

von 30 cm³ Eiswasser, 1,5 g Natriumnitrit und 6 cm³ konz. Salzsäure eingießt. Nach einer Minute scheiden sich hellgelbe krystalline Flocken ab, die abgesaugt und mit kaltem Wasser gewaschen werden. In trockenem Zustand verpuffen sie bei 92—95°; in wässriger Lösung beginnt die Stickstoffentwicklung oberhalb 40° und wird bei 80° lebhaft.

Eine Mono-diazotierung der Toluylendiamin-sulfosäure (ohne einseitige Acetylierung) gelingt nicht, da anscheinend Selbstkupplung zu einer Diazoaminoverbindung eintritt. Dies zeigt sich an der Gasentwicklung beim Trocknen in der Wärme.

Farbstoffe.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Farbstoffe wurden nach bekannten Regeln für die Diazotierung und Kupplung dargestellt. Über die Einzelheiten der Darstellung, Analysen und die Prüfung der Eigenschaften sei auf den experimentellen Teil der Diss. *Roland Fischer*, Basel, 1945 hingewiesen¹⁾. Die in einzelnen Fällen erforderliche Verseifung der Acetylgruppe wurde durch 6-stündiges Kochen mit 5-proz. Natronlauge durchgeführt, nachdem sich diese Methode bei der einfachen Acetyl-toluylendiamin-sulfosäure bewährt hatte. Die Darstellung des Farbstoffs III über I und VIII erfolgte in sodaalkalischer Lösung, um den Farbstoff VIII nicht in Suspension, sondern in Lösung zu haben.

Chromatographie.

Das zur Chromatographie verwendete Aluminiumoxyd *Merck* war nach unserer Laboratoriumsvorschrift²⁾ aktiviert. Es wurden jeweils 2—3 cm³ einer 0,5-proz. Farbstofflösung auf eine 13 cm lange und 1,7 cm weite Röhre aufgegeben und nach Einsickern mit destilliertem Wasser entwickelt. Das selbst dargestellte Toluylenbraun zeigte oben eine 1 cm breite braune Schicht, 3 cm darunter eine minimale orange Schattierung, die beim Handelsprodukt deutlicher war. Genau übereinstimmend mit letzterem war das Chromatogramm von Farbstoff III. In Farbstoff XI bildeten die braune und die orange Schicht ein 5 cm langes zusammenhängendes Band. Das Chromatogramm von Farbstoff X deutete auf eine nennenswerte Uneinheitlichkeit hin, wie das bei Polyazofarbstoffen, die in mehreren aufeinanderfolgenden Operationen dargestellt sind, meist der Fall ist. Umso bemerkenswerter ist die relativ gute Einheitlichkeit der vorher genannten Farbstoffe.

Universität Basel, Anstalt für organische Chemie.

58. Beiträge zur Kenntnis des Aufbaus der Stärkekörner

II. Mitteilung

von Robert Haller.

(7. III. 45.)

Über den morphologischen und chemischen Aufbau der Stärkekörner ist man weitgehend orientiert. Die ersten eingehenden Untersuchungen über Stärkekörner verdanken wir *v. Nägeli*³⁾.

Er hat seinerzeit die bekannten, besonders in Quellungsmitteln deutlich in Erscheinung tretenden Schichtungen in den Stärkekörnern auf die Anwesenheit von abwechselnd wasserreichen und wasserarmen Schichten zurückgeführt. Er fand bei diesen Körnern eine „peripherische Substanzlage von geringer Dicke“, welche eine gewisse

¹⁾ Dort finden sich auch die Ausfärbungen, Echtheitsproben und Photographien der Diffusionsversuche.

²⁾ *P. Ruggli* und *P. Jensen*, *Helv.* **18**, 627 (1935).

³⁾ Stärkekörner 1858.

Widerstandsfähigkeit gegen Lösungsmittel besitzt und daher als membranartige Hülle zurückbleibt, wenn das Innere des Kornes schon gelöst ist¹⁾. *v. Nägeli* unterscheidet als vorzügliche Aufbausubstanzen die zwei isomeren Kohlehydrate, die Cellulose und die Granulose, welch letztere die Hauptmasse des Stärkekornes darstellt.

*A. Meyer*²⁾ glaubt in seiner grossangelegten Studie ebenfalls 2 Aufbausubstanzen erkannt zu haben und zwar die α -Amylose und die β -Amylose, Substanzen, welche sich lediglich durch die verschiedene Löslichkeit in Wasser unterscheiden. Er erklärte von vornherein, dass in den gewöhnlichen Stärkekörnern, ausser den beiden Amylosen und einem Spaltungsprodukte der Amylose, dem Amylodextrin, kein anderer Stoff, also auch keine Cellulose, vorkommt. Ausserdem betrachtet *A. Meyer* die Stärkekörner als Sphärökrystalle, welche aus Trichiten zweier nativ vorgebildeten Amylumkohlehydrate, eben der α -Amylose und der β -Amylose, aufgebaut sind.

Fernerhin hat *Blütschli* sich bei seinen „Untersuchungen über Strukturen“³⁾ weitgehend mit dem Aufbau der Stärkekörner beschäftigt.

*H. Fischer*⁴⁾ hat das Verhalten gegen Farbstoffe studiert und gefunden, dass eine Anzahl solcher, z. B. Kongorot, keine Färbung erzeugen, wogegen eine ganze Gruppe von basischen Farbstoffen, wie Gentianaviolett, Neutralrot etc. intensiv färben. Merkwürdigerweise sollen Methylenblau, Korallin und Eosin, Stärkekörner nur langsam und unvollkommen färben.

Auch ich habe wiederholt einerseits über die Struktur, andererseits über das färberische Verhalten der Stärkekörner Untersuchungen angestellt⁵⁾. Auf letzterem Gebiete ergab sich das Resultat, dass die periphere Substanzlage durch Quellungsmittel, wie Calciumnitrat, ad oculos demonstriert werden kann. Auch die blaue Jod-Stärke entsteht wohl durch Adsorption von Jod an und in der peripheren Schicht des Stärkekornes. Ich habe ferner feststellen können, dass man im Stärkekorn ein recht komplexes Gebilde zu erblicken hat, umhüllt von einer Primärlamelle, dann aus einzelnen Schichten, Sekundärlamellen im Innern des Kornes bestehend, welche zurückbleiben, wenn infolge chemischer Modifikation die Zwischensubstanz durch geeignete Mittel gelöst wird.

Wir haben also im Stärkekorn ein Gebilde, das chemisch der Cellulose sehr nahe steht, ausserdem aber auch Analogien damit aufweist hinsichtlich des strukturellen Aufbaus, beispielsweise mit der Baumwollfaser und den einzelnen Bastfaserzellen.

Ich habe vor einiger Zeit an nativen Gespinnstfasern, wie Baumwoll- und Bastfasern, Untersuchungen angestellt über die Einwirkung von verhältnismässig konzentrierter Schwefelsäuren und habe im Laufe dieser Experimente eine Konzentration festgestellt, welche noch keinen Abbau der Cellulose, wohl aber weitgehende Quellung des strukturellen Gefüges der Faser bewirkt. Es ist dies eine Schwefelsäure vom spez. Gewicht 1,535; diese wirkt auf die Faser analog den

¹⁾ Das Mikroskop 1877, S. 542.

²⁾ Untersuchungen über Stärkekörner, Jena 1895. Koll. Beih. 5, 1 (1913).

³⁾ Leipzig 1898.

⁴⁾ Über die kolloide Natur der Stärkekörner, Beih. z. Bot. Zentralbl. 1905, 409.

⁵⁾ Helv. 23, 596 (1940); Koll. Z. 41, 81 (1926).

bekannten Quellungsmitteln, Kupfer(II)-tetramminhydroxyd oder Kupfer(II)-oxyd-Äthylendiamin¹⁾.

Ich habe nun eine Schwefelsäure dieser Konzentration, in Analogie mit den Versuchen an der Cellulosegespinnstfaser, auch auf Stärke einwirken lassen und zwar zunächst auf Kartoffelstärke, welche infolge ihrer Korngrösse die Veränderungen besser beobachten lässt, als bei den kleineren Körnern des Weizens, des Mais und des Reises.

Untersucht man zunächst die Wirkung solcher Schwefelsäure unter dem Mikroskop, so kann man bei der Berührung von Säure und Korn im ersten Augenblick keinerlei Veränderung sehen; das Korn erscheint vollkommen klar, durchsichtig und die peripherische Membran tritt deutlich hervor. Die an einzelnen Körnern beobachtbaren Schichtungen verschwinden allerdings. Nach und nach verliert das Korn an Substanz, wobei aber die periphere Membran immer noch intakt ist, um allmählich vollkommen gelöst zu werden. Viel schärfer lassen sich diese Übergänge im Dunkelfeld beobachten, wo aber bis zum Schluss die periphere Membran als leuchtende Umrahmung des Kornes, dessen Inhalt verschwunden ist, erkennbar bleibt, um dann schliesslich bei längerer Einwirkung ebenfalls der vollkommenen Lösung anheimzufallen. Das Gesichtsfeld ist optisch leer geworden alle Strukturelemente sind völlig aufgelöst worden.

Ein besonderes Interesse musste die Jod-Stärke erwecken, deren blaue Farbe bekanntlich diagnostischen Wert besitzt. Ich habe nun seinerzeit die Jod-Stärke studiert (loc. cit.) und habe schon damals ein verschiedenes Verhalten der Präparate festgestellt, je nach der Methode der Herstellung. Während Kaliumtrijodid ein nach dem Auswaschen und Trocknen dunkles Produkt ergab, erhielt man mit gesättigtem Jodwasser nach dem Trocknen eine braun gefärbte Jod-Stärke. Ich hatte damals gefunden, dass Jodwasser bei Dunkelfeldbeleuchtung unhomogen erscheint, dass Jodwasser also gewissermassen als Jod-Hydrosol zu betrachten ist und daher die Bildung der blauen Jod-Stärke, wie dies schon *Lottermoser*²⁾ nachgewiesen hatte, auf die Bildung einer Adsorptionsverbindung beruht.

Ich habe nun die braune, durch Behandlung von Kartoffelstärke mit Jodwasser, Waschen und Trocknen, erhaltene Jod-Stärke der Quellung mit Schwefelsäure von oben genannter Konzentration unterworfen. Normale Stärkekörner lösen sich nach kurzer Einwirkungszeit restlos darin auf (s. oben). Ich war nun aber überrascht, festzustellen, dass die Jodstärke sich bei der Einwirkung der Schwefelsäure nicht löste, vielmehr lediglich quoll, und dass die periphere Membran, aber nicht mehr braun, sondern indigoblau zurückblieb. Wir hatten also hier ein deutliches Analogon zu der blauen Cellulosereaktion, bei Einwirkung von Jod und dann von Schwefelsäure auf Cellulosemembranen. Aber dieses Verhalten ist auch noch in anderer Beziehung bemerkenswert; wir haben oben festgestellt, dass das normale Stärkekorn in der Schwefelsäure bis auf die letzten Reste gelöst wird, während hier, offenbar durch die Bildung der Adsorptionsverbindung Jod-Stärke-substanz, eine vollkommene Stabilität zum mindesten der peripheren Membran erreicht wird. Es scheint also, dass die Einlagerung von Jod in die Membran ihr eine bemerkenswerte Widerstandskraft gegen die Wirkung der Schwefelsäure verleiht. Wir stellen darin wieder eine gewisse Analogie beispielsweise mit dem Verhalten der nativen Baumwollfaser fest. Diese quillt zwar in der Schwefelsäure genannter Konzentration, lässt aber die Cuticula vollkommen unangegriffen zurück. Nun weiss man, dass die Widerstandsfähigkeit

¹⁾ *Melliand-Textilb.* 1945, S. 383.

²⁾ *Z. anorg. Ch.* 34, 427 (1921); 36, 508 (1923); 37, 84 (1924).

der Cuticula gegen Quellungsmittel darauf beruht, dass in dieser äussersten Partie der Zellmembran bestimmte Substanzen, Wachse, Fette und wohl auch Pektine, eingelagert, d. h. in adsorptiver Verbindung mit der Cellulose vorhanden sind. Auf diese Verhältnisse habe ich schon anlässlich meiner Versuche der Quellung von Jod-Stärke-Körnern in Calciumnitrat hingewiesen (loc. cit., S. 83). Es wurde damals festgestellt, dass die blaue Färbung der Jod-Stärke eigentlich nur eine Färbung der peripheren Zellmembran des Stärkekorns ist, da der eigentliche Inhalt ungefärbt bleibt.

Wir finden übrigens bei *Wiesner*¹⁾ schon einen Hinweis auf ähnliche Überlegungen. Er beobachtete, dass Stärkekörner, welche mit Speichel behandelt waren, zwar an Masse verloren, die Struktur aber beibehielten, wobei jedoch das Korn mit Jod nicht mehr gebläut, sondern bräunlich gefärbt wurde. Erst die Einwirkung von Schwefelsäure auf das so gefärbte Korn ruft die blaue Farbe hervor. Diese Reaktion spricht nach *Wiesner* für die Gegenwart von Cellulose im Stärkekorn, um so mehr als die nach der Behandlung mit Speichel verbleibenden Rückstände in Kupfer(II)-tetramminhydroxyd löslich waren.

Anserordentlich bemerkenswert ist die folgende Beobachtung. Behandelt man die mit Jodwasser braun gefärbten Stärkekörner in wässriger Suspension mit Natriumthiosulfat, so werden die Körner völlig entfärbt. Nach gründlichem Auswaschen dieses Reagens und Trocknen der Körner, dann Behandeln derselben mit Schwefelsäure von 1,535 spez. Gewicht, findet man, dass sie sich wie ehemals in dem Reagens nach kurzer Zeit restlos auflösen. Es sei nun daran erinnert, dass die mit Jod gefärbten Körner in der Säure unlöslich geworden waren. Wenn man aber die mit Thiosulfat entfärbten Körner neuerdings mit Jodwasser behandelt, so färben sie sich wie zuvor braunrot und beim Behandeln mit Schwefelsäure genannter Konzentration quellen sie wieder mit blauer Farbe, ohne gelöst zu werden; der „status quo ante“ ist also wieder hergestellt.

Beachtenswert ist auch das Verhalten von Stärkekörnern, welche in Berlinerblau gefärbt worden sind. Zu dem Zweck wird Kartoffelstärke in einer konz. Lösung von Eisen(III)-chlorid getränkt, dann abgepresst, getrocknet und mit Tetrakaliumhexacyanoferrat(II) behandelt. Man erhält so ein blau gefärbtes Produkt, das allerdings bei der Quellungsanalyse die Ablagerung des Farbstoffs, trotz scheinbar homogener Färbung, lediglich auf der Oberfläche bzw. der peripheren Lamelle zeigt. Bei dieser blauen Stärke tritt eine eigenartige Erscheinung bei der Behandlung in Schwefelsäure von spez. Gewicht 1,535 ein. Beim Eindringen der Säure in die Körner wird deren Inhalt dauernd kleiner und verschwindet nach kurzer Zeit vollständig; dabei werden aber die peripheren Zellschichten, welche allein das Pigment enthalten, aneinander gelagert und machen durchaus den Eindruck eines Gewebes mit Intercellularen, wie wir es beispielsweise für das Rindengewebe kennen. Wir haben also im Verhalten dieser Berlinerblau-Stärke-Körner gegen die genannte Schwefelsäure einen sehr netten Modellversuch zum Demonstrieren des Übergangs vom Bildungsgewebe zum Beispiel in Rindengewebe, unter allerdings hier sehr rasch verlaufender Resorption des Zellinhaltes.

Was an diesen Beobachtungen besonders auffallen muss, ist die Wirkung von Einlagerungen in die periphere Zellwand der Stärkekörner. Beim normalen Korn, die rasche und vollkommene Lösung in relativ konz. Schwefelsäure, beim gefärbten Korn, es ist hier gleichgültig, ob mit Jod oder mit Berlinerblau gefärbt, die absolute Stabilität. Ich habe festgestellt, dass auch nach 2mal 24 Stunden das Bild der infiltrierten peripheren Zellwand des gefärbten Stärkekornes vollkommen unverändert war. Wir haben also hier ein unzweideutiges Analogon beispielsweise zu der Cuticula der Baumwollfaser, bei welcher ebenfalls die äusserste Zellwandschicht infiltrierenden Hemicellulosen oder besser Nichtcellulosen die hohe Widerstandsfähigkeit gegen Quellungsmittel, und Schwefelsäure von 1,535 spez. Gewicht, bewirken.

Aber noch etwas anderes stellen wir besonders bei den in Jodwasser gefärbten Stärkekörnern fest, die Reaktion der braunen Stärkekörner, bzw. deren peripheren Zellwand beim Behandeln mit Schwefelsäure; man bemerkt den Übergang der Färbung von braun-

¹⁾ Elemente der wissenschaftlichen Botanik. I. Band, Anatomie und Physiologie der Pflanzen, Wien 1890.

rot zu blau, also eine ausgesprochene Cellulosereaktion. Auch hier drängen sich Analogien mit der Cuticula der Baumwollfaser auf. Wir wissen, dass sich Baumwollfaser in Jodlösung gelbbraun färbt und beim Zutritt von konz. Schwefelsäure eine blaue Farbe annimmt. Wir wissen ausserdem, dass die Cuticula der Baumwollfaser sich beispielsweise in Jod-Zinkchlorid gelb färbt, im Gegensatz zur violetten Färbung der eigentlichen Zellwandsubstanz. Wenn man aber nun zu einer isolierten Cuticula, wie man sie erhält beim Lösen von Baumwolle in Kupfer(II)-oxyd-Äthylendiamin, welche in Jodlösung braun gefärbt wurde, konz. Schwefelsäure zufließen lässt, so färbt sich die Membran blau.

Wir haben also auf Grund dieser Beobachtungen das Recht anzunehmen, dass die periphere Membran des nativen Stärkekorns, wenn auch vielleicht nicht vollkommen aus Cellulose besteht, so doch Cellulose als Gerüstsubstanz enthält.

Diese Anschauung wird bestärkt durch die Feststellung, dass Stärke, welche mit diastatischen Fermenten behandelt wurde, die periphere Zellmembran in der wässrigen Phase ungelöst zurücklässt. Behandelt man diese Relikte mit Jodlösung und trocknet auf dem Objektträger ein, so erhält man die kollabierten Kornhüllen braunrot gefärbt. Lässt man nun Schwefelsäure obenerwähnter Konzentration zufließen, so färben sich die Membranrelikte sofort blau, also wiederum die charakteristische Cellulosereaktion. Nebstdem geben diese Relikte mit Jod-Zinkchlorid die charakteristische violette Cellulosereaktion und lösen sich, soweit es die eigentlichen Reste der peripheren Membran anbelangt, rasch und vollständig in Kupfer(II)-oxyd-Äthylendiamin. Es erscheint daher kein Zweifel zu bestehen, dass wir in dieser Kornhülle eine zum mindesten zur Hauptsache aus Cellulose bestehende Gerüstsubstanz zu erblicken haben.

Zum Schluss mögen noch folgende Überlegungen hier Platz finden. Wir haben oben gesehen, dass Jod-Stärke, hergestellt mit Jodwasser, sich im makroskopischen und mikroskopischen Bild unterscheidet von der Jod-Stärke, die mit Kaliumtrijodid hergestellt wurde. Nachdem aber schon früher (*loc. cit.*) das Jodwasser gewissermassen als Jodhydrosol erkannt wurde, wird es uns verständlich, wenn, in Anlehnung an die Färbung der Cellulosefaser in substantiven Farbstoffen, auch hier kein Eindringen der Jod-Submikronen in das Innere des Kornes stattfindet, sondern die Hauptmenge des Jodes, wie das mit dem Farbstoff bei substantiven Färbungen ebenfalls der Fall ist, vorwiegend an der peripheren Zellmembran adsorbiert bleibt.

Anders bei den Jod-Stärken, welche einer Kaliumtrijodidlösung ihre Entstehung verdanken; hier liegt eine molekulardisperse Lösung vor, welche infolge ihrer Homogenität ins Innere des Stärkekorns eindringt und auch den Inhalt desselben weitgehendst durchdringt und färbt, wie das im Gegensatz zu der substantiven Cellulosemembranfärbung, bei der Färbung beispielsweise mit den ebenfalls molekulardispersen basischen Farbstoffen wie Methylenblau der Fall ist.

Also auch hier weitgehende Übereinstimmung im Verhalten von Stärkekörnern mit den Zellmembranen der gebräuchlichen vegetabilischen Gespinnstfasern.

Riehen bei Basel, März 1945.