

extrapolated sedimentation constants of chymotrypsinogen, π - and δ -chymotrypsins³, the three proteins must possess nearly equally compact structures. However, the greater sensitivity of the optical rotation of δ -chymotrypsin, as compared with chymotrypsinogen, to changes in pH might imply a greater flexibility of structure in the active enzyme. While no explanation can be offered for the discrepancy between the values for the specific optical rotation of chymotrypsinogen reported herein and some of those found in the literature^{11,12,13} for the zymogen and α -chymotrypsin, it should be stated that the present data were obtained with two different preparations of chymotrypsinogen both of which were homogeneous by electrophoretic and end group analyses, and essentially free of active enzyme. Details of this work and analogous studies of the activation of trypsinogen will be published elsewhere.

This work has been supported by the United States Public Health Service, Research Grant C-2286 and by funds made available by the people of the State of Washington, Initiative 171.

Department of Biochemistry, University of Washington,
Seattle, Wash. (U.S.A.)

JOHN A. RUPLEY
WILLIAM J. DREYER
HANS NEURATH

- ¹ W. J. DREYER AND H. NEURATH, *J. Am. Chem. Soc.*, 77 (1955) 814.
- ² W. J. DREYER AND H. NEURATH, *J. Biol. Chem.*, in press.
- ³ H. NEURATH AND W. J. DREYER, *Discussions Faraday Soc.*, in press.
- ⁴ W. KAUZMANN, in *The Mechanism of Enzyme Action*, ed. by W. D. McELROY AND B. GLASS. The Johns Hopkins Press, Baltimore, 1954.
- ⁵ J. T. YANG AND J. F. FOSTER, *J. Am. Chem. Soc.*, 76 (1954) 1588.
- ⁶ L. K. CHRISTENSEN, *Compt. rend. trav. lab. Carlsberg, Ser. chim.*, 28 (1952) 37.
- ⁷ K. LINDERSTRÖM-LANG, *Lane Medical Lectures*, Stanford University Press, Stanford (1952).
- ⁸ L. W. CUNNINGHAM, JR., *J. Biol. Chem.*, 207 (1954) 443.
- ⁹ H. A. BARKER, *J. Biol. Chem.*, 103 (1933) 1.
- ¹⁰ C. COHEN, *Nature*, 175 (1955) 129.
- ¹¹ J. T. YANG AND J. F. FOSTER, *J. Am. Chem. Soc.*, 77 (1955) 2374.
- ¹² M. A. GOLUB AND E. E. PICKETT, *J. Poly. Sci.*, 13 (1954) 427.
- ¹³ B. JIRGENSONS, *Arch. Biochem. Biophys.*, 41 (1952) 333.

Received June 18th, 1955

Über die Messung des Energieumsatzes bei der Photosynthese mit dem Grossflächen-Bolometer

Das Grossflächen-Bolometer, von LUMMER UND KURLBAUM¹ in der Physikalisch-Technischen Reichsanstalt um 1900 entwickelt, ist bei den grundlegenden Arbeiten der Photochemie von EMIL WARBURG² als Strahlungsmesser benutzt worden. Das gleiche Instrument wurde bei den Messungen des Energieumsatzes der Photosynthese angewendet, 1920 in der Physikalisch-Technischen Reichsanstalt³ und in den folgenden Jahren im Kaiserwilhelm-Institut für Biologie in Dahlem⁴.

Da es keinen, für photosynthetische Experimente geeigneteren absoluten Strahlungsmesser gibt als das LUMMER-KURLBAUM-Bolometer, veranlasste ich 1945 in Berlin die Wiederherstellung dieser Instrumente mit dem Erfolg, dass die Firma Lassen*-Berlin vor kurzem 2 Grossflächen-Bolometer nach den U.S.A. liefern konnte, das eine nach Madison (Wisconsin) in das Laboratorium von FARRINGTON DANIELS, das andere nach Berkeley (Calif.) in das Laboratorium von MELVIN CALVIN.

Der Energieumsatz bei der Photosynthese ist dadurch in den U.S.A. in bemerkenswerter Weise angestiegen. Während RABINOWITSCH⁵ aus dem Laboratorium von EMERSON, noch im Jahre 1952 einen mittleren Quantenbedarf von 12 pro Molekül Sauerstoff meldete, nennt 1955 DANIELS⁶ als Mittelwert des von ihm gefundenen Quantenbedarfs die Zahl 8.9 und CALVIN⁷ sogar die Zahl 4.9, wenn bei niedrigen Intensitäten — unter den Bedingungen unserer Versuche⁸ von 1920 — die Dunkelatmung zu dem im Licht entwickelten Sauerstoff addiert wurde.

Trotz dieser Besserung schienen mir die Differenzen zwischen DANIELS und CALVIN noch so erheblich zu sein, dass man Fehler in ihren Arbeiten vermuten musste. Tatsächlich sind in beiden Arbeiten, wie im folgenden gezeigt wird, wesentliche Fehler bei der Messung der Lichtabsorption gemacht worden.

* Jetzt Firma Röhrig, Berlin S.O., Erkelenzdamm 59.

Die Arbeit von DANIELS

Um die Absorption des Lichts in *Chlorella*-Suspensionen zu messen, werden sie von DANIELS in den Weg des zum Bolometer gerichteten Lichtstrahls gebracht. DANIELS bestimmt dann *vor* und *hinter* der Zellsuspension die bolometrischen Ausschläge und nimmt an, dass die Differenz von der Lichtabsorption in den Pigmenten der *Chlorella* herrührt. In Wirklichkeit jedoch rührt der gefundene Lichtverlust nur zum Teil von der Absorption des Lichts her; ein anderer Teil des Lichts wird von der *Chlorella*-Suspension so zerstreut, dass er nicht auf die Platinstreifen des Bolometers, sondern auf die Wände des Bolometergehäuses trifft.

Der so entstehende Fehler ist erheblich. Bestimmen wir für eine gegebene Zellsuspension die Absorption der Wellenlänge $546\text{ m}\mu$ einmal mit der Ulbricht'schen Kugel - wobei kein zerstreutes Licht verlorengeht¹ - und dann nach der Vorschrift von DANIELS mit dem Bolometer, so fanden wir zum Beispiel mit der Kugel 25 % Absorption, mit der Methode von DANIELS aber, je nach der Ausleuchtung der Zellsuspension, 40 % bis 60 % Absorption. Natürlich erhält DANIELS unter solchen Umständen, indem er eine viel zu hohe Absorption in seine Rechnungen einsetzt, eine viel zu niedrige Ausbeute an chemischer Energie.

Im blau jedoch, das stärker als grün absorbiert wird, und das in den Versuchen von DANIELS fast vollständig absorbiert wurde, war der Zerstreuungsverlust geringer und so im blau erhielt DANIELS eine viel bessere Energieausbeute als im grün, nämlich einen Quantenbedarf um 6, eine erfreuliche Annäherung an den Blau-Wert 5 von WARBURG UND NEGELEIN von 1923, wenn man bedenkt, dass DANIELS noch im Jahre 1938 einen mittleren Quantenbedarf von 157 fand⁹ (vergl. seine Tabelle III).

Die Arbeit von CALVIN

Um den durch die Zerstreuung bewirkten Fehler bei Absorptionsmessungen zu vermeiden, ersetzte CALVIN das Fenster im Bolometergehäuse durch ein Opalglas, in der Hoffnung, das in das Bolometer eindringende Licht soweit zu zerstreuen, dass die vor das Opalglas gebrachten *Chlorella*-Suspensionen das Licht nicht weiter zerstreuen könnten.

In Wirklichkeit ist auch CALVIN'S Anordnung fehlerhaft, *wegen der zusätzlichen Zerstreuung*, die entsteht, wenn man die *Chlorella*-Suspension vor das Opalglasfenster bringt. Zum Beweis bestimmten wir für eine gegebene Zellsuspension die Lichtabsorption einmal mit der Ulbricht'schen Kugel und dann nach CALVIN mit Bolometer und Opalglasfenster und fanden wesentlich höhere Absorptionen mit der Methode von CALVIN als mit der Kugel. Zum Beispiel fanden wir im grün nach CALVIN 43 % Absorption und mit der Kugel 25 % Absorption. Natürlich erhielt so CALVIN, indem er zu hohe Absorptionen einsetzte, zu niedrige Ausbeuten an chemischer Energie.

Wenn keine Ulbricht'sche Kugel zur Verfügung steht, kann man sich leicht mit Hilfe von "weisser" *Chlorella*⁸ von der Fehlerhaftigkeit der Methoden von DANIELS UND CALVIN überzeugen. Bringt man eine Suspension von *Chlorella*, aus der die Pigmente mit Methanol extrahiert worden sind, vor das Bolometer in der Anordnung von DANIELS oder in der Anordnung von CALVIN, so findet man immer eine erhebliche, scheinbare Lichtabsorption, obwohl doch in den Zellen nichts mehr ist, was das Licht absorbieren könnte.

OTTO WARBURG

Max-Planck-Institut für Zellphysiologie, Berlin-Dahlem (Deutschland)

¹ O. LUMMER UND F. KURLBAUM, *Wiedemanns Ann. Physik*, 46 (1892) 204;

F. KURLBAUM, *ibid.*, 65 (1898) 746.

² Anwendung des Bolometers bei photochemischen Arbeiten:

EMIL WARBURG, G. LEITHÄUSER, E. HUPKA UND C. MÜLLER, *Ann. Physik*, 40 (1913) 609;

E. WARBURG UND C. MÜLLER, *Verhandl. deut. physik. Ges.*, 18 (1916) 245;

E. WARBURG, *Z. Elektrochem.*, 27 (1921) 135; 26 (1920) 54 und 27 (1921) 133.

³ C. MÜLLER UND OTTO WARBURG, *Sitzungsberichte der Preussischen Akademie der Wissenschaften*, Sitzung vom 21. October, 1920, Seite 733.

⁴ O. WARBURG UND E. NEGELEIN, *Z. physik. Chem.*, 102 (1922) 236; *ibid.*, 106 (1923) 191.

⁵ H. EHREMANTRAUT UND E. RABINOWITSCH, *Arch. Biochem. and Biophys.*, 38 (1952) 67.

⁶ E. LUNG YUAN, ROBERT W. EVANS UND FARRINGTON DANIELS, *Biochim. Biophys. Acta*, 17 (1955) 185.

⁷ JAMES A. BASSHAM, KAZUO SHIBATA UND MELVIN CALVIN, *Biochim. Biophys. Acta*, 17 (1955) 332.

⁸ OTTO WARBURG UND GÜNTER KRIPPAHL, *Z. Naturforsch.*, 9b (1954) 181.

⁹ W. M. MANNING, J. F. STAUFFER, B. M. DOUGLAS UND F. DANIELS, *J. Am. Chem. Soc.*, 60 (1938) 266.

Eingegangen den 8. Juli 1955