

## Die Umsetzung von L-Äpfelsäure durch *Saccharomyces cerevisiae* bei der Gärung

Im Vergleich zum Stoffwechsel der Kohlenhydrate ist der anaerobe Abbau von Karbonsäuren durch Hefen noch wenig untersucht. Bei der Weinbereitung sind Veränderungen der Karbonsäuren durch Hefe von Interesse. Die wichtigste Säure im Traubenmost ist L-Äpfelsäure, von der lange bekannt ist, dass sich ihr Gehalt während der Gärung vermindert, wie unter anderem RIBEREAU-GAYON und PEYNAUD<sup>1</sup> und RANKINE<sup>2</sup> anführen. Im Gegensatz zu *Schizosaccharomyces*-Arten, die L-Äpfelsäure quantitativ abbauen<sup>3</sup>, wird von *Saccharomyces* selten mehr als 40% der vorhandenen Äpfelsäure metabolisiert. Bei *Schizosaccharomyces* kommt eine decarboxylierende Malatdehydrogenase vor<sup>4</sup>, die Äpfelsäure zu Brenztraubensäure und CO<sub>2</sub> oxydiert. Dieses Enzym ist bisher in *Saccharomyces* nicht nachgewiesen worden<sup>5,6</sup>.

Eingehende Untersuchungen an über 200 Wildstämmen von *Saccharomyces cerevisiae* und verwandten Arten ergaben, dass alle Stämme Äpfelsäure unter anaeroben Bedingungen umsetzen können. Die abgebaute Säuremenge ist unabhängig von der Vorkultur der Hefe und variiert sehr bei verschiedenen Stämmen. Aus Äpfelsäure, die während und nach der Gärung abgebaut wird, entstehen Äthanol und Kohlendioxyd. Dies konnte in Bilanzversuchen nachgewiesen werden; es gelang, Äpfelsäure mit ruhenden Hefezellen in zuckerfreier Pufferlösung umzusetzen. Unter diesen Bedingungen wird die Analyse der Metaboliten des Äpfelsäureabbaus nicht durch die Produkte der alkoholischen Gärung erschwert. Die Bilanz konnte ausserdem durch Verwendung von U-<sup>14</sup>C-markierter Äpfelsäure bestätigt werden. Bei einem Abbau von etwa 30% der Äpfelsäure wurde im Verhältnis von 1:1 die Aktivität im Kohlendioxyd, das in Alkali absorbiert worden war, und im Destillat gefunden. Ein signifikanter Einbau des Kohlenstoffs der Äpfelsäure in die Hefezellmasse erfolgte nicht. Die Fähigkeit der *Saccharomyces*-Zellen zur Bildung von CO<sub>2</sub> aus Äpfelsäure ist unabhängig von deren Wachstum bei Gegenwart von Äpfelsäure. Das Enzymsystem ist somit nicht induzierbar. Voraussetzung für die Bildung von Äthanol und CO<sub>2</sub> aus Äpfelsäure ist eine Wasserstoffionen-Konzentration des Mediums von pH 3. Im Bereich von pH 5 erfolgt nur ein sehr geringer Säureumsatz. Mit der empfindlichen Isotopenmethode können dann in geringer Menge verschiedene markierte Produkte gefunden werden<sup>7</sup>. Da bei *Saccharomyces* die decarboxylierende Malatdehydrogenase bisher nicht gefunden wurde, wird Äpfelsäure wahrscheinlich trotz der ungünstigen Lage des Reaktionsgleichgewichts zunächst von Malatdehydrogenase zu

Oxalessigsäure oxydiert, die dann möglicherweise spontan in Brenztraubensäure übergeht. Die von DUNTZE et al.<sup>8</sup> beobachtete Inaktivierung von Malatdehydrogenase durch Glukose hat offensichtlich keinen Einfluss auf die Umsetzung von Äpfelsäure, die bereits während der Gärung bei Gegenwart von Zucker erfolgen kann. Ein Zusammenhang zwischen der Aktivität der NAD-abhängigen Malatdehydrogenase von Hefezellen und deren Fähigkeit zum Äpfelsäureabbau konnte nicht gefunden werden.

Mit zellfreien Extrakten konnte bei Gegenwart von NAD und Mangan Äpfelsäure zu Äthanol und Kohlendioxyd umgesetzt werden; die Endprodukte des Abbaus standen – wie bei den Versuchen mit intakten Zellen – im molaren Verhältnis von 1:2. Das Optimum für diese Reaktion liegt bei pH 7,0 also bei einem wesentlich höheren pH-Wert als für intakte Zellen. Leider ist die Aktivität der zellfreien Extrakte zur CO<sub>2</sub>-Bildung aus Äpfelsäure gering und ausserdem wenig stabil, so dass eine wesentliche Reinigung des Enzymsystems nicht möglich war.

*Summary.* Yeasts of the genus *Saccharomyces* are able to decompose L-malic acid partially, during and after fermentation, whereby ethanol and carbon dioxide are the end products. The decarboxylation of malic acid by yeast can be achieved with resting cells and cell free extracts.

F. RADLER und E. FÜCK

*Institut für Mikrobiologie und Weinforschung,  
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz,  
D-65 Mainz (Deutschland), 31. März 1970.*

- <sup>1</sup> J. RIBEREAU-GAYON und E. PEYNAUD, *Traité d'œnologie* (Béranger, Paris-Liège 1964), Vol. 1, p. 432.
- <sup>2</sup> B. C. RANKINE, *J. Sci. Fd. Agric.* 17, 312 (1966).
- <sup>3</sup> E. PEYNAUD und S. LAFON-LAFOURCADE, *C. r. Acad. Sci., Paris* 253, 5542 (1964).
- <sup>4</sup> A. TEMPERLI, U. KÜNSCH, K. MAYER und J. BUSCH, *Biochem. biophys. Acta* 110, 630 (1965).
- <sup>5</sup> W. DUNTZE, W. ATZPODIEN und H. HOLZER, *Arch. Mikrobiol.* 58, 296 (1967).
- <sup>6</sup> J. J. CAZZULO, L. M. CLAISSE und A. O. M. STOPPANI, *J. Bact.* 96, 623 (1968).
- <sup>7</sup> K. MAYER, J. BUSCH und G. PAUSE, *Z. Lebensmitteluntersuch. u. -Forsch.* 125, 375 (1964). – A. RAPP, Dissertation Mainz 1965.
- <sup>8</sup> W. DUNTZE, D. NEUMANN und H. HOLZER, *Europ. J. Biochem.* 3, 326 (1968).

## Effect of Fatty Acids on the Contraction of Guinea-Pig Ileum in vitro

Prostaglandins are fatty acids known to stimulate contractions of intestinal smooth muscle. For this reason, investigations have been made to establish whether other fatty acids have the same effect, particularly because of the fact that prostaglandins are biosynthesized from essential fatty acids<sup>1,2</sup>.

*Materials and methods.* The fatty acids were stored as 1% solutions in 1,2-propanediol. These solutions were diluted with saline (0.9% NaCl) before use. Guinea-pig ileum sections of about 4 cm were tested in a Magnus apparatus at 37°C. Contractions were recorded by means

of a kymograph on smoked paper (recordings enlarged × 7). The organ bath contained 10 ml Tyrode solution and was aerated with carbogen (95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>). No atropine was added. The mean dose of the fatty acids

- <sup>1</sup> D. A. VAN DORP, R. K. BEERTHUIS, D. H. NUGTEREN and H. VONKEMAN, *Biochim. biophys. Acta* 90, 204 (1964).
- <sup>2</sup> S. BERGSTRÖM, H. DANIELSSON and B. SAMUELSSON, *Biochim. biophys. Acta* 90, 207 (1964).