

# Über das Vorkommen von Xylit im Speisepilz Champignon (*Psalliota campestris*)

Von

**K. Kratzl und H. Silbernagel**

Aus dem Österreichischen Holzforschungsinstitut und  
dem Organisch-chemischen Institut der Universität Wien  
und

**K. H. Bäßler**

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Johannes-Gutenberg-  
Universität, Mainz

(Eingegangen am 25. Oktober 1962)

Im Speisepilz Champignon (*Psalliota campestris*) wurde Xylit in einer Menge von 100 mg pro kg Trockensubstanz durch enzymatische Methoden nachgewiesen. Die Anreicherung erfolgte durch fraktionierte Kristallisation unter papierchromatographischer Kontrolle.

Im Zuge der Untersuchungen zahlreicher Arbeitsgruppen über natürliche Kohlehydrate und Zuckeralkohole wurden nahezu alle möglichen Zuckeralkohole, wie z. B. Erythrit, d-Threit, Adonit, d-Arabit, d-Mannit usw. in der Natur aufgefunden<sup>1-5</sup>. Nicht bestätigt wurde das Vorkommen von Xylit, welcher aber als wichtiges Stoffwechselprodukt von *McCormick* und *O. Touster* angeführt wurde<sup>6, 7</sup> und für dessen biochemische Bildung und weitere Umsetzung die Fermente TPN-Xylit-Dehydrogenase und DPN-Xylit-Dehydrogenase<sup>7-9</sup> notwendig sind.

<sup>1</sup> *J. Stenhouse*, Ann. Chem. **68**, 55 (1848).

<sup>2</sup> *J. H. Birkinshaw*, *C. E. Stickings* und *P. Tessier*, Biochem. J. **42**, 329 (1948).

<sup>3</sup> *E. Merck*, Arch. Pharm. **231**, 129 (1893).

<sup>4</sup> *M. Frèrejaque*, C. r. hebdomad. Acad. Sci. **217**, 251 (1943).

<sup>5</sup> *W. Thörner*, Ber. dtsh. chem. Ges. **11**, 593 (1878).

<sup>6</sup> *P. D. Boyer*, The Enzymes, Vol. 3, S. 405, Acad. Press, New York, London.

<sup>7</sup> *D. B. McCormick* und *O. Touster*, J. Biol. Chem. **229**, 451 (1957).

<sup>8</sup> *S. Hollmann* und *O. Touster*, ebenda, **225**, 87 (1957).

<sup>9</sup> *O. Hoffmann-Ostenhof* und *A. Sivak*, Biochim. Biophys. Acta [Amsterdam] **53**, 426 (1961).

Da in den verschiedenen Pilzen zahlreiche Zuckeralkohole vorkommen erschien die Wahrscheinlichkeit gegeben, daß unter diesen wenigstens bei manchen Pilzen Xylit vorkommt. Es wurde daher der Speisepilz Champignon (*Psalliota campestris*) auf Zuckeralkohole aufgearbeitet und die C<sub>5</sub>-Zuckeralkoholfraktion durch oftmaliges Umkristallisieren unter ständiger papierchromatischer Kontrolle angereichert. (Im Papierchromatogramm können die einzelnen Komponenten der Pentite nicht unterschieden werden.)

Da es bei den in Frage kommenden Pentitmengen unmöglich schien, diese neben den anderen Zuckeralkoholen — hauptsächlich Mannit — zur Kristallisation zu bringen, wurde das im Institut von Dr. K. Lang ausgearbeitete enzymatische Verfahren<sup>10</sup> zur Anwendung gebracht, um etwa vorhandenen Xylit zu identifizieren. Das Enzym TPN-Xylit-Dehydrogenase ist streng spezifisch auf Xylit eingestellt, und es gelang mit diesem Verfahren, das Vorkommen von Xylit im Speisepilz Champignon in einer Konzentration von 100 mg Xylit pro kg Champignon (Trockensubstanz) nachzuweisen. Vergleichsweise beträgt die Menge der gesamten Zuckeralkoholfraktion etwa 17% der Trockensubstanz.

Da sich zeigte, daß verschiedene Pilze sehr unterschiedliche Anteile verschiedener Zuckeralkohole enthalten können [z. B. enthält der Speisepilz Hallimasch (*Armellario mellea*) neben d-Mannit, wie auch wir fanden, noch große Mengen d-Threit<sup>2</sup>, welcher bei Champignon nicht oder nur in geringsten Mengen vorhanden ist], erscheint es durchaus möglich, daß in geeignetem Pflanzenmaterial wesentlich höhere Anteile an Pentiten bzw. Xylit enthalten sein können.

## Experimenteller Teil

### A. Aufarbeitung des Pilzmaterials

1 kg frischer Pilze wurde nach Zerkleinern zuerst an der Luft, später bei 1 Torr über CaCl<sub>2</sub> bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die Trockensubstanz wurde gewogen, fein gepulvert und eine Woche mit Äthanol extrahiert, der Alkohol vom Extrakt abdestilliert, der Destillationsrückstand in Wasser aufgenommen, filtriert, mittels Ionenaustauscher (Lewatit S 100/Lewatit MN) voll entsalzt und die rohen Zuckeralkohole durch Abdampfen des Wassers unter vermindertem Druck in kristallisierter Form erhalten. Durch Umkristallisieren aus Äthanol wurde die Hauptmenge des d-Mannits, welcher fast die gesamte Zuckeralkoholfraktion ausmacht, abgetrennt und die Mutterlaugen nach dem im folgenden angeführten Schema aufgearbeitet.

Es wurden schließlich zwei an Pentiten stark angereicherte Fraktionen erhalten, von denen eine mit 2,5 mg Pentit, 5 mg Hexit und 2,5 mg Glycerin zur enzymatischen Bestimmung verwendet wurde. Der Berechnung des Gesamtgehaltes an Xylit wurden aber die Pentitmengen beider Fraktionen zugrunde gelegt.

<sup>10</sup> K. H. Bäßler, V. Unbehauen und W. Prellwitz, Biochem. Z. 336, 35 (1926).

Aufarbeitungsschema der Zuckeralkohole des Pilzes  
*Psalliota campestris* L.

Erklärung der Abkürzungen:

Z. A. Zuckeralkohole

K. Kristallphase

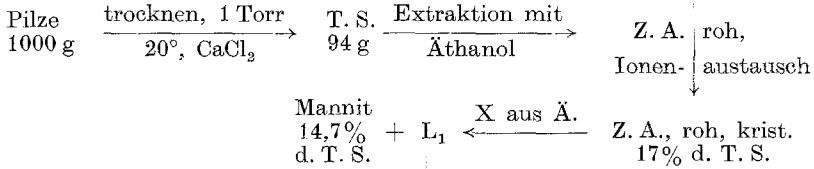
Q Eindampfen zur Trockene

T. S. Trockensubstanz

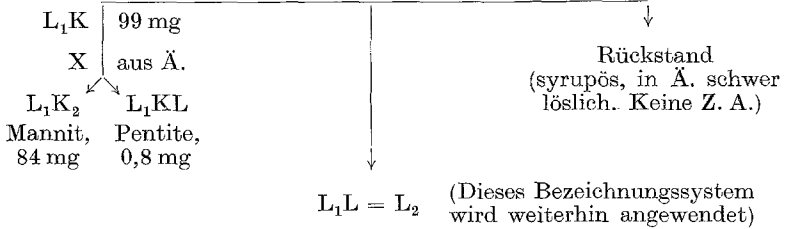
L. Lösung

X Umkristallisieren

Ä. Äthanol, 96proz.



Q, X, Ä.

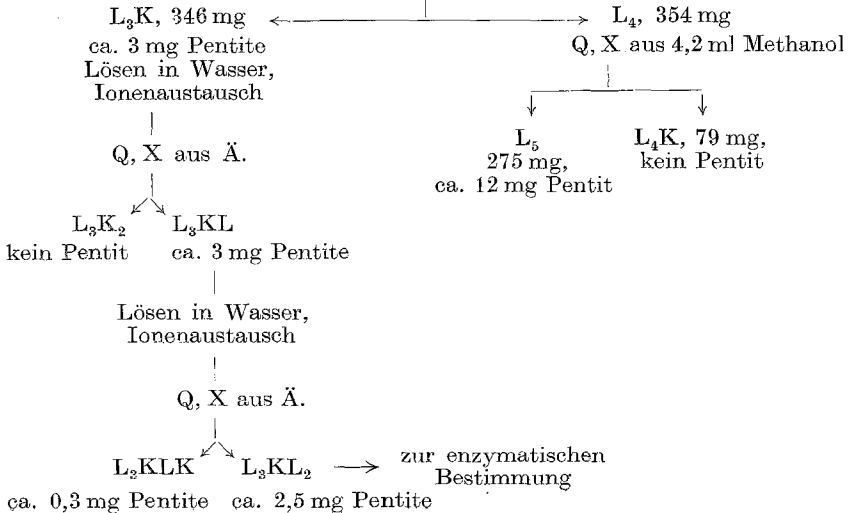


Q, X aus Ä.

L<sub>2</sub>K, 53 mg  
0,3% Pentite

L<sub>3</sub> ca. 15 mg Pentite

Q, X, Ä.



### B. Papierchromatographie

Die papierchromatographische Trennung der Zuckeralkohole wurde absteigend (Papier 2043 b von Schleicher & Schüll) mit Butanol:Eisessig:Wasser = 2:1:1 durchgeführt. Die Laufzeit betrug bei 20° ca. 20 Stdn.; die Trenneffekte waren sehr gut. Die Sichtbarmachung erfolgte durch Imprägnierung des getrockneten Chromatogramms mit einer 0,5proz. Lösung von AgNO<sub>3</sub> in Aceton, neuerliches vollständiges Trocknen und Entwickeln des Chromatogramms mit 0,5 n alkohol. KOH. Die Fixierung erfolgte mit der in der Photographie üblichen sauren Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Lösung.

### C. Enzymatische Bestimmung

10 mg des unter A beschriebenen Endproduktes wurden in 2 ml destill. Wasser aufgenommen. Davon wurden 0,5 ml zum enzymatischen Test eingesetzt. Dieser Test beruht darauf, daß die Geschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion unterhalb der Substratsättigung bei festgelegter Enzymmenge und Temperatur in gesetzmäßiger Weise von der Substratkonzentration (in diesem Fall Xylit) abhängt. Aus der mit der Analysenprobe erhaltenen Reaktionsgeschwindigkeit kann auf einer Eichkurve die Substratkonzentration abgelesen werden; Einzelheiten siehe <sup>10</sup>.

Der Testansatz enthielt in Küvetten mit 1 cm Schichtdicke 1 ml 0,3 m Tris\*-HCl-Puffer pH 8,1, 0,1 ml 1proz. TPN-Lösung, 0,5 ml Analysenprobe, 0,2 ml einer Lösung der nach *Hickman* und *Ashwell*<sup>11</sup> dargestellten TPN-Xylit-Dehydrogenase mit geeigneter Aktivität und destill. Wasser ad 3,0 ml. Die Mischung wurde im temperierten Küvettenhalter eines Photometers „Eppendorf“ auf 40° vorgewärmt. Durch Zusatz der Enzymlösung wurde die Reaktion in Gang gebracht und die auf Reduktion von TPN beruhende Extinktionszunahme bei 366 m $\mu$  von der 10. bis 25. sec nach dem Start gemessen.

Der Deutschen Udic G. m. b. H., Mannheim-Rheinau, danken wir für die Förderung dieser Arbeit.

\* Tris-(hydroxymethyl)-aminomethan.

<sup>11</sup> *J. Hickman* und *G. Ashwell*, *J. Biol. Chem.* **234**, 753 (1958).