</sup> und *Aethalium septicum*<sup>5</sup> gefunden worden sind, so läßt sich allgemein sagen, daß die Fette der höheren Pilze reichliche Mengen freier Fettsäuren enthalten, ja nach längerem Liegen zum größten Teile aus solchen bestehen.

<sup>1</sup> Monatshefte für Chemie, 1905, p. 254.

<sup>2</sup> Gérard, Chem. Zentralblatt, 1891, I, 363.

<sup>3</sup> König, Nahrungs- und Genußmittel, 3. Aufl., II. Bd., p. 761.

<sup>4</sup> Riegel, Jahrbuch der Pharmazie, 7, 225.

<sup>5</sup> Reinke und Rodewald, Unters. aus dem botan. Laboratorium Göttingen, 1881.

Tabelle I.

	Feuchtig- keit	Fett- gehalt	Säurezahl des Fettes	Ver- seifungs- zahl des Fettes	Prozente Fett gespalten	
1. <i>Lepiota</i> . . . . .	11·11	3·21	153·5	202·6	75·7	Petrolätherlösung (10 g Pilzpulver auf 100 g Lösungsmittel) fast farblos. Fett ganz blaßgelb, größtenteils fest, Fettsäuren halbfest, weiß. Ergosterinartiger Körper vorhanden.
2. <i>Galorrhoeus</i> . . . . .	9·51	8·46	131·6	174·2	75·5	Petrolätherlösung (wie oben) hellgelb. Fett gelb, größtenteils fest, Fettsäuren ziemlich fest, gelblich. Ergosterinartiger Körper ziemlich reichlich vorhanden.
3. <i>Rhymovis</i> . . . . .	10·40	3·00	75·1	150·2	50·0	Petrolätherlösung sehr blaßgelb. Fett gelblich, halbfest, reich an unverseifbaren Körpern, darunter reichlich eine ergosterinartige Substanz. Fettsäuren gelblich, halbfest.
4. <i>Cantharellus</i> . . . . .	9·56	3·94	102·9	214·4	48·0	Petrolätherlösung hellgelb. Fett ein tiefgelbes dickes Öl von charakteristischem Geruch. Fettsäuren gelb, ölig. Menge der unverseifbaren Körper gering. Ergosterinartiger Körper vorhanden.

5. <i>Boletus</i> .....	11·55	2·52	132·5	176·6	75·0	Petrolätherlösung braungelb. Fett dunkel, großenteils fest, kristallinisch. Enthält einen ergosterinartigen Körper.
6. <i>Polyporus</i> .....	7·90	22·82	45·06	76·17	59·1	Petrolätherlösung rotbraun. Rohfett tief rotbraun, sehr dickflüssig; die Hauptmenge ist unverseifbar und stellt einen harzigen, in Alkohol leicht löslichen Körper dar. Fettsäuren des verseifbaren Anteils blaßgelb. Ergosterinartige Substanz vorhanden.
7. <i>Hydnum</i> .....	9·34	4·65	126·7	191·0	66·3	Petrolätherlösung blaßgelb. Fett ein gelbes Öl mit fester Ausscheidung (ergosterinartiger Körper). Fettsäuren gelb, halbfest.
8. <i>Clavaria</i> .....	9·29	3·06	122·4	228·2	53·6	Petrolätherlösung fast farblos. Fett ein blaßgelbes Öl mit fester Ausscheidung. Ergosterinartiger Körper vorhanden. Fettsäuren gelblich, der Hauptmenge nach flüssig.
9. <i>Lycoperdon</i> .....	10·18	1·18	120·2	223·2	53·8	Petrolätherlösung fast farblos. Fett halbfest, blaßgelb. Fettsäuren halbfest, blaßgelb. Ergosterinartige Substanz vorhanden.

Demgegenüber fiel mir die Angabe von Mjoën<sup>1</sup> auf, daß die Säurezahl des Mutterkornfettes bloß 4·95 betrage. Zur Kontrolle dieser Zahl extrahierte ich eine Portion Mutterkorn, welche 18 Monate gelegen hatte, mit Petroläther und bestimmte die Säurezahl des erhaltenen Rohfettes.

2·748 g Fett verbrauchten 0·5 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge. Säurezahl: 5·1.

Das Fett ist also auch nach sehr langem Liegen nicht verseift. Da fast sämtliche oben angeführten Pilzspezies erdbewohnende Saprophyten von kurzer Lebensdauer sind, das Mutterkorn jedoch eine parasitische Dauerform darstellt, erwartete ich, daß der Unterschied in dem Gehalt an freien Fettsäuren mit den verschiedenen Lebensbedingungen zusammenhängt. Ich untersuchte daher noch das Fett zweier auf Bäumen schmarotzender, dauerhafter Pilze, nämlich von *Trametes suaveolens* (I) und *Polyporus fomentarius* (II).

- I. 0·405 g Fett verbrauchten 0·7 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur Neutralisation. Säurezahl: 48·4.
- II. 0·365 g Fett verbrauchten 0·7 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur Neutralisation. Säurezahl: 53·7.

Da auch diese Fette reich an freien Säuren sind, so erweist sich die obige Vermutung als unrichtig.

Aus der Tabelle ergibt sich ferner das Resultat, daß sämtliche untersuchten Pilzfette Körper aus der Gruppe des Ergosterins enthalten (charakterisiert durch nadelartige Kristallisationen, Unverseifbarkeit, Löslichkeit in Äther, Petroläther und Alkohol sowie durch die Liebermann-Burchardische Reaktion).

Für die Versuche, die fettspaltende Wirkung der Pilzpulver auf andere Fette zu untersuchen, wurden die Pilzproben kalt entfettet. Nach der Extraktion wurden die Pilzpulver auf Filtrierpapier ausgebreitet, um das Abdunsten des Petroläthers zu befördern. Als Probefett wurde Rüböl verwendet, weil dieses sonst schwer verseifbare Fett bei früheren Versuchen sich als gut spaltbar erwiesen hatte.

---

<sup>1</sup> Mjoën, Archiv der Pharmazie, 234, 278.

Je 30 g Rüböl wurden mit je 15 g obiger Pilzpulver innig verrieben und sodann 2 g Wasser der Mischung einverleibt. Dieselbe wurde dann in einem mit Wattepfropfen verschlossenen Gefäß längere Zeit sich selbst überlassen; alle 6 Wochen wurde eine Probe genommen und in dieser die Säurezahl bestimmt.

1. *Lepiota*. Nach 6 Wochen verbrauchten 6·650 g Öl 13·6 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur Neutralisation, nach 12 Wochen 5·065 g Öl 13·1 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.
2. *Galorrheus*. Nach 6 Wochen: 8·087 g Öl benötigten 19·5 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge zur Neutralisation; nach 12 Wochen: 7·403 g Öl verbrauchten 21 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.
3. *Rhymovis*. Nach 6 Wochen: 8·081 g Öl verbrauchten 4·4 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge; nach 12 Wochen: 5·576 g Öl benötigten 4·6 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.
4. *Cantharellus*. Nach 6 Wochen: 2·728 g Öl wurden durch 0·7 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge neutralisiert; nach 12 Wochen: 6·490 g Öl durch 2 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.
5. *Boletus*. Nach 6 Wochen: 3·482 g Öl beanspruchten 8·3 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge; nach 12 Wochen: 2·483 g verbrauchten 8·3 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.
6. *Polyporus*. Nach 6 Wochen: 8·534 g Fett benötigten 2·3 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge; nach 12 Wochen benötigten 4·495 g Öl 1·8 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.
7. *Hydnum*. Nach 6 Wochen: 5·196 g Öl beanspruchten 1·5 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge; nach 12 Wochen: 4·586 g 1·8 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.
8. *Clavaria*. Nach 6 Wochen: 4·434 g Öl wurden durch 4 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge neutralisiert; nach 12 Wochen: 5·491 g Öl durch 9 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.
9. *Lycoperdon*. 4·438 g Öl verbrauchten nach 6 Wochen 18·65 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge, nach 12 Wochen benötigten 5·987 g Öl 28 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.
10. Rüböl ohne Pilzzusatz: Vor Beginn der Versuchsreihe verbrauchten 1·684 g 0·2 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge, nach 6 Wochen 2·852 g 0·35 cm<sup>3</sup> und nach 12 Wochen 3·033 g 0·4 cm<sup>3</sup> halbnormaler Lauge.

Das Fett wurde bei der Probenahme diesmal nicht mit Petroläther extrahiert, sondern aus der Mischung durch Abpressen und Filtrieren gewonnen.

Die Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle II.

	Nach 6 Wochen		Nach 12 Wochen	
	Säurezahl	Prozente Fett gespalten	Säurezahl	Prozente Fett gespalten
Rüböl ohne Pilzzusatz, Säurezahl zu Beginn 3·3, Verseifungszahl 176·5	3·4	1·9	3·7	2·1
1. <i>Lepiota</i> .....	57·2	32·4	72·4	41·0
2. <i>Galorrheus</i> .....	67·5	38·2	79·4	45·0
3. <i>Rhymovis</i> .....	15·2	8·6	23·0	13·0
4. <i>Cantharellus</i> .....	7·2	4·1	8·6	4·8
5. <i>Boletus</i> .....	66·7	37·7	93·6	53·0
6. <i>Polyporus</i> .....	7·5	4·2	11·2	6·3
7. <i>Hydnum</i> .....	8·1	4·5	10·9	6·1
8. <i>Clavaria</i> .....	25·2	14·2	45·9	26·0
9. <i>Lycoperdon</i> .....	117·7	66·6	130·9	74·1

Es zeigt sich, daß von den neun Pilzproben vier eine kräftige, zwei eine schwache, drei eine kaum merkliche Spaltung des Rüböls veranlaßten. Vergleicht man in den beiden Tabellen die beiden äußersten rechten Kolonnen, so findet man, daß der zu erwartende Parallelismus in den Zahlen nur bei den Proben 1 bis 5 kenntlich ist, während bei den übrigen Proben auffallende Abweichungen davon stattfinden. Insbesondere ist die fast gänzliche Wirkungslosigkeit der Pulver von *Polyporus* und *Hydnum* schwer begreiflich. Hingegen läßt sich die bemerkenswert kräftige Wirkung des Pulvers von *Lycoperdon* dadurch erklären, daß dieses Pulver infolge seines reichlichen Sporengehaltes sich größtenteils in einem Zustande höchst feiner Verteilung befindet, wie sie durch mechanische Zerkleinerung bei

allen übrigen Pilzen auch nicht annähernd erreicht werden konnte und weil vielleicht die Sporen selbst reicher an der fettspaltenden Substanz sind als das übrige Gewebe des Pilzkörpers. Die Werte der Säurezahlen sind niedriger wie bei den früheren Versuchen beim Fliegenpilz, weil dort bei höherer Temperatur gearbeitet worden war ( $45^{\circ}$  C.), während die vorliegende Versuchsreihe bei gewöhnlicher Temperatur (etwa  $20^{\circ}$  C.) durchgeführt wurde.

Durch Erhitzen oder Zusatz von Sublimat wird die fettspaltende Wirkung des Pilzpulvers aufgehoben.

I. Eine Probe vom Pulver der *Clavaria flava* wurde 12 Stunden bei  $110^{\circ}$  gehalten, dann mit der den oben angegebenen Verhältnissen entsprechenden Menge Wasser und Rüböl versetzt; gleichzeitig mit Probe 8 der Tabelle II wurden die Proben entnommen.

2·623 g Fett verbrauchten (nach 6 Wochen)  $0\cdot35\text{ cm}^3$  halbnormaler Lauge.

3·290 g Öl benötigten (nach 12 Wochen)  $0\cdot5\text{ cm}^3$  halbnormaler Lauge.

	Säurezahl (Pilzpulver nicht erhitzt)	Säurezahl (Pilzpulver auf $110^{\circ}$ erhitzt)
Nach 6 Wochen .....	25·2	3·7
Nach 12 Wochen .....	45·9	4·2

Die ursprüngliche Säurezahl war 3·3.

II. Eine Probe von *Lepiota* wurde, wie oben angegeben, mit Rüböl, jedoch statt mit Wasser mit  $2\text{ cm}^3$  einer zweiprozentigen Sublimatlösung versetzt. Die Analysen wurden parallel mit den in Tabelle II bei *Lepiota* angegebenen ausgeführt.

Nach 6 Wochen verbrauchten 4·238 g Fett  $0\cdot6\text{ cm}^3$  halbnormaler Lauge.

Nach 12 Wochen benötigten 3·784 g  $0\cdot6\text{ cm}^3$  halbnormaler Lauge.

	Säurezahl (ohne Sublimat)	Säurezahl (mit Sublimat)
Nach 6 Wochen .....	57·2	3·9
Nach 12 Wochen .....	72·4	4·4

Diese Versuchsergebnisse sprechen wohl deutlich dafür, daß der Prozeß der Fettspaltung fermentativer Natur ist. Leider sind die bisherigen Bemühungen, das Ferment durch Lösungsmittel aus den Pilzen zu gewinnen, erfolglos geblieben. Wässrige Lösungen lassen sich im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur nicht eintrocknen, ohne vorher zu gären; man muß bei der Konzentration Wärme oder geringe Zusätze antiseptischer Mittel (Thymol) anwenden, was natürlich beides bedenklich ist. Die auf solche Weise erhaltenen Abdampfrückstände wirkten, mit Fett verrieben, nicht verseifend auf dasselbe ein. Ebenso wenig gelang es mir, mit Hilfe des Glycerinextraktes oder des aus demselben mit Alkohol gefällten Niederschlags eine deutliche Fettspaltung zu erzielen.

Die Resultate meiner bisherigen Untersuchungen sind also kurz zusammengefaßt folgende:

1. Die Fette der höheren Pilze sind reich an freien Fettsäuren.

2. Dieser Säuregehalt ist schon im Fette der frischen Pilze nachweisbar, er nimmt beim Trocknen und längeren Liegen zu; der Verseifungsprozeß kann bis zu 80% des Fettes spalten, doch ist eine vollständige Zerlegung eines Pilzfettes bisher nicht beobachtet worden.

3. In vielen Fällen läßt sich mit Hilfe des Pilzpulvers eine langsame Spaltung auch anderer Fette bewirken; von zehn Pilzspezies zeigten fünf eine kräftige, zwei eine schwache, drei eine kaum merkbare Einwirkung auf Rüböl.

4. Die Spaltung der Fette wird durch gelindes Erwärmen (40 bis 45° C.) befördert; Erhitzen des Pilzpulvers auf 110° oder Zusatz von Sublimat verhindern die Einwirkung. Der Prozeß ist also fermentativer Natur. Die Isolierung des Fermentes war bisher nicht möglich.