

Grundlagen:

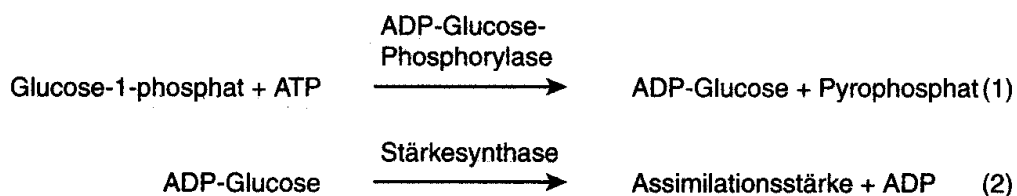
In den grünen Blättern entstehen als Endprodukte der Photosynthese Hexosen [C₆H₁₂O₆] in Form von Glucose und Fructose. Beide Zucker sind an Phosphatreste gebunden und liegen als Glucose-1-phosphat und Fructose-6-phosphat vor. Dabei wird die Sonnenenergie in chemische Energie umgewandelt und in den Zuckermolekülen gespeichert. Dieser Zucker steht dann im Mittelpunkt des gesamten Stoffwechselgeschehens in der Zelle, entweder als Ausgangsstoff für die Synthese aller anderen organischen Verbindungen im Baustoffwechsel als auch als Brennstoff im Betriebsstoffwechsel (z.B. Zellatmung).

Unter günstigen Bedingungen übersteigt die Zuckerproduktion deren Verarbeitung in der Zelle erheblich. Eine Zuckerrückbildung in Zellen erhöht aber den osmotischen Wert des Zellsaftes sehr stark und stört damit die Zellfunktionen. Die Pflanzen vermeiden diese Gefahr auf dreierlei Weise:

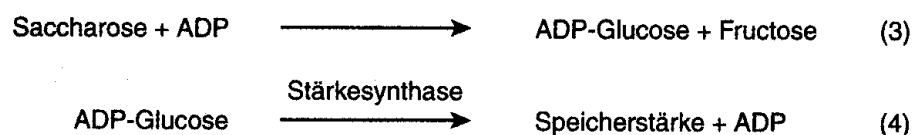
1. Durch Bildung des Disaccharids Saccharose aus Glucose und Fructose wird der osmotische Wert halbiert.
2. In der Lichtphase wird in den Blättern aus Glucose die unlösliche und deshalb osmotisch unwirksame Assimilationsstärke aufgebaut und in Form kleiner Körner in den Chloroplasten gespeichert. In der Dunkelphase wird diese Stärke abgebaut und die dabei frei werdende Glucose zur Saccharosebildung verwendet.
3. Die Saccharose wird im Siebteil (Phloem) der Gefäße zu den Speichergeweben geleitet und dort für den Aufbau von Speicherstärke in den Amyloplasten verwendet, so z. B. in der Kartoffelknolle.

Die Bildung der Stärkemoleküle geht in der lebenden Zelle nicht von Glucose aus, sondern von dem energiereicheren Glucose-1-phosphat, das mit Hilfe der Enzyme **Hexokinase** (vom ATP wird eine Phosphatgruppe auf ein Glucosemolekül zu Glucose-6-phosphat übertragen) und **Phosphoglucomutase** entsteht.

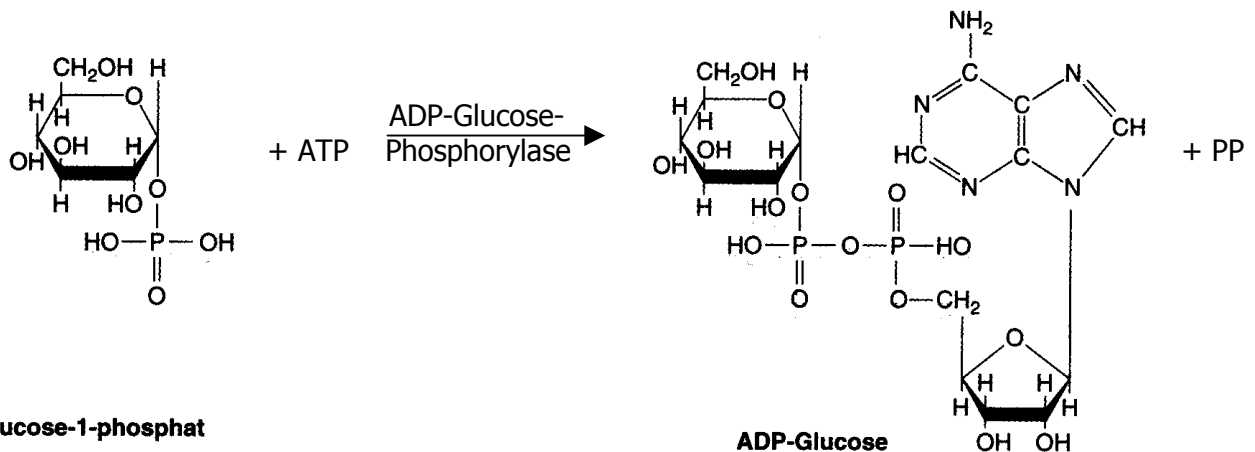
Die Stärkesynthese geht in den Plastiden von ADP-Glucose aus. Diese wird in den Chloroplasten aus Glucose-1-phosphat und ATP gebildet, wobei Pyrophosphat (PP) frei wird:



In den Amyloplasten wird ADP-Glucose aus Saccharose und ADP gebildet; dabei wird Fructose frei:



Die den Stärkeaufbau katalysierende Stärkesynthase ist eine zu den Transferasen gehörende Transglucosidase. Sie katalysiert die Übertragung eines Glucosylrestes von ADP-Glucose auf das nichtreduzierende Ende eines Startermoleküls, des 1,4-Glucans, wobei eine 1,4-glykosidische Bindung geknüpft wird. An diesen ersten übertragenen Glucoserest werden dann durch die Stärkesynthase nacheinander alle weiteren Glucosereste angehängt.



Wenn sich auf diese Weise mehrere hundert Glucosemoleküle zu einer schraubig gedrehten Kette verbinden, entsteht die Amylose der Stärke, die aber nur etwa 20 % der Masse eines Stärkekorns ausmacht. Sie ist in heißem Wasser löslich und bedingt die blauschwarze Färbung der Stärke durch Iod, das sich in die Schrauben einlagert. Hauptbestandteil der Stärke ist das Amylopektin, das aus über 2000 Glucosemolekülen besteht. Dabei bilden die Schrauben Seitenäste mit weiteren Verzweigungen.

In einem einzelnen Stärkekorn können über 10^{13} Glucosemoleküle physiologisch unwirksam gespeichert sein.

Prinzip des Experiments zur Stärkesynthese

Im Experiment soll nachgewiesen werden, dass aus Glucose-1-phosphat mit Hilfe von Enzymen aus Kartoffelzellen Stärke aufgebaut wird, während das mit einfacher Glucose nicht möglich ist. Für den Versuch muss man diese Enzyme (ADP-Glucose-Pyrophosphorylase und Stärkesynthase) nicht aus dem Kartoffelpresssaft isolieren. Lediglich die im Presssaft vorhandene Stärke muss abgetrennt werden. Dies geschieht durch Zentrifugieren, wobei etwas Kaolin zugesetzt wird. Kaolin bindet die Stärkekörner und setzt sich mit ihnen im Sediment ab. Da die Enzyme im Kartoffelpresssaft nur weniger als eine Stunde haltbar sind, muss die Enzymlösung sofort nach ihrer Gewinnung für die Stärkesynthese verwendet werden.

Material:

Kartoffel, Reibe, Leintuch, Becherglas 100 ml, Kaolin (= Aluminiumoxid), Spatel, Saugflasche mit Büchnertrichter und Wasserstrahlpumpe und Rundfilter oder Zentrifuge und Zentrifugengläser, Becherglas 250 ml, Eiswürfel, 4 Bechergläser 50 ml, Waage, dest. Wasser, α -D-Glucose-1-phosphat, α -D-Glucose, ATP, Tüpfelplatte, 3 Pasteurpipetten, Lugolsche Lösung, Zahnstocher.

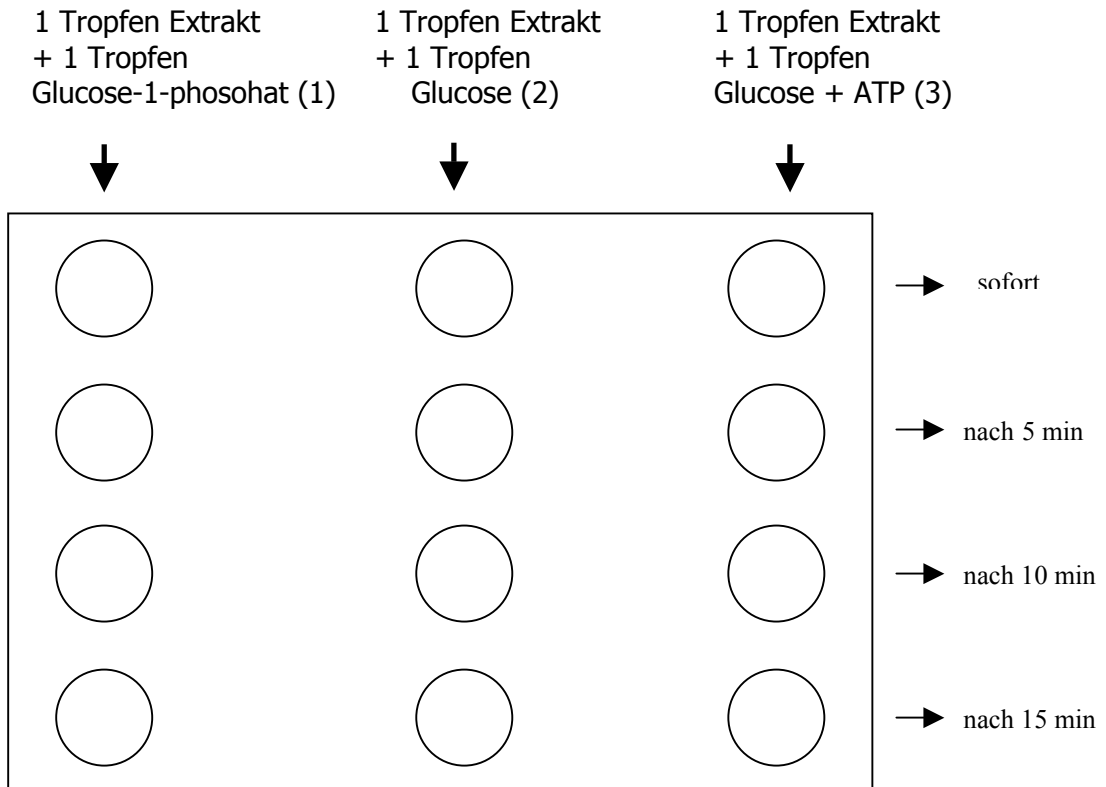
Durchführung:

1. Herstellung des Enzymextraktes:
 Kartoffel fein reiben. Den Brei durch ein Leintuch pressen, im Becherglas auffangen. Spatellöffel Kaolin zugeben und umrühren. Den Presssaft anschließend abnutschen oder zentrifugieren (1 min bei ca. 5000 Upm). Den Extrakt vorsichtig in ein Becherglas abgießen (ohne Sediment) und eisgekühlt aufbewahren.
 Eine kleine Probe des Presssafts mit einem Tropfen Lugolsche Lösung auf Stärke testen.

2. Herstellung der Zuckerlösungen:

- (1) 0,05 g Glucose-1-phosphat in 5 ml dest. Wasser lösen,
- (2) 0,1 g Glucose in 10 ml dest. Wasser lösen, Glucoselösung auf 2 RG's verteilen,
- (3) zu einem Ansatz Glucoselösung eine Spatelspitze ATP zugeben.

3. Versuchsanordnung:



4. Sobald der Enzymextrakt auf alle 12 Tüpfelfelder verteilt ist, wird die Stoppuhr gestartet und sofort in die obere Tüpfelreihe die entsprechenden Zuckerlösungen zugetropft. Mit je einem Zahnstocher werden die Lösungen in den Tüpfelfeldern vermischt.
5. Nach 5 Minuten werden die Zuckerlösungen zur zweiten Reihe zugetropft, nach 10 Minuten zur dritten und nach 15 Minuten zur vierten Reihe.
6. Nach 20 Minuten gibt man in alle Tüpfelfelder 1 Tropfen Lugolsche Lösung und rührt wieder mit je einem Zahnstocher um.

Auswertung:

Notieren Sie Ihre Beobachtungen und werten Sie diese aus!

Quellen:

- [1] Hedewig, R.: Stärkesynthese im Reagenzglas. Unterricht Biologie 238/22.Jahrgang, 10 (1998), S.48/49
- [2] Lehninger, A.: Prinzipien der Biochemie. Walter de Gruyter, Berlin 1987
- [3] Kutschera, U.: Kurzes Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Quelle und Meyer, Wiesbaden, 1995