

Nils Nielsen, Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen: *Die Wuchsstoffwirkung von Aminosäuren auf Hefe.*

Kulturhefe braucht, um gedeihen zu können, Zufuhr von Wuchsstoffen. Wildhefe dagegen nicht; wahrscheinlich vermag sie die notwendigen Wuchsstoffe selber zu bilden. Vortr. führte eine Reihe von Versuchen mit Aminosäuren als Wuchsstoff, sämtlich mit dem Hefestamm CLI, aus. Lebensnotwendig ist die Diaminosäure Biotin, $C_{10}H_{16}O_3N_2S$, die 1936 von Kögl u. Mitarb. aus Eidottern isoliert wurde und anscheinend auch in höheren Pflanzen und Tieren eine wichtige Rolle spielt; sie bewirkt bei Hefe schon allein schwaches Wachstum. Dieses wird erheblich gesteigert durch Zusatz von Aneurin, Pantothenensäure⁴⁾ (oder β -Alanin, aus dem die Hefe wahrscheinlich Pantothenensäure bildet) oder Glutaminsäure (oder Asparaginsäure, Asparagin oder Glutamin). Weniger wirksame Wuchsstoffe sind z. B. Lysin, Methionin, Arginin, für manche Hefestämme auch Leucin. Setzt man außer diesen bekannten Wuchsstoffen Bierwürze oder Hefextrakt zu, so wird das Wachstum der Hefe abermals erheblich gesteigert; in den Extrakten liegen also noch weitere Wuchsstoffe vor, die größtenteils unbekannt sind.

Die genannten Aminosäuren werden auffallenderweise von der Hefe nicht als Stickstoff-Quellen benutzt, außer Glutaminsäure, diese aber auch nur, wenn keine andere N-Quelle zugegen ist. Man könnte vermuten, daß die Wirkung der Wuchsstoffe auf einem Einfluß auf die Permeabilität der Zellen beruht; doch zeigen Versuche mit radioaktivem P und K, daß das nicht der Fall ist. Über die Wirkungsweise des Biotins weiß man noch nichts. Pantothenensäure und β -Alanin steigern das Verhältnis Atmung/Gärung⁵⁾, bei CLI von etwa 0,04 auf 0,4 (d. h. 40% der ausgeschiedenen CO_2 entsteht durch Atmung); die optimale Menge ist 100 γ β -Alanin je Liter Lösung. Bei Zusatz von Pantothenensäure erreicht die Atmung das 20–30fache nach 1–2 h, bei Zusatz von β -Alanin nach 2–3 h. Es scheint möglich, daß dieser Effekt eine Rolle bei der Wirkung als Wuchsstoff spielt, die nach 14–16 h merklich ist. Da bei der Atmung der Hefe weit mehr Energie je Gramm Zucker entsteht als bei der Gärung, steigt der ökonomische Quotient ebenfalls erheblich bei Pantothenensäure- oder Alanin-Zusatz. Erfahrungen in der Praxis, z. B. bei der Preßhefefabrikation, liegen noch nicht vor. Während β -Alanin und Pantothenensäure offenbar direkt auf die Atmung wirken, wird die Gärung durch Threonin (α -Amino- β -oxybuttersäure) gesteigert, u. zw. um etwa 50% bei einer Konzentration von 1:10000. Ähnlich wirkt Glycin, aus dem die Hefe wahrscheinlich Threonin bilden kann. Threonin beeinflusst weder Atmung noch Wachstum.

Biotin und β -Alanin entfalten ihre optimale Wuchsstoffwirkung auf Hefe in Konzentrationen von $1/55 \cdot 10^{10}$ bzw. $1/25 \cdot 10^6$. Vortr. hat darauf eine biologische Methode zur quantitativen Bestimmung von Spuren der beiden Stoffe gegründet; in einer Versuchsreihe werden zur Nährlösung Aneurin, Pantothen- und Glutaminsäure zugefügt, in einer zweiten Versuchsreihe das gleiche und außerdem Biotin. Werden zu den Lösungen beider Versuchsreihen steigende Mengen des zu untersuchenden Stoffes, z. B. Urin, gefügt, so steigt die Wachstumskurve der Hefe in jedem Falle, da Urin noch unbekannte Wuchsstoffe enthält, in der ersten Reihe aber zunächst mehr als in der zweiten, da hier mit dem Urin auch Biotin zugeführt wird. Der Punkt, in dem sich schließlich die Wachstumskurven treffen, gibt genau die Menge Urin an, die die für optimales Wachstum erforderliche Biotinmenge enthält. Durch Versuche mit reinen Wuchsstoffen läßt sich diese optimale Menge sehr genau ermitteln. Man kann das Biotin bis herab zu 0,0013 γ bestimmen, selbst wenn davon nur $1/170 \cdot 10^6$ der Trockensubstanz vorliegt. Genauigkeit der Methode $\sim 10\%$. Verwendet man B. radicola statt CLI, so sind noch 0,000004 γ bestimmbar. Ebenso läßt sich β -Alanin bestimmen; bei der einen Versuchsreihe enthält die Nährlösung Biotin, β -Alanin, Aneurin und Glutaminsäure, bei der anderen das Gleiche außer β -Alanin. Man kann bis herab zu 0,13 γ β -Alanin bestimmen, die Genauigkeit beträgt etwa 25%. Bei dieser Methode wird die Summe von Alanin und Pantothenensäure bestimmt; zurzeit sind Versuche im Gange, die Methode so abzuändern, daß die Stoffe getrennt ermittelt werden können.

Vortr. bestimmt den Biotin-Gehalt einer Reihe von pflanzlichen und tierischen Substanzen und findet große Schwankungen: Besonders geringe Werte liefert z. B. Preßhefeextrakt mit $0,00019 \gamma/cm^3$; 3 Milchproben enthielten 0,007; 0,013; $0,026 \gamma/cm^3$, Eidotterextrakt $0,030 \gamma/cm^3$, 2 Urinproben 0,026 und $0,065 \gamma/cm^3$. Es scheint, daß der Gehalt des Urins an β -Alanin oder Pantothenensäure durch gewisse Krankheiten beeinflusst wird.

Schließlich erörtert Vortr. den Antagonismus zwischen Wuchsstoffen und Antiwuchsstoffen⁶⁾.

⁴⁾ Vgl. J. Mittenmair, „Über die Pantothenensäure“, diese Ztschr. 54, 51 [1941].

⁵⁾ Vgl. die Rundschaunotiz ebenda 55, 377 [1942].

⁶⁾ Vgl. dazu R. Kuhn, „Vitamine und Arzneimittel“, ebenda 55, 1 [1942].

Vorsitzender: W. Funk.

W. Hoppe: *Konstitutionsbestimmung kolloider Farbstoffaggregat durch Kombination chemischer, röntgenographischer und optischer Methoden.*

Untersucht wurden die (reversiblen) Polymerisate von Pseudocyaninen⁷⁾.

Diese bilden in Lösung dünne Fäden, Polyionen, die bis $1/10$ mm lang und nur wenige Å dick sind, und zeigen eine sehr schmale, die „polymere“ Bande im Absorptionsspektrum bei etwa 5800 Å , die nicht der Einzelmolekel, sondern dem gesamten Aggregat zuzuordnen ist.

In konzentrierter, wäßriger Lösung und in eingetrockneter Farbstoffschicht konnte röntgenographisch eine kristallinische Modifikation des Farbstoffs nachgewiesen werden, die aus dem Polymerisat primär entsteht, und die nichts zu tun hat mit den in organischen Lösungsmitteln gebildeten Kristallen. Sie wandelt sich langsam in stabilere Modifikationen um. Da das Absorptionsspektrum beim Übergang von der polymeren Lösung zur dünnen eingetrockneten Schicht in seinen wesentlichen Zügen erhalten bleibt, ist der Schluß berechtigt, daß sich dabei in der Struktur wenig ändert und vor allem aus dem eindimensional geordneten Aggregat des „polymeren Fadens“ der dreidimensional geordnete Kristallit entsteht. Kennt man dessen Struktur, so kann man auch etwas über die Struktur des fadenförmigen Polymerisates aussagen.

Liegt nun die Fadenachse des polymeren Fadens und damit auch die Schwingungsrichtung der polymeren Bande, die anisotrope Absorption aufweist, in der Ausrichtungsrichtung, so enthält das Röntgen-Faserdiagramm u. a. einen auffällig starken Reflex. Demnach scheinen die Molekeln wie in einem Schichtgitter parallel zueinander ausgerichtet zu sein und der Reflex von der Netzebene herzuführen, in der die Elektronen der Molekel weitgehend phasengleich streuen. Beim Austausch der Anionen — um diesen Strukturvorschlag zu prüfen — zeigten Fluoride, Chloride, Bromide und Sulfate in der polymeren ausgerichteten Form die gleiche Struktur. Da dies noch nicht sehr beweiskräftig ist, denn es könnte Isomorphie vorliegen, wurden stärkere Änderungen am Molekelgerüst vorgenommen. Austausch der an den N-Atomen sitzenden Äthyl-Gruppen gegen Methyl- oder Propyl-Gruppen, anhängen von Alkylen an die aromatischen Ringe, anellieren der aromatischen Ringe. Die Röntgenaufnahmen der polymeren ausgerichteten Präparate zeigten tatsächlich ganz andere Gitter, den erwähnten starken Reflex jedoch stets an ungefähr gleicher Stelle. Dieser Reflex muß also wirklich dem Abstand und der Lage der Molekeln zugeordnet werden, die als einzige räumliche Größen bei den Umbauten der Struktur ungeändert bleiben konnten. Weiter folgt, daß in allen bisher untersuchten reversiblen Farbstoffpolymerisaten die Lage der Molekeln etwa die gleiche und also anscheinend mitverantwortlich für ihre physikalischen Eigenschaften ist.

Für den Normalabstand der Molekelebenen erhält man 3,6 Å . Diese liegen nicht normal zur Fadenachse, sondern ihre Ebenen schließen mit der Achse einen Winkel von 55° ein. Bemerkenswert ist der Molekelabstand von 4,5 Å längs der Fadenachse; das Polymerisat paßt also — wie schon früher vermutet worden war — genau auf das Glimmergitter.

Da die polymere schmale Bande dem Gesamtkolloid angehört, wird ihre Lage nicht allein durch das chromophore System der Molekel, sondern auch durch die Konstitution des Aggregats bestimmt sein. Um dies zu beweisen, wurde einmal ein Derivat (Pseudocyaninfluorid) sowohl röntgenographisch als auch optisch (die optische Untersuchung stammte von Dr. Schöntag) bei Zimmertemperatur und bei -190^0 untersucht. Im andern Fall wurde eine Reihe von Derivaten röntgenographisch in polymer festem Zustand ausgemessen. Dann wurde — ebenfalls in polymer festem Zustand — die Verschiebung der polymeren Absorptionsbande bestimmt, die auftritt, wenn ein Derivat einmal in festem Zustand und einmal adsorbiert an einer Glimmeroberfläche untersucht wird. Denn die Lage der Absorptionsbande beim Glimmeradsorbat kann als eine Art „Normalabsorption“ gelten; durch den Einfluß der Glimmeroberfläche wird von den verschiedenen möglichen polymeren Modifikationen des Farbstoffs diejenige adsorbiert werden, die am besten auf die Glimmerfläche paßt, d. h. der am genauesten ein Abstand von 4,5 Å der Farbstoffionen zukommt. Es ergab sich: Verkürzt man den Abstand der Farbstoffionen in Richtung der Fadenachse (gemessen durch die Identitätsperiode), so verschiebt sich die polymere Bande nach dem kurzwelligen Gebiet; verlängert man ihn, so wird die polymere Bande langwelliger. Und zwar entspricht einer Abstandsverschiebung der Farbstoffionen um 0,1 Å eine Verlagerung der polymeren Absorptionsbande um etwa 20 Å .

⁷⁾ Vgl. dazu G. Scheibe, Kolloid-Z. 101, 300 [1942], Z. physik. Chem., Abt. B 49, 324 [1941], Kolloid-Z. 95, 267 [1941], hier auch weitere Literaturangaben; s. a. G. Scheibe, „Stereoisomerie organischer Farbstoffe und ihr Zusammenhang mit Konstitution und Eigenschaften reversibel polymerer Farbstoffe“, diese Ztschr. 52, 681 [1939].