

# Vergärung von Kohlenhydraten

VerfasserInnen: Ralph Dobler [DoVi@access.unizh.ch](mailto:DoVi@access.unizh.ch), Maya Grimm [m.grimm@bluewin.ch](mailto:m.grimm@bluewin.ch), Marietta Paul [marietta.paul@dinomail.com](mailto:marietta.paul@dinomail.com), Pia Schuetz [giraffe13@bluemail.ch](mailto:giraffe13@bluemail.ch), Fabienne Sutter [hallofabienne@hotmail.com](mailto:hallofabienne@hotmail.com)

Betreuer: Thomi Horath [horath@botinst.unizh.ch](mailto:horath@botinst.unizh.ch)

## I. Ziel

1. Illustration von Gärungsprozessen
2. Ermitteln welche Zucker (Glucose, Lactose, Saccharose, Trehalose, Glycerol, Raffinose) und ob das Polysaccharid Stärke vom jeweils gewählten Inoculum<sup>1</sup> vergärt werden können.
3. Untersuchen der Gas- und Säureproduktion

[<sup>1</sup> Inoculum: lat. "inoculare" = einpflanzen, zu: oculus = Auge, Knospe, Reis, eigtl. = mit einem Reis versehen. Das Inoculum = Bakterien, Krankheitserreger, Gewebe, Zellmaterial, das in einen Organismus oder in einen Nährboden, eine Nährlösung eingebracht, "inokuliert" wird.]

## II. Hintergrund

Unter Gärung versteht man den fermentativen Ab- und Umbau von organischen Substraten in Abwesenheit eines mit der Atmung gekoppelten Elektronentransportes. Bei der Gärung erscheinen die Elektronen in reduzierten Produkten, die Energie wird über Substratphosphorylierung in energiereiche Zwischenprodukte und schlussendlich in ATP umgewandelt.

## III. Vorgehen

- 6 Reagenzgläser mit stark verdünntem LB-Medium, dem zusätzlich 0.8 g/L  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  und 0.35 g/L  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  beigemischt wurden, anfüllen
- Indikator Phenolrot zugeben: wechselt unter pH 7 die Farbe von rot (basisch) über orange zu gelb (sauer)
- Zur Kontrolle der Gasproduktion wird ein kleines RG umgekehrt ins grosse gegeben. Das Ganze System wird auch als "Durham tube" bezeichnet.
- Inoculum: in diesem Fall eine Flüssiganreicherungskultur aus Erde des botanischen Gartens (mycelartig)

Zugaben:

1. RG: Wasser
2. RG: Saccharose
3. RG: Lactose
4. RG: Glucose
5. RG: Stärke
6. RG: keine C-Quelle, auch kein Inoculum → Referenzprobe

- Bei 32 °C 2-3 Tage inkubieren

#### IV. Ergebnisse

Überall konnte eine mehr oder weniger starke Gelbfärbung des Mediums beobachtet werden, bedingt durch die pH-Absenkung bei der Gärung zu organischen Säuren. Eine Gasproduktion konnte hingegen in keinem der Reagenzgläser festgestellt werden. Dies mag vielleicht daran liegen, dass das produzierte CO<sub>2</sub> ausschliesslich im Medium gelöst blieb. Bei der nächsten Versuchsreihe sollte eine Erhöhung der Zuckerkonzentration (in unserem Versuch 5 g/L = 27.8 mM z.B. für Glucose) oder eine längere Inkubationszeit in Betracht gezogen werden.

1. RG: leichte Trübung, Organismus ernährt sich von den Komponenten im LB-Medium. Die Trübung könnte aber auch von chemischen Ausfällungen im Medium herrühren
2. RG: Saccharose gut verwertbar
3. RG: Lactose gut verwertbar
4. RG: Glucose gut verwertbar
5. RG: auch Stärke kann von den Organismen im Inokulum abgebaut werden
6. RG: hier verändert sich nichts. Allfällige Veränderungen wären auf unbeabsichtigte Zugabe von Inoculum und eventuell damit auch verwertbare Substrate zurückzuführen.

Tabelle 1: Ergebnisübersicht

Inokulum	Zucker	pH am Ende der Inkubation
kein Organismus	kein Zucker	7.4 - 7.6
aus Erde angereichert	kein Zucker	7.3 / 7.4
aus Erde angereichert	Raffinose	7.3
aus Erde angereichert	Sucrose	6.1
aus Erde angereichert	Lactose	7.3
aus Erde angereichert	Glucose	5.3 / 5.2
aus Erde angereichert	Stärke	7.1 / 7.5
aus Erde angereichert	Trehalose	6.9
Pansensaft	kein Zucker	8.0
Pansensaft	Sucrose	3.0
Pansensaft	Lactose	4.1 / 4.5
Pansensaft	Glucose	3.2 / 3.8
Pansensaft	Stärke	4.2 / 3.8
Pansensaft	Glycerol	5.3
Pansensaft	Raffinose	3.7
Pansensaft	Trehalose	4.4
Hefe	kein Zucker	7.8 / 7.5 / 7.6
Hefe	Sucrose	3.9 und Gasbildung / 4.4
Hefe	Lactose	4.7 / 4.6 / 4.5
Hefe	Glucose	5.4
Hefe	Stärke	5.1 / 4.9 / 5.0
Hefe	Glycerol	5.3
Hefe	Raffinose	4.4 / 4.4
Hefe	Trehalose	4.5 / 4.6

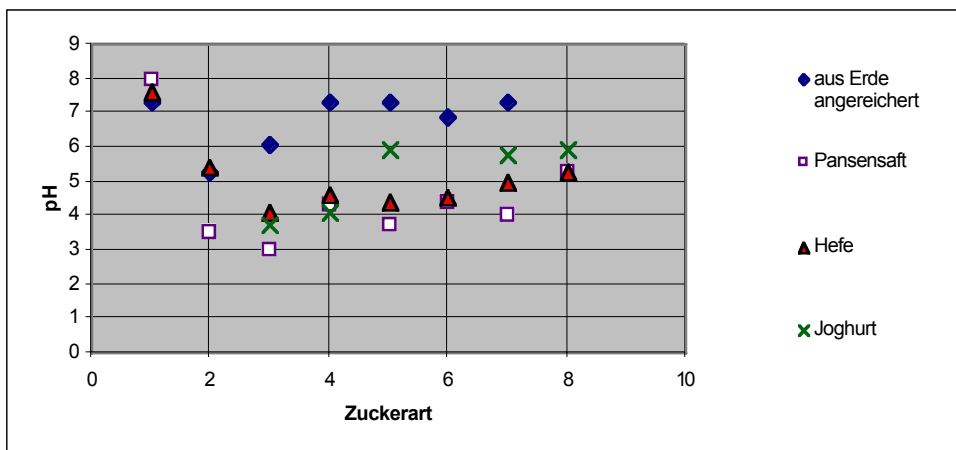
Joghurt	Sucrose	3.7
Joghurt	Lactose	4.1
Joghurt	Stärke	5.8
Joghurt	Glycerol	5.9
Joghurt	Raffinose	5.9

## V. Diskussion

Aus dem pH-Wert lässt sich die ungefähre Säurebildung (organische Säuren und  $H_2CO_3$ ) ableiten und somit die Vergärbarkeit der einzelnen Zucker durch die jeweiligen Organismen. In den Röhrcchen, in denen kein Zucker zugegeben wurde, sondern lediglich ein Inoculum, sank der pH-Wert nicht. Beim Inoculum Pansensaft nahm der pH-Wert eher noch zu. Dies kann unter anderem auf Deaminierung von Aminosäuren zurückgeführt werden, wobei allerdings bei der Herstellung des Mediums speziell darauf geachtet wurde, möglichst keine anderen C-Quellen als den jeweiligen Zucker dem Organismus zur Verfügung zu stellen, das heisst auch so wenig Aminosäuren wie möglich. Im weiteren ist aus den pH-Werten ersichtlich, dass die aus Erde angereicherte Mischkultur nicht daran „gewöhnt“ ist, Lactose, Raffinose oder Stärke abzubauen, Glucose und Saccharose jedoch relativ gut abbaut. Die Organismen im Pansensaft erweisen sich als „Profis“ im Gären; nur im Vergären von Lactose werden sie von den Joghurtbakterien knapp geschlagen, was auch nicht weiter verwunderlich ist, sind doch die Joghurtbakterien spezialisiert auf den Abbau von Lactose. Die Hefe ist auch kein schlechter Gärer, die erreichten pH-Werte liegen aber über den Werten des Pansensafts. Etwas erstaunlich mag sein, dass ihr die Glucose nicht so gut schmeckt wie die anderen noch angebotenen Zucker. Gasbildung ( $CO_2$ -Bildung) konnte nur in einem Fall mit Sicherheit beobachtet werden, nämlich bei der Vergärung von Saccharose durch die Hefe. In den übrigen Fällen muss davon ausgegangen werden, dass sich das gebildete  $CO_2$  erst einmal im Wasser löst und somit auch für eine pH-Reduktion mitverantwortlich ist durch Bildung von Kohlensäure. Erst wenn das Medium mit  $CO_2$  gesättigt ist, wird  $CO_2$ -Gas auch im kleinen umgedrehten Röhrcchen aufgefangen und als Gasblase sichtbar. Es ist anzunehmen, dass für die Produktion von genügend  $CO_2$  noch mehr Zucker hätte hinzugefügt werden sollen. Die Konzentration von 5g/l, was z.B. für Glucose 27.8 mM entspricht, soll im nächsten Experiment mindestens verdoppelt werden.

Tabelle 2: Zusammenstellung und Darstellung der erreichten pH-Werte

Inoculum	1:kein Zucker	2:Glucose	3:Sucrose	4:Lactose	5:Raffinose	6:Trehalose	7:Stärke	8:Glycerol
aus Erde angereichert		7,35	5,25	6,1	7,3	7,3	6,9	7,3
Pansensaft	8		3,5	3	4,3	3,7	4,4	4,01
Hefe				4,1	4,6	4,4	4,55	5
Joghurt				3,7	4,1	5,9	5,8	5,9



## VI. Literatur

Kapitel 4.8, 4.9, 11.13 in: Madigan M.T., J.M. Martinko and J. Parker: "Brock – Biology of Microorganisms", 9<sup>th</sup> Edition, Prentice Hall, 1999

Kapitel 14 in: White David: "The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes", 2<sup>nd</sup> Edition, Oxford, University Press, 2000

Kapitel 8 in: Schlegel, Hans Günter und Zaborosch, Christiane: "Allgemeine Mikrobiologie", 7. Auflage, Thieme Verlag, 1992