

Über den Vitaminhaushalt von Kolikulturen in vitaminfreien und vitaminhaltigen Nährlösungen

1. *Einleitung.* Es ist bekannt, dass Kolikulturen zur Synthese einer Reihe von B-Vitaminen befähigt sind¹. Andererseits wurde nachgewiesen, dass *Escherichia coli* Vitamin B₁₂ aus seiner Umgebung adsorbieren kann². Wir prüften die Frage, ob einem flüssigen Nährboden auch andere B-Vitamine entzogen werden, wenn der Nährboden diese Vitamine in physiologischen Mengen bereits enthält, oder ob der Nährboden aus der bakteriellen Synthese weiter angereichert wird. Zur Kontrolle liefen Untersuchungen an vitaminfreien Nährlösungen parallel.

2. *Methodik.* Zu den Untersuchungen wurden Kolikulturen in vitaminisiertem und nichtvitaminisiertem Nährboden 18 h bei 37°C bebrütet. Zur Technik sei auf ¹ verwiesen. Nach 18 h befinden sich die Kulturen in der logarithmischen Vermehrungsphase, dem Zustand der stärksten Vermehrung. Dann wurde die Kultivierung abgebrochen. Ein Aliquot der Kulturflüssigkeit wurde nach Sterilfiltration ohne weitere Vorbehandlung, ein Anteil der bakterienhaltigen Gesamtkultur nach der für die einzelnen Vitamine spezifischen Extraktion mikrobiologisch auf den Gehalt an einigen B-Vitaminen untersucht. Die von uns verwendeten Vitaminextraktionen siehe unter H. HAENEL³. Auf diese spezifischen Extraktionsmethoden konnte nicht verzichtet werden; einstündige Behandlung im strömenden Dampf zum Beispiel setzte nur einen Teil der nach Extraktion erfassbaren Vitaminmengen frei.

3. *Ergebnisse.* Einige repräsentative Resultate sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

4. *Diskussion.* Danach war die Abnahme der im Nährboden gelöst enthaltenen Vitamine unter dem Einfluss der Bakterienzellen unterschiedlich. Sie betrug für Biotin, Nikotinsäure, Vitamin B₆ und Vitamin B₁₂ zwischen 75 und 87% und für Thiamin 46%. Pantothenensäure und Inosit nahmen um 11 bzw. 16% ab. Folsäure wurde nicht vermindert.

Inosit wird von *E. coli* im Energiestoffwechsel nicht zerlegt, dürfte auch keine Bedeutung als Wirkstoff besitzen. In Inosit-freien Nährlösungen wurde synthetisiertes Inosit weder im Filtrat noch in der bakterienhaltigen Kultur gefunden (Tabelle). Trotzdem scheint ein Teil des Inosits von den Zellen adsorbiert worden zu sein. Das würde bedeuten, dass im Darm auch solche Wirkstoffe dem Wirt entzogen werden können, die im Bakterienstoffwechsel entbehrlich sind.

Kolibakterien, wie vermutlich auch andere Bakterien, sind demnach zwar zur Eigensynthese einer Reihe von B-Vitaminen befähigt und können aus dieser Synthese gewisse Mengen an den Nährboden abgeben. In vitaminhaltigen Nährböden dagegen kann diese Abgabe unterbleiben und es kann im Gegenteil ein Verbrauch der im Nährboden vorgelegten Vitamine stattfinden.

Das würde, auf die Verhältnisse im Darmkanal übertragen, bedeuten, dass bestimmte Bakterien ihren Vita-

miningehalt von Kolikulturen, die in vitaminhaltigen (a) und vitaminfreien (b) synthetischen Nährlösungen 18 h bei 37°C gezüchtet wurden, sowie der Einfluss der Kultivierung auf den Vitamingehalt der zellfreien Kulturfiltrate.

		Vitamin- gehalt des unbeimpf- ten Nähr- bodens	Vitamin- gehalt des Kulturfil- trates nach 18 h Bebrü- tung b. 37°C	Vitamin- verlust im Filtrat nach 18 h Bebrü- tung bei 37°C %	Vitamin- gehalt der Gesamt- kultur nach spezif. Ex- traktion der Vitamine
Biotin	$\begin{cases} a \\ b \end{cases}$	$\begin{cases} 0,2 \\ 0,008 \end{cases}$	$\begin{cases} 0,032 \\ 0,048 \end{cases}$	84	$\begin{cases} 1,22 \\ 0,8 \end{cases}$
Nikotinsäure	$\begin{cases} a \\ b \end{cases}$	$\begin{cases} 168 \\ 3 \end{cases}$	$\begin{cases} 22,5 \\ 12 \end{cases}$	87	$\begin{cases} 193 \\ 48,2 \end{cases}$
Folsäure	$\begin{cases} a \\ b \end{cases}$	$\begin{cases} 4,1 \\ 0,25 \end{cases}$	$\begin{cases} 4 \\ 1,15 \end{cases}$	0	$\begin{cases} 17 \\ 20 \end{cases}$
Vitamin B ₆	$\begin{cases} a \\ b \end{cases}$	$\begin{cases} 45 \\ 3,3 \end{cases}$	$\begin{cases} 8,4 \\ 11 \end{cases}$	81	$\begin{cases} 57,6 \\ 15,9 \end{cases}$
Inosit	$\begin{cases} a \\ b \end{cases}$	$\begin{cases} 38,8 \\ 0 \end{cases}$	$\begin{cases} 32,4 \\ 0 \end{cases}$	16	$\begin{cases} 45,6 \\ 0 \end{cases}$
Thiamin	$\begin{cases} a \\ b \end{cases}$	$\begin{cases} 210 \\ 0 \end{cases}$	$\begin{cases} 114 \\ 0 \end{cases}$	46	$\begin{cases} 232 \\ 31,5 \end{cases}$
Vitamin B ₁₂	$\begin{cases} a \\ b \end{cases}$	$\begin{cases} 0,04 \\ 0,003 \end{cases}$	$\begin{cases} 0,0092 \\ 0,008 \end{cases}$	77	$\begin{cases} 0,061 \\ 0,028 \end{cases}$
Pantothenensäure	$\begin{cases} a \\ b \end{cases}$	$\begin{cases} 44 \\ 2,5 \end{cases}$	$\begin{cases} 39,2 \\ 77,2 \end{cases}$	11	$\begin{cases} 64,5 \\ 69 \end{cases}$

Angaben in ng (10⁻⁹ g), bei Inosit in µg (10⁻⁶ g), je ml Nährboden bzw. Kultur.

minbedarf aus der Eigensynthese, aber auch aus exogenen Quellen decken können.

H. HAENEL und WALHEIDE MÜLLER-BEUTHOW

Anstalt für Vitaminforschung und Vitaminprüfung,
Potsdam-Rehbrücke, den 27. November 1956.

Summary

A strain of *E. coli*, when cultivated in a vitamin-free medium, delivered from its synthesis small amounts of biotin, nicotinic acid, folic acid, vitamin B₆, pantothenic acid and occasionally vitamin B₁₂ into the cell-free filtrate, but not thiamine or inositol. Cultivated in a vitamin-containing medium the *E. coli* strain absorbed certain amounts of biotin, nicotinic acid, vitamin B₆, thiamine and vitamin B₁₂, while inositol, folic acid and pantothenic acid were absorbed only in small amounts or not at all.

Species Difference in Trapped Plasma of the Packed Red Cell Column

Although a species difference has been demonstrated in the packed red cell column¹ (PCV) it seems that insufficient attention is paid to this when investigating

¹ H. HAENEL und W. MÜLLER-BEUTHOW, Klin. Wschr. 34, 643 (1956).

² P. BURKHOLDER, Science 114, 459, 478 (1951). – E. HOFF-JÖRGENSEN, A. P. SKONBY und J. G. ANDRESEN, Nord. Med. 48, 1754 (1952). – J. JÄNNES, Acta physiol. Scand. 31, 183 (1954).

³ H. HAENEL, Pharmazie 9, 489 (1954).

¹ F. W. JENNINGS, I. M. LAUDER, W. MULLIGAN, and G. M. URQUHART, Vet. Rec. 66, 155 (1954).

characteristics of erythrocytes of different animals. GOODWIN² using the PCV in the calculation of intracellular glucose has drawn important conclusions which might have been different if observed haematocrit values had been corrected for plasma trapping in accordance with the species of blood used. Similarly, failure to take account of the typical amount of plasma trapping in estimations of ionic concentrations, glycolytic rate and other characteristics of erythrocytes, when calculations involve the use of observed PCV, could lead to erroneous results. This is especially true for goat blood which was found to contain a considerable amount of plasma in the packed red cell column.

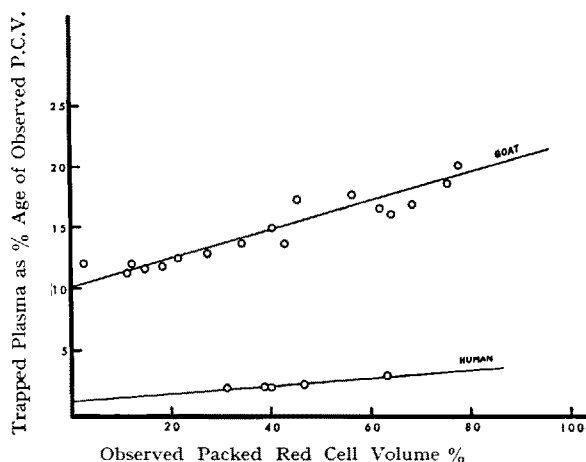


Fig. 1.—The amount of plasma in the packed red cell column of goat and of human blood expressed as a percentage of the observed packed red cell column.

Plasma trapping was estimated as described by CHAPLIN and MOLLISON³ with slight modifications. Preliminary investigation showed that goat erythrocytes were not affected by the high concentrations of EVAN'S Blue dye used⁴. Plasma trapping in the packed red cell column of fresh heparinized goat and human blood centrifuged in Wintrobe tubes at 1500 $\times$ G for 55 min varied directly with the height of the red cell column (Fig. 1).

The regression equation in the case of human blood was:

$$Y = 0.352 X + 0.839,$$

and in the case of goat blood:

$$Y = 0.119 X + 10.22,$$

where Y is the percentage plasma trapping and X the observed PCV as a percentage of whole blood. At an haematocrit level of 45% trapping for human blood was 2.4%, but for goat blood it was 15.6%.

It was possible to increase the degree of packing of red cells by increasing the time and force of centrifugation. This is demonstrated in Figure 2 which shows percentage decrease in observed PCV plotted against total force or 'impulse' measured in dyne-seconds. Actual determinations showed that this decrease was the result of diminishing amounts of trapped plasma and not of loss of cell contents. However, it would be impracticable to

increase centrifugation to bring about the same degree of packing of goat cells as of human cells centrifuged at 1500 $\times$ G for 55 min. It is therefore important when

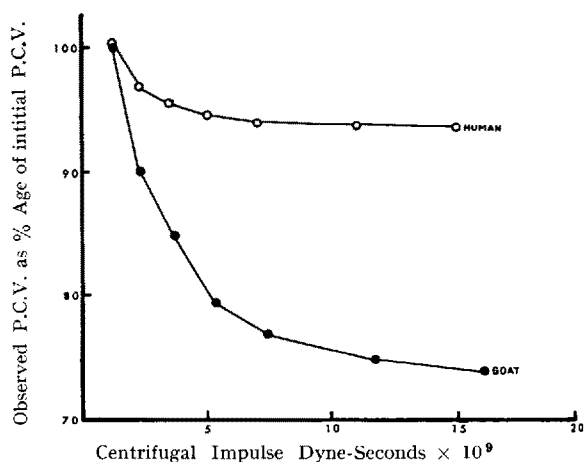


Fig. 2.—The effect of varying centrifugal force on the observed packed red cell volume of human and of goat blood.

centrifuging under usual laboratory conditions to make an accurate allowance for plasma trapping according to the species of blood under investigation.

G. R. WADSWORTH

Department of Human Nutrition, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, December 17, 1956.

Zusammenfassung

Nach Zentrifugieren unter gleichen Bedingungen enthält bei Ziegenblut die Erythrozytensäule ungefähr siebenmal soviel eingeschlossenes Plasma wie bei Menschenblut. Mit Hilfe der angegebenen Formeln können diese Plasmamengen berechnet werden; dabei werden die Resultate in Hämatokritwerten ausgedrückt. Es ist wichtig, bei der Berechnung der Eigenschaften von Erythrozyten diese Unterschiede zwischen den verschiedenen Spezies in der Menge des zurückgehaltenen Plasmas zu berücksichtigen.

The Biosynthesis of 6-Azauracil Riboside by *Escherichia coli* Growing in the Presence of 6-Azauracil

Recently we have found that 6-azauracil (3,5-dioxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,4-triazine) inhibits the growth of a number of microorganisms (ŠORM and ŠKODA¹; cf. also HANDSCHUMACHER and WELCH²). We further found that the inhibitory effect on the growth of *E. coli* can be completely removed by uracil, cytosine, or uridine, and that the inhibition is strictly competitive in character³. We

¹ F. ŠORM and J. ŠKODA, Chem. listy 50, 827 (1956); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 21, 487 (1956).

² R. E. HANDSCHUMACHER and A. D. WELCH, Federation Proc. 15, Abstract No. 871 (1956).

³ J. ŠKODA and F. ŠORM, Chem. listy 50, 1165 (1956); Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 21, 1328 (1956).

² R. F. W. GOODWIN, J. Physiol. 134, 88 (1956).

³ H. CHAPLIN and P. L. MOLLISON, Blood 7, 1227 (1952).

⁴ G. R. WADSWORTH, Exper. 11, 394 (1955).

⁵ C. J. HLAD and J. H. HOLMES, J. appl. Physiol. 5, 457 (1953).