

Aufnahme von Spurenelementen durch Ionenaustausch in Pflanzenzellen*

Von

H. Krausz und E. Broda

Aus dem Institut für Physikalische Chemie der Universität Wien

(Eingegangen am 13. Februar 1965)

Die starke Anreicherung von radioaktivem Zink durch lebende und tote Chlorella-Algen bei der Aufnahme aus Lösung wird durch Ionenaustausch gedeutet. Es handelt sich um einen passiven Prozeß, der keine Energie aus dem Stoffwechsel beansprucht. Bei den toten Algen ist die Einstellung von Gleichgewichten praktisch erreichbar; die Kapazität beträgt etwa 0,1 mval/g Frischgewicht. Durch Konkurrenz einer Anzahl zweiwertiger Ionen mit dem Radiozink wurde eine Affinitätsreihe für die toten Algen ermittelt. Diese Reihenfolge wurde für lebende Algen im wesentlichen bestätigt. (Nur wirkt Kupfer auf die lebenden Algen als Gift, und diese spezifische Wirkung wurde auch durch die Unterdrückung der aktiven Aufnahme von Radium gemessen.) Die Affinitätsreihe stimmt teilweise mit jener am Ionenaustauscher Amberlite IRC-50 überein, der durch Carboxylgruppen wirkt. Doch wird eine beschränkte Menge an Zink durch die Algen abnorm fest gebunden, und besondere Versuchsreihen führen zu der Annahme mindestens zweier Arten austauschender Zentren.

The strong concentration of radiozinc by living and dead algae (chlorella) from solutions is interpreted as being due to ion exchange. The process is passive and requires no metabolic energy. With dead algae, equilibria may be reached, and the capacity is of the order of 0.1 mval per gram fresh weight. An affinity series for dead algae has been established by competition of divalent ions with radiozinc. The series is essentially the same for living algae, except that copper acts as a poison; the toxicity of the copper has been demonstrated through the inhibition of radiorubidium uptake. The series of the affinities agrees partly with that of the ion exchanger amberlite IRC-50 that acts through carboxylic groups. How-

* Frau Prof. Dr. *E. Cremer* mit besten Wünschen gewidmet.

ever, a limited amount of zinc is bound abnormally strongly by the algae, and special experiments suggest the existence of at least two kinds of exchanging centres.

Sogenannte Spurenelemente, d. h. Elemente, die normalerweise im Medium nur in kleiner Menge vorkommen, können durch Pflanzen stark konzentriert werden. Anreicherungsfaktoren (Verhältnis der Konzentrationen in Zellen und Medium [auch Wasser]) von 10^2 oder 10^3 und mehr werden oft beobachtet. Diese Erscheinung ist von großer Bedeutung für Geochemie, Landwirtschaft, Ernährungslehre und (wenn es sich um Radionuklide handelt) Strahlenschutz. Daher liegt auch umfangreiche Literatur vor, jedoch sind die bisherigen Berichte über die Aufnahme der Spurenelemente, soweit sie uns bekannt geworden sind, stets beschreibender Art. Im Gegensatz zu der Aufnahme von sogenannten Makroelementen — also von Kalium, Calcium, Phosphor und dgl. — durch die Pflanzen scheint der Mechanismus der Aufnahme der Spurenelemente (Mikroelemente) bisher nicht untersucht worden zu sein.

Spurenelemente können für die Pflanze notwendig (essentiell) sein (z. B. Molybdän, Kupfer, Bor) oder sie können unnötig sein (z. B. wahrscheinlich Blei, Uran), doch ist der zwingende experimentelle Nachweis der Unnötigkeit nicht leicht. Ein wichtiges essentielles Spurenelement ist auch das Zink¹. Sein Isotop ^{65}Zn (Halbwertszeit 245 Tage) wurde in unserem Laboratorium für die systematische Untersuchung der Aufnahme eines Spurenelementes durch Pflanzen herangezogen.

Die Arbeiten über einzellige Algen² (*Chlorella vulgaris*) und Gerstenwurzeln³ ergaben, daß die Zinkaufnahme ein „passiver“ Prozeß ist, also keine Arbeitsleistung erfordert und daher keine durch Stoffwechselprozesse gelieferte freie Energie beansprucht. Einer der Beweise dafür besteht darin, daß die „Entkoppler“ Dinitrophenol und Natriumazid, durch die die Bildung von Adenosintriphosphat (ATP) bei der Atmung gehemmt wird, auf die Zinkaufnahme ohne Einfluß sind. Auch zeigte sich, daß die Pflanzen nach Tötung durch Einfrieren, Mahlen oder Behandlung mit Alkohol nicht weniger, sondern sogar mehr Zink binden.

[In allen diesen Beziehungen steht die Aufnahme von Zink im Gegensatz etwa zu der von Kalium, die auf einem „aktiven“, Stoffwechselenergie benötigenden Prozeß beruht. Dabei muß die Frage nicht entschieden werden, ob das Kalium unmittelbar aktiv transportiert wird, oder ob es der elektrischen Potentialdifferenz folgt, die durch einen anderen aktiven Prozeß (etwa Auspressen von Natrium) aufgerichtet wird.]

¹ Siehe z. B. *Th. Bersin*, Biochemie der Mineral- und Spurenelemente, Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt/Main 1963.

² *E. Broda, H. Desser und G. Findenegg*, Naturwiss. **15**, 361 (1964).

³ *G. Findenegg und E. Broda*, Nature [London], im Druck.

Damit erhob sich die Frage nach dem Mechanismus des passiven Prozesses. Da der Prozeß nach Zerstörung der Zellstruktur (etwa durch Einfrieren oder Mahlen) weiterwirkt, ja sogar verstärkt ist, ist nicht anzunehmen, daß Donnan-Effekte quer durch Grenzflächen eine Rolle spielen. Wahrscheinlicher sind von vornherein Ionenaustausch und Verbindungsbildung. Die Rolle solcher Vorgänge sollte nun am Modellsystem *Chlorella*—Zink radiochemisch untersucht werden. In diesem Rahmen wurden auch einige Versuche mit Radiokupfer (^{64}Cu ; Halbwertszeit 12,8 Stdn.) angestellt.

Experimenteller Teil

Züchtung der Algen

Chlorella pyrenoidosa wurde in sterilisierter 1proz. Glucoselösung gezüchtet. 1 l Lösung enthielt ferner (alles in Mol) $3 \cdot 10^{-3}$ KNO_3 , 10^{-3} KH_2PO_4 , $2 \cdot 10^{-3}$ MgSO_4 , $2 \cdot 10^{-5}$ Fe(III)-citrat , sowie an Verbindungen von Spurenelementen $4,5 \cdot 10^{-5}$ H_3BO_3 , 10^{-5} MnCl_2 , $3 \cdot 10^{-7}$ CuSO_4 und $4 \cdot 10^{-8}$ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, hingegen kein Zink. Sie wurde mit KOH auf pH 6,5 eingestellt. Jeweils wurden 0,5 g Algen pro Liter Nährlösung zur Züchtung eingesetzt und nach zwei Wochen 4—5 g Algen geerntet. Für die Versuche wurden sie abgesaugt und mit 250 ml destill. Wasser gewaschen.

Zur Tötung wurden die Algen mit 100 ml reinem Alkohol unter Umschütteln 1 Stde. bei Zimmertemp. stehen gelassen, hierauf abgesaugt und mit Wasser gewaschen.

Behandlung des Ionenaustauschers

Amberlite IRC-50 (Korngröße unter 150μ , bezeichnet als XE-64) mit einer Kapazität von 5,5 mval/g (lufttrocken) wurde zunächst mit 3*n*-HCl in die H-Form übergeführt, und die überschüssige Säure ausgewaschen. Dann wurde der Austauscher mit 3*n*-NaCl-Lösung, die mit NaOH alkalisch gemacht worden war (pH 10), in die Na-Form übergeführt, wobei die Aufnahme der Natriumionen durch die pH-Änderung verfolgt wurde. Nachdem mit Wasser nachgewaschen worden war, wurde der Austauscher auf der Nutsche trockengesaugt, zwischen Filterpapier gepreßt und an der Luft getrocknet.

Messung der Radioaktivität

Das radioaktive Zink war als Chlorid mit einer spezifischen Aktivität im Bereich von etwa 0,8 bis 1,4 mC pro mg Zink vom Radiochemical Centre, Amersham, England, bezogen worden. Das radioaktive Kupfer erhielten wir als CuO mit einer spezif. Aktivität von rund 0,06 mC pro mg Kupfer vom Reaktorzentrum Seibersdorf. Für jeden Versuch wurden bei den Algen etwa $2 \mu\text{C}$, bei dem Ionenaustauscher etwa $7 \mu\text{C}$ eingesetzt. Die Aktivität der vom Bodenkörper getrennten Lösung wurde bei allen Versuchen mit einem 10 ml fassenden Flüssigkeitszählrohr gemessen. Es wurden in der Regel jeweils mindestens 10 000 Impulse registriert (Meßdauer 10—20 Min.).

Versuchsführung

Um die Einheitlichkeit des Materials zu sichern, wurden alle Versuche einer Serie mit lebenden oder toten Algen mit Anteilen der gleichen Ernte und gleichzeitig durchgeführt. In jedes Röhrchen wurde ein Aliquot von

ungefähr 900 mg lebenden Algen (Frischgewicht — entspricht etwa 450 mg nach Trocknung über Silikagel) bzw. von etwa 600 mg toten Algen (Frischgewicht, entspricht etwa 900 mg Frischgewicht lebenden Algen) in Suspension in Wasser eingesetzt. Das Lösungsvolumen betrug bei den Versuchen mit Algen 10 ml (bei den Versuchen mit Ionenaustauscher 50 oder 100 ml).

Die Lösungen enthielten stets Natriumacetat—Essigsäure-Puffer (pH 6), und zwar zumeist 0,1*m*. Im Falle der lebenden Algen war Puffer schon deshalb nötig, weil die Algen dazu neigen, den pH-Wert des Mediums zu erhöhen, und dann Zinkverbindungen ausfallen könnten.

Obwohl Vorversuche gezeigt hatten, daß das Verteilungsgleichgewicht zwischen (lebenden oder toten) Algen oder Austauscher und Überstand innerhalb einer Stunde eingestellt ist, wurden die Proben doch in der Regel über Nacht geschüttelt. Anschließend wurde der Bodenkörper abzentrifugiert und ein Aliquot des Überstandes zur Messung gebracht.

Ergebnisse

Die allgemeine Methodik bestand in der Untersuchung der Reihenfolge der Affinitäten verschiedener Kationen zu lebenden und toten Algen sowie — im Vergleich dazu — zu einem dafür geeigneten Kunstharz-Austauscher. Dazu wurde die Aufnahme des Radiozinks, wenn es für sich allein in der gepufferten Lösung vorlag, mit der Aufnahme in Anwesenheit eines verdrängenden Kations (Zusatzions) verglichen. Als einer dieser Verdränger diente inaktives Zink.

Da zu vermuten war, daß der Austausch zum großen Teil an Carboxylgruppen erfolgt, wurde als Modell zunächst der Kationenaustauscher Amberlite IRC-50 (Polymerisat aus Styrol mit Acrylsäure) gewählt, der ausschließlich durch Seitenketten-Carboxylgruppen wirksam ist. 50 mg lufttrockener Amberlite IRC-50 in der Natriumform wurden mit 100 ml Lösung von Radiozink und Zusatzion ($10^{-3}m$) entweder in 0,1*m* oder in 0,001*m*-Natriumacetat—Essigsäure-Puffer (pH 6) behandelt. Im Falle des 0,001*m*-Puffers war die Natriumkonzentration in der Lösung durch NaNO_3 ebenfalls auf 0,1*m* eingestellt worden. Die Daten der Tab. 1 beziehen sich auf die Chloride, doch ergab ein Parallelversuch mit den Nitraten das gleiche Resultat.

Besondere Experimente hatten die völlige Reversibilität der Aufnahme von Radiozink (sowie auch von Radiokupfer; siehe unten) bestätigt. Zu diesem Zweck wurde der Austauscher in einer ersten Stufe mit gepufferter, aber sonst zusatzfreier Lösung des radioaktiven Ions und dann in einer zweiten Stufe mit ebenfalls gepufferter $10^{-3}m$ -Lösung des inaktiven Ions (Zn bzw. Cu) behandelt. Wir fanden, daß dabei am Ende die gleiche Menge Radioisotop festgehalten wurde wie in Versuchen mit umgekehrter zeitlicher Reihenfolge.

In den Versuchen mit inaktivem Zink als Zusatzion war es unmittelbar möglich, aus der aufgenommenen Menge an Radiozink auf die aufgenommene Menge an Zusatzion zu schließen und daraus die Belegungs-

dichte zu errechnen. Sie lag bei 1,2—1,5 mMol/g, entsprechend einem Ab-sättigungsgrad von etwa 50%. Der Rest der Carboxylgruppen war natür-lich vorwiegend mit Natriumionen aus dem Puffer belegt.

Unter den übrigen Zusatzionen zeigen die vier Erdalkalien die ge-ringste verdrängende Wirkung auf Radiozink, also die geringste Affinität zum Austauscher. Nickel, Kobalt und Mangan bilden eine Mittelgruppe; der Vergleich mit der verdrängenden Wirkung des inaktiven Zinks zeigt, daß die Affinität dieser Kationen die des Zinks ebenfalls nicht erreicht. Cad-mium, Lanthan und Kupfer schließlich, die das Zink übertreffen, bilden eine Spitzengruppe.

Man erkennt ferner aus Tab. 1, daß die Reihenfolge der Ionen sich nicht ändert, wenn die Konzentration des Acetat-Ions um einen Faktor 100

Tabelle 1. Aufnahme von ^{65}Zn durch Amberlite IRC-50 (pH 6)

Verdränger ($10^{-3}m$)	0,1 <i>m</i> -Puffer %	0,001 <i>m</i> -Puffer %
—	88,6	95,4
Cd	47,0	69,1
La	48,1	
Cu	49,7	72,0
Zn	59,5	75,8
Ni	82,7	85,0
Co	82,5	87,6
Mn	86,5	91,3
Ba	88,6	93,8
Sr	88,4	93,6
Ca	88,4	93,2
Mg	88,6	93,9

geändert wird. Bei der geringeren Konzentration ($10^{-3}m$) liegt selbst von jenem Ion (Cadmium), bei dem die Stabilitätskonstante des Acetat-komplexes den höchsten Wert hat⁴, nur mehr ein kleiner Teil in Form eines Komplexes (MeOAc)⁺ vor.

Aus Ergebnissen solcher Konkurrenzversuche kann im Prinzip die Massenwirkungskonstante für die Aufnahme jedes einzelnen der konkurrierenden Ionen durch den Austauscher berechnet werden, d. h. es ist der Einsatz nur eines einzigen radioaktiven Nuklids zu einer Serie solcher Bestimmungen nötig. Jedoch können brauchbare Zahlenwerte nur durch Extrapolation zu geringen Belegungsdichten erhalten werden; dies soll an anderer Stelle durchgeführt werden.

Die Reihenfolge bei der Verdrängung vom Ionenaustauscher darf natürlich, wenn alle aktiven Stellen identisch sind, nicht von der Art des

⁴ J. Bjerrum, G. Schwarzenbach und L. G. Sillén, Stability Constants, Part I, Chemical Society, London 1957.

radioaktiven Ions abhängen. Dies wurde durch Versuche bestätigt (Tab. 2), bei denen unter sonst analogen Bedingungen die Reihenfolge einerseits mit Radiozink und andererseits mit Radiokupfer bestimmt wurde (Lösungsvolumen 50 ml, 0,1*m*-Acetatpuffer, pH 5,3).

Tabelle 2. Aufnahme von ^{65}Zn bzw. ^{64}Cu durch Amberlite IRC-50 (pH 5,3)

Verdränger ($10^{-3}m$)	^{65}Zn %	^{64}Cu %
—	64,6	85,5
Cd	38,2	67,5
Cu	40,0	72,0
Zn	45,0	76,2
Ni	50,0	81,8
Co	50,2	82,5
Mn	50,4	83,9
Ba	55,0	83,2
Sr	55,2	84,5
Ca	55,1	84,3
Mg	55,3	83,8

Eine weitere Verdrängungsreihe wurde mit 600 mg toten Algen, 10 ml Lösung (0,1*m*-Acetatpuffer, pH 6) und Zusatzionenkonzentration $10^{-3}m$ aufgenommen (Tab. 3A).

Tabelle 3. Aufnahme von ^{65}Zn durch Algen (pH 6)

A durch tote Algen		B durch lebende Algen	
Verdränger ($10^{-3}m$)	%	Verdränger ($10^{-3}m$)	%
—	84,4	—	50,5
Zn	49,5	Zn	10,2
Cu	52,0	La	13,1
Cd	70,7	Cd	27,2
La	73,5	Ni	31,4
Ni	76,0	Co	36,4
Co	80,3	Mn	35,6
Mn	82,5	Mg	46,1
Ba	84,3	Ca	45,6
Sr	84,1	Sr	46,3
Ca	84,4	Ba	52,6
Mg	84,1	Cu	78

Aus dem Versuch mit Zusatz von inaktivem Zink kann auf eine Gesamtaufnahme von $5 \cdot 10^{-3}$ mMol Zink durch die toten Algen aus $10^{-3}m$ Lösung geschlossen werden, d. h. die Belegungsdichte war etwa $1,6 \cdot 10^{-2}$ mval/g toter Algen (Frischgewicht). (Dies entspricht etwa

$1,1 \cdot 10^{-2}$ mval/g lebender Algen, aber die tatsächlich durch lebende Algen aufgenommene Menge ist viel kleiner.) In gesonderten Versuchen mit einer Reihe von Konzentrationen an markiertem Zink in 0,1*m*-Puffer bei pH 6 wurde bei Sättigung eine Aufnahme in der Größenordnung von 0,1 mval/g Frischgewicht toter Algen gefunden. Freilich ist die Bestimmung des Endpunktes schwierig, und wir werden auf die Analyse dieser Daten ebenfalls an anderer Stelle eingehen. Der genannte Wert würde einer Kapazität entsprechen, die etwa 50mal kleiner ist als die des Amberlits IRC-50.

Die Verdrängungsreihe an den Algen stimmt teilweise (bezüglich der Erdalkalien, Mn, Co, Ni) mit jener am Amberlite IRC-50 überein. Hingegen ist die Reihenfolge in der Spitzengruppe des Amberlite Cd — La — Cu — Zn bei den Algen in Zn — Cu — Cd — La verändert. Ein weiterer Unterschied zum Amberlite besteht darin, daß das Gleichgewicht zwischen inaktivem und aktivem Ion, wenn sie nacheinander eingesetzt werden, langsamer erreicht wird. Während dieses Gleichgewicht beim Ionenaustauscher innerhalb von 3 Stdn. erreicht ist, benötigt man bei den toten Algen mindestens 20 Stdn., also auch viel länger, als zur Sättigung der zinkfreien Algen mit Zink erforderlich ist.

Auf Grund der Ergebnisse der Tabelle 3 A wurde die Arbeitshypothese entwickelt, daß bei den (toten) Algen Ionenaustausch an Carboxylgruppen durch die Aufnahme an einer anderen Art (oder mehreren anderen Arten) von Wirkgruppe überlagert ist und daß die Affinitätsreihe an dieser „Gruppe X“ sich von der Reihe an der Carboxylgruppe unterscheidet.

Zur Klärung wurden tote Algen (3 g Frischgewicht) mit 50 ml einer 2,5*m*-Kupferlösung (ungepuffert) vorbehandelt, der Überschuß des Kupfers wurde durch viertelstündiges Waschen mit Salzsäure (pH 2) gewaschen und mit den so erhaltenen „Kupferalgen“ wurde dann abermals eine Verdrängungsreihe aufgenommen. Zum Vergleich wurde ein Parallelversuch nach analoger Vorbehandlung mit einer 2,5*m*-Calciumlösung angestellt; auf Grund der Affinitätsreihe wurde vermutet, daß das Calcium unspezifisch aufgenommen wird, während Kupfer bevorzugt von bestimmten Gruppen festgehalten werden könnte. Man erkennt (Tab. 4) daß in der Tat nach Blockierung der Wirkgruppe X (oder eines Teils dieser Gruppe) durch Kupfer die Verdrängungsreihe verändert ist.

Mit der Vorstellung von mehreren Arten von Wirkgruppen stimmt auch das in einer weiteren Versuchsreihe mit toten Algen erhaltene, hier nur vorläufig zu erwähnende Ergebnis überein, daß Zn viel stärker als Cu mit trägerfreiem Radiozink, Cu aber viel stärker als Zn mit Radiokupfer konkurriert (Konzentrationen der konkurrierenden Ionen wieder $10^{-3}m$).

Eine Affinitätsreihe wurde auch mit lebenden Algen (920 mg pro Röhrenchen) aufgenommen (Tabelle 3 B). Aus dem Versuch mit Zusatz von inaktivem Zink ergab sich eine Gesamtaufnahme von 10^{-3} mMol Zink, was

einer Belegungsdichte von bloß $2,1 \cdot 10^{-3}$ mval/g entspricht. Die aufgenommene Menge, bezogen auf gleiches Lebendgewicht, war somit um 80% kleiner als bei den toten Algen. Die Reihenfolgen sind im allgemeinen gleich, nur das Kupfer verhält sich ganz anders, indem es nunmehr die Aufnahme des Radiozinks steigert, statt sie — wie alle Ionen, auch Kupfer, bei toten Algen — zu vermindern. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß die Algen durch das Kupfer getötet werden und die toten Algen dann — wie immer — erhöhte Aufnahme zeigen.

Tabelle 4. Vergleich der Affinitätsreihen von mit Cu und von mit Ca vorbehandelten toten Algen

Verdränger ($10^{-3}m$)	Aufnahme	
	a) Cu %	b) Ca %
—	50	67
Zn	22,5	30
Cu	23,5	23
Cd	27,5	42
La	20	56
Ni	34	57

Die Giftwirkung des Kupfers, die ohnehin wohlbekannt ist, wurde durch eine Versuchsreihe über die Fähigkeit der Algen zu aktivem Transport nach Behandlung mit Ionen bestätigt. Wegen der günstigeren Halbwertszeit wurde Rubidium (^{86}Rb ; Halbwertszeit 18,7 Tage) statt Kalium angewendet; es ist bekannt, daß Rubidium durch das gleiche System transportiert wird wie das Kalium⁵. Nach 40stündiger Behandlung von 100 mg lebender Algen mit den $10^{-3}m$ -Zusatzionen und 0,1*m*-Acetat-

Tabelle 5. Aufnahme von ^{86}Rb in Gegenwart anderer Ionen ($10^{-3}m$) durch lebende Algen

Ion	%
—	36,4
Ca	51
Mg	38,4
Mn	34,2
Co	33,4
Zn	33,4
Ba	32
Ni	31,5
Sr	31,4
La	30,8
Cd	28,8
Cu	1,8

⁵ Siehe z. B. *E. Epstein*, Ann. Rev. Plant Physiol. 7, 1 (1956).

Puffer (pH 6) wurde die Aufnahme von Radiorubidium gemessen. Man erkennt aus Tab. 5, daß das Kupfer offenbar eine spezifische Giftwirkung entfaltet, während die Wirkung der anderen untersuchten Ionen gering ist.

Diskussion

Wenn auch Zink als Bestandteil mehrerer tierischer und pflanzlicher Enzyme erkannt^{1, 6} und die Unentbehrlichkeit des Zinks für *Chlorella pyrenoidosa* nachgewiesen worden ist^{7, 8, 9}, so ist bisher doch über seine Rolle im Stoffwechsel der Algen nicht viel bekannt¹⁰. In dieser Hinsicht haben auch Untersuchungen über die Aufnahme von Radiozink aus radioaktiven Abfällen durch verschiedene Algen (nicht *Chlorella*) nicht weitergeführt^{12, 13}. Überdies waren in den bisherigen Untersuchungen die physiko-chemischen Bedingungen schlecht definiert und der Mechanismus der Aufnahme blieb unerforscht.

Auf der Grundlage der Ionenaustausch-Hypothese könnte man die Affinitätsreihe der Algen in Parallelversuchen mit verschiedenen radioaktiven Kationen aufnehmen. Jedoch wäre dafür eine ganze Serie von Radionukliden mit bekannten spezifischen Aktivitäten notwendig, während nach der vorliegenden „Verdrängungs“-Methode im wesentlichen nur ein einziges Nuklid erforderlich war. Wichtiger ist, daß in den vorliegenden Ergebnissen, was das heterogene Algensystem betrifft, nur die Konkurrenz um jene Gruppen zum Ausdruck kommt, die ein bestimmtes Element (hier Zink) binden. Eine eventuelle Aufnahme anderer Elemente durch andere Gruppen, die Zink nicht binden, wird aber gar nicht berücksichtigt. Daher erlauben unsere Ergebnisse zwar keine Schlüsse auf das Gesamtaufnahmevermögen der Algen für Kationen; dafür aber wird die Interpretation der Ergebnisse bezüglich der zinkbindenden Gruppen erleichtert.

Was nun zunächst den technischen Kationenaustauscher anlangt (Tab. 1), so fällt auf, daß die Reihenfolge der Aufnahme mit der Reihenfolge der Stabilitäten der Komplexe der gleichen Ionen mit Acetat⁴ übereinstimmt. Die Reihenfolge widerspiegelt offenbar die Stärke der Komplexbildung der Carboxylgruppen mit den Ionen. Sie unterscheidet sich grundlegend von der Reihenfolge der Affinitäten zu Austauschern mit an-

⁶ D. J. Nicholas, Ann. Rev. Plant Physiol. **12**, 63 (1961).

⁷ G. Stegmann, Z. Bot. **35**, 385 (1940).

⁸ O. Warburg und W. Lüttgens, in O. Warburg (Hrsg.), Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten, Springer-Verlag, Berlin 1948.

⁹ J. B. Walker, Arch. Biochem. Biophys. **53**, 1 (1954).

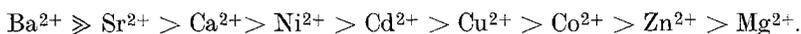
¹⁰ W. Wiessner in ¹¹.

¹¹ R. A. Lewin (Hrsg.), Physiol. and Biochem. of Algae, Acad. Press, New York 1962.

¹² R. W. Bachmann und E. P. Odum, Limnol. Oceanogr. **5**, 349 (1960).

¹³ E. A. Gilewa, Dokl. akad. nauk SSSR **132**, 948 (1960); Chem. Abstr. **55**, 3736 (1961).

deren Wirkgruppen als Carboxyl. Z. B. gilt in bezug auf den durch Sulfo-
gruppen wirksamen Austauscher Dowex-50 die Reihe¹⁴



In großen Zügen stimmt die Reihenfolge der Aufnahme durch die
toten Algen (Tab. 3 A) mit der Reihenfolge am Austauscher überein. Tat-
sächlich ergibt auch die chemische Analyse von Chlorella, und zwar be-
sonders der Zellwände^{15, 16}, daß Carboxylgruppen einen Hauptteil der
sauren Gruppen stellen. U. a. kommen große Mengen von Carbonsäuren vor,
die von Kohlehydraten abgeleitet sind, wie z. B. Glucuronsäure; außerdem
enthalten natürlich die Proteine saure Aminosäuren.

Jedoch ist offenbar ein Teil des Austausches anderen Gruppen zuzu-
schreiben, wie Phosphatgruppen von Polyphosphaten¹⁷ und von Nuklein-
säuren¹⁸, dazu vielleicht auch Sulfatgruppen. Schließlich besteht die Mög-
lichkeit, daß manche Ionen mit dem Stickstoff der Proteine Komplexe
bilden. Der Einfluß der Bindung durch andere als Carboxylgruppen
kommt in der Änderung der Spitzengruppe der Affinitätsreihe gegenüber
dem Amberlite IRC-50 zum Ausdruck.

Die Heterogenität der aktiven Stellen führt dazu, daß die „Kupfer-
algen“, in denen offenbar mindestens eine Art von Stellen durch das Kupfer
vollständig oder teilweise blockiert ist, in bezug auf die verbleibenden
Stellen eine veränderte Reihenfolge der Affinitäten aufweisen (Tab. 4).

Die Reihenfolge der Affinitäten zu den lebenden Algen (Tab. 3 B)
stimmt mit jener zu den toten Algen überein, d. h., ein spezifischer Ein-
fluß der Lebenserscheinungen wird — abgesehen von der Vergiftung
durch Kupfer (Tab. 5) — nicht beobachtet. Freilich ist zu bedenken,
daß ein aktiver Transportmechanismus, wie er z. B. für das Calcium an-
genommen wird, keine Bindung durch austauschende Gruppen voraus-
setzen muß und daher auch nicht zu einer Verdrängung von Radiozink
von solchen Gruppen führen muß. Bemerkenswert ist die schon früher¹⁹
beobachtete Steigerung der Zinkaufnahme durch die Tötung der Algen,
etwa durch Alkohol; ein analoges Ergebnis ist auch mit Gerstenwurzeln
erhalten worden³.

Knauss und *Porter*²⁰ haben die Aufnahme verschiedener Spurenele-
mente in Form ihrer radioaktiven Kationen durch Chlorella pyrenoidosa

¹⁴ O. D. Bonner und L. L. Smith, J. Physic. Chem. **61**, 326 (1957).

¹⁵ D. H. Northcote, Biochem. Soc. Symp. **22**, 105 (1963).

¹⁶ Siehe D. R. Kreger, in ¹¹.

¹⁷ Siehe A. Kuhl, in ¹¹.

¹⁸ Siehe T. Iwamura, in ¹¹.

¹⁹ E. Broda und G. Findenegg, Gemeinsame Tagung der Deutschen
Gesellschaft für Biophysik, der Österr. Ges. für Reine und Angew. Biophysik
und der Schweizerischen Ges. für Strahlenbiologie, Wien 1964.

²⁰ H. J. Knauss und J. W. Porter, Plant Physiol. **29**, 229 (1954).

verglichen. Allerdings enthielten die Medien Salzmischungen aus vielen Komponenten, sie waren nicht gepuffert, und als pH-Wert wird 4,2—4,7 angegeben. Nur geringe Aufnahme von Calcium und Strontium wurde gefunden, während die Aufnahme von Kupfer und ganz besonders jene des Mangans viel stärker war als die des Zinks. Es wurde geschlossen, daß „die enormen Differenzen in der Aufnahme von Elementen durch Chlorella nahelegen, daß die Absorptions- und Adsorptionswege beim Eintritt in die Zelle ganz verschiedenartig sein können. Wenn dies zutrifft, wäre eine beträchtliche Zahl von Enzymen an der Aufnahme der Elemente beteiligt.“ Uns scheint jedoch in Anbetracht der komplizierten Zusammensetzung des Mediums von *Knauss* und *Porter* eine einfache Deutung ihrer Daten kaum möglich zu sein, und wir glauben, daß die vorliegende Arbeit ebenso wie unsere früheren Arbeiten² wahrscheinlich macht, daß Enzyme an der Aufnahme der Hauptmenge der untersuchten Spurenelemente durch die Algen nicht beteiligt sind. Eine quantitativ geringe Mitwirkung von Enzymen ist natürlich nicht auszuschließen.

In weiteren Arbeiten sollen die Fragen der Natur der zinkbindenden Gruppen und auch des Ortes des Zinks innerhalb der Zellen weiter behandelt werden.

Wir danken dem Bundeskanzleramt — Verstaatlichten Unternehmungen (Sektion IV) für großzügige Unterstützung betreffend Sachausgaben, und Herrn Univ.-Doz. Dr. *T. Schönfeld* für wertvolle Diskussionen.