

Aus der Anwendungstechnik des halbgebrannten Dolomites

Die Kornfeinheit der Zerfallsprodukte ist als Grund anzusehen, weshalb der gebrannte Dolomit, insbes. das halbgebrannte Produkt, eine so außerordentlich reaktionsfähige MgO-Komponente enthält, deren Reaktionsfähigkeit wiederum der Grund für die technische Brauchbarkeit des Materials überhaupt und seine besonderen Eigenschaften ist.

Als Beleg hierfür sei aus der Anwendungstechnik des halbgebrannten Dolomites nur das folgende Beispiel herausgegriffen.

Eines der wichtigsten Anwendungsgebiete für MgO ist bekanntlich die Herstellung von Magnesiazementen auf der Basis von Magnesiumoxysulfat oder Magnesiumoxychlorid, wofür im wesentlichen bisher kaustisch gebrannter Magnesit verwendet wurde. Es zeigte sich nun, daß hierfür auch der halbgebrannte Scharzfelder Dolomit ausgezeichnet geeignet ist.

Beispielsweise lassen sich durch Durchfeuchtung von Holzwolle mit einer Magnesiumsulfat-Lösung, Einpudern der lösungsgetränkten Holzwolle mit feingemahlenem halbgebranntem Scharzfelder Dolomit und Härteln der in eine Form gepreßten Masse bei etwa 200° mit Magnesiumoxysulfatzement gebundene Holzfaserplatten von der Art der bekannten „Heraklithplatten“ herstellen. Die Ansätze können in gleicher Weise wie bei Verwendung von kaustisch gebranntem Magnesit hergestellt werden; es wird also insbes. die gleiche Menge an halbgebranntem Dolomit wie an kaustisch gebranntem Magnesit benötigt. Das besagt, da der MgO-Gehalt des kaustisch gebrannten Magnesits bei rund 90%, der des halbgebrannten Dolomites aber nur bei ca. 27% liegt, daß das Magnesiumoxyd des halbgebrannten Dolomites die gleiche Wirkung wie die 3- bis 4-fache Menge von kaustisch gebranntem Magnesit hat!

Die Daten solcher mit halbgebranntem Dolomit hergestellten „Leichtbauplatten“ sind ausgezeichnet und erfüllen die Norm bei weitem, wie aus folgender Gegenüberstellung hervorgeht:

	mit halbgebranntem Scharzfelder Dolomit hergestellte Platte	Norm nach DIN 1101
Raumgewicht	0,45	0,46
Biegefesteitk	ca. 30 (-40 ¹⁾ kg/cm ²	10 kg/cm ²
Zusammendrückbarkeit bei 3 kg/cm ²	5-12%	15%
Wärmeleitzahl	0,07 kcal/m/h	max. 0,08 kcal/m/h
1) Spitzenwerte!		

Auch die Herstellung von Sorelzement-artigen Massen auf der Basis von Magnesiumoxychlorid als Binder ist mit gutem Erfolge gelungen. Allerdings ist es hier erforderlich, einen Prozentsatz von ungefähr 30% des Dolomites durch kaustisch gebrannten Magnesit zu ersetzen.

Von den interessanten Anwendungsgebieten des halbgebrannten Dolomites sei schließlich zum Schluß noch auf seine Eignung als Wasserréinigungsmittel, insbes. zur Entsäuerung, hingewiesen, die ebenfalls wiederum auf die große Reaktivität des halbgebrannten Dolomites zurückzuführen ist. Der Scharzfelder halbgebrannte Dolomit hat sich – offenbar auf Grund seiner besonderen Struktur – hierfür besonders bewährt und wird in gekörneter Form unter dem Namen „Akdolit“ in den Handel gebracht.

Verfasser dankt auch an dieser Stelle Herrn Dr. H. Kircher, unter dessen Leitung in der Physikalischen Abteilung die Röntgen- und elektronenmikroskopischen Aufnahmen hergestellt wurden.

Eingeg. am 4. September 1950. [A 304]

Über die Lipoide der Preßhefe

Von Prof. Dr. F. REINARTZ* und Dr. H. LAFOS. Aus dem Chemisch-Pharmazeutischen Laboratorium Ravensburg

Die Menge der von der Preßhefe gebildeten Lipoide kann durch Züchtungsbedingungen wesentlich beeinflußt werden. Entsprechende Versuche für die Hefesterine wurden von verschiedenen Autoren¹⁾ angestellt. Weniger geklärt ist die Abhängigkeit der Phosphatid-Ausbeute von den Züchtungsbedingungen. Diese Zusammenhänge werden näher untersucht, wobei wir uns auf die Abhängigkeit der einzelnen Lipoide von den dargebotenen Stickstoffgaben beschränken. Unter Lipoiden verstehen wir Hefekomponenten, die in Methanol-Benzol 1:4 löslich sind, Neutralfett, Phosphatide und Unseifbares (Sterine).

Analysenmethodik

Um die Lipoide aus der Hefe quantitativ extrahieren zu können, muß das Zellmaterial weitgehend aufgeschlossen werden. Verschiedene Verfahren sind bekannt²⁾. Wir wählten die Autolyse, wobei wir von den in der Literatur³⁾ empfohlenen Agenzien dem Toluol⁴⁾ den Vorzug gaben. Vorsicht ist geboten, da u. U. durch in der Hefe vorhandene Enzyme Spaltung des Neutralfettes und evtl. der Phosphatide erfolgen kann; auch Eiweiß wird abgebaut und gibt zu Komplikationen Anlaß.

Um die Phosphatide als solche freizulegen, wird eine Methanol-Behandlung angeschlossen, bei der die lockere Verbindung der Lipoproteide gespalten wird. Bei der folgenden erschöpfenden Extraktion mit Methanol-Benzol 1:4 können größere Mengen N-haltiger Produkte mitgelöst werden. Z. B. ergab eine Kjeldahl-Bestimmung als Gehalt der „Gesamt-Lipoide“ 7,64% N, während 0,11% N dem vorhandenen, aus dem P-Gehalt berech-

neten Phosphatid entsprochen hätte. Es muß daher stets eine gleichzeitige Bestimmung der einzelnen Bestandteile erfolgen.

Die „Gesamtlipide“ werden mit einer 7 proz. methylalkoholischen Kalilauge verseift, das Methanol abdestilliert und der Rückstand nach Ansäuern mit Schwefelsäure in Äther aufgenommen. Im Äther sind das Unverseifbare und die Fettsäuren, in der sauren Lösung bleiben die Glycerinphosphorsäure und die N-haltigen Verbindungen. Die Fettsäuren können aus dem Äther mit Natronlauge vom Unverseifbaren getrennt werden. Es ergeben sich:

Fraktion 1: Die Fettsäuren

Fraktion 2: Das Unverseifbare

Fraktion 3: Die P- und N-haltige wäßrige Lösung.

Fraktion 1

Die alkalische Seifenlösung wird nach Ansäuern mit H₂SO₄ ausgeäthert und der Rückstand nach Trocknung im Vakuum bei 50° gewogen⁵⁾. Die gewogenen Fettsäuren entstammen sowohl dem Neutralfett als auch den Phosphatiden. Um das Neutralfett berechnen zu können, muß man die in den Phosphatiden enthaltenen Fettsäuren mengenmäßig kennen und abziehen. Kennt man dann den Umrechnungsfaktor Fettsäuren: Neutralfett, so ist die Berechnung gegeben.

Fraktion 2

Der von den Fettsäuren befreite Äther enthält das Unverseifbare, wie Sterine und Kohlenwasserstoffe. Zur Sterin-Bestimmung wurde die Liebermann-Burchardsche Reaktion⁶⁾ im Pulfrich-Stufenphotometer benutzt. Aus der Extinktion läßt sich bei

* Prof. Dr. F. Reinartz, jetzt Karlsruhe, Techn. Hochschule.

¹⁾ Heiduschka u. Lindner, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 181, 15 [1929]; Bills, Massengale u. Prickett, J. biol. Chemistry 87, 259 [1930]; Halden, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 225, 249 [1934]; Sobotta, Halden u. Bilger, ebenda 234, 1 [1935]; Bilger, Halden, Mayer-Pitsch u. Pestemer, Mh. Chem. 70, 259 [1937]; International Yeast Company Ltd., E. P. 396206 vom 10. 6. 1932, Ausg. 24, 8, 1933; Oschwindt-Féle, Szesz, Eteszöd, Likör-Es Rum-Gyar Reszvénytarsaság, Budapest, D.R.P. 720007 Kl. 6a vom 25. 4. 1939 Ausg. 3, 7, 1942; Castille u. Ruppel; Bull. Acad. Roy. Méd. Belgique (5) 13, 48 [1933]; Smedley-Maclean, E.P. 295757 vom 23. 5. 1927 Ausg. 13, 9, 1928.

²⁾ Dirr u. v. Soden, Biochem. Z. 312, 263 [1942]; Lyinen, Liebigs Ann. Chem. 539, 1 [1939]; Ges. chem. Ind. Basel, Öe. P. 117621 vom 8. 4. 1929 Ausg. 10, 5, 1930, Zus. zu Öe. P. 112425; D.R.P. 549110 Kl. 120 Gr. 25 vom 17. 6. 1927 Ausg. 23, 4, 1932; Standard Brands Inc. Dover, U.S.P. 1941097 vom 26. 12. 1933; Hoffmann-La Roche u. Co. A.G. Basel, D.R.P. 553915 Kl. 120 vom 1. 9. 1928, Ausg. 2, 7, 1932.

³⁾ I.G.-Farbenindustrie A.G. Frankfurt a. Main, D.R.P. 520853 Kl. 120 vom 3. 1. 1928 Ausg. 16, 3, 1931.

⁴⁾ Bilger, Halden u. Zacherl, Mikrochem. 15 (n. F. 9), 119 [1934].

Kenntnis des Extinktionskoeffizienten der Prozentgehalt an Sterin errechnen:

$$\% \text{ Sterin} = \frac{E \cdot 2,5}{K \cdot s \cdot a}$$

wo E die abgelesene Extinktion, K der Extinktionskoeffizient, s die Schichtdicke und a die Hefe-Einwaage ist. Der Faktor 2,5 ergibt sich aus dem unten beschriebenen Analysengang. Im Hefesterin liegt das Ergosterin nicht rein vor, sondern gemischt mit anderen Mycosterinen, die nach *Wieland* und *Asano*⁷⁾ und *Wieland* und *Gough*⁸⁾ mit dem Liebermann-Burchardschen Reagenz in etwas anderer Weise reagieren.

Faktion 3

Diese Fraktion dient zur Bestimmung des Phosphatid-Phosphors. Nach Zerstörung der organischen Substanz mittels Selen-Reaktionsgemisch und konz. H_2SO_4 wird der Phosphor als Strychnin-Phosphor-Molybdat nach *Emden*⁹⁾ bestimmt. Der Phosphor-Gehalt der Hefe an Phosphatid-Phosphor errechnet sich nach:

$$\% P = \frac{\text{Auswaage Strychninphosphormolybdat} \cdot 100}{\text{Einwaage Hefe} \cdot 89,2}$$

Trübungen beim Auswaschen des Niederschläges sind auf Hydrolyse des Fällungsreagens zurückzuführen und unbeachtet zu lassen.

Bestimmung der Umrechnungsfaktoren

Wir haben nach den Angaben von *Newman* und *Anderson*¹⁰⁾ Betriebshefe (*saccharomyces cerevisiae*) der Preßhefefabrik Wein-garten (Würtemb.) untersucht und erhielten, befriedigend mit der übrigen Literatur¹¹⁾ übereinstimmend, als Faktoren:

$$\% \text{ Phosphatid} = \% P \cdot 25$$

$$\% \text{ Phosphatid-Fettsäuren} = \% P \cdot \frac{55}{4} = \% P \cdot 13,75$$

Als Umrechnungsfaktor für den Fettsäureanteil im Neutralfett ergab sich:

$$\% \text{ Neutralfett} = \% \text{ Fett-Fettsäuren} \cdot \frac{100}{86}$$

$$= \% \text{ Fett-Fettsäuren} \cdot 1,1628$$

$$= (\% \text{ Gesamt-Fetts.} - \% \text{ Phosphatid-Fetts.}) \cdot 1,1628$$

Analysengang

10–20 g der frischen Preßhefe werden in einem weitumigen Reagenzglas mit etwa 3% Toluol versetzt und bei Zimmertemperatur unter öfterem Umrühren so lange stehen gelassen, bis die Hefe ganz verflüssigt ist, was 24–48 h dauert. Das flüssige Autolysat wird in Saugflaschen von 300–500 cm³ Inhalt gefüllt und das Wasser im Vakuum verdampft. Man beginnt mit der Trocknung bei Zimmertemperatur und wartet, bis das Schäumen aufhört und die Hauptmenge des Wassers entfernt ist; dann steigert man die Temperatur auf 40–60°. Die spröde Masse wird aus den Saugflaschen herausgekratzt, im Stahlmörser zerkleinert und durch ein Sieb von 0,5 Maschenweite gegeben. Die Trocknung bis zur Gewichtskonstanz erfolgt im Vakuumexsikkator über P_2O_5 . Von diesem Hefetrockensautolysat (HTA) wählt man etwa 1,5 g in eine Soxhlet-Hülse ein und extrahiert 4 h mit Methanol. Zur Spaltung der Phosphatid-Eiweiß-Symplexe empfiehlt es sich, das Methanol vor der Extraktion 12 h in der Kälte einwirken zu lassen. Die letzten Reste der Lipide werden durch eine 12-stdg. Extraktion mit Methanol-Benzol 1:4 herausgelöst. Der Methanol-Extrakt wird dann im Vak. bei 20–30° vom Lösungsmittel befreit und der Rückstand mit dem zur Extraktion verwandten Methanol-Benzol 1:4 aufgenommen. Sollte hierbei nicht alles in Lösung gehen, so ist es zweckmäßig, das Unlösliche in Wasser aufzunehmen, die wässrige Lösung mit Natriumsulfat zu sättigen und evtl. noch vorhandene Phosphatide mit Benzol auszuzeichnen. Die vereinigten Extrakte werden über Natriumsulfat getrocknet und der Rückstand (Gesamtlipide) im Vak. (2 mm, 80°) von den letzten Spuren des Lösungsmittels befreit und gewogen. Die Gesamtlipide werden mit 25 cm³ 7 proz. methylalkoholischer Kalilauge 4 h am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Verjagen des Methanols nimmt man den Verseifungsrückstand in Wasser auf, säuert mit 2 n-Schwefelsäure an und zieht mit Äther aus. In den Äther gehen die Fettsäuren und das Unverseifbare (Sterine, Kohlenwasserstoffe), in der sauren wässrigen Lösung bleiben zurück die Aminobasen (Cholin, Colamin) und die Glycerinphosphorsäure.

I. Ätherextrakt.

Der Äther wird mehrmals mit n-Natronlauge ausgezogen, um die Fettsäuren abzutrennen. Durch Abdestillieren des Äthers und Trocknen des Rückstandes im Vak. (2 mm, 50°) wird gewichtsmäßig die Menge des Unverseifbaren bestimmt.

⁷⁾ *Wieland* u. *Asano*, Liebigs Ann. Chem. 473, 300 [1929].

⁸⁾ *Wieland*, *Bio. Gough*, ebenda 48, 36 [1930].

⁹⁾ *Emden*, Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 113, 138 [1921].

¹⁰⁾ *Newman* u. *Anderson*, J. biol. Chemistry 102, 219 [1933].

¹¹⁾ *Daubney* u. *Smedley-Maclean*, Biochemical J. 21, 1, 373 [1927]; *Rewald*, Biochem. Z. 218, 485 [1930]; *Salisbury* u. *Anderson*, J. biol. Chemistry 112, 541 [1935]; *Diemair* u. *Koch*, diese Ztschr. 60, 155 [1948]; *Dirr* u. *Ruppert*, Biochem. Z. 319, 163 [1948]; *Täufel*, *Thaler* u. *Schreyegg*, Z. Unters. Lebensmittel 72, 394 [1936].

Sterin-Bestimmung nach *Liebermann-Burchard*, durchgeführt nach Angaben von *Bilger*, *Halden* und *Zacherl*:

Das Unverseifbare wird in 50 cm³ Chloroform gelöst. In einer kleinen braunen Flasche verdünnt man 1 cm³ dieser Lösung mit 4 cm³ Chloroform und fügt 1 cm³ Essigsäureanhydrid und 1 cm³ einer Mischung aus 9 Vol. Essigsäureanhydrid und 1 Vol. konz. H_2SO_4 hinzu. Das Reaktionsgemisch wird umgeschüttelt, 15 min bei einer Temperatur von 18° im Dunkeln gehalten und dann sofort im Stufenphotometer noch Pulfrich mit dem Filter S 61 gemessen. Die Messung muß in spätestens 5 min beendet sein. Für die meisten Versuche eignet sich eine Schichtdicke von 1 cm. Die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten, d. h. der Extinktion für 1 mg Ergosterin in 10 cm³ Chloroform bei 1 cm Schichtdicke, muß unter genau den gleichen Bedingungen und mit denselben Reagenzien erfolgen wie die Messung selbst, er kann nicht ohne weiteres aus der Literatur übernommen werden. Er beträgt nach unseren Versuchen 0,783816, nach *Bilger*, *Halden* und *Zacherl* 0,86089. Desgleichen sollen Ergosterin-Lösungen frisch bereitet werden, da sonst niedrigere Extinktionen gefunden werden.

Die zum Ausziehen der Fettsäuren benutzte Natronlauge wird mit 2 n-Schwefelsäure angesäuert und die ausflockenden Fettsäuren in Äther aufgenommen. Der Äther-Rückstand wird im Vak. (2 mm, 50°) getrocknet und dann gewogen.

II. Saure wässrige Lösung.

Man dampft die saure wässrige Lösung bis zum Auftreten weißer Schwefelsäure-Dämpfe ein, setzt noch 3 cm³ konz. Schwefelsäure und eine Spatelspitze Selen-Reaktionsgemisch hinzu und schließt auf (etwa 10 min). Nach dem Verdünnen mit Wasser wird das sich kolloidal ausscheidende Selen durch eine Glasfritte G 4 abfiltriert und die blanke Lösung auf ein pH 6 mit Ammoniak eingestellt. Das Volumen der Flüssigkeit soll etwa 300 cm³ betragen. Die Fällung der Phosphorsäure erfolgt nach *Emden*. Unter den angegebenen Bedingungen fällt man mit einer Mischung von 30 cm³ salpetersaurer Ammoniummolybdat-Lösung und 10 cm³ Strychninnitrat-Lösung. Nach Zugabe des Fällungsreagens läßt man 20 min bei Zimmertemperatur stehen, filtriert durch eine Glasfritte G 4 und wäscht mit eisgekühltem Wasser bis zur neutralen Reaktion. Trocknung 1½ h bei 105–110°.

Erläuterung zu den Züchtungsversuchen

Die nachstehend beschriebenen Versuche, Beispiele aus zahlreichen Versuchsserien, wurden in submerser Kultur nach der Belüftungsmethode durchgeführt. Die Bilanzierung geschah nach folgendem Schema:

Spalte 1: Stellhefe % = Analytisch ermittelter Prozentgehalt an Substanz in der Stellhefe.

Spalte 2: Ernte % = Analytisch ermittelter Prozentgehalt an Substanz in der Erntethefe.

Spalte 3: Ernte g = Gramm Substanz in der Erntethefe.

Spalte 4: Stellhefe g = Gramm Substanz in der Stellhefe.

Spalte 5: Ausbeute g = Gramm neugebildeter Substanz.

Spalte 6: Vermehrung = Ernte an Substanz bezogen auf ein Gramm in der Stellhefe.

Spalte 7: Ausbeute % = Ausbeute bezogen auf 100 g der gesamtverbrauchten Saccharose der Nährösung (ökonom., Fett- usw. Koeffizient).

Spalte 8: Ergiebigkeit % = Ausbeute bezogen auf 100 g der zur Hefebildung verbrauchten Saccharose der Nährösung. (Gesamtverbrauch minus vergorener Saccharose).

Spalte 9: % Ausbeute/Ausbeute HTS = Ausbeute an Substanz bezogen auf 100 g Ausbeute an Hefe-Trockensubstanz.

Ergebnisse der Züchtungsversuche

Die Versuche können wir in 3 Gruppen einteilen:

- 1) Versuche, in denen der Hefezelle reichlich Stickstoff in organischer und anorganischer Form zur Verfügung steht (Beispiel 1).
- 2) Versuche ohne jedwede Stickstoff-Gabe in reiner Saccharose-Lösung (Beispiel 2).
- 3) Versuche, in denen der Hefezelle zwar Stickstoff geboten wird, jedoch in unzureichender Menge, so daß trotz mäßiger Proteinvermehrung eine prozentuale Proteinverarmung eintritt (Beispiel 3).

Beispiel 1

	Kohlenhydrat:	Melasse
	g Saccharose (Gesamtverbrauch)	50
	g Saccharose für Hefebildung	30,07

	Stellhefe %	Ernte g	Stellhefe %	Ausb. g	Verm. 1:	Ausb. %	Ergebn. %	Ausbeute/HTS %
HTS	—	—	21,84	9,55	12,29	2,29	24,58	40,87
Roh-Protein ..	29,44	54,00	11,794	2,812	8,982	4,19	17,96	29,87
Gesamt-Lipoide ..	12,57	14,94	3,263	1,196	2,067	2,73	4,13	6,87
Phosphatide ..	2,04	2,66	0,581	0,195	0,386	2,98	0,77	1,28
Fettsäuren ..	5,12	3,34	0,729	0,489	0,240	1,49	0,48	0,80
(Gesamt)								1,95
Neutralfett ..	4,64	2,18	0,476	0,453	0,023	1,05	0,05	0,08
Sterine	0,95	0,86	0,189	0,091	0,098	2,08	0,20	0,33
Unverseifbares ..	2,40	1,88	0,411	0,229	0,182	1,79	0,36	0,61
								1,48

Beispiel 2

Kohlenhydrat:			Saccharose								
g Saccharose (Gesamtverbrauch)				50							
g Saccharose für Hefebildung				28,18							
Stellhefe	Ernte%	Ernte g	Stellhefe	Ausb. g	Verm. 1:	Ausb. %	Erbeute, gieb.	Ausb. %	Ausb. HTS %		
HTS	—	26,32	11,31	15,01	2,33	30,02	53,27	—			
Roh-Protein ..	52,75	24,50	6,448	5,966	0,482	1,08	0,96	1,71	3,20		
Gesamt-Lipoide ..	15,62	21,30	5,606	1,767	3,839	3,17	7,68	13,62	25,58		
Phosphatide ..	2,42	2,28	0,600	0,274	0,326	2,19	0,65	1,16	2,17		
Fettsäuren ..	4,35	9,97	2,624	0,492	2,132	5,33	4,26	7,57	14,20		
(Gesamt)											
Neutralfett ..	3,52	10,14	2,607	0,398	2,209	6,55	4,418	7,84	14,71		
Sterine	0,59	0,86	0,227	0,067	0,160	3,40	0,32	0,57	1,07		
Unverseifbares ..	1,21	2,24	0,590	0,137	0,453	4,31	0,91	1,61	3,02		

Beispiel 3

Kohlenhydrat:			Melasse								
g Saccharose (Gesamtverbrauch)				100							
g Saccharose für Hefebildung				87,20							
Stellhefe	Ernte%	Ernte g	Stellhefe	Ausb. g	Verm. 1:	Ausb. %	Erbeute, gieb.	Ausb. %	Ausb. HTS %		
HTS	—	64,16	14,74	49,42	4,35	49,42	56,67	—			
Roh-Protein ..	57,13	39,31	25,22	8,42	16,80	2,99	16,80	19,27	33,99		
Gesamt-Lipoide ..	17,78	23,67	15,187	2,621	12,566	5,79	12,57	14,41	25,43		
Phosphatide ..	2,57	3,32	2,130	0,379	1,751	5,62	1,75	2,01	3,54		
Fettsäuren ..	3,49	5,39	3,458	0,514	2,944	6,73	2,94	3,38	5,96		
(Gesamt)											
Neutralfett ..	2,41	4,14	2,656	0,355	2,301	7,48	2,30	2,64	4,66		
Sterine	0,57	1,40	0,898	0,084	0,814	10,69	0,81	0,93	1,65		
Unverseifbares ..	1,32	2,81	1,803	0,195	1,608	9,27	1,61	1,84	3,25		

Betrachtet man die einzelnen Hefekomponenten von diesen drei Gesichtspunkten aus, so ergibt sich:

Roh-Protein und Neutralfett

Züchtet man proteinverarme Hefen unter starker Belüftung bei reichlichen Stickstoffgaben, so tritt eine hohe Protein-Vermehrung ein. Das Neutralfett zeigt dabei entweder keine oder höchstens eine sehr geringe Vermehrung. Bei Züchtungen in stiller Gärung (ohne Luft) unter sonst gleichen Bedingungen nimmt das Neutralfett sogar mengenmäßig ab.

Züchtet man eiweißreiche Hefen unter starker Belüftung in reiner Saccharose-Lösung ohne jede Stickstoff-Gabe, so tritt nur eine beträchtliche Bildung von Neutralfett ein. Eine zweite Protein-Verarmung hat keine oder nur eine geringe Fettvermehrung zur Folge. Die Fettvermehrung wird also von dem Prozentgehalt in der Stellhefe wesentlich mitbestimmt, was im übrigen auch für das Eiweiß und die anderen Lipoide gilt.

Züchtet man proteinreiche Hefen in Melasse bzw. Saccharose-Lösung unter starker Belüftung bei unzureichender Stickstoff-Versorgung, so tritt eine geringe Proteinvermehrung bei gleichzeitiger Proteinverarmung ein. Das Neutralfett zeigt eine beträchtliche mengenmäßige Zunahme.

Eine Erklärung für diesen in der Literatur¹²⁾ des öfteren beschriebenen gegensinnigen Verlauf von Eiweiß- und Neutralfett-Bildung ist einfach: Die bei der Kohlenhydrat-Dissimilation sich bildenden α -Ketosäuren (Brenztraubensäure, Oxalessigsäure, α -Ketoglutarsäure) und möglicherweise auch die Fumarsäure werden nach Maßgabe des dargebotenen assimilierbaren Stickstoffs in Aminosäuren und weiter in Eiweiß übergeführt. Bei reichlichem Stickstoff-Angebot ist dies die primär verlaufende Reaktion, die die Entstehung von höheren Fettsäuren durch eine Polyaldolkondensation von Brenztraubensäure bzw. Acetaldehyd gänzlich zurückdrängt. Bei sinkendem Stickstoff-Angebot wird letztere immer mehr zur Hauptreaktion, so daß zwar noch eine Eiweiß-Vermehrung, aber nur noch bei gleichzeitiger prozentualer Abnahme verzeichnet werden kann. Bei völligem Fehlen von Stickstoff wird die Fettsynthese durch gleichzeitige Eiweiß-Bildung überhaupt nicht mehr behindert.

Die für diese Synthesen notwendige Energie wird aerob durch die Verbrennung von Kohlenhydrat zu CO_2 und H_2O und in untergeordnetem Maße durch den anaeroben Kohlenhydrat-

¹²⁾ Steiner, Ber. dtsh. bot. Ges. 56, 73 [1938]; Heide, Arch. Mikrobiol. 10, 135 [1939]; Raaf, Arch. Mikrobiol. 12, 131 [1941]; Bernhauer u. Rauh, Biochem. Z. 319, 77 [1948]; Rippel-Baldes, Pietschmann-Meyer u. Köhler, Arch. Mikrobiol. 14, 113 [1948].

Abbau geliefert. Diese letztere Reaktion wird dagegen zur Hauptenergiequelle, wenn man in stiller Gärung züchtet, wobei dann noch ein anaerober Fettabbau hinzukommt. Daß für die Synthese des Neutralfettes als energiereichster Komponente der Zelle aus energetischen Gründen eine reichliche Kohlenhydrat- und Luft-Versorgung nötig ist, ist nach dem bisher Gesagten verständlich.

Phosphatide

Die Phosphatide stehen chemisch in der Mitte zwischen den extrem lipophilen Fetten und den extrem hydrophilen CH₃ Eiweißstoffen, was am besten durch die sog. Stimm-OH—CH₃ gabel-Formulierung zum Ausdruck gebracht wird:

Dieser zwiespältige Charakter macht sich auch bei der Synthese der Phosphatide in der Zelle bemerkbar. Man geht wohl nicht fehl in der Annahme, daß die Aminobasen Colamin und Cholin letzten Endes der Décarboxylierung der Aminosäure Serin ihre Entstehung verdanken, während die lipophilen Komponenten Fettsäuren sind. Es ist daher nicht verwunderlich, daß die optimale Bildung der Phosphatide bei gleichzeitigem Anstieg des Proteins und des Neutralfettes zu suchen ist, also unter stickstoff-armen Bedingungen. Hier kann eine Vermehrung bis rund auf das 6-fache beobachtet werden. Bei Züchtungen in stickstoff-reichem wie in stickstoff-freiem Medium ist ihre Vermehrung nicht so beträchtlich; sie liegt in diesen Fällen stets zwischen der des Proteins und der des Neutralfettes.

Unverseifbares und Sterine

Das Unverseifbare, speziell die Sterine, zeigen ein ähnliches Verhalten wie das Neutralfett: Während in stickstoff-armer bzw. stickstoff-freier Nährlösung ihre Vermehrung recht beträchtlich ist und bis auf 10 ansteigen kann, drängt reichliches Stickstoff-Angebot ihre Bildung zugunsten von Eiweiß zurück. Dieses qualitativ gleichartige Verhalten von Fett einerseits und von Unverseifbarem bzw. Sterinen andererseits läßt vermuten, daß auch hier Zwischenstufen des Kohlenhydrat-Abbaus (Essigsäure, Brenztraubensäure) oder aus ihnen entstehende N-freie Vorstufen von Aminosäuren (z. B. α -Ketoisocapronsäure) die Bausteine bilden. Beim Squalen ist eine solche Beziehung zur Aminosäure Leucin sicherlich vorhanden; für das Ergosterin gilt das gleiche vielleicht noch für die Seitenkette, während die das Ringsystem aufbauenden C-Ketten unbekannt sind. Diese Ausschauungen machen auch die Ergebnisse von Halden verständlich, der Schimmelpilzkulturen auf Agar durch Belüften in einer Alkohol-Atmosphäre stark mit Sterinen anreichern konnte.

Zu erwähnen ist noch, daß die Vermehrung der einzelnen Hefekomponenten nicht allein vom N-Gehalt des Nährbodens, sondern auch von seiner sonstigen Zusammensetzung abhängt. Parallelversuche unter völlig gleichen Bedingungen haben gezeigt, daß in einer Melasse mit wenig zugesetztem anorgan. Stickstoff eine wesentlich größere Vermehrung bei saccharom. cerev. erzielt wird als in einer Saccharoselösung gleichen Zuckergehaltes, die soviel anorg. Stickstoff enthält, wie die Summe aus assimilierbarem Melasse-Stickstoff und anorg. Stickstoff in der Melasse ausmacht. Hierbei stieg die Vermehrung der Phosphatide und des Fettes um etwa 40%, die der Sterine und des Unverseifbaren um etwa 25% und die des Proteins um etwa 12%. Auch die Heferasse ist von ausschlaggebender Bedeutung. So sind Wuchshefen, wie *Torula utilis*, im Gegensatz zu den Saccharomyces schlechte Sterin-, aber ausgezeichnete Phosphatid- und Fettbildner.

Diskussion des D. R. P. 720 007

Verfahren zur Erhöhung des Ergosteringehaltes von Hefen.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Erhöhung des Ergosterin-Gehaltes von Hefen, insbesondere von gewöhnlicher Preßhefe, durch Belüftung der Hefe in einem von assimilierbarem Stickstoff und vergärbaren Kohlenhydraten praktisch freien Medium, dadurch gekennzeichnet, daß die Belüftung in einer durch Glyceringärung erhaltenen Maische, insbesondere mit 1–2% Glycerin-Gehalt, erfolgt, wobei zweckmäßig anorganische Phosphate, z. B. KH_2PO_4 zugesetzt werden.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß verdünnte, zweckmäßig 5–10proz. Hefesuspensionen belüftet werden.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Herstellung der glycerinhaltigen Maische mit Hilfe der an Ergosterin anzureichernden Hefe selbst vorgenommen wird.

4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Belüftung der Hefe in einer frischen, auf Glycerin vergorenen Maische, bzw. in solchen Maischen, einmal, bzw. mehrmals wiederholt wird.

Da in diesem Patent keine Bilanzierung angegeben wird, sondern nur der Ergosterin-Gehalt der Stellhefe mit 0,5% und derjenige der Erntehefe mit 2–3%, bezogen auf Trockengewicht, haben wir es unternommen, eine solche Bilanzierung aufzustellen, und deshalb die im Patent aufgezählten Möglichkeiten in erschöpfernder Weise durchgeführt. Als Stellhefe dient uns eine Versandhefe, die einen an sich schon hohen Steringehalt von 2,09% aufweist und deswegen nach unseren heutigen Erfahrungen zur Erzielung einer hohen Vermehrung ungeeignet ist. Obwohl bei den im Patent angegebenen Versuchs-Stufen die Sterine mengenmäßig nur noch geringfügig zunehmen, zeigt der Sterin-Gehalt ein ganz anderes Verhalten: Nach einem scharfen Abfall in der ersten Stufe steigt er in Stufe 2 und 3 wieder an, ohne jedoch den Anfangswert wieder zu erreichen. Dieser Anstieg ist nur zum geringsten Teil auf die Neubildung der Sterine, sondern

weitaus mehr auf eine Veratmung von Zellmaterial zurückzuführen. Daß ein deutlicher Anstieg des Prozentgehaltes an Sterinen in wesentlich einfacherer Weise selbst ohne Zusatz eines Nährsubstrates erreicht werden kann, zeigte eine einfache Belüftung, bei der die Erhöhung lediglich auf der Veratmung von Zellmaterial, einschließlich eines Teiles der Sterine, beruhte.

Es sei noch erwähnt, daß es sich in dem Patent wohl um die sog. vierte Vergärungsform (Glycerin-Brenztraubensäuregärung) handelt, da ein p_H von 7,4 vorgeschrieben ist.

Das Patent nimmt Bezug auf ein E. P. 396206 der International Yeast Company Ltd., das als Bedingung für eine gute Sterin-Anreicherung starke Belüftung und Stickstoff-Mangel (*deficiency in nitrogenous nutrient*) angibt. Allerdings fehlt auch in diesem englischen Patent die Bilanz, so daß nicht zu erkennen ist, inwieweit auch hier die Veratmung von Zellmaterial eine Rolle spielt.

Wir möchten nicht verfehlten, dem Hefeforschungsinstitut Weingarten und seinem Leiter, Dr. R. Kautzmann, für die jederzeit gewährte materielle und ideelle Hilfe unseren allerherzlichsten Dank auszusprechen.

Eingeg. am 6. Februar 1950. [A 264]

Versammlungsberichte

1. Internationaler Mikrochemischer Kongreß

Graz, 2.–6. Juli 1950

623 Wissenschaftler aus 26 verschiedenen Staaten hatten sich zum 1. Internationalen Mikrochemischen Kongreß in Graz, der Wirkungsstätte F. Emichs und F. Pregls versammelt.

U. a. faßten die Teilnehmer den Beschuß, eine internationale Kommission für Mikrochemie in der analytischen Sektion der Internationalen Union für reine und angewandte Chemie zu gründen, zu deren Präsidenten Prof. Dr. M. K. Zacherl ernannt wurde. Ein vorläufiger Ausschuß soll sich ferner mit der Standardisierung mikrochemischer Geräte befassen. Der nächste Internationale Mikrochemische Kongreß soll voraussichtlich 1954 stattfinden.

Anlässlich der musikalisch umrahmten Eröffnungsfeier wurde von der ältesten Tochter Prof. Emichs, Frau F. Kindler, Berlin, eine von Prof. Gösser geschaffene Emich-Büste enthüllt.

E. ABRAHAM CZEK, Ludwigshafen/Rhein: Anwendung organischer Komplexbildner zur Trennung und Bestimmung von Metallen mit Hilfe von Ausschüttungsreaktionen¹⁾.

Als Ausschüttungsreaktionen bezeichnet man Methoden, die auf der Verteilung eines Stoffes zwischen zwei miteinander nicht oder nur beschränkt mischbaren Lösungsmitteln beruhend, es gestatten, diesen Stoff aus der einen Lösung in die andere durch Schütteln des Gemisches überzuführen. Die Anwendung organischer Komplexbildner für Ausschüttungsreaktionen erfolgte in größerem Maßstab erstmalig durch Helmut Fischer bei seinen Arbeiten über das Diphenylthiocarbazon. Für Schwermetalle, die mit Dithizon nicht reagieren, zum Beispiel Fe, Mn, Ti, V, Mo, Al usw. wären den Dithizonverfahren entspr. Ausschüttungsmethoden sehr erwünscht, insbes. für die Spurensuche in biologischen oder technischen Produkten. Systematische Untersuchung der Eignung einer Anzahl von bekannten organischen Metallreagenzien für Ausschüttungsreaktionen führten zu Trennungs- und Bestimmungsverfahren, z. B. Ausschüttungen mit Acetylaceton, homologen Diketonen und Kupferron. Durch Maskierung mit Tartraten, Fluoriden usw. lassen sich Trennungen und mitunter spezifische kolorimetrische Bestimmungen eines Metalles durchführen.

H. K. ALBER, Philadelphia (USA): Standardisierung mikrochemischer Apparate unter bes. Berücksichtigung der in den USA geleisteten Arbeit.

1937 wurde ein Komitee für die Normierung von mikrochemischen Apparaten im Rahmen der American Chemical Society, Division of Analytical and Micro-Chemistry, gegründet. Die ersten Normen für die Kohlenstoff- und Wasserstoff-, Stickstoff-, Halogen- und Schwefel-Bestimmungen sind 1941 und 1943 veröffentlicht worden. Ein neues Komitee hat nach dem Kriege diese Arbeiten wieder aufgenommen und 1949 verbesserte und neue Normen beschrieben. An einigen Beispielen, wie Verbrennungsrohren, Absorptionsapparaten, Azotometern usw. wird Einblick in den Stand der Arbeiten gegeben und aufgezeigt, wo die Vorteile für den analytischen Mikrochemiker zu finden sind. Die besten Ergebnisse können derzeit wohl nur auf nationaler Basis erzielt werden, da einer internationalen Normierung noch schwer zu überwindende Hindernisse im Wege stehen.

¹⁾ Vgl. diese Ztschr. 61, 96 [1949].

G. BECK, Bern: Oxydimetrische Titrationen in alkalischen Lösungen mit Cupri-3-perjodat. Bestimmung des Calciums mit Naphthalhydroxamat.

Naphthalhydroxamsäure gibt mit Schwermetallen und Erdalkalien schwerlösliche, orangefarbige Niederschläge. Die Schwermetallsalze (außer Cd) lösen sich in Ammoniak oder Ammoniumtartrat (außer Pb) oder in Nitriloacetat $N(C_{12}H_{23}COONH_4)_3$. Die Naphthalhydroxamate der Erdalkalien jedoch nicht. Oxalat, Phosphat, Carbonat und Fluorid des Calciums werden beim Kochen rasch in Naphthalhydroxamat verwandelt. Die Bariumverbindung ist gelb, die des Calciums und Strontiums erst gelb, dann rasch ziegelrot werdend. Erfassungsgrenze für Ca 0,1 γ/cm³. Zur quantitativen Bestimmung kann man das Calcium-naphthalhydroxamat in Zentrifugiertiegeln abzentrifugieren und wägen oder mit Salzsäure die unlösliche Säure abscheiden und abzentrifugieren, in NaOH lösen und kolorimetrieren. Es gelang, die Verbindung in alkalischer Lösung mit Kaliumcupri-3-perjodat zu titrieren. Die tief braunsehende 1/100 molare Lösung des dreiwertigen Kupfers $K_3Cu(JO_4)_2$ wird beim Kochen zu schwach bläulichem Cu^{II} reduziert. Der Umschlag ist sehr scharf, denn schon 0,005 cm³ (entsprechend 0,1 γ Ca) vermögen 5 cm³ der schwach blauen Cu^{II}-Lösung deutlich grünlich zu färben. Eine Molekül Calcium-naphthalhydroxamat verbraucht in einer ersten Stufe 4 Cu^{III}, in einer zweiten, sehr langsam verlaufenden, noch weitere 2 Cu^{II}. Die oxymetrische Titration mit Kupfer-3-perjodat ist für viele andere Bestimmungen brauchbar; so werden die Zuckerk in 10 proz. KOH schon in der Kälte oxydiert.

A. A. BENEDETTI-PICHLER, New York: Leitgedanken zur Entwicklung von Mikronethoden.

Systematisches Studium aller Einflüsse auf eine analytische Methode vermag viel Mühe bei der Ausarbeitung eines neuen Mikroverfahrens zu ersparen. Aufrechterhaltung der Konzentrationen läßt es wünschenswert erscheinen, die Volumenverkleinerung der Massenverkleinerung gleichzustellen. Da aber Volumen, Oberfläche und lineare Dimension sieh nicht gleichzeitig im selben Maßstab verkleinern lassen, wird man dort auf Schwierigkeiten stoßen, wo bestimmende Faktoren entweder von der Oberflächenentwicklung oder von linearen Dimensionen abhängen. Eine Analyse der Gesamtlage, evtl. unter Hinzuziehung einiger qualitativer Vorversuche, sollte es möglich machen, die Experimentalarbeit zweckmäßig zu planen.

E. B. BERGSMA, Västerås (Schweden): Einige praktische und theoretische Gesichtspunkte über die Mikrohärteprüfung.

Ein vom Vortr. konstruierter Mikrohärteapparat ist für Mikroskopie mit nach oben gerichtetem Objektiv anwendbar und ermöglicht sowohl Ritzproben wie auch Härtmessungen nach der statischen Eindrucksmethode (z. B. Vickersprobe). Das Belastungsgebiet reicht ungefähr von 0,5 bis 500 g. Durch eine Wechselfassung von einfachem Typus wurde die Handhabung des Apparates vereinfacht und die Treffsicherheit erhöht.

M. BLUMER, Basel: Fossile Farbstoffe und Kohlenwasserstoffe in Kalksteinen.

Es gelang die Isolierung sehr kleiner Kristalle eines fossilen Farbstoffes aus Seelilien (*Millericrinus spec.*) aus dem unteren Malm. Er wird nach einer der Fundstellen (Fringeli, Berner Jura) als Fringelit bezeichnet. Ferner ergab sich die Anwesenheit mehrerer spektroskopisch nah