Zeitschrift: Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern

Herausgeber: Naturforschende Gesellschaft in Bern

Band: 10 (1953)

Artikel: Untersuchungen über die Biosynthese einiger wasserlöslicher Vitamine der B-Gruppe, insbesondere der Pantothensäure

Autor: Louis, Rolf

Kapitel: III: Technik und Testmethoden

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-319459

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 12.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

oder aber es wirkt bloß zusätzlich (Zusatzfaktor). Was die Wirkungsspezifität der Vitamine betrifft, so bewegt sie sich im Rahmen der für Tiere und Mikroorganismen beobachteten Verhältnisse (BONNER [50, 51]). Die Auxoheterotrophie einer Wurzel bezieht sich auf ein bis mehrere Vitamine. Diese werden ihr einerseits aus den oberirdischen Pflanzenteilen zugeführt, möglicherweise werden sie außerdem auch zum Teil aus dem Boden aufgenommen, wo sie in nachweisbaren Mengen vorhanden sind (ROULET [52]).

III. Technik und Testmethoden

Für die Untersuchungen an *Phaseolus vulgaris* verwendeten wir die Handelssorte «Rapid». Die Bohnen wurden, nach dem Auslesen der beschädigten Samen, in einer 3,5prozentigen Chlorkalklösung während einer Stunde sterilisiert und anschließend in einem vorher mit einer gleich konzentrierten Chlorkalklösung behandelten Keimkasten auf Filtrierpapier und in Berührung mit destilliertem Wasser bzw. KNOPscher Nährlösung bei Zimmertemperatur zur Keimung gebracht. Die in bestimmten Zeitabständen geernteten Pflänzchen untersuchten wir, getrennt nach Kotyledonen und Keimling, auf ihren Gehalt an Aneurin und Biotin.

Alle übrigen Versuche wurden mit *Pisum sativum* («Maikönigin») ausgeführt. Das Samenmaterial wurde, nach gründlicher Auslese, vor der Keimung in einer frischbereiteten 3,5prozentigen Chlorkalklösung sterilisiert. Die Einwirkungsdauer betrug 1 bis 1¼ Stunden. Darauf wurden die Samen mittels einer abgeflammten Drahtgabel in vorbereitete sterile Petrischalen verbracht, deren Boden mit gut durchnäßter Watte und Filtrierpapier ausgekleidet ist. Jede der Schalen enthielt 10 bis 15 Samen und wurde für 4 bis 5 Tage in einem Raum von 23 ° C im Dunkeln belassen. Um eventuelle Infektionen zu erkennen, wird jede Schale mit einer Lupe genau besehen, und die infizierten werden sofort ausgeschaltet. (Ein während der Kulturdauer immer wieder auftretender kleiner Prozentsatz von Infektionen läßt sich in den wenigsten Fällen auf einen Manipulationsfehler zurückführen, sondern hat seinen Grund wohl in der mangelhaften Sterilisation einzelner Samen.) Darauf werden Wurzeln ausgewählt, die in ihrer Länge möglichst übereinstimmen, um die ohnehin große Variationsbreite im Längenwachstum etwas zu vermindern. Mit Hilfe eines sterilen Skalpells werden etwa 10 mm lange Wurzelspitzen abgeschnitten und mit einem Spatel steril in die Kulturgefäße gebracht. Die

Arbeitsweise folgt den Richtlinien, wie sie GAUTHERET (53) für die Wurzelkultur vorgeschlagen hat.

Die so isolierten Wurzelspitzen von *Pisum* werden im Milieu von BONNER und DEVIRIAN mit Aneurin (Milieu I) kultiviert:

Aqua dest.	1000,0 cc
Ca-nitrat	242,0 mg
Mg-sulfat	42,0 mg
K-nitrat	85,0 mg
K-chlorid	61,0 mg
K-monophosphat	20,0 mg
Ferritartrat	1,5 mg
Saccharose puriss.	40,0 g
Aneurin	0,1 mg

In einer Versuchsserie gelangte außerdem das Milieu II von BONNER und DEVIRIAN zur Anwendung, das neben den Bestandteilen des Milieus I noch 0,5 mg Nicotinsäure pro Liter Nährlösung enthält.

Als Kulturgefäße dienten 150 cc Erlenmeyerkolben aus Jenaerglas, in die je 20 cc Nährlösung abgefüllt wurden. Die Sterilisation der Kolben erfolgte im Autoklaven bei 115 ° C während 15 Minuten.

Alle 15 Tage nahmen wir eine Überimpfung vor, indem die Wurzelspitze etwa 10 mm lang abgeschnitten und in ein frisches Milieu übertragen wurde. Nach jeder solchen Überimpfung ermittelten wir folgende Daten: Länge der Wurzel, Zahl der sichtbaren Nebenwurzeln und das Trockengewicht sowie den Gehalt an Vitaminen. Auf Grund der beiden letzten Angaben ließ sich für jede Passage die pro Milligramm Trockensubstanz synthetisierte Menge eines bestimmten Vitamins errechnen.

Die in dieser Arbeit benutzten mikrobiologischen Bestimmungsmethoden sind allgemein eingeführt und oft angewendet, so daß wir es nicht als nötig erachten, in Einzelheiten darauf einzugehen. Nachstehend eine kurze Übersicht über die angewendeten Testmethoden.

Aneurin — Zur Bestimmung dieses Vitamins benutzten wir den *Phycomyces*-Test von SCHOPFER und JUNG (54, 55). Als Testorganismus findet der Pilz *Phycomyces Blakesleeanus* Verwendung. Außer dem freien Vitamin wird auch das gebundene erfaßt.

Lactoflavin — *Lactobacillus casei* ε ist der Testorganismus in der von SNELL und STRONG (56) eingeführten Methode zur Bestimmung des Lactoflavins. Dieser mikrobiologische Test bestimmt nicht nur das in

freier Form vorliegende Lactoflavin, sondern auch seine gebundenen Formen (SNELL und STRONG [57]).

Adermin — Der für die mikrobiologische Bestimmung dieses Vitamins verwendete Organismus ist der X-Strahlen-Mutant des Pilzes *Neurospora sitophila* (Mutant 299). Die Methode wurde eingehend beschrieben bei STOKES und Mitarbeitern (58).

Nicotinsäure — Die Nicotinsäure wurde nach der von SNELL und WRIGHT (59) beschriebenen Methode bestimmt, in welcher als Testorganismus *Lactobacillus arabinosus* verwendet wird.

Biotin — *Saccharomyces cerevisiae* dient als Testorganismus in der von WILLIAMS und Mitarbeitern (60) stammenden Methode für die Biotinbestimmung.

Pantothensäure — SKEGGS und WRIGHT (61) arbeiteten die *Lactobacillus arabinosus* benützende Methode zur Bestimmung der Pantothensäure aus.

Zur Herstellung der Vitaminstandardlösungen benutzten wir in allen Fällen reine kristallisierte Produkte der Firma Hoffmann-La Roche in Basel.

Bei der Bestimmung des Aneurins und des Adermins bildeten die Myceltrockengewichte die Grundlage zur Berechnung des Vitamingehaltes, während bei den anderen Vitaminen die durch das verschieden starke Wachstum des Organismus hervorgerufene Trübung der Nährlösung im Hilger-Turbidimeter gemessen wurde.

Die Bereitung der zu prüfenden Extrakte geschah wie folgt:

Das bei 105 ° C im Trockenschrank entwässerte Material wird im Porzellanmörser fein zerrieben und davon eine genau abgewogene Menge mit destilliertem Wasser 15 Minuten lang bei 115 ° C extrahiert. Darauf wird vom Rückstand abfiltriert und noch so viel Wasser zugegeben, daß die Konzentration des zu analysierenden Extraktes 0,5 Prozent beträgt.

Die Benutzung von Milieux der Difco Laboratories Inc., Detroit (Michigan), für die Bestimmung von Lactoflavin, Nicotinsäure und Pantothensäure wurde ermöglicht durch die Fritz-Hoffmann-La-Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz. Eine Zuwendung aus dem Ed.-Fischer-Fonds erlaubte die Anschaffung gewisser Chemikalien. Den beiden Institutionen möchten wir an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank für ihre Unterstützung aussprechen.