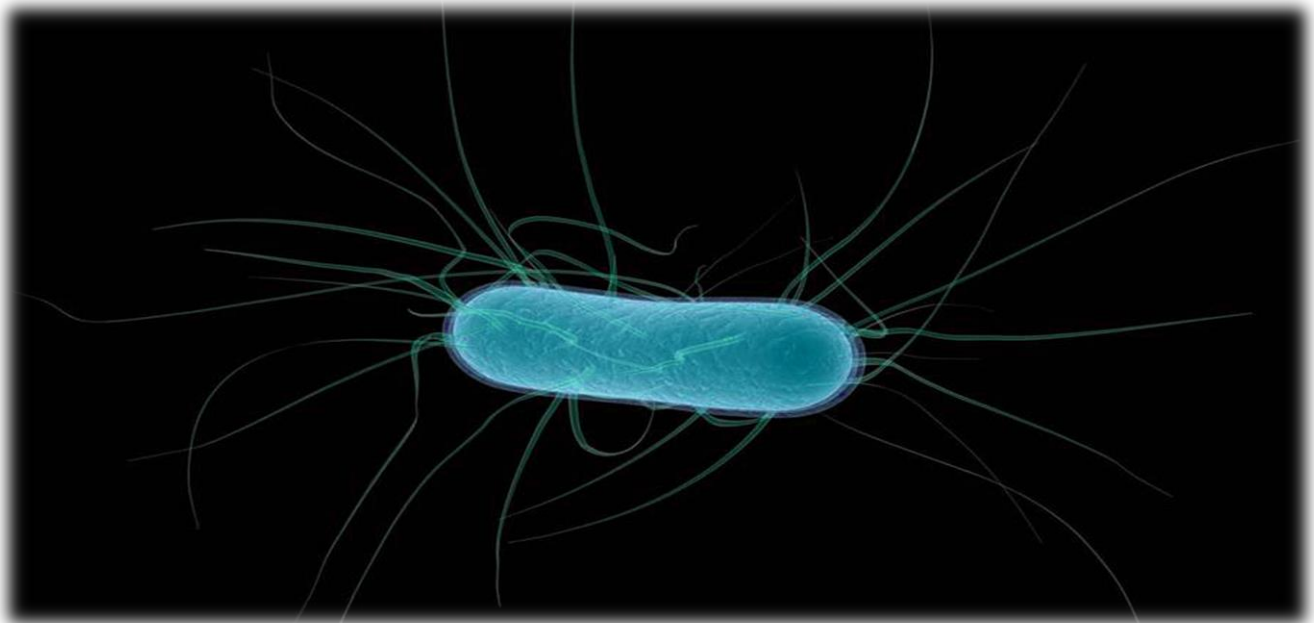
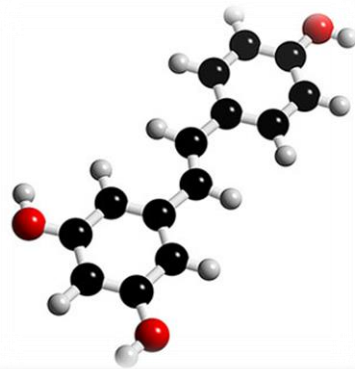


Einfluss von Resveratrol auf die Wirkung von oxidativem Stress bei *Saccharomyces cerevisiae* und *Vibrio fischeri*

Maturaarbeit 2014 im Fach Biologie



Autorin:
Simona Jacquemai
Rigistrasse 12
6210 Sursee
Klasse 6b

Betreuerin:
Konstanze Mez
Dreilindenstrasse 75d
6006 Luzern

Abstract

In dieser Arbeit wurde der Einfluss von Resveratrol auf die Wirkung von oxidativem Stress bei *Saccharomyces cerevisiae* und *Vibrio fischeri* untersucht. Resveratrol ist ein Antioxidans und wird von verschiedenen Pflanzen zur Immunabwehr hergestellt. Dem Stoff wird ausserdem eine heilende Wirkung gegen verschiedene Krankheiten wie zum Beispiel Herzkrankheiten oder Krebs nachgesagt. Pflanzen produzieren Resveratrol zum eigenen Schutz vor UV-Strahlen oder Parasiten. Je gestresster die Pflanze ist, desto mehr Resveratrol produziert sie.

Für die Versuche wurden die beiden Einzeller *Saccharomyces cerevisiae* und *Vibrio fischeri* verwendet. *Saccharomyces cerevisiae* ist eine Hefeart, *Vibrio fischeri* ein Leuchtbakterium. Bei den beiden Einzellern wurde oxidativer Stress anhand von Wasserstoffperoxid und Cumene Hydroperoxide erzeugt. Um den Einfluss von oxidativem Stress auf den Stoffwechsel von *Saccharomyces cerevisiae* zu zeigen, wurde die CO₂-Produktion bestimmt. Bei *Vibrio fischeri* konnte mithilfe eines Lumitesters die Leuchtstärke überprüft werden.

In verschiedenen Experimenten wurde untersucht, ob und wie stark Resveratrol die Reaktion auf oxidativen Stress beeinflusst. Die Hypothese war, dass Resveratrol den oxidativen Stress minimieren kann. Der Stoffwechsel von *Saccharomyces cerevisiae* und *Vibrio fischeri* sollte also mit dem Stressor und Resveratrol dieselbe Leistung erbringen wie ohne Zusatzstoffe.

Es zeigte sich, dass Resveratrol den Stoffwechsel unter Einfluss von oxidativem Stress positiv beeinflusst. Proben, welche mit Resveratrol behandelt wurden, zeigten eine höhere CO₂-Produktion bzw. eine stärkere Biolumineszenz als Proben, die kein Resveratrol enthielten. Die Hypothese konnte somit bestätigt werden.

Inhaltsverzeichnis

1	Einführung	1
1.1	Resveratrol	1
1.2	Oxidativer Stress	2
1.3	Wasserstoffperoxid (H ₂ O ₂) und Cumene Hydroperoxide (CHP)	2
1.4	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3
1.5	<i>Vibrio fischeri</i>	4
1.6	Relative Light Units	4
2	Material und Methoden	6
2.1	Versuche mit <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	6
2.1.1	Ansetzen der <i>S. cerevisiae</i> - Kulturen	6
2.1.2	Messung der CO ₂ -Produktion	6
2.1.3	Versuche mit Resveratrol	7
2.1.4	Oxidationsmittel	7
2.2	Versuche mit <i>Vibrio fischeri</i>	8
2.2.1	Ansetzen von <i>V. fischeri</i>	8
2.2.2	Versuche mit Resveratrol	9
2.2.3	Oxidationsmittel	10
3	Resultate	11
3.1	Experimente mit <i>S. cerevisiae</i>	11
3.2	Experimente mit <i>V. fischeri</i>	14
4	Diskussion	16
4.1	Folgeuntersuchungen	19
4.1.1	Vorinkubationszeit und Metabolisierung von Resveratrol	19
4.1.2	Schaumentwicklung mit H ₂ O ₂	19
4.1.3	Lebensverlängernde Wirkung	19
5	Reflexion	20
6	Literaturverzeichnis	21
7	Bildquellen	23
8	Danksagung	24
9	Anhang	25
10	Redlichkeitserklärung	29

1 Einführung

1.1 Resveratrol

Resveratrol (3, 4',5-*trans*-trihydroxystilben) ist ein natürlich vorkommendes Antioxidans, das zu den Phytoalexinen zählt. Phytoalexine gelten als das Immunsystem von Pflanzen und werden von diesen als Schutz gegen Parasiten und Pilzinfektionen gebildet. Auch bei hohen Ozonbelastungen, UV-Strahlen oder anderem oxidativen Stress (siehe 1.2) wird Resveratrol gebildet. Als Antioxidans kann Resveratrol reaktive Sauerstoffradikale neutralisieren [1]. Resveratrol gilt als „CR-Mimetikum“. Das bedeutet, dass dem Organismus eine Kalorienrestriktion (CR) vorgetäuscht wird. Damit verbunden sind ein geringerer Stoffwechselumsatz und damit weniger oxidativer Stress sowie eine erhöhte DNA-Reparatur. Ausserdem ist Resveratrol für eine verminderte Zellteilungsrate verantwortlich. Durch den verminderten oxidativen Stress hat Resveratrol eine Schutzwirkung gegen Herz-Kreislaufkrankungen sowie eine entzündungshemmende und krebshemmende Wirkung. Diese Effekte sind auf die Kalorienrestriktion zurückzuführen, da wegen der verminderten Nahrungsaufnahme weniger freie Radikale entstehen [2].

Durch die Kalorienrestriktion wird der Körper in eine Art Notstand versetzt. In diesem werden die Zellen unter geringstmöglichem Energieverbrauch repariert. So wird deren Lebensdauer verlängert und Alterungsprozesse und damit verbundene Krankheiten verlangsamt. Damit konnte man die Lebensspanne von gewissen Organismen verlängern [2; 3].

Resveratrol kann als *trans*- und *cis*-Isomere vorkommen. Unter UV-Bestrahlung wird die *trans*-Form in die *cis*-Form umgewandelt. Die *trans*-Form ist jedoch die stabilere der beiden Formen und kommt häufiger vor.

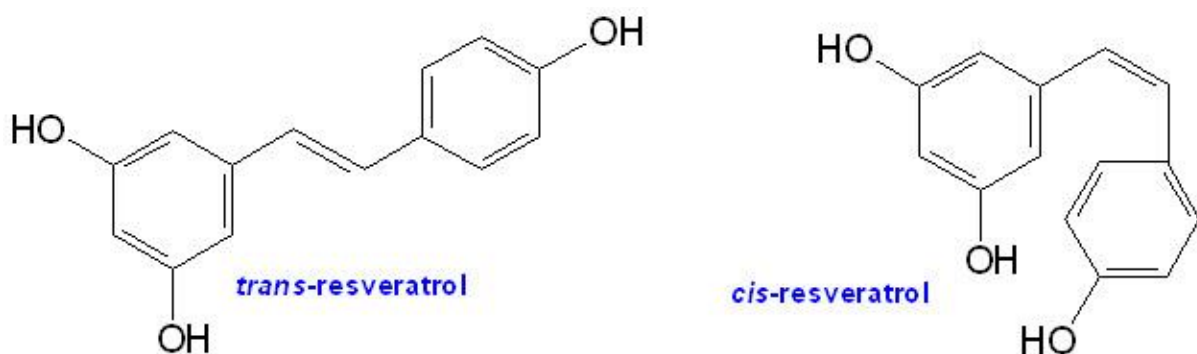


Abb. 1: *trans*- und *cis*-Resveratrol [A]

Resveratrol wurde in vielen Pflanzen und Lebensmitteln gefunden, besonders im japanischen und chinesischen Knöterich (*Polygonum cuspidatum*), aber auch in Himbeeren, Pflaumen und Weintrauben. In roten Weintrauben fand man grössere Mengen an Resveratrol. Folglich ist auch in Rotwein

der Resveratrolanteil hoch, da bei dessen Herstellung viel Resveratrol im Alkohol des Weines gelöst wird. In diesem Zusammenhang kam in den 1980er-Jahren das „französische Paradox“ auf¹.

1.2 Oxidativer Stress

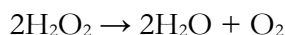
Als oxidativer Stress wird ein unausgeglichener Auf- und Abbau von freien Radikalen bezeichnet. Freie Radikale sind hochreaktive Sauerstoffverbindungen, die ein freies Elektron besitzen. Diese reaktiven Sauerstoffspezies können überall im Körper entstehen, vor allem aber in den Mitochondrien als Nebenprodukt der Atmung. Sie können Schäden an der DNA, an Proteinen und Lipiden verursachen, was unter anderem zur Krebsentstehung beitragen kann. Oxidativer Stress kann zum Zelltod oder, in extremen Fällen, zum Absterben von Gewebe führen. Laut der „Theorie der freien Radikale“ sind freie Radikale der Hauptgrund für den Alterungsprozess [4].

Zellen können als Schutz gegen freie Radikale Substanzen produzieren, welche mit den Radikalen reagieren oder sie katalytisch zerlegen. Dazu gehört zum Beispiel das Enzym Katalase. Die Katalase wandelt die reaktiven Sauerstoffspezies in weniger reaktive Sauerstoffmoleküle und Wasser um. Erst wenn diese Schutzwirkungen nicht mehr einen ausgeglichenen Auf- und Abbau der Radikale gewährleisten, spricht man von oxidativem Stress. Dieser Stress kann durch Krankheiten wie Infektionen oder Bluthochdruck im Körper selbst entstehen. Er kann aber auch durch äussere Faktoren wie zum Beispiel Einnahme von Medikamenten, Zigarettenrauch oder UV-Strahlen hervorgerufen werden [5].

1.3 Wasserstoffperoxid (H₂O₂) und Cumene Hydroperoxide (CHP)

In dieser Arbeit wurden Wasserstoffperoxid (H₂O₂) und Cumene Hydroperoxide (C₉H₁₂O₂) als oxidative Stressfaktoren eingesetzt. Beide Stoffe gehören zur Gruppe der Oxidationsmittel. Sie wirken reizend, antibakteriell und oxidierend. Für Cumene Hydroperoxide wird in dieser Arbeit der englische Ausdruck verwendet, da er geläufiger ist als der deutsche.

Wasserstoffperoxid wird durch das Enzym Katalase zu Wasser und Sauerstoff abgebaut:



Der Zerfall zu Wasser und Sauerstoff wird vor allem durch Metalle, Licht, Wärme und Katalysatoren beschleunigt. Beim Zerfall entsteht in Flüssigkulturen Schaum durch die Sauerstofffreisetzung. *Saccharomyces cerevisiae* besitzt das Enzym Katalase. Im weiteren Verlauf der Arbeit wurde aus diesem Grund anstelle von Wasserstoffperoxid CHP verwendet. CHP wird nicht durch die Katalase umgewandelt, weshalb es besser für die Arbeit mit *Saccharomyces cerevisiae* geeignet ist. [6].

¹ Die Beobachtung, dass Franzosen weniger Herzinfarkte erleiden als Amerikaner, obwohl sie ähnlich viel rauchen und gleich viel Fett konsumieren, führte zur Annahme, dass der Rotweinkonsum einen positiven Effekt auf Herzkrankheiten hat [20; 22].

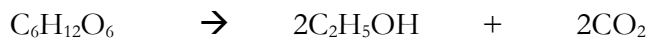
1.4 *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae gehört zu den Hefen (und damit zu den Pilzen) und wird auch Back- oder Bierhefe genannt. Hefen gehören zu den Eukaryoten, besitzen also einen Zellkern und eine Zellwand. Sie sind zwischen 5 und 10 µm gross [7].

Der Stoffwechsel von *S. cerevisiae* verläuft fakultativ anaerob. Das bedeutet, dass sie durch Zellatmung oder durch Gärung Energie gewinnen kann. Die Hefe verwendet für den Energiestoffwechsel vor allem Zucker. Verläuft der Stoffwechsel aerob, also mit Sauerstoff, so entsteht dabei CO₂ aus der Atmung.



Verläuft er hingegen anaerob, ohne Sauerstoff, so wird Ethanol produziert. Dieser Vorgang wird alkoholische Gärung genannt.



Für die Vermehrung der Hefe sind ca. 28°C optimal. Unter guten Bedingungen kann sich die Hefemasse innerhalb von zwei Stunden verdoppeln. Ausschlaggebend für das Wachstum sind die Sauerstoffkonzentration und der Zuckergehalt im Medium [8].

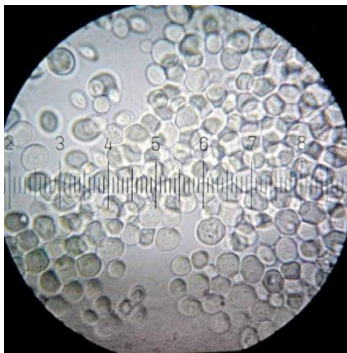


Abb. 2: Zellen von *S. cerevisiae*. Ein Teilstrich entspricht 1 µm [B]



Abb. 3: Schäumende *S. cerevisiae* nach Zugabe von Glucose

1.5 *Vibrio fischeri*

Vibrio fischeri, auch *Aliivibrio fischeri* genannt, ist ein Leuchtbakterium und wurde 1889 von Martinus Willem Beijerinck entdeckt. Es ist gramnegativ². Das Bakterium ist fakultativ anaerob, kann also unter sauerstoffreichen, sowie unter sauerstoffarmen Bedingungen überleben. Es ist ausserdem biolumineszent (siehe 1.6), das bedeutet, dass es selbst Licht produzieren kann. Aufgrund dieser Fähigkeit lebt es häufig in Symbiosen. Viele Meereslebewesen, wie zum Beispiel Heringe oder Kalmare, nutzen diese Biolumineszenz zur Jagd, Tarnung oder Kommunikation [9].

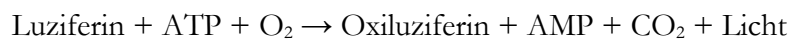


Abb. 4: *Euprymna scolopes* lebt in Symbiose mit *V. fischeri* [C]

V. fischeri wird vor allem zur Kontrolle der Wasserqualität verwendet, denn die Leuchtstärke und die Vermehrung des Bakteriums passen sich dieser an, es ist ein Indikator der Wasserqualität. Das Bakterium ist schnell und einfach zu kultivieren weshalb es sich gut eignet. Die Wasserproben werden mit NaCl angereichert und mit den Leuchtbakterien beimpft. Anschliessend wird die Leuchtstärke gemessen. Nach 30 Minuten wird die Messung wiederholt, da die Bakterien die Leuchtstärke der Wasserqualität anpassen [9].

1.6 Relative Light Units

Die Leuchtstärke der *V. fischeri* wurde mit Hilfe der relativen Grösse RLU (Relative Light Units) gemessen. *V. fischeri* erzeugt in chemischen Prozessen Licht. Bei Bakterien findet dieser Vorgang in Zytoplasma statt. Es handelt sich bei der Reaktion um eine Oxidationsreaktion: Durch das Enzym Luziferase wird Luziferin mit Sauerstoff oxidiert. Es entsteht Oxiluziferin, welches sich in einem energiereichen Zustand befindet. Unter Abgabe von Licht wird Oxiluziferin wieder in Luziferin abgebaut und es entsteht AMP und CO₂.



² Gramnegativ ist ein Ausdruck der Gram-Färbung. Bei diesem Vorgang werden Bakterien zur Identifizierung zuerst mit einem Farbstoff eingefärbt und anschliessend mit Ethanol nachbehandelt. Durch diesen Vorgang lassen sich Bakterien in zwei Gruppen unterteilen, denn sie haben einen unterschiedlichen Aufbau der Zellwände. Diese Zellwand wird je nach Aufbau bei der Gram-Färbung anders eingefärbt [23].

Das Leuchtsystem ist direkt an die Atmungskette und den ATP_Pool des Bakteriums gekoppelt. Ein Rückgang der Lichtintensität bedeutet somit eine Störung des Stoffwechsels und verhält sich proportional zur Stärke der Verschmutzung des Wassers [10; 11].

Es konnte gezeigt werden, dass Resveratrol auch einen Einfluss auf die mitochondriale Atmungskette hat. Die Kapazität der Mitochondrien wurde gesteigert. Dadurch liegt ein höherer Sauerstoffverbrauch vor. Die Leuchtstärke von *V. fischeri* ist direkt von der Atmungskette abhängig. Da Resveratrol die Aktivität der Mitochondrien beeinflusst, ist eine veränderte Leuchtstärke der Bakterien messbar [12].

Biolumineszenz kann auch aufgrund von oxidativem Stress hervorgerufen werden. Durch die Abgabe von Licht kann oxidativer Stress abgebaut werden [13].

2 Material und Methoden

2.1 Versuche mit *Saccharomyces cerevisiae*

2.1.1 Ansetzen der *S. cerevisiae* - Kulturen

7 g getrocknete *S. cerevisiae* aus der Migros (LOT-Nummern: 275 D8, 063 AD13, 063 AD6) wurden in 100 ml Leitungswasser eingerührt. Das Wasser war bei allen Versuchen zu Beginn zwischen 29°C und 31°C warm. Das Wasser kühlte sich im Verlauf des Versuchs auf Zimmertemperatur (ca. 20° C) ab. Die getrocknete *S. cerevisiae* wurde anschliessend während 15 min rehydriert. Danach wurden 2.5 g Glucose (MORGA AG, Ebnet-Kappel) eingerührt. Nach weiteren 5 min konnte die Suspension verwendet werden.

In allen Versuchen mit *S. cerevisiae* wurden jeweils 6 ml der Suspension verwendet. Diese Vorbereitung der *S. cerevisiae* Suspension beruht auf einem Zuckerstoffwechselexperiment mit Hefe aus dem Novartis Schullabor (siehe Anhang Abb. 18: Anleitung zur Vorbereitung von *S. cerevisiae*).

2.1.2 Messung der CO₂-Produktion

Zur Kontrolle der Stoffwechselaktivität wurde die CO₂-Produktion von *S. cerevisiae* gemessen. Dafür wurden Vernier CO₂-Sensoren verwendet. Der Sensor kann CO₂-Konzentrationen von 0-10'000 ppm und von 0-100'000 ppm aufzeichnen. Die Daten wurden mit einem Vernier LabQuest 2 aufgezeichnet. Beide Geräte wurden von der Novartis zur Verfügung gestellt.



Abb. 5: Zwei Vernier CO₂-Sensoren mit je 6 ml *S. cerevisiae*-Suspension

2.1.3 Versuche mit Resveratrol

Aufgrund der geringen Löslichkeit in Wasser (0.03 g/l) wurde das Resveratrol in 50 % Ethanol gelöst [14]. In den Versuchen wurde aus diesem Grund auch die Reaktion von *S. cerevisiae* auf Ethanol getestet. Die verwendeten Konzentrationen sind jedoch zu gering, um einen Effekt auf den Stoffwechsel zu haben [15]. Das Resveratrol wurde von Evolva zur Verfügung gestellt. Die Firma stellt es aus Hefe her. Das Resveratrol wurde pulverförmig geliefert.

Resveratrol wurde zunächst in Konzentrationen von 10 μ M und 100 μ M getestet. Die Konzentration von 100 μ M zeigte bei *S. cerevisiae* eine Stoffwechsel anregende Wirkung (siehe Abb. 12: Änderung der CO₂-Produktion bei *S. cerevisiae* nach der Zugabe von verschiedenen Resveratrolkonzentrationen. Diese Konzentration wurde in den weiterführenden Experimenten verwendet.



Abb. 6: Gelöstes Resveratrol in 50% Ethanol

Damit das Resveratrol in die Zellen gelangen konnte, wurde es zuerst mit *S. cerevisiae* vorinkubiert. Nach 60 min wurde das Cumene Hydroperoxide zur *S. cerevisiae* - Suspension hinzugefügt und es wurde mit der Messung begonnen. Damit sollte eine rein chemische Reaktion zwischen Oxidationsmittel und Resveratrol ausgeschlossen werden [16].

2.1.4 Oxidationsmittel

Nach umfangreichen Vorversuchen hat sich gezeigt, dass Hefe auf H₂O₂ mit starker Schaumentwicklung reagiert (siehe Anhang, Abb. 20: Änderung der CO₂-Konzentration der *S. cerevisiae* nach Zugabe von H₂O₂ (5%). Aus diesem Grund wurde nicht weiter mit H₂O₂ gearbeitet.

Cumene Hydroperoxide wurde in den Konzentrationen 0.3 mM, und 0.3 M getestet. Die Konzentrationen zeigten jedoch innerhalb von 10 min keine Wirkung auf die Zellen von *S. cerevisiae*. In den weiteren Versuchen wurden die Konzentration von 0.1 M und eine Messzeit von 60 min verwendet, da diese den deutlichsten Unterschied zeigte (siehe Abb. 11: Änderung der CO₂-Produktion

bei *S. cerevisiae* nach der Zugabe von CHP. Die Konzentration von CHP konnte von 0.3 M auf 0.1 M gesenkt werden, da diese Konzentration nach 60 min bereits eine Wirkung auf *S. cerevisiae* zeigte.

2.2 Versuche mit *Vibrio fischeri*

2.2.1 Ansetzen von *V. fischeri*

Ein paar Tage vor den Versuchen wurde das Nährmedium (2 l) für *V. fischeri* hergestellt. Die gefriergetrockneten Leuchtakterien wurden mit 5 ml Reaktivierungslösung nach Anleitung des Herstellers gemischt [17]. Nach 15 min konnten die reaktivierten Bakterien in 250 ml Nährmedium geschüttet werden. Die Bakterien wurden über Nacht bei ca. 300 rpm auf dem Magnetrührer gerührt und so vermehrt. Durch das Rühren wurden die Bakterien mit Sauerstoff versorgt. Erst ab einer bestimmten Bakteriendichte leuchten die Bakterien und können für den Lumineszenztest verwendet werden [16]. Die für die Experimente benötigten *V. fischeri* wurden von der Novartis zur Verfügung gestellt.

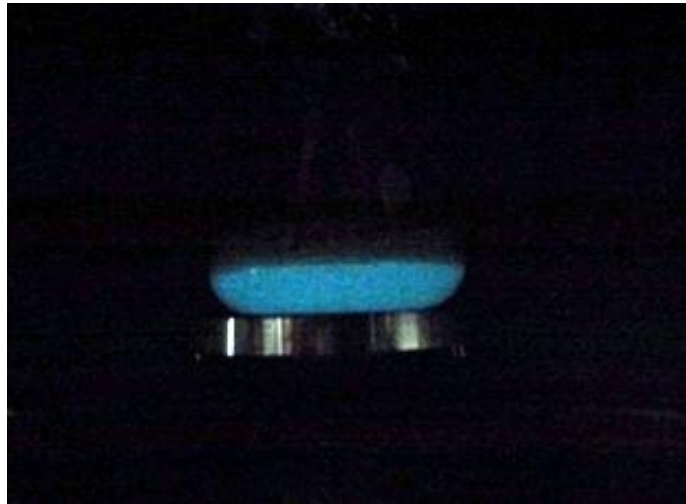


Abb. 7: *V. fischeri* in einem Erlenmeyerkolben auf dem Magnetrührer

Für die Messung der Leuchtkraft wurde eine Küvette im Luminometer (LUMITESTER PD-10, Kikkoman, Japan) mit 1 ml Flüssigkeit gefüllt. Die Bakterien wurden für die Messung mit einer 2%igen wässrigen NaCl-Lösung 1:1 verdünnt. Es zeigte sich, dass verdünnte Bakterien heller leuchten als nicht verdünnte. Die Suspension bestand aus 0.5 ml 2%NaCl-Lösung und 0.5 ml Bakterienkulturlösung, in der sich auch das gelöste Resveratrol bzw. das CHP befand [17].



Abb. 8: Küvetten mit je 0.5 ml 2% NaCL-Lösung

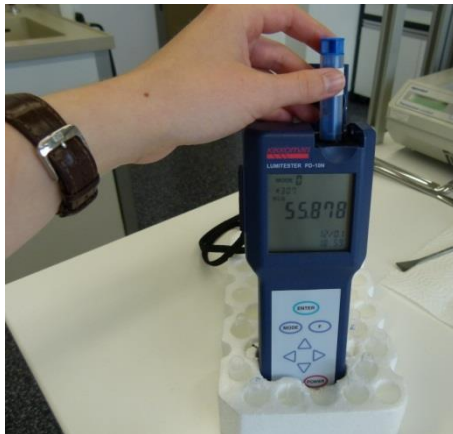


Abb. 10: Küvette wird mit Hilfe des Applikators in den Luminometer gesteckt



Abb. 9: Luminometer mit einem Messwert (RLU)

Bei der Verwendung des LUMITESTER PD 10-N sind die Kommastellen zu beachten. Der Luminometer zeigt im Display Kommastellen an, das sind aber keine Nachkommastellen, sondern 1000er-Stellen.

z.B 43.982 = 43982

2.2.2 Versuche mit Resveratrol

Wie in den Versuchen mit *S. cerevisiae* wurde zuerst die Reaktion der *V. fischeri* auf Resveratrol, Ethanol und Cumene Hydroperoxide getestet.

In verschiedenen Experimenten [18] wurde gezeigt, dass Resveratrol ab einer gewissen Menge toxisch wirkt. Aus diesem Grund wurden hier geringe Konzentrationen verwendet: 5 μ M, 10 μ M und

20 μM Resveratrol. Die Lumineszenz wurde jeweils drei Mal gemessen. Aus diesen Werten wurde der Mittelwert berechnet. Während 30 Minuten wurde alle fünf Minuten die Lumineszenz mithilfe des Lumitesters kontrolliert. Aufgrund der erhaltenen Resultate wurde die Konzentration von 10 μM Resveratrol in 50 % Ethanol weiterverwendet (siehe Abb. 16). Das Ethanol selbst zeigte keinen Einfluss auf die Leuchtkraft von *Vibrio fischeri* (siehe Anhang Abb. 19).

Bei Messungen in denen Resveratrol und Cumene Hydroperoxide kombiniert wurden, wurde das Resveratrol wiederum 60 min früher mit den *V. fischeri* vorinkubiert und erst dann CHP hinzugegeben. Nach Zugabe von CHP wurde mit der Messung begonnen.

2.2.3 Oxidationsmittel

Bei CHP wurden die Konzentrationen von 0.15 mM und 0.3 mM getestet [13]. Da die Resultate in den Vorversuchen nicht eindeutig waren, wurden beide Konzentrationen für die folgenden Experimente weiterverwendet (siehe Abb. 15).

3 Resultate

3.1 Experimente mit *S. cerevisiae*

Die CO₂-Produktion wurde während 60 min gemessen. Mithilfe der Nullprobe konnte die CO₂-Entwicklung ohne Zugabe von weiteren Stoffen wie Cumene Hydroperoxide oder Resveratrol verfolgt werden. Die CO₂-Produktion wird in Prozent angegeben, um die Werte besser vergleichen zu können.

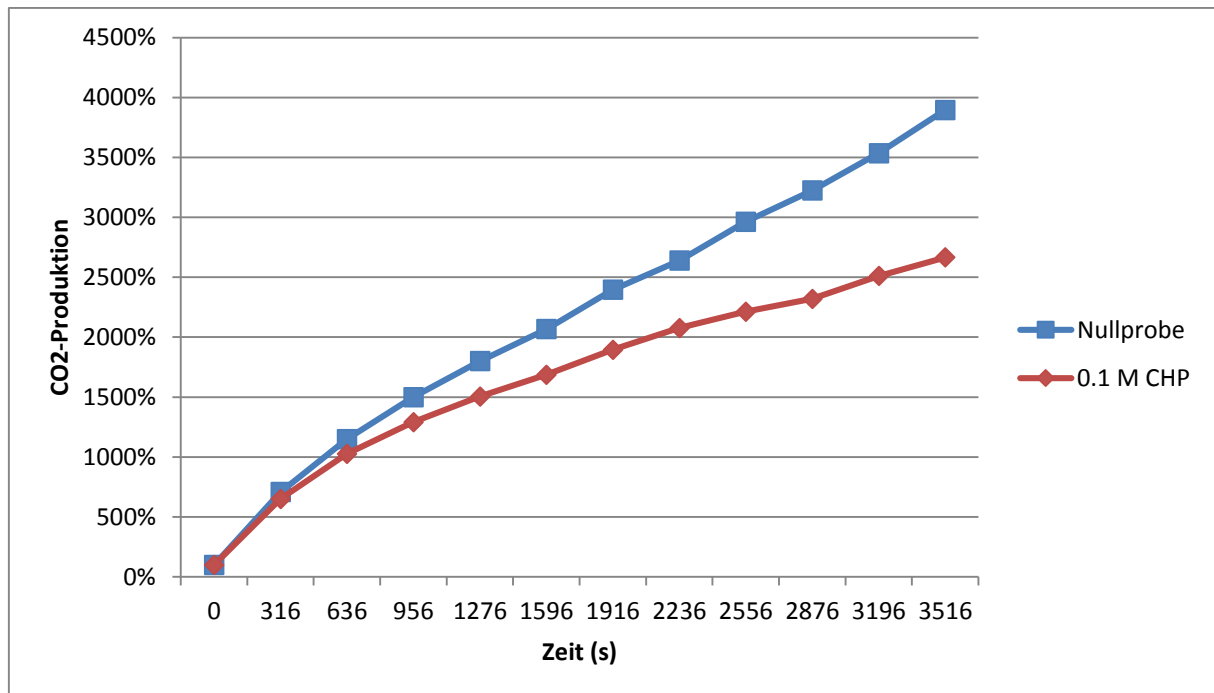


Abb. 11: Änderung der CO₂-Produktion bei *S. cerevisiae* nach der Zugabe von CHP

Die Grafik zeigt den Einfluss von CHP auf *S. cerevisiae*. Als Vergleich dient die Nullprobe, welche kein CHP enthält.

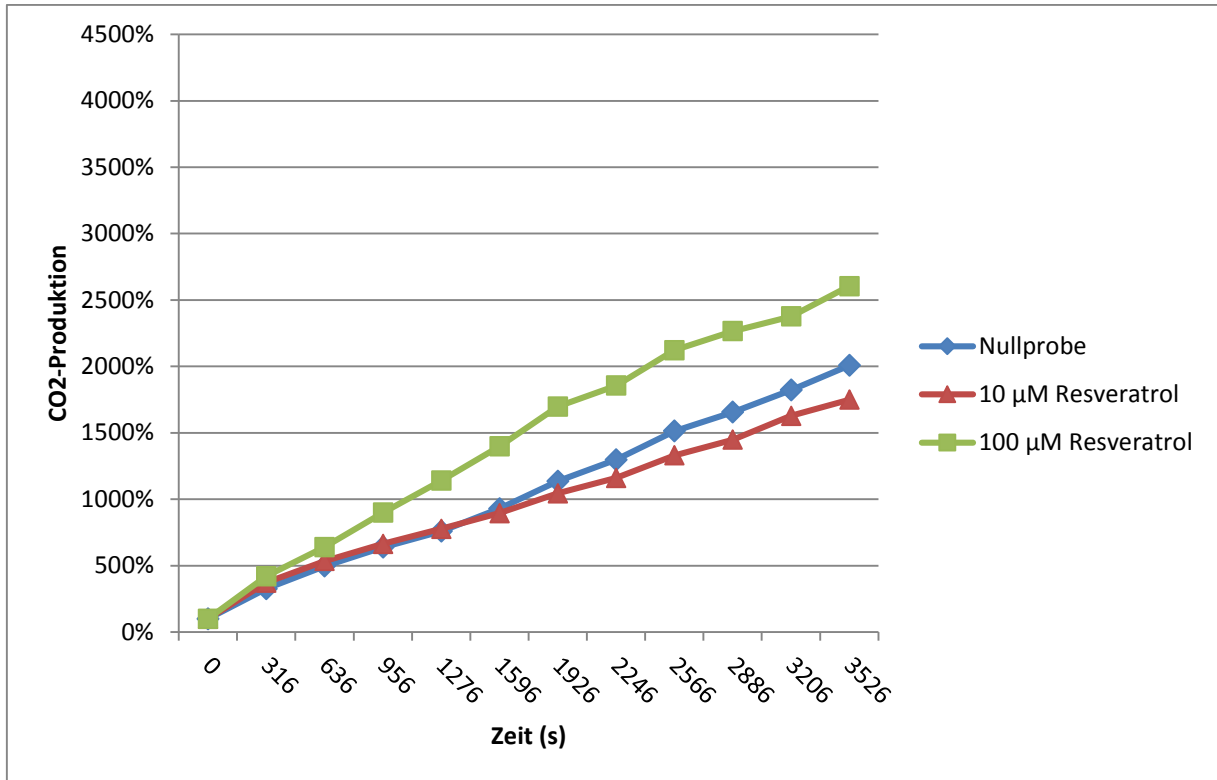


Abb. 12: Änderung der CO₂-Produktion bei *S. cerevisiae* nach der Zugabe von verschiedenen Resveratrolkonzentrationen

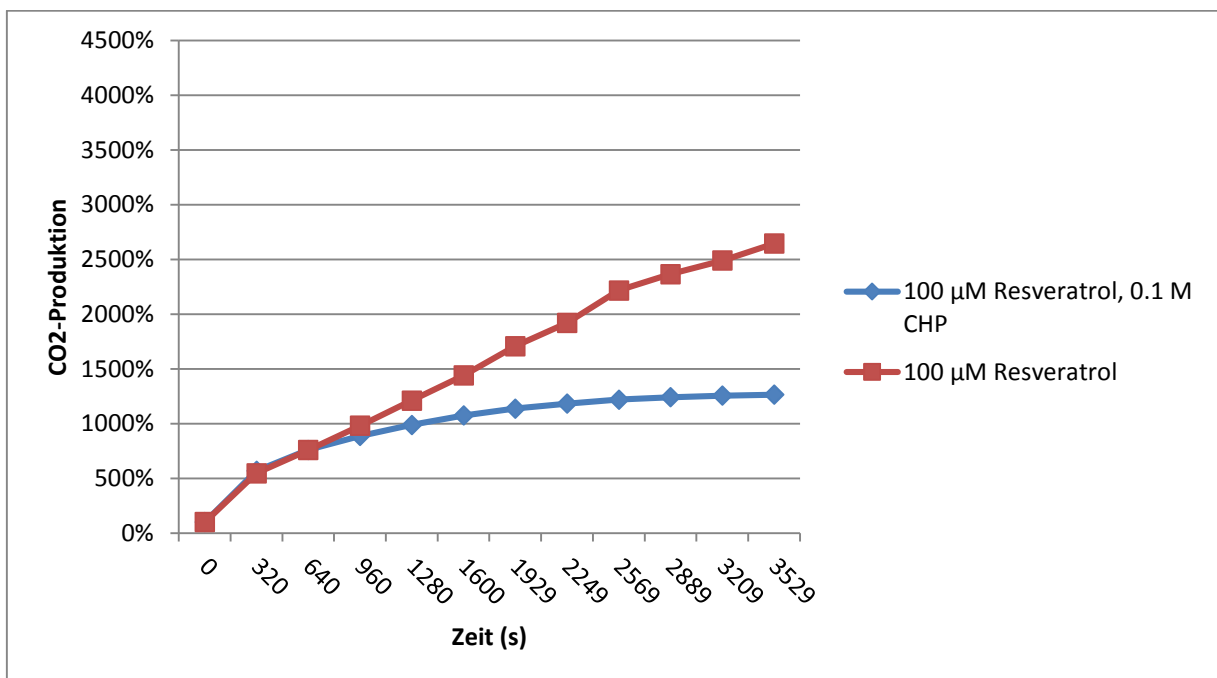


Abb. 13: Änderung der CO₂-Produktion bei *S. cerevisiae* nach der Zugabe von Resveratrol (60 min vor Messbeginn) und Cumene Hydroperoxide

Beiden Proben wurde Resveratrol zugegeben. Die Probe, die durch die blaue Kurve dargestellt wird, enthält zusätzlich CHP. In der Grafik wird die CO₂-Produktion von *S. cerevisiae* unter Einfluss von Resveratrol mit und ohne CHP verglichen.

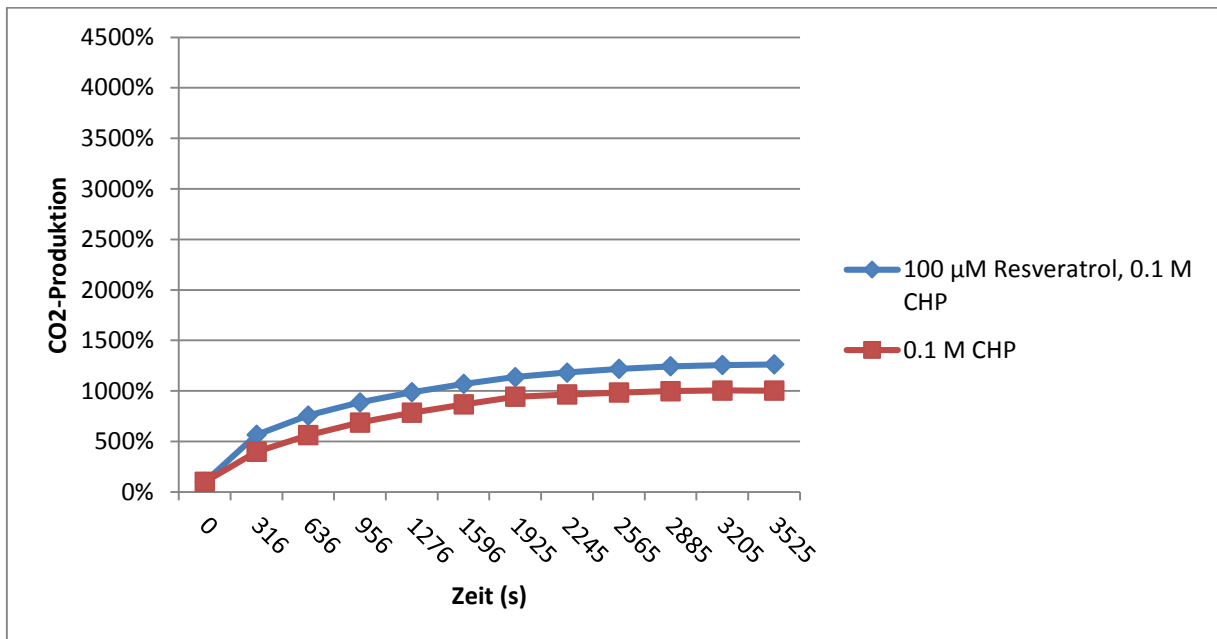


Abb. 14: Änderung der CO₂-Produktion bei *S. cerevisiae* nach der Zugabe von Resveratrol (60 min vor Messbeginn) und Cumene Hydroperoxide

Im Vergleich zu Abb. 13 enthalten hier beiden Proben CHP. Die blaue Kurve zeigt, wie sich die CO₂-Produktion entwickelt, wenn Resveratrol zugegeben wurde.

3.2 Experimente mit *V. fischeri*

Die Leuchtkraft einer Probe wurde während 30 Minuten gemessen. Damit die Abbildungen besser lesbar und vergleichbar sind, wird die y-Achse bei allen Graphiken zwischen 30 % und 130 % angezeigt.

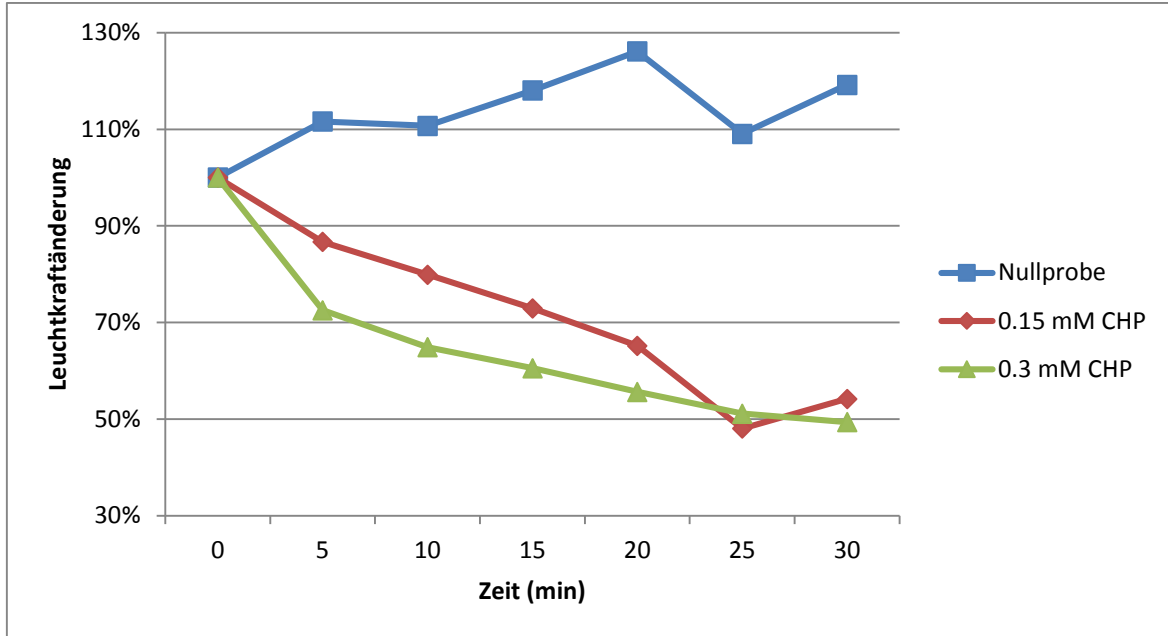


Abb. 15: Leuchtkraftänderung bei *V. fischeri* nach der Zugabe von verschiedenen Konzentrationen Cumene Hydroperoxide (CHP)

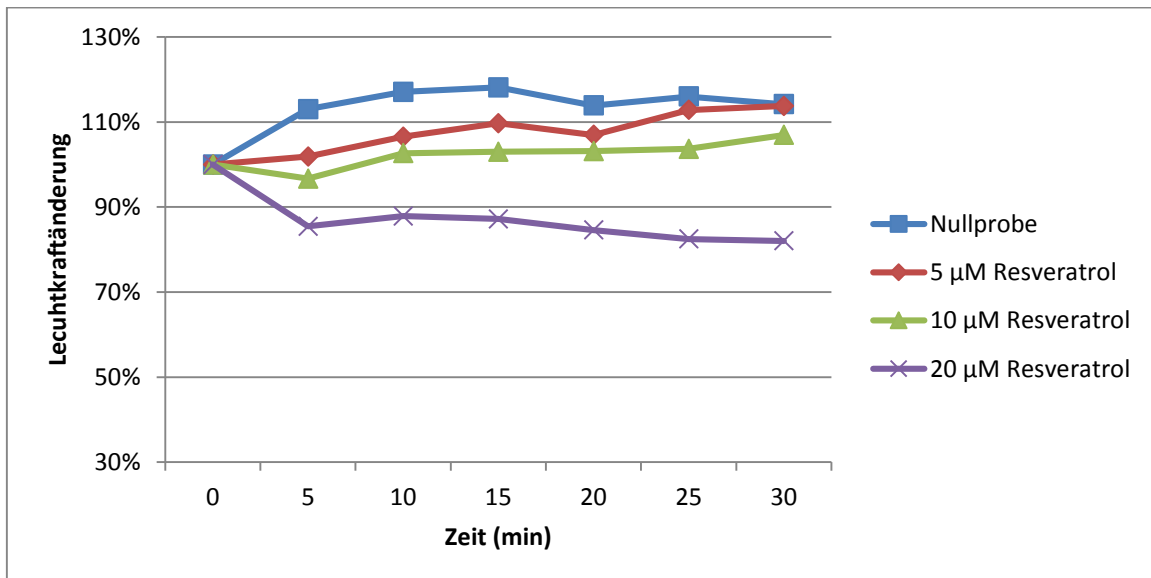


Abb. 16: Leuchtkraftänderung bei *V. fischeri* bei Zugabe von verschiedenen Resveratrolkonzentrationen

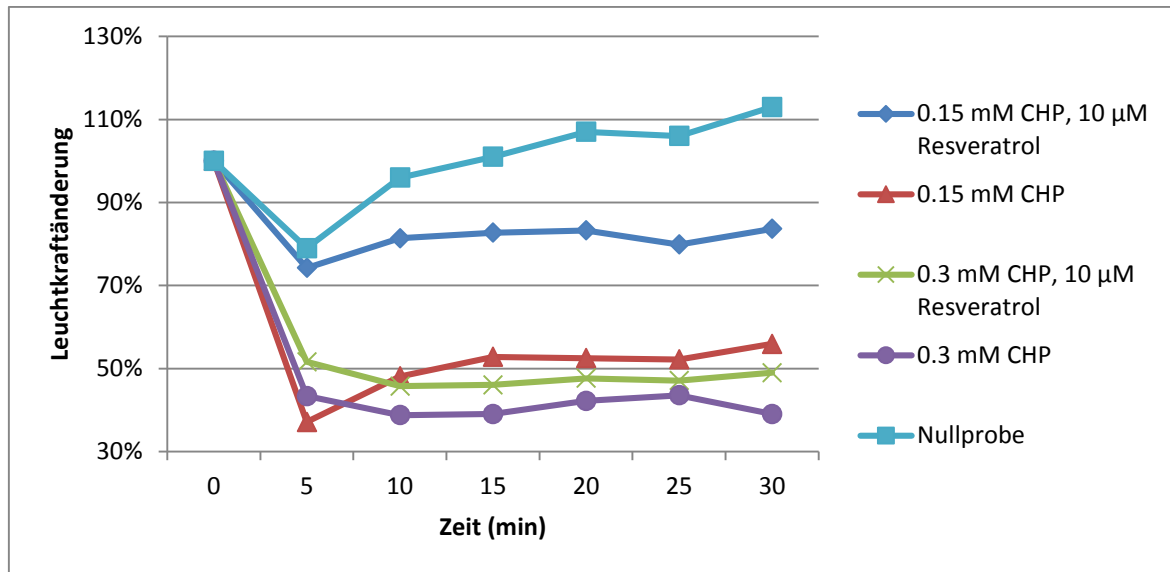


Abb. 17: Leuchtkraftänderung bei *V. fischeri* nach der Zugabe von Resveratrol und CHP in verschiedenen Konzentrationen

Die hellblaue Kurve in Abb. 17 zeigt die Nullprobe. Dieser Probe von *V. fischeri* wurde weder CHP noch Resveratrol zugefügt. Zu vergleichen sind die dunkelblaue und die rote Kurve. Diesen zwei Proben mit *V. fischeri* wurde je 0.15 mM CHP hinzugefügt. Die Probe, die durch die dunkelblaue Kurve dargestellt wird, enthält zusätzlich 10 µM Resveratrol.

Auch die grüne und die violette Kurve können verglichen werden. Beide Proben enthalten 0.3 mM CHP. Die Probe, die durch die grüne Kurve dargestellt wird, enthält zusätzlich 10 µM Resveratrol. Man sieht bei der dunkelblauen und der grünen Kurve die Wirkung, die Resveratrol auf den durch CHP gestressten Stoffwechsel hat.

4 Diskussion

In dieser Arbeit wurde der Einfluss von Resveratrol auf oxidativen Stress bei *S. cerevisiae* und *V. fischeri* untersucht. Oxidativer Stress kann einen erheblichen Einfluss auf den Stoffwechsel verschiedener Organismen haben. Resveratrol, ein Antioxidans, wurde auf eine Schutzwirkung gegen diesen Stress untersucht.

In Abb. 12 ist die Änderung der CO₂-Konzentration bei *S. cerevisiae* nach der Zugabe von verschiedenen Resveratrolkonzentrationen ersichtlich. Die CO₂-Konzentration der Hefe mit 100 µM Resveratrol ist nach 60 min um 500% höher als die der Nullprobe. Hier zeigt sich ein stoffwechselfördernder Effekt von Resveratrol auf *S. cerevisiae*. Dies widerspricht der Annahme, dass Resveratrol eine Kalorienrestriktion vortäuscht und den Stoffwechsel hinuntergefahren wird. Die zweite Resveratrolkonzentration, 10 µM, scheint hingegen eine Verminderung der CO₂-Produktion hervorzurufen. Dieses Experiment wurde nur einmal durchgeführt. Aufgrund der geringen Datengrundlage kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, ob es sich bei den Resultaten um eine tatsächliche stoffwechselfördernde bzw. -einschränkende Wirkung handelt, oder ob das Ergebnis nur Zufall war. Mit Sicherheit spielt aber die Alkoholkonzentration keine Rolle für den Stoffwechsel. Die Ethanol-Toleranz liegt bei der Hefe zwischen 5% und 23%. Das kann je nach Art schwanken [15]. Um die Resveratrolkonzentration von 100 µM zu lösen, wurden 6.8 µl Ethanol zu 6 ml Hefesuspension zugefügt. Das entspricht einer Konzentration von etwa 0.1%.

In Abb. 14 ist die Änderung der CO₂-Konzentration bei *S. cerevisiae* nach der Zugabe von Resveratrol und CHP ersichtlich. Die Hefeprobe mit 100 µM Resveratrol und 0.1 M CHP zeigt nach 60 min Messzeit eine höhere CO₂-Produktion als die Probe, die 0.1 M CHP aber kein Resveratrol enthält. Dieses Experiment zeigt den Einfluss von Resveratrol auf den gestressten Stoffwechsel. Offenbar kann der Stoffwechsel von *S. cerevisiae* eher mit oxidativem Stress umgehen, wenn Resveratrol zugegeben wurde.

Bei *S. cerevisiae* schwankt die CO₂-Produktion zwischen 1000 und 4000 %. Diese grossen Unterschiede sind auf verschiedene Ursachen zurückführbar. Für die Messung wurden jeweils 6 ml der Hefesuspension pipettiert. Aufgrund der starken Schaumentwicklung der Hefe (entweichendes CO₂, siehe Abb. 3) war es schwierig, diese Menge genau zu bestimmen. Weiter konnte auch die Wassertemperatur leicht schwanken (zwischen 29° und 31° C zu Beginn des Versuchs). Die Wassertemperatur beeinflusst die Atmungs- und Gärungsrate. Die Hefe löste sich nicht in allen Fällen gleich gut im Wasser. Es kam vor, dass sie am Boden des Erlenmeyerkolbens klebte und sich durch Schwenken und Rühren nicht lösen liess. Dadurch konnten die Hefezellen langsamer rehydriert und die CO₂-Produktion eingeschränkt werden.

Zu Beginn der Versuchsreihe betrug die Messzeit der CO₂-Produktion 10 min. Es wurde nicht beachtet, dass Resveratrol möglicherweise eine Einwirkzeit auf die Zellen benötigt. Während den Laborversuchen bei der Novartis in Basel wurde die Messzeit von 10 Minuten auf 60 Minuten erhöht. Das Resveratrol wurde ausserdem 60 Minuten vor Messbeginn zugegeben, um besser auf die Zellen wirken zu können.

Resveratrol hat einen Einfluss auf die mitochondriale Atmungskette. Die Aktivität der Mitochondrien wird angeregt, dabei wird ein grösserer Sauerstoffverbrauch erzeugt. Da die Leuchtstärke von *V. fischeri* direkt von der Atmungskette abhängig ist, kann Resveratrol die Leuchtkraft beeinflussen [12]. In Abb. 17 ist die Leuchtkraftänderung bei *V. fischeri* nach der Zugabe von Resveratrol und CHP in verschiedenen Konzentrationen zu sehen. Die Proben, die Resveratrol enthalten, geben mehr Licht ab, als die Proben, welche kein Resveratrol enthalten. Bei allen Proben wird die Leuchtstärke durch CHP eingeschränkt, allerdings nicht bei allen gleich stark. Je höher die CHP-Konzentration ist, desto mehr nimmt die Leuchtstärke ab. Enthält die Probe zusätzlich Resveratrol, so ist die Leuchtstärke wieder zu. Diese Resultate bestätigen die Hypothese, dass Resveratrol oxidativen Stress mindern kann.

In Abb. 16: Leuchtkraftänderung bei *V. fischeri* bei Zugabe von verschiedenen Resveratrolkonzentrationen ist die Leuchtkraftänderung bei *V. fischeri* bei Zugabe von verschiedenen Resveratrolkonzentrationen zu sehen. Es ist erkennbar, dass die Leuchtstärke bei allen Proben gemindert ist, verglichen mit der Nullprobe. Es hat den Anschein, dass Resveratrol ohne oxidativen Stress keinen stoffwechselfördernden Effekt auf *V. fischeri* hat. In Verbindung mit CHP wirkt Resveratrol aber stoffwechselanregend auf die Bakterien (siehe Abb. 17).

In Abb. 17: Leuchtkraftänderung bei *V. fischeri* nach der Zugabe von Resveratrol und CHP in verschiedenen Konzentrationen ist die Leuchtkraftänderung bei *V. fischeri* nach der Zugabe von Resveratrol und CHP in verschiedenen Konzentrationen zu sehen. Nach 5 min Messzeit bricht bei allen fünf Versuchsreihen die Leuchtstärke stark ein. Dies könnte ein Stoffwechselschock sein, denn kurz zuvor, vor Beginn der Messung, wurde allen Proben 0.15 mM oder 0.3 mM CHP zugegeben. Der Stoffwechsel von *V. fischeri* wird von oxidativem Stress beeinflusst, wodurch die Leuchtkraft abnimmt. Jedoch weist auch die Nullprobe eine verminderte Leuchtkraft zu Beginn der Messung auf. Der Nullprobe wurde weder CHP noch Resveratrol beigefügt, es kann also nicht an diesen zwei Wirkstoffen liegen. Es konnte nicht geklärt werden, aus welchem Grund bei allen Proben die Leuchtstärke unmittelbar nach Versuchsbeginn abnimmt. Diese Reaktion ist nur bei diesem Experiment aufgetreten. Bei anderen Versuchen trat dieser Effekt nicht auf. Es ist jedoch zu beobachten, dass die Proben, die Resveratrol enthalten, weniger stark eingeschränkt werden als die Proben, die kein Resveratrol enthalten. Bei den Proben mit Resveratrol erholte sich der Stoffwechsel schneller von CHP als bei den Proben, die kein Resveratrol enthalten. Um zu sehen, ob sich dieser Effekt wiederholt, müssten die Experimente erneut durchgeführt werden. Dies konnte aufgrund zeitlicher Einschränkungen nicht gemacht werden.

Ein Problem in dieser Arbeit war die Löslichkeit von Resveratrol. In Wasser beträgt sie 0.03 g pro Liter. Die Löslichkeit in Öl und Ethanol (50 g pro Liter) ist wesentlich höher. Jedoch waren letztere Substanzen für Untersuchungen mit *S. cerevisiae* und *V. fischeri* ungünstig, da der Alkohol zellschädigend wirkt und Öl oder Fett keine Wirkung auf die wässrigen Lösungen der beiden Einzeller gehabt hätte. In dieser Arbeit wurden nur geringe Resveratrolkonzentrationen zwischen 5 μM und 100 μM verwendet, wodurch die tatsächliche Ethanolkonzentration so klein war, dass sie keinen messbaren Einfluss auf den Stoffwechsel hatte [14].

Es war schwierig abzuschätzen, in welchen Konzentrationen Resveratrol und CHP zu verwenden waren. Evolva, ein Unternehmen, das Resveratrol aus Hefe gewinnt, legt keine Resultate vor zur

Wirkung von Resveratrol auf *S. cerevisiae*, *V. fischeri* oder andere Bakterien. Die Konzentration musste getestet werden. Daraus ergab sich, dass Resveratrol in hohen Konzentrationen toxisch wirken kann [18]; (siehe Abb. 22).

H₂O₂, das zu Beginn der Experimente als Auslöser von oxidativem Stress verwendet wurde, zeigte in Verbindung mit *S. cerevisiae* eine starke Schaumentwicklung. Ausserdem wurde eine erhöhte CO₂-Konzentration gemessen (siehe Abb. 20). Vermutlich ist diese Reaktion auf die Katalase der Hefe zurückzuführen. Allerdings würde bei dieser Reaktion auch Sauerstoff entstehen (siehe 1.3). Zur Kontrolle wurde bei einem weiteren Experiment auch die Sauerstoffkonzentration gemessen (siehe Abb. 21). Die CO₂-Konzentration stieg bei der Messung wiederum stark an, während die Sauerstoffkonzentration unverändert bei 19% - 20% blieb. Es konnte nicht geklärt werden, weshalb bei H₂O₂ eine hohe CO₂-Konzentration mit starker Schaumentwicklung entsteht.

Die in dieser Arbeit verwendeten Einzeller sind vom Aufbau her nicht mit menschlichen Zellen oder dem menschlichen Organismus vergleichbar. Die Wirkungsweise von Resveratrol lässt sich anhand dieser Arbeit nicht direkt auf den Mensch übertragen. *V. fischeri* oder auch die Hefezellen können lediglich eine allgemeine Toxizität von Resveratrol als auch von CHP aufzeigen.

Die Konzentration von Resveratrol in Rotwein schwankt je nach Sorte. Resveratrol-reicher Rotwein enthält etwa 10 mg pro 0.7 Liter. Anhand von Laborversuchen an Mäusen wurde bewiesen, dass der Mensch 120 mg pro Tag einnehmen müsste, um eine gesundheitsfördernde Wirkung zu erzielen [3]. Der nachteilige Effekt des Alkohols im Rotwein würde damit die positive Wirkung des Resveratrols bei weitem übersteigen. Hinzu kommt, dass Resveratrol im Körper eine geringe Bioverfügbarkeit hat. Innerhalb von 30 min wird es vom Körper metabolisiert und liegt dann in konjugierter Form vor [3]. Die empfohlene Einnahme von Resveratrolkapseln liegt bei etwa 500 mg pro Tag. Die Kapseln gelten jedoch als Nahrungsergänzungsmittel und keineswegs als Medikament. Ab 1g Resveratrol konnten teilweise Bauchschmerzen und Verdauungsprobleme festgestellt werden. Stärkere Nebenwirkungen sind jedoch nicht bekannt [19].

Als wichtige Quelle wurde in dieser Arbeit das Buch „Resveratrol and Health“ von Dipak K. Das verwendet [20]. Dipak K. Das war Direktor des “Cardiovascular Research Center” am University of Connecticut Health Center in Farmington, USA. Er hat über 500 verschiedene Publikationen und Papers herausgegeben, davon 117 zu Resveratrol und seiner Wirkungsweise. 2012 wurde entdeckt, dass Dipak K. Das zahlreiche Daten gefälscht und Textstellen von anderen Arbeiten übernommen hat, ohne deren Herkunft anzugeben. Mehrere seiner veröffentlichten Dokumente wurden zurückgezogen [21]. Die Daten der verwendeten Quellen [20] könnten folglich teilweise falsch sein und sind mit Vorsicht zu geniessen. Mit Nahrungsmittelzusätzen wie Resveratrol kann viel Geld verdient werden. Ein „Wundermittel“, welches gegen zahlreiche Krankheiten wie Diabetes, Krebs und Herzerkrankungen hilft, wäre Gold wert.

Fazit: Zu Beginn der Arbeit wurde die These aufgestellt, dass Resveratrol die Wirkung von oxidativem Stress auf die zwei Einzeller minimieren kann. Diese These konnte nur teilweise bestätigt werden. Resveratrol scheint einen stoffwechselanregenden Effekt auf *S. cerevisiae* und *V. fischeri* zu haben. Bei *V. fischeri* ist der Effekt jedoch nur in Verbindung mit CHP zu sehen. Das Leuchten der Bakterien ist unter Stress stärker, wenn Resveratrol mitwirkt. Ohne CHP scheint Resveratrol eher

eine stoffwechselstörende Wirkung auf *V. fischeri* zu haben. Bei *S. cerevisiae* ist mit Resveratrol in gewissen Konzentrationen eine höhere CO₂-Produktion zu erkennen. In Verbindung mit CHP wird etwas mehr CO₂ produziert, wenn Resveratrol in der Probe enthalten ist.

4.1 Folgeuntersuchungen

4.1.1 Vorinkubationszeit und Metabolisierung von Resveratrol

In dieser Arbeit wurde nicht ausführlich untersucht, welche Wirkung oder Bedeutung die Vorinkubationszeit von Resveratrol hat. Eine mögliche Folgeuntersuchung wäre es, Resveratrol mehrere Stunden vorher zu verabreichen, bevor CHP oder andere Wirkstoffe beigegeben werden.

Ausserdem kann die Metabolisierung von Resveratrol in verschiedenen Organismen untersucht werden. Dabei spielt das Lösungsmittel und die Konzentration von Resveratrol vermutlich eine entscheidende Rolle. In diesem Zusammenhang wäre es interessant, verschiedene Lösungsmittel für Resveratrol zu testen und eine Ausweichmöglichkeit zu Ethanol und Öl zu finden.

4.1.2 Schaumentwicklung mit H₂O₂

Die Entstehung des Schaums bei Versuchen mit H₂O₂ kann näher untersucht werden. Eventuell ist eine Messung des ATP- oder Glucose-Abbaus hilfreich, da das entstehende CO₂ von der Glucose kommen könnte.

4.1.3 Lebensverlängernde Wirkung

Es wäre interessant, die lebensverlängernde Wirkung von Resveratrol auf *S. cerevisiae* zu übertragen. Es wurden bereits Versuche in diese Richtung gemacht [24]. Das Experiment könnte auch auf *V. fischeri* oder andere Organismen übertragen werden. Mit *V. fischeri* wurde in diesem Zusammenhang noch nie mit Resveratrol gearbeitet.

5 Reflexion

Vor etwa einem Jahr bin ich im Internet auf Resveratrol gestossen und war sehr beeindruckt von dessen Eigenschaften. Ein Mittel gegen Krebs, Herzkrankheiten, Übergewicht – es klingt wie im Märchen. Viele dieser Eigenschaften wurden jedoch nur vermutet, es gibt bis heute noch nicht viele Studien dazu. Mein Ziel war es, in meiner Maturaarbeit auf einem Gebiet zu forschen, in dem es noch viel Entwicklungspotenzial gibt. Ich denke das ist mir mit Resveratrol auch ganz gut gelungen.

Der praktische Teil meiner Arbeit hat mir am besten gefallen. Besonders der Besuch bei der Novartis im Schullabor fand ich spannend und aufschlussreich. Mit der Infrastruktur eines grossen Labors zu arbeiten war neu für mich und es war sehr interessant einen Einblick zu bekommen. Mit *V. fischeri* zu arbeiten wäre im Schullabor oder im Schulunterricht nicht möglich gewesen.

Ich fand es sehr spannend, die Arbeit über mehrere Monate hinweg zu entwickeln und zu planen. Trotz der vielen investierten Stunden fand ich das Thema immer sehr spannend und aufschlussreich. Je mehr ich mich mit dem Thema beschäftigt habe, desto besser erkannte ich das Potenzial von Resveratrol. Gerne würde ich mich auch weiterhin mit dem Thema beschäftigen.

Die Arbeit wird mir in guter Erinnerung bleiben.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Plum R., Redaktion, <http://www.reformhaus-fachlexikon.de/lebensmittelinhalte/Resveratrol.php> (12.8.2014)
- [2] Angus, G. T., Chefredakteur, <http://www.jmnf.org/tag/cr-mimetikum> (12.8.2014)
- [3] Kleine-Gunk, B., Autor des Artikels, <http://www.pharmazeutische-zeitung.de/?id=3381> (12.8.2014)
- [4] http://de.wikipedia.org/wiki/Theorie_der_freien_Radikale (10.7.2014)
- [5] Kate, Autorin, http://www.symptome.ch/wiki/Oxidativer_Stress (14.8.2014)
- [6] Parchem, Firma, <http://www.parchem.com/news-articles/Cumene-Hydroperoxide-A-unique-organic-peroxide-with-polymerization-inhibitor-properties-N000169.aspx#.U-xzhGM1TDv> (14.8.2014)
- [7] Fürstenberg, E. Schüler des Richard-Wossidlo-Gymnasium, http://www.fuerstenberg-dhg.de/fileadmin/images/familie/eileen/schule/Gaerungserreger_sind_nuetzlich_Eileen_Fuerstenberg.pdf (6.9.2014)
- [8] <http://de.wikipedia.org/wiki/Backhefe> (6.9.2014)
- [9] http://de.wikipedia.org/wiki/Alivibrio_fischeri (6.9.2014)
- [10] Weiss, D. Autor der Homepage, <http://www.chemie.uni-jena.de/institute/oc/weiss/biolumineszenz.htm> (7.9.2014)
- [11] Forster M., Gregory P., Geschäftsführer, http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/8/bc/vlu/biokatalyse_enzyme/c_hemilumineszenz.vlu/Page/vsc/de/ch/8/bc/biokatalyse/luziferase_pp.vscml.html (28.9.2014)
- [12] Lopes Costa A. et al., Autoren des Artikels, http://www.dr-michalzik.de/medizinische-studien/Resveratrol_wirkt_auf_die_mitochondriale_Atmungskette (28.9.2014)
- [13] Lyzen R., Wegrzyn G., *Sensitivity of dark mutants of various strains of luminescent bacteria to reactive oxygen species*, *Archives of Microbiology* 183 : 203-208, Springer-Verlag, Poland, 2005
- [14] Amri A., Chaumeil JC., Sfar S., Charrueau C., *Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations?*, Elsevier, 2011
- [15] http://de.wikipedia.org/wiki/Alkoholische_G%C3%A4rung (14.9.2014)
- [16] Christiane Roeckl, Leiterin Schullabor Novartis, persönliche Mitteilung (8.7.2014)
- [17] Baumgartner V., *Vibrio fischeri- Bakterien Anzüchten und Umzüchten*, Novartis, 2012

- [18] R weler M., Gülden M., Maser E., Murias M., Seibert H. Cytotoxic, *cytoprotective and antioxidant activities of resveratrol and analogues in C6 astrogloma cells in vitro*. *Chemico-Biological Interactions* 182 : 129-135, Elsevier, Ireland, 2009
- [19] Hodzic M., Verantwortlicher, <http://www.resveratrol.de/> (5.7.2014)
- [20] Dipak K. Das, Goran Petrovski, Narasimman Gurusamy., *Resveratrol and Health*, Wiley-Blackwell, New York, 2011, S. 22-33
- [21] http://en.wikipedia.org/wiki/Dipak_K._Das (6.9.2014)
- [22] Dipak K. Das, Goran Petrovski, Narasimman Gurusamy., *Resveratrol and Health*, Wiley-Blackwell, New York, 2011, S. 16-21
- [23] <http://de.wikipedia.org/wiki/Gram-F%C3%A4rbung> (6.9.2014)
- [24] Sinclair A. D. et al.,
<http://www.nature.com/nature/journal/v425/n6954/full/nature01960.html> (7.10.2014)

7 Bildquellen

- [A] Dr. Michael W. King, PhD, Autor der Webseite,
<http://supplementscience.org/resveratrol.html> (7.10.2014)
- [B] <http://de.wikipedia.org/wiki/Backhefe> (6.9.2014)
- [C] Unbekannt, Blogger,
<http://www.tumblr.com/search/Hawaiian%20Bobtail%20Squid> (6.9.2014)
- [D] Lambert M. Surhone, *Aliivibrio fischeri*, Betascript Publishing, 2011 (8.10.2014)
- [E] Unbekannt, <http://www.healthreviewer.com/resveratrol-the-phytoestrogen-antioxidant>
(8.10.2014)

8 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich gerne den Personen danken, die zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

Der erste Dank geht an meine Betreuerin und Biolehrerin, Konstanze Mez, die immer ein offenes Ohr für meine Fragen hatte und mir mit Rat und Tat zur Seite stand.

Ausserdem möchte ich gerne Herr Ernesto Simon von der Evolva für die grosszügige Spende Resveratrol danken.

Ein grosses Dankeschön geht an das Schullabor der Novartis in Basel. Ohne die Infrastruktur und die fachliche Unterstützung, hätte ich nicht mit *Vibrio fischeri* arbeiten können. Besonders die Hilfe und Unterstützung von Frau Christiane Roeckl war entscheidend für diese Arbeit. Die Arbeit bei der Novartis war für mich ein sehr positives Erlebnis, das ich in guter Erinnerung behalten werde.

9 Anhang

Novartis Schullabor

Experiment 8: Zuckerstoffwechsel

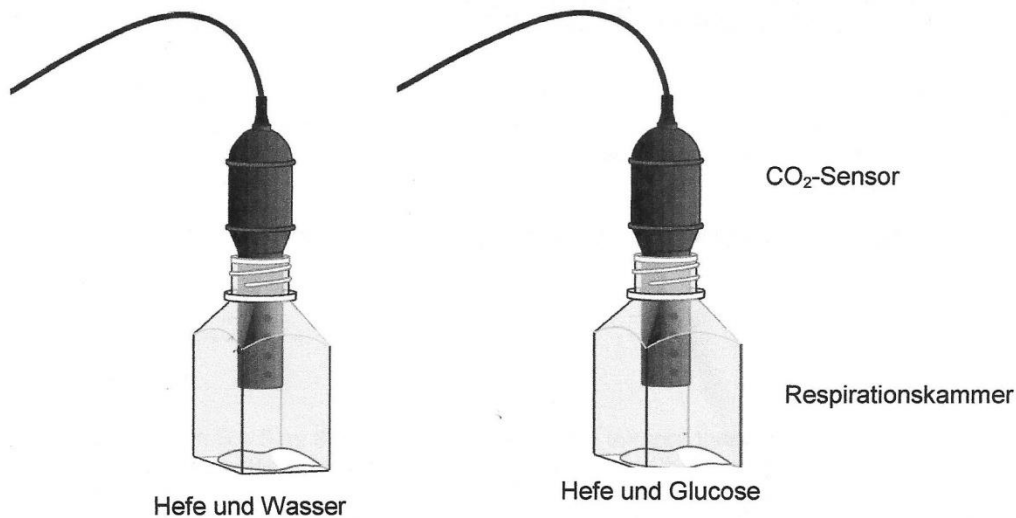
Ziel:

Substratspezifität im Zuckerstoffwechsel der Bäckerhefe

Methode:

Nicht alle Zucker können durch Hefe abgebaut werden. Es hängt von der Enzymausstattung der Hefezellen ab, welche Moleküle als Substrat dienen können. Unbekannte Zucker können mit Hilfe verschiedener Hefestämme identifiziert werden. Dabei spielt die genetisch bedingte Ausstattung der Zelle mit Enzymen eine wichtige Rolle. Normale Bäckerhefe (*Saccharomyces cerevisiae*) kann Glucose, Fructose, Maltose und Saccharose abbauen, nicht jedoch Zuckeralkohole, Xylose, Galactose, Lactose und höhermolekulare Kohlenhydrate. *Saccharomyces fragilis* vergärt Lactose, nicht aber Maltose. *Saccharomyces carlsbergensis* kann zwischen D- und L-Galactose unterscheiden (die D-Form wird vergoren, die L-Form nicht). *Zygosaccharomyces marxianus* vergärt überhaupt nur Glucose. Man kann diese differentielle Vergärbarkeit verschiedener Substrate also auch als in-vivo-Enzymtest auffassen.

Abbildung 1, Exp. 8



Material:

Trockenhefe
 Leitungswasser 30°C
 Diverse Zucker gelöst (5g/100ml Wasser)
 Pipetten 1-10ml
 2 CO₂-Sonden (Vernier)
 LabQuest2 (Vernier)

Reagenzglasständer
 Reagenzgläser
 Faserschreiber

Abb. 18: Anleitung zur Vorbereitung von *S. cerevisiae*

Zur besseren Ansicht wurde bei den Diagrammen im Anhang auf eine allgemeine Darstellung der CO₂-Konzentration (0% - 4000%) und der Leuchtstärke (30% - 130%) verzichtet. Die Messzeit variiert je nach Experiment.

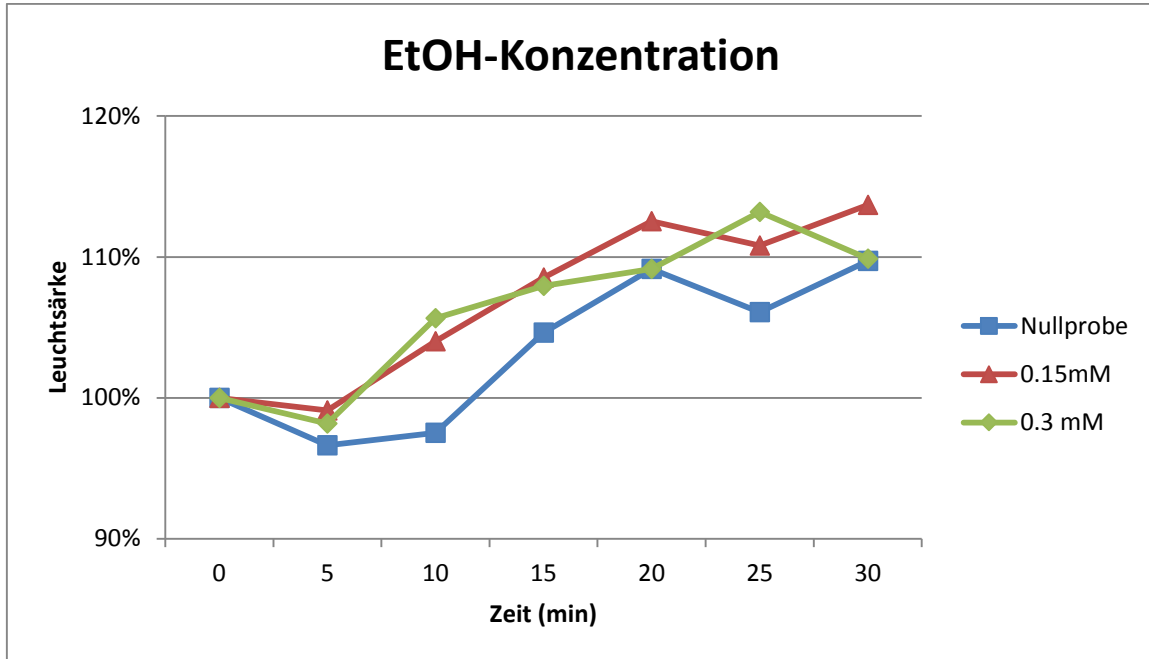


Abb. 19: Leuchtkraftänderung bei *V. fischeri* bei Zugabe von verschiedenen Ethanolkonzentrationen

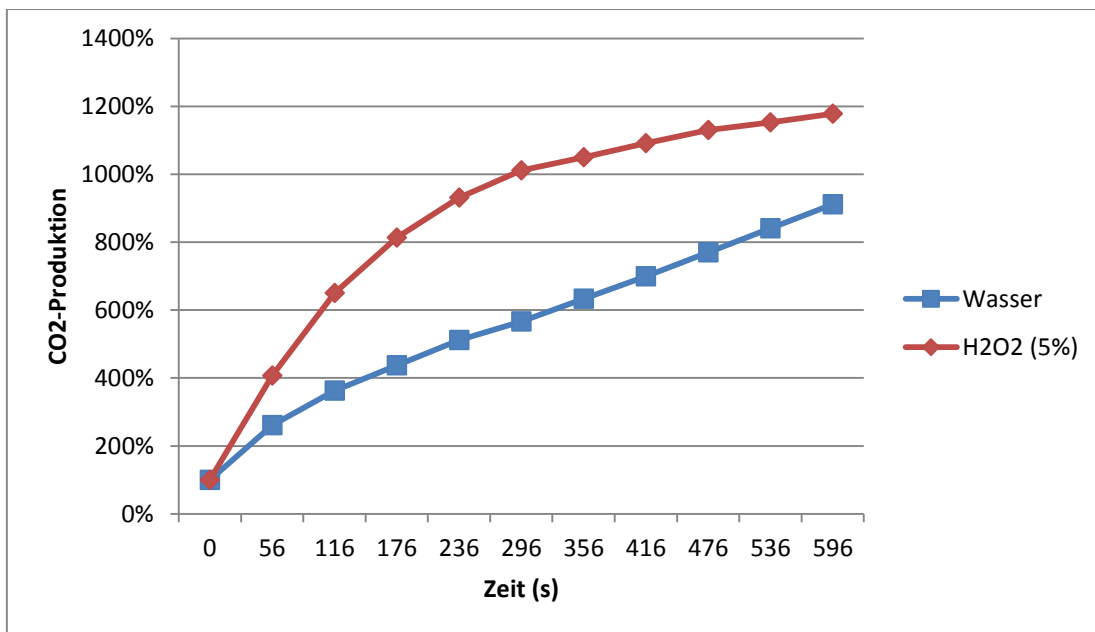


Abb. 20: Änderung der CO₂-Konzentration der *S. cerevisiae* nach Zugabe von H₂O₂ (5%)

Beide Proben enthielten je 6 ml Hefesuspension. Die eine wurde mit 6 ml Wasser versetzt, während der zweiten Probe 1 ml H₂O₂ und 5 ml Wasser beigelegt wurde. Auf diese Weise wurden beiden Proben dieselbe Menge Flüssigkeit hinzugefügt. Die Messzeit betrug 600 Sekunden. Nach dieser Zeit wies die Probe mit H₂O₂ 200% - 300% mehr CO₂ auf, als die Nullprobe (Wasser).

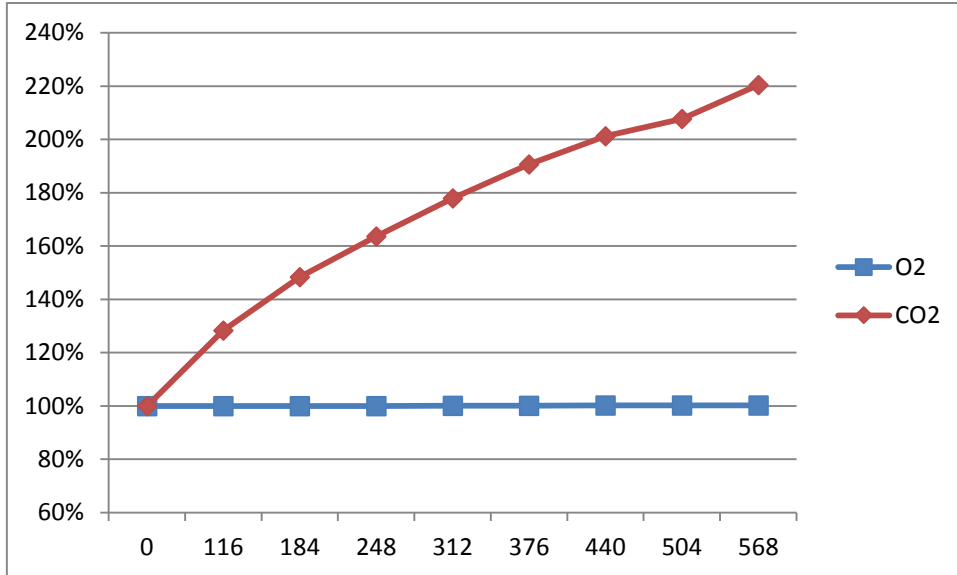


Abb. 21: Änderung der CO₂- und O₂-Konzentration bei *S. cerevisiae* nach Zugabe von H₂O₂ (5%)

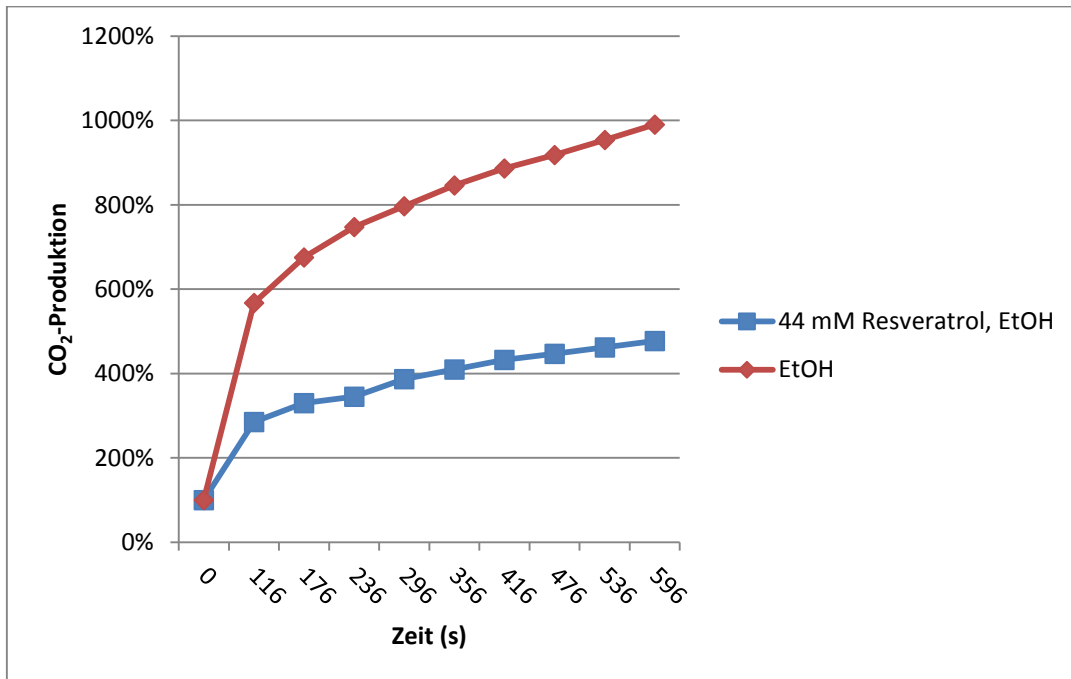


Abb. 22: Änderung der CO₂-Produktion bei *S. cerevisiae* nach Zugabe von Resveratrol und Ethanol (EtOH)

Dies ist ein Versuch, der ganz zu Beginn der Versuchsreihe gemacht wurde. Es wurde dabei eine Resveratrolkonzentration von 10 g/l verwendet, was umgerechnet 44 mM entspricht. Diese Menge

Resveratrol wurde in 6 ml 50% Ethanol gelöst. Diese 6 ml 50% Ethanol mit gelöstem Resveratrol wurden 6 ml Hefesuspension beigefügt. Die zweite Probe besteht aus 6 ml Hefesuspension und 6 ml 50% Ethanol ohne Resveratrol. Die Messzeit beträgt 10 min.

Weitere Rohdaten sind bei der Autorin einsehbar. Aufgrund der grossen Datenmenge wurde hier nicht alles abgebildet.

10 Redlichkeitserklärung

Ich erkläre hiermit,

- dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter Benutzung der angegebenen Quellen verfasst habe,
- dass ich auf eine eventuelle Mithilfe Dritter in der Arbeit ausdrücklich hinweise,
- dass ich vorgängig die Schulleitung und die betreuende Lehrperson informiere, wenn ich diese Maturaarbeit, bzw. Teile oder Zusammenfassungen davon veröffentlichen werde, oder Kopien dieser Arbeit zur weiteren Verbreitung an Dritte aushändigen werde.

Ort:

Datum:

Unterschrift: