© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

in dem noch so wenig bearbeiteten Zweig der experimentellen Forschung, wo gewiß der Bassinversuch etwa nach dem Typus der „Halbfässermethode“ auch sich stets im Freien als eine notwendige Ergänzung der Arbeiten im Laboratorium bewähren muß.

Lund, Botanisches Institut der Universität, im Dezember 1918.

---

5. F. Boas: Die Bildung löslicher Stärke im elektiven Stickstoff-Stoffwechsel.

(Aus dem botanischen Laboratorium der Akademie Weihenstephan.)
(Ausgeführt mit Unterstützung der bayr. Akademie der Wissenschaften: Brunneckstiftung.)
(Eingegangen am 8. Januar 1919.)

Bei einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration bildet *Aspergillus niger* (und andere stark säuernde Pilze) aus zahlreichen Kohlenstoffverbindungen in der Nährlösung lösliche Stärke. Eben deutliche Jodreaktion erhält man z. B. in einer Zucker-Chlorammonlösung (5 % Zucker, 0,5 % Chlorammon), wenn die (H) beträgt

bei Verwendung von	Saccharose	$p_H = 2{,}25$	Kultur-Temperatur 32,5 ° C
„	Dextrose	$p_H = 1{,}85$	
„	Maltose	$p_H = 1{,}57$	

Ist bei einer Temperatur von 32—33° C diese H-Konzentration in der Nährlösung erreicht, so tritt also gerade eine leichte Bläuung mit Jod ein. Dabei ist zu bemerken, daß die Zahl für Saccharose vielleicht etwas zu sauer ist. *Aspergillus niger* erreicht nun normalerweise, d. h. in Zuckerlösung mit Asparagin, Pepton usw. als N-Quellen im Maximum eine Wasserstoffionenkonzentration in der Nährlösung von p_H ca. 2,10—2,20. Mit Ausnahme der Saccharose liegen also die zur Bildung löslicher Stärke nötigen Wasserstoffionenkonzentrationen weit außerhalb der im normalen Stoffwechsel erreichbaren Grenzen. Gleichzeitig ist die verschieden gute Eignung der einzelnen Zucker aus den obigen Zahlen zu erkennen. Saccharose wird also stets am brauchbarsten sein. Daß das Auftreten der löslichen Stärke allgemein übersehen wurde, habe ich bereits in mehreren Arbeiten betont. In diesen Arbeiten ist auch der allgemeine Verlauf der Bildung löslicher Stärke dargestellt. (1)

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Die Leichtigkeit der Ausführung und die große Empfindlichkeit der Jodprobe auf lösliche Stärke ist nun ein sehr bequemes Mittel, den elektiven Stickstoff-Stoffwechsel zu verfolgen. Denn wenn in einer Zuckerlösung z. B. neben Aminosäuren Chlorammon verbraucht wird, dann steigt infolge Freiwerdens der stark dissociierten Salzsäure die Wasserstoffionenkonzentration sehr rasch und die Bedingungen der Bildung löslicher Stärke sind gegeben. Aus der Intensität der Jodreaktion läßt sich dann auch ein Schluß auf die Größe der Verarbeitung von Chlorammon ziehen. Diese Methode ist zwar nur qualitativ, aber sehr einfach.

In der folgenden Arbeit wird nun kurz dargestellt:

1. das Verhalten freier Ammonsalze nebeneinander, z. B. Chlorammon neben Ammonphosphat oder Ammoncitrat;
2. das Verhalten von Aminosäuren und Peptonen neben Chlorammon;
3. das Verhalten eines Säureamides neben Chlorammon (Harnstoff-Chlorammon).

Bei dieser Auswahl der N-Quellen ist besonders auf ihre physikalisch-chemischen Eigenschaften (Lipoidlöslichkeit) Rücksicht genommen. Wir werden später sehen, daß es hinsichtlich des Verbrauches gleichgültig ist, ob eine N-Quelle lipoidlöslich ist oder nicht; wir werden also mit der Lipoidtheorie keine Erklärung der auffallenden Erscheinungen geben können. (2)

I.

Chlorammon (ebenso die anderen Ammonsalze der starken Mineralsäuren) wirkt im Stoffwechsel infolge des Auftretens der sehr stark dissociierten Salzsäure bald sehr schädlich (Säurevergiftung). Andere Ammonsalze, wie das Phosphat, Citrat etc., üben keine nennenswerte Säurewirkung aus, sind demnach einwandfreie, ungiftige N-Quellen, da sie eben wegen der geringeren Dissociation der entstehenden Säuren niemals die zur Bildung löslicher Stärke nötige Menge aktueller Säure liefern. Wie nun die folgende Übersicht zeigt, tritt in Ammonsalzgemischen, von denen der eine Bestandteil stets Chlorammon ist, immer lösliche Stärke auf. Es wird also stets das schädlich wirkende Chlorammon verarbeitet, das unschädliche Ammonsalz dagegen mehr oder weniger beiseite gelassen. In diesem Falle gehen also dem Pilze regulatorische Fähigkeiten ab; denn Chlorammon ist immer eine sehr schädliche N-Quelle, wenn nicht für

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Beseitigung der entstehenden Salzsäure gesorgt wird. Die verwendete Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

5 % Zucker (Dextrose, Saccharose oder Maltose),
0,5 % Stickstoffquelle,
0,25 % KH_2PO_4 und 0,15 % $MgSO_4 7H_2O$.

Zur Verwendung kamen meist nur 25—30 ccm in 50 ccm ERLENMEYER-Kölbchen; die Temperatur betrug 31,5—32° C. Es folgt nun zuerst eine Übersicht des Verlaufes der Bildung löslicher Stärke bei Verwendung von Dextrose-Chlorammon als Vergleichsversuch für die folgenden Stickstoffmischungen.

Versuch I. 5 % Dextrose, 0,5 % Chlorammon. Beginn 25. VI. 1918.

Jodreaktion der Nährlösung (Auftreten löslicher Stärke):

am 26. VI.	27. VI.		28. VI.	
—	++	starke	+++	Je 3 Kolben. Der Versuch zeigt die große Gleichmäßigkeit der Bildung löslicher Stärke.
—	++	Bläuung	+++	
—	++	mit Jod	+++	

Versuch II. Wie Versuch I, aber 0,5 % Chlorammon + 0,5 % Ammonphosphat. Versuchsbeginn 2. VI. 1918.

Jodreaktion der Nährlösung (lösliche Stärke) am:

3. VI. — 4. VI. — 5. VI. ++ (Intensive Bläuung).

Das Auftreten der löslichen Stärke in Ammonsalzgemischen wird also nur verzögert; das hat mit seinen Grund darin, daß die Ausgangslösung des Versuches II ein p_H von ca. 5,5, die des Versuches I ein p_H von ca. 4,00 hatte, dadurch ist also eine gewisse Ungleichheit gegeben, weil eben die Lösungen nicht gleich sauer waren. Daß man mit Dextrose = Ammonphosphat keine lösliche Stärke erhält, habe ich schon früher betont; darauf ist in einer eigenen Arbeit zurückzukommen.

Der gleichzeitig angesetzte Versuch III (Dextrose Chlorammon (0,5 %) + Ammoncitrat (0,5 %) verlief ganz analog wie Versuch II, wie der folgende Bericht zeigt:

Jodreaktion der Nährlösung am:

3. VI. — 4. VI. früh — 4. VI. nachm. — 5. VI. +++ (äußerst intensive Bläuung).

Aus der starken Bläuung ist auf eine sehr starke Verarbeitung von Chlorammon zu schließen; das gleichzeitig vorhandene unschädliche Ammoncitrat wird also offenbar nur sehr wenig oder garnicht in den Stoffwechsel gezogen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

II.

Wir betrachten nun kurz das Verhalten von Stickstoffgemischen, von denen die eine Stickstoffquelle eine Aminosäure oder leicht Aminosäuren liefernde Verbindung ist und also sehr hohen Nährwert hat, während die andere stets das giftig wirkende Clorammon ist. Beide Stickstoffquellen — Aminosäure wie Chlorammon — sind nahezu lipoidunlöslich, also in dieser Hinsicht gleich, aber sehr verschieden stark dissociiert; die Aminosäuren sind äußerst gering, Chlorammon ist stark dissociiert. Es wird wie oben stets lösliche Stärke gebildet, d. h. die Aminosäure wird fast gänzlich unverbraucht beiseite gelassen. Es wird also immer das schädliche Chlorammon der unschädlichen Aminosäure vorgezogen. Es seien folgende Versuche angeführt:

Versuch IV. Versuchsbeginn: 22. V. 1918. Stickstoffquelle: je 0,5 % Alanin und Chlorammon.

Kohlenstoffquelle:	Jodreaktion der Nährlösungen am: 23. V.	24. V.	
Dextrose	—	(+)	Ganz schwach. Pilzdecke unten mit Jod deutlich blau. Keine Konidien.
Maltose	—	—	Pilzdecke unten schwach blau. Viele Konidien.
Saccharose	—	+	Pilzdecke unten tief blau. Keine Konidien.

Aus diesem Versuche geht folgendes hervor:

1. die besonders gute Eignung der Saccharose und die Unbrauchbarkeit der Maltose, sobald es sich um schnelle Resultate handelt;
2. die Tatsche, daß Maltose im Gegensatz zu den anderen Zuckern rasch konidienbildend wirkt. Auf diese bis jetzt in der Literatur wenig geachtete Erscheinung sei hier nur kurz hingewiesen[1]).

1) Es gibt verschiedene konidienbildende Stoffe wie Maltose, Raffinose, Glyzerin, Säureamide (Acetamid), ferner besonders Aethyl- und Methylharnstoff. Die Weiterverfolgung dieser Gedanken im erweiterten Umfang ist ein Kapitel einer „zellularen Biochemie", worauf ich später in einer eigenen Arbeit zurückkomme.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Versuch V: Mit Saccharose-Asparagin-Chlorammon wurden folgende Resultate erzielt. Versuchsbeginn 16. V. Jodreaktion der Nährlösung am:

17. V. (+) schwach blau 18. V. ++ tief blau
19. V. +++ ganz intensiv blau.

Mit einem Pepton Chlorammon-Gemisch ergaben sich, je nach der Zuckerquelle, ganz ähnliche Resultate, von deren Wiedergabe hier infolgedessen abgesehen werden kann. Dagegen sei noch ein Versuch mit einer Gelatine-Chlorammonmischung (je 0,5 %) angeführt, der deswegen von Interesse ist, da ja Gelatine die Muttersubstanz zahlreicher Aminosäuren ist.

Versuch VI. 5 % Saccharose, je 0,5 % Gelatine und Chlorammon. Versuchsbeginn: 30. V. Jodreaktion am:

31. V. früh — Nachmittag 3^h + (je 3 Kolben)
1. VI. ++ 2. VI. ++

Die H-Konzentration betrug am 2. VI. ca. $p_H = 1{,}60$ und in einer reinen Saccharose-Chlorammonlösung betrug zur selben Zeit $p_H = 1{,}40$; da vermutlich durch die Gelatine Wasserstoffionen weggefangen werden, so geht daraus hervor, daß in dem vorliegenden Falle Chlorammon fast ausschließlich verbraucht worden ist. Die überhaupt mögliche maximale Säuerung scheint bei Ernährung mit Chlorammon bei Gegenwart von 5 % Dextrose bei $p_H = 1{,}30$ zu liegen. Aus diesen Zahlen geht deutlich der vorwiegende Verbrauch von Chlorammon hervor[1]).

Die ideale Stickstoffquelle für alle Mikroorganismen ist bekanntlich Hefewasser. Aber auch hier wird Chlorammon in ähnlicher Weise bevorzugt, wie bei allen erwähnten Versuchen. Es erübrigt sich hier, Protokolle der Versuche mit den analog zusammengesetzten Chlorammon-Hefewasser-Zuckerlösungen anzuführen. Erwähnt sei nur, daß die Jodreaktion meist wenig deutlich ausfällt, da durch das Auftreten der starken Salzsäure Ausscheidungen im Hefewasser sich bilden, welche störend wirken.

1) Quantitative Untersuchungen werden demnächst veröffentlicht werden. Boas und Leberle: Über Säurebildung bei Pilzen. III. Biochem. Zeitschr. 1919. (Im Druck.) Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration erfolgte teils elektrometrisch, teils kolorimetrisch nach S. F. L. Sörensen (3). Vergl. hierzu: Zaleski und Pjukow, Diese Ber. 32, S. 479—483. 1914. Hier ist schon angegeben, daß Ammonsalze den Aminosäuren vorgezogen werden.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

III.

Die Amide sind ziemlich lipoidlöslich, dringen verhältnismäßig leicht in die Zelle ein, im Gegensatz zu dem fast ganz lipoidunlöslichen Chlorammon. Trotzdem wird in Gemischen von Säureamiden-Chlorammon das letztere fast ausschließlich verarbeitet, wie die folgenden Versuche zeigen.

Versuch VII. Stickstoffquelle: Acetamid-Chlorammon je 0,5 %.
Versuchsbeginn: 31. V. Jodreaktion am:

Kohlenstoffquelle:	1. VI. früh	1. VI. Nachmittag 4h
Dextrose	— (Doppelversuch) —	+ (schwach) +
Saccharose	1. VI. früh	1. VI. Nachmittag
	++	++
	++	++

Acetamid ist eine recht mäßige Stickstoffquelle, viel besser ist Harnstoff. Aber auch in diesen Stickstoffgemischen ergeben sich ganz ähnliche Resultate, wie sie bis jetzt in allen Versuchen erhalten wurden und wie Versuch VIII noch eigens zeigt. Versuchsbeginn 15. III. 1918. 5 % Dextrose + 0,5 % Chlorammon.

Harnstoffkonzentration		Stärkereaktion am 16. III.	17. III.
0,1 %	+ 0,5 % NH_4Cl	—	+
0,2 %		—	+
0,4 %		—	+
0,6 %		? unsicher	?
1 %		(+) schwach	—
2 %		(+) schwach	—

Es wird also in allen Fällen Chlorammon, das stets zu schädlichen Säurewirkungen führt, in beträchtlichem Maße verarbeitet, sonst könnte nirgends lösliche Stärke auftreten, was z. B. im vorliegenden Falle ein pH von rund 1,90 voraussetzt; diese Wasserstoffionenkonzentration zeigt aber bereits einen starken Verbrauch von Chlorammon an. Trotzdem es lipoidunlöslich ist, also eigentlich nicht in die Zellen eindringen kann, während Harnstoff ziemlich stark lipoidlöslich ist, also leicht in die Zellen eindringt, wird doch das lipoidunlösliche Chlorammon dem lipoidlöslichen Harnstoff vorgezogen.

Der allgemeine Unterschied aller verwendeten Stickstoffquellen gegenüber Chlorammon ist nun der, daß sie

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

im Gegensatz zu Chlorammon sehr wenig dissociiert sind. In Gemischen von Stickstoffverbindungen verschiedener Dissociation scheint also die Größe der Dissociation für die Aufnahme in die Zellen ausschlaggebend zu sein. Auf die Bedeutung der Dissociation hat bereits CZAPEK (4) von anderen Untersuchungen ausgehend hingewiesen. Die größere oder geringere Lipoidlöslichkeit dagegen scheint gegenüber der Bedeutung der Dissociation der Stickstoffquellen sehr stark zurückzutreten. Es wird also stets die stärker dissociierte Stickstoffquelle verarbeitet, selbst wenn dabei stark giftig wirkende Stoffwechselprodukte auftreten und selbst wenn andere ungiftig wirkende, sogar ziemlich lipoidlösliche und gute Stickstoffquelle vorhanden sind. Von einer Regulation der Aufnahme durch den Pilz kann hier keine Rede sein, die Aufnahme erfolgt rein zwangsmäßig nach physikalisch-chemischen Eigenschaften. Biologisch gesprochen greift der Pilz also immer die „schlechtere" Stickstoffquelle an.

Literaturverzeichnis.

1. F. Boas: Ber. Deutsch. Bot. Ges. **34** p. 785 ff. 1916. Biochem. Zeitschr. **78** p. 308 ff. 1916, **81** p. 80 ff 1917, **86** p. 110 ff. 1918.
2. R. Höber: Physikalische Chemie der Zelle. III. Aufl. 1911. 6. u. 7. Kap. p. 181 ff. (Lipoidtheorie.)
3 Betreffs der Messung der Wasserstoffionenkonzentration siehe S. P. L. Sörensen in Ergeb. der Physiol. **12** p 393 ff. 1912 und Biochem Zeitschr. **21** p. 131 ff, **22** p. 352 ff. 1909 und L. Michaelis: Die Wasserstoffionenkonzentration. Julius Springer, Berlin 1914.
4. F. Czapek: Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. und Pathologie. Bd. 1—3 1902 ff.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1919

Band/Volume: 37

Autor(en)/Author(s): Boas Friedrich

Artikel/Article: Die Bildung löslicher Stärke im elektiven Stickstoff-Stoffwechsel. 50-56