

Wert von n besitzen. Er ist positiv, wenn diese die kleinere Brechungszahl besitzen, und Null, wenn beide Bestandteile dasselbe Brechungsvermögen haben.

Nimmt man zunächst einmal an, die Absorption der Chloroplasten sei so schwach, daß man die Formeln für schwache Absorption zugrunde legen darf, so müßte in den Chloroplasten lebender Zellen der Dichroismus negativ sein, was für $\lambda \sim 680 \text{ m}\mu$ auch der Fall ist². Die Doppelbrechung sollte ebenfalls für alle Wellenlängen negativ sein, was sie im allgemeinen aber nicht ist. Früher war für die Erklärung der Umkehr des Vorzeichens der Doppelbrechung die zweifellos vorhandene positive Eigendoppelbrechung der Lamellen herangezogen worden; es wurde sogar die Tatsache des Vorzeichenwechsels als weiterer Beweis für das Vorhandensein positiver Eigendoppelbrechung der Chloroplasten angesehen, der um so wertvoller erschien, da er am gänzlich unbeeinflussten Chloroplasten lebender Zellen geführt werden konnte². Eine Stütze findet diese Ansicht

darin, daß beim Wasserentzug — δ_2 geht dann gegen Null — die negative Doppelbrechung abnimmt, während die positive Doppelbrechung stärker wird. Beim Eintrocknen von *Euglena viridis* nimmt zum Beispiel die Doppelbrechung im langwelligen Rot sehr stark ab, wird im Grün Null, während das Maximum positiven Vorzeichens auf der kurzwelligen Seite der roten Absorptionsbande seinen Wert erhöht. Heute besteht aber ein gewisser Zweifel an der Richtigkeit dieser Folgerung. Da die Werte von k_1 für $\lambda \sim 680 \text{ m}\mu$ von der Größenordnung 10^{-1} sein dürften, erscheint es fraglich, ob man die Formel für schwache Absorption benutzen darf. Aus obenstehenden Betrachtungen folgt ferner, daß der Dichroismus der lebenden Chloroplasten wenigstens teilweise Formdichroismus sein muß und daß man für die Entscheidung der Frage der Orientierung der Chlorophyllmoleküle im Chloroplasten, etwa im Sinne des Schemas von H u b e r t - F r e y - W y s s l i n g, noch weitere experimentelle und theoretische Untersuchungen ausführen muß.

NOTIZEN

Untersuchungen über lösliche Kieselsäureverbindungen in *Aspergillus niger*

Von L. H o l z a p f e l,

Max-Planck-Institut f. Silikatforschung, Zweigstelle Berlin-Dahlem und

E. R i c h a r d s o n,

Wolverhampton u. Staffordshire Techn. College, Dep. of Appl. Science

(Z. Naturforschg. 10 b, 419—420 [1955]; eingeg. am 16. März 1955)

Wie in früheren Arbeiten^{1, 2} gezeigt wurde, kann man in *Aspergillus niger*, der auf „Quarzwasser-Nährlösung“ gewachsen war, erhebliche Mengen Kieselsäure einbauen. So wurde Ausgangsmaterial z. B. mit den Analysenwerten:

	[%]		[%]
a) SiO ₂	24,9	b) SiO ₂	22,4
Organ. Bestandt. .	74,5	Organ. Bestandt. .	76,7
Salze (anorgan.) .	0,6	Salze (anorgan.) .	0,6

mit verschiedenen Lösungsmitteln extrahiert, um festzustellen, welche löslichen Komponenten nach der Aufnahme aus der Nährlösung in Verbindung mit löslicher Kieselsäure im *Aspergillus* vorhanden sind.

Mit H₂O am Rückflußkühler erhitzt, konnte eine Lösung erhalten werden, aus der in der Kälte ein Nieder-

¹ L. H o l z a p f e l u. W. E n g e l, Z. Naturforschg. 9 b, 602 [1954].

schlag ausfiel, der durch Erhitzen oder Zugabe von HCl (verd.) wieder in Lösung ging. Die H₂O-Extrakte enthielten Kieselsäure, die sowohl kolorimetrisch als auch gravimetrisch nachgewiesen werden konnte. So wurde im Heißwasserextrakt, der heiß filtriert und dann zur Gewichtskonstanz getrocknet war, ein Gehalt von SiO₂ von 20,4% vom Trockengewicht ermittelt.

Eine *Aspergillus*-Probe, mit Aceton erhitzt, ergab nur sehr geringe Spuren gelöster Substanzen mit positiver SiO₂-Reaktion, bei vorwiegend fettartiger Konsistenz, ferner positive Reaktion auf Steroide (L i e b e r m a n n - B u r k h a r d u n d S a l k o w s k i).

Mit Chloroform konnten keine kieselsäure-haltigen Komponenten, auch nicht in Spuren, erhalten werden.

In Methanolextrakten (Soxhlet-Extraktion) wurde gleichfalls (0,8%) Kieselsäure nachgewiesen.

Da sich unterschiedliche Ergebnisse bei verschiedenen *Aspergillus*-Proben zeigten, je nachdem, ob sie frisch aus den Nährlösungen entnommen, unter Luftabschluß aufbewahrt oder über längere Zeiträume hinaus getrocknet (z. B. im Exsikkator aufbewahrt) waren, wurde vergleichsweise unter denselben Bedingungen aufbewahrter und hergestellter *Aspergillus*, der statt auf einer Nährlösung mit Quarzwasser¹ in der normalen phosphor-haltigen Nährlösung¹ gewachsen war, untersucht.

Einen entscheidenden Einfluß scheint hierbei das Wasserbindungsvermögen des *Aspergillus niger* zu besitzen.

² L. H o l z a p f e l, Staublungenerkrankungen Bd. 2, 130—142 [1954], Verlag Dietrich Steinkopf, Darmstadt.



Durch Trocknung im Exsikkator monatelang aufbewahrt Material, das auf Quarzwasser-Nährlösung gewachsen war, war im Gegensatz zum Phosphor-*Aspergillus* steinhart, während der letztere noch eine gewisse Biegsamkeit besaß. Frisch entnommenes Material zeigte diesen Unterschied weit weniger, obgleich auch hier, wie schon früher berichtet^{1,2}, gewisse Härteunterschiede im Material beobachtet werden können.

Besonders deutlich wurden die Unterschiede jedoch bei der Extraktion im wasser-freien Lösungsmittel. Frisch entnommener *Aspergillus* ergab bei Extraktion mit Methanol einen Extrakt, der, im Chromatogramm auf Amino-

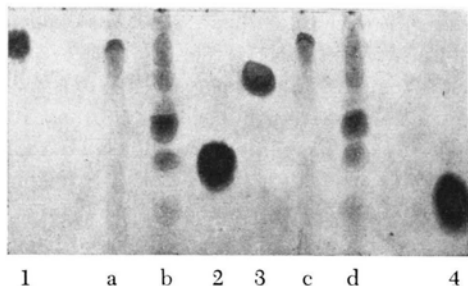


Abb. 1. 1, 2, 3, 4: Glucosamin, α -Aminobuttersäure, Glycin, Valin. Methanolextrakt v. a) und c) Quarz-*Aspergillus niger* stark getrocknet alt, b) und d) Phosphat-*Aspergillus niger* stark getrocknet (wie a und c). Chromatogr. Butanol-Eisessig-Wasser (40 : 10 : 10). Entw. Ninhydrin.

säuren entwickelt, nur sehr geringfügige Unterschiede zeigte, und zwar eine große Anzahl bekannter Aminosäuren.

Bei gealtertem getrocknetem *Aspergillus* (etwa 12 Monate) waren dagegen veränderte Verhältnisse (Abb. 1). Phosphat-*Aspergillus* enthielt im wesentlichen noch alle Aminosäuren in methanol-löslichem Zustand, während im Kieselsäure-*Aspergillus* kaum noch einzelne Aminosäurekomponenten nachweisbar waren, dagegen aber eine sehr starke Konzentration einer wahrscheinlich mit Glucosamin identischen Komponente, die durch starke Fluoreszenz schon im unentwickelten Chromatogramm mit UV-Licht auftrat und außer bei der Entwicklung mit Ninhydrin (Abb. 1) auch durch Entwicklung mit Spezialentwickler auf Aminozucker und Uronsäuren gefunden wurde.

Die Löslichkeit scheint durch HCl begünstigt zu werden. Im Chromatogramm wurde es in Gegenwart von Cl-Ionen mit dem gleichen R_f -Wert wie Glucosaminchlorhydrat gefunden.

Da diese Ergebnisse sich bei den verschiedenen Untersuchungen stets wiederholten, möchten wir annehmen, daß dieser Aminozuckerkomponente in Verbindung mit Kieselsäure beim stofflichen Auf- bzw. Abbau eine besondere Bedeutung zukommt. Auch konnte hiermit chromatographisch die mit Engel¹ gemachte Beobachtung erhärtet werden, daß der Stickstoff-Gehalt von quarz-haltigem *Aspergillus* gegenüber Phosphor-*Aspergillus* herabgesetzt ist bei Zunahme der Kohlehydratkomponenten.

Der Einfluß von Oberflächenreaktionen auf die Bildung natürlicher und synthetischer Calciumphosphate

Von Erich Hayek

Chemisches Institut der Universität Innsbruck

(Z. Naturforschg. 10 b, 420—421 [1955]; eingeg. am 20. Mai 1955)

Die Zusammensetzung feinteiliger Fällungen des Hydroxylapatites kann nicht durch Adsorption allein, wohl aber durch umfassende Oberflächenreaktionen, in die des tertiären Calciumphosphates und des „Carbonatapatites“ umgewandelt werden, welche in synthetischen und natürlichen Produkten häufig in Erscheinung treten. Da hierbei der Gitterbau des Apatitgerüsts nicht wesentlich beeinflusst wird, liegen keine neuen chemischen Individuen vor, solange nicht durch Wärmebehandlung eine Homogenisierung durch entsprechenden Umbau des Gitters erzielt wird, wie dies beim Calciumtriphosphat bekannt ist.

Die chemische Individualität natürlicher und synthetischer Calciumphosphate, die im Gebiet eines p_H -Wertes von über etwa 6 entstehen, ist bekanntlich sehr umstritten¹. Während vielfach, insbesondere seit den Arbeiten von Trömel und Klement (1932 ff.) auf Grund der Röntgenpulverdiagramme angenommen wird und auch durch Gleichgewichtsuntersuchungen² bestätigt erscheint, daß nur Hydroxylapatit $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ in diesem Gebiet stabil sei, andere analytisch gefundene Zusammensetzungen aber nur durch Adsorption oder Beimischung anderer Systemkomponenten vorgetäuscht werden, vertreten andere Forscher, insbesondere Brassieur und Dallemagne, in zahlreichen Publikationen die Existenz eines Triphosphat-Hydrates. Die wichtige präparative Frage der Möglichkeit einer Reindarstellung des Hydroxylapatites hat durch unsere Gewinnung reiner kristalliner und amorpher Präparate kürzlich einen gewissen Abschluß erfahren³.

Ebenso wie bei den einfacheren Phosphaten sind die Meinungen über die Bindung der Kohlensäure in der Knochen- und Zahnsbstanz sowie in den „Carbonatapatiten“ geteilt, wobei hier verschiedenartiger Einbau in das Apatitgitter wie auch bloße Adsorption neben dem 2-phasischen Aufbau für wahrscheinlich gilt. Mit Recht wird den Vertretern der Anschauung, daß Adsorption an das Apatitgitter zur Erklärung der mitunter großen analytischen Unterschiede ausreiche, der Vorwurf gemacht¹, daß eine exakte Begründung dieser Annahme bisher nicht gegeben wurde. Im Folgenden werden nun solche Überlegungen näher ausgeführt.

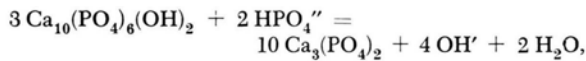
Es sei zunächst die Frage behandelt, ob $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ durch Adsorption von Phosphation, wobei nur HPO_4^{2-} als im Überschuß vorhanden unter den üblichen Fällungsbedingungen in Frage kommt, zur Zusammensetzung des $Ca_3(PO_4)_2$ gebracht werden kann. Das Atomverhältnis Ca/P muß sich hierbei von 5 : 3 auf 3 : 2 ändern oder von 15 : 9 auf 15 : 10. Mit anderen Worten: drei Elementar-

¹ Zusammenfassend mit ausführlichem Literaturnachweis: W. F. Neuman u. M. W. Neuman, Chem. Reviews 53, 1 [1953].

² E. Hayek, F. Müllner u. K. Koller, Mh. Chem. 82, 959 [1951].

³ E. Hayek u. Mitarb., Angew. Chem. 67, 326 [1955].

zellen des Hydroxylapatitgitters, jede $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ enthaltend, müssen zwei HPO_4'' -Ionen adsorbieren, um die Zusammensetzung auf Triphosphat zu ändern. Dies würde aber bereits bei relativ kleinen Teilchen zu mehrmals 100-fachen und größeren Ladungen führen, die elektrostatisch instabile Verhältnisse schaffen müßten, ihre Bildung kommt daher nicht in Frage. Nicht nur möglich, sondern zu erwarten ist aber, daß die partielle Adsorption durch eine Reaktion fixiert wird nach



welche zwar nur die freie Oberfläche betrifft, aber an dieser annähernd quantitativ stattfindet und keine Ladung der Teilchen veranlaßt.

Unter der Annahme, daß die Elementarzellen des hexagonalen Kristalls, die Parallelepipede von den Maßen $a = b = 9,6 \text{ \AA}$, $c = 6,9 \text{ \AA}$, $\alpha = 60^\circ$, darstellen, auf jeder freien Außenfläche ein HPO_4'' aufnehmen, sei im Folgenden das Vorhandensein genügend freier Flächen bei wachsender Teilchengröße geprüft, wobei vereinfacht der Aufbau größerer Parallelepipede aus den Elementarzellen angenommen wird, während die äußere Kristallform in Wirklichkeit hexagonale Prismen mit Pyramidenflächen entspricht.

Es ergibt sich aus Tab. 1, daß die $2/3 \text{ HPO}_4''$ -Ionen pro Elementarzelle bei Teilchengrößen unter etwa 100 \AA auf den freien Außenflächen untergebracht werden können, während bei den größeren Teilchen gewisse Voraussetzungen bezüglich der Form erfüllt sein müssen, indem stäbchen- oder tafelförmige Ausbildung, also relativ große Oberfläche, sich günstig auswirkt. Es ist ferner zu berücksichtigen, daß die idealen geometrischen Formen kaum je eingehalten werden, sondern die Oberflächenentwicklung bei gleicher Gesamtzellenzahl in der Regel noch wesentlich größer sein wird, so daß Teilchen bis zu einigen 100 \AA durch die Oberflächenreaktion zur Zusammensetzung des Triphosphates gebracht werden können.

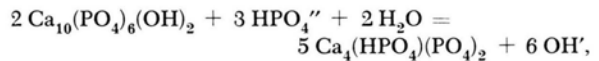
Hiermit stimmt bestens überein, daß die Verbreiterung der Linien der Debyediagramme für die Teilchengröße synthetischer Produkte strittiger Zusammensetzung die Größenordnung 10^{-6} ergibt⁴. Ferner ist verständlich, daß Präparate, welche durch Fällung im Überschuß von Phosphat entstanden sind und analytisch Triphosphat, röntgenographisch aber Apatit sind, erst nach dem Glühen auch das Röntgendiagramm des Triphosphates zeigen, da sich erst der völlige Umbau des Gitters und noch nicht die Oberfläche röntgenographisch zu erkennen gibt.

Es ist ferner von Interesse, daß die Ausbildung von extrem blättchenförmigen Calciumphosphaten im Übergangsgebiet zwischen CaHPO_4 und Hydroxylapatit mehrfach beobachtet und als „Oktocalciumphosphat“ der Formel $\text{Ca}_4(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_2$ beschrieben wurde⁵. Das Debyediagramm entspricht jedoch auch hier weitgehend dem Apatitgitter. Es scheint möglich, daß die extrem 2-dimensionale Ausbildung hier ebenfalls Oberflächenreaktionen begünstigt, oder umgekehrt die Reaktion die Gestalt beeinflusst, nach:

⁴ G. Trömel u. H. Möller, Z. anorg. Chem. **206**, 239 [1932].

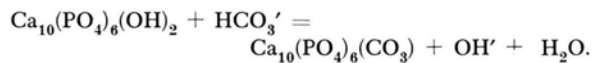
Zellen an jeder Kante	Dimensionen in \AA	Zellenanzahl	Aufzunehmende HPO_4'' -Ionen	Freie Flächen
$6 \times 6 \times 6$	$58 \times 58 \times 42$	216	$144 <$	216
$12 \times 12 \times 12$	$116 \times 116 \times 84$	1728	$1152 >$	864
$12 \times 12 \times 6$	$116 \times 116 \times 42$	864	$576 =$	576
$48 \times 6 \times 6$	$464 \times 58 \times 42$	1728	$1152 <$	1224

Tab. 1. Teilchengröße und Möglichkeit der Oberflächenreaktion an Hydroxylapatit.



so daß auch hier das Hydroxylapatit-Grundgerüst vorliegt, welches bei einer Teilchendicke von zwei Zellen und Aufnahme von durchschnittlich $1\frac{1}{2} \text{ HPO}_4''$ -Ionen pro freie Fläche beliebige Dimensionen in zwei Richtungen annehmen kann, bei Beibehaltung der Zusammensetzung des „Oktophosphates“.

Bei Füllungen von Calciumion mit Phosphat in Gegenwart von Carbonat und p_{H} -Werten von über etwa 6 wird der am schwersten lösliche und darum zuerst ausfallende Hydroxylapatit ebenfalls Gelegenheit haben, das gleichzeitig anwesende Anion zu adsorbieren und Oberflächenreaktionen einzugehen, hier nach:



Wenn auf diese Weise auch nicht der Carbonatgehalt optisch homogener Apatite (Francolith) erklärt werden kann, so läßt sich doch die Annahme vertreten, daß der Carbonatgehalt der Knochen und Zähne so zustande kommt, welche bekanntlich das Hydroxylapatit-Gitter zeigen. Die Größe der Primärteilchen der anorganischen Grundsubstanz beider wird mit einigen 100 \AA bei geringerer Dicke beschrieben und fällt daher durchaus in das Gebiet der hier behandelten Oberflächenreaktionen. Entsprechend verschiedenen Verhältnissen von Phosphat- und Carbonatkonzentration sind verschiedene Zusammensetzungen der Reaktionsprodukte zu erwarten.

Grundsätzlich werden solche die Zusammensetzung beeinflussende Oberflächenreaktionen bei Füllungen von Hydroxyden oder Hydroxysalzen, in Gegenwart von Ionen, die zu sekundärer Abspaltung von Wasserstoffion bei höheren p_{H} -Werten befähigt sind, immer möglich sein. Sie sind formal einem Ionenaustausch gleich, doch scheint im behandelten Gebiet bei normaler Temperatur die Reversibilität nicht leicht nachweisbar zu sein. Bei höherer Temperatur werden die Verhältnisse durch die ansteigende Löslichkeit unkontrollierbar kompliziert.

⁵ P. W. Arnold, Trans. Faraday Soc. **46**, 1061 [1950]; B. Kurmies, Phosphorsäure **13**, 57 [1953].