

verzweigten aliphatischen Kohlenwasserstoffen 3-Methyl-heptan (8) und 2.2.4-Trimethyl-pentan (9) ergibt, daß man die ringförmigen hydroaromatischen und die offenkettigen, stark verzweigten Kohlenwasserstoffe nicht voneinander unterscheiden kann. Wenn die nicht hydrierten Naphthalin-Derivate α -Methyl- und α -Brom-naphthalin (40, 53) gegenüber den entsprechenden Benzol-Abkömmlingen Toluol (30) und Brom-benzol (49) 2–3-mal stärker doppelbrechend werden, so folgt daraus, daß die beiden Benzol-Scheiben im Naphthalin ziemlich innerhalb ein und derselben Ebene liegen. Die überragende Bedeutung der linearen Parastellung wird beim *p*-Xylol (36) neben dem schwächer doppelbrechenden *m*-Xylol (35) und *o*-Xylol (34), ferner beim Vergleich von *p*-Tolyl-methyl-keton (56) mit Acetophenon (55) ersichtlich. Der Isopropylrest im *p*-Cymol (39) bringt, wie zu erwarten, eine Schwächung der Doppelbrechung. Auffallenderweise erfolgt dagegen durch Verzweigung der Seitenkette im *N*-Dimethyl-anilin (44) keine Schwächung mit Bezug auf den D-Effekt des Anilins (43). Chlor-, Brom- und Jodbenzol (48–50) zeigen einen deutlichen Gang in den D-Werten, und zwar in abnehmender Richtung mit wachsendem Atomgewicht von Cl zu Br und J, wenn man die $1/M \cdot [D]$ -Werte der Betrachtung zugrunde legt. Der chemisch und physikalisch so wichtige Gegensatz zwischen negativen und positiven Substituenten am Benzol kommt nicht zutage, so daß wir experimentelles Material zur Begründung der Hypothese von dem größeren Durchmesser der Benzol-Scheibchen mit negativen und von dem kleineren Durchmesser mit positiven Substituenten¹⁷⁾ nicht haben gewinnen können. Hinzuweisen ist auf den alle anderen Substituenten übertreffenden Einfluß der Nitrogruppe.

Hrn. cand. Fritz Nordt sind wir zu Dank verpflichtet für Mitarbeit bei der Bestimmung von Dichten und Zähigkeiten der Öle. Für die Unterstützung durch die Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft sprechen wir unseren besten Dank aus.

349. Hans Kautsky: Energie-Umwandlungen an Grenzflächen, VI. Mitteil.: H. Kautsky, A. Hirsch und F. Davidshöfer: Kohlensäure-Assimilation (1.).

(Vorgetragen am 8. Juli 1932 in d. Chem. Gesellsch. Heidelberg; eingegangen am 20. Oktober 1932.)

Wir bringen in diesem Bericht kurz gefaßt die ersten Ergebnisse unserer Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure¹⁾. Ausführliche experimentelle Angaben werden in einzelnen Berichten folgen.

Chlorophyll (abgekürzt Chl) fluoresciert intensiv rot. Überträgt es, als Sensibilisator, die von ihm absorbierte Licht-Energie auf andere Moleküle, so wird der Energie-Anteil, der sonst sichtbar als Fluorescenz ausgestrahlt wird, vermindert. Wir konnten zeigen, daß Sauerstoff die Fluorescenz des

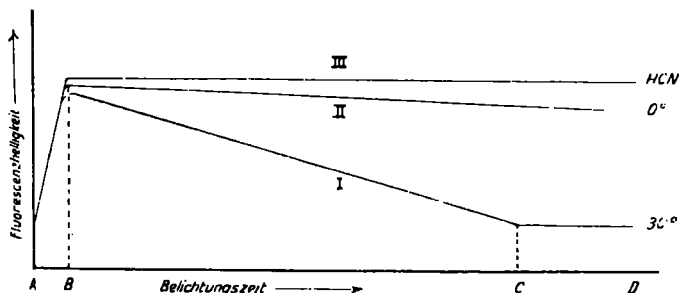
¹⁷⁾ B. 52, 275 [1919].

¹⁾ In Naturwiss. 19, 964 [1931] veröffentlichten wir eine vorläufige Mitteilung. Die Deutung der darin angeführten Experimente hat inzwischen durch den Fortgang unserer Arbeiten eine entscheidende Änderung erfahren.

Chl weitgehend tilgt²⁾, indem er den angeregten Farbstoff-Molekülen Energie entzieht. Der Sauerstoff selbst verwandelt sich dadurch in eine aktivierte, metastabile Modifikation, vermutlich in den $^1\Sigma$ -Zustand des Sauerstoff-Moleküls³⁾. Die Fähigkeit, Sauerstoff unter Tilgung der Eigen-fluoreszenz zu aktivieren, besitzt das Chl in weit höherem Maße als andere, daraufhin geprüfte, fluoreszierende Farbstoffe.

Im lebenden Blatte wirkt Chl ebenfalls als Sensibilisator. Die von ihm primär absorbierten Licht-Quanten werden im Assimilations-Vorgang zu einem erheblichen Teil in chemische Energie verwandelt⁴⁾, indem sie zur Reduktion der Kohlensäure verbraucht werden. Die Energie-Übertragung wird auch in diesem Falle ihren sichtbaren Ausdruck in Änderungen der Fluoreszenz-Helligkeit des Chl im Blatte finden müssen. Wir erwarteten deshalb, daß ein gut assimilierendes Blatt nur schwach fluorescieren würde gegenüber einem Blatt, in welchem die Verwertung der vom Chl absorbierten Licht-Energie zur Kohlensäure-Assimilation gehemmt ist. Tatsächlich zeigt ein Blatt in voller Assimilations-Tätigkeit nur eine sehr geringe Rot-Fluoreszenz; Hemmung der Assimilation hingegen durch Abkühlen auf 0° oder durch Vergiften mit Blausäure steigert die Fluoreszenz-Helligkeit ganz außerordentlich.

Belichten wir ein vorher dunkel gehaltenes Blatt, so zeigt dasselbe vom Augenblick des Belichtens an nicht eine konstante Fluoreszenz-Helligkeit, wie sie bei unmittelbarem Einsetzen der vollen Assimilation zu erwarten wäre. Wir beobachten vielmehr eine zeitliche Folge von Helligkeits-Änderungen, die erst nach einigen Minuten zu einer konstanten, sehr geringen Fluoreszenz-Helligkeit führen. Diese Erscheinung wird in gleicher Weise durch ultraviolettes, wie auch durch sichtbares Licht hervorgerufen. Sie ist eine allgemeine Eigenschaft lebender grüner Blätter. In manchen Fällen ist sie durch die Gegenwart stark fluoreszierender Begleitstoffe mehr oder minder verdeckt, immer aber feststellbar.



Schematische Darstellung der zeitlichen Änderungen der Fluoreszenz-Helligkeit, die unmittelbar nach dem Einsetzen der Belichtung beobachtet werden: Kurve I bei 30°, Kurve II bei 0°, Kurve III bei Vergiftung mit Blausäure.

Die Figur veranschaulicht, grob schematisiert, die zeitliche Folge der Helligkeits-Änderungen der Blatt-Fluoreszenz. Ein Blatt (z. B. *Pelargonium*

²⁾ H. Kausky u. A. Hirsch, *B.* **64**, 2682 [1931].

³⁾ H. Kautsky u. H. de Bruijn, *Naturwiss.* **19**, 1043 [1931].

⁴⁾ O. Warburg: Die katalytische Wirkung der lebendigen Substanz (Springer, 1928), S. 421.

zonale, Unterseite des Blattes) bei 30° (Kurve 1) erscheint im Augenblick des ersten Belichtens dunkel, es fluoresciert nur ganz schwach; rasch aber, in 1–2 Sek., steigert sich die Fluoreszenz-Intensität bis zu einem Maximum großer Helligkeit (A–B). Von da ab (B–C) fällt die Intensität, jetzt allerdings allmählich, in einigen Minuten auf einen sehr geringen Betrag, der bei Einhaltung gleichmäßiger Versuchs-Bedingungen konstant bleibt (C–D).

Der gesamte Ablauf der Helligkeits-Änderungen der Fluoreszenz läßt sich nach genügend langen Dunkelperioden beliebig oft wiederholen. Dabei ist die Dauer der benötigten Verdunklungszeit davon abhängig, in welchem Zeitpunkt sie einsetzt. Wird die Belichtung schon nach 1–2 Sek. im Maximum B abgebrochen, so genügt eine Verdunklung von wenigen Sekunden, um, erneut, in gleicher Stärke wie das erstemal, den Helligkeits-Anstieg A–B sehen zu können. Nach minutenlangen Belichtungs-Zeiten braucht es aber minutenlangere Dunkelzeiten, um die durch die Belichtung geschaffenen Veränderungen im Zustande des Assimilations-Systems wieder rückgängig zu machen und das Blatt in den ursprünglichen Zustand zu versetzen.

Wir bemühen uns, eine Vorstellung über die Vorgänge zu gewinnen, die den Intensitäts-Änderungen der Blatt-Fluoreszenz zugrunde liegen.

Abschnitt A–B: Die mit der Licht-Absorption durch das Chl beginnende Fluoreszenz-Änderung im Kurven-Abschnitt A–B entspricht einem Vorgang, der weder durch Änderung der Temperatur (Kurve 2), noch durch Blausäure-Vergiftung (Kurve 3) sichtbar zu beeinflussen ist. Die Beobachtung läßt keinen deutlich werdenden Einfluß dieser Faktoren auf den Anstieg der Fluoreszenz-Helligkeit erkennen. Wir deuten die gleich im Anfang sehr stark getilgte Fluoreszenz des Blattes mit einer erheblichen Übertragung der vom Chl absorbierten Licht-Energie auf eine bestimmte Molekülart des Assimilations-Systems. Der folgende rasche Anstieg der Fluoreszenz zu großer Helligkeit entspricht dann einer raschen Abnahme der Übertragungs-Möglichkeiten, indem solche Moleküle des Assimilations-Systems, welche Energie vom angeregten Chl bereits übernommen haben, in einen Zustand übergehen, in welchem sie vorläufig keine weitere Energie dem fluorescierenden Farbstoff entziehen können.

Abschnitt B–C: Die auf den Abschnitt A–B folgende fortschreitende Helligkeits-Abnahme im Abschnitt B–C der Kurve 1 deutet auf das allmähliche Einsetzen einer weiteren Teilreaktion der Assimilation hin, und zwar einer chemisch katalytischen Reaktion⁵⁾, für welche die Hemmung bzw. Aufhebung durch Temperatur-Erniedrigung (Kurve 2) und durch Vergiftung mit Blausäure (Kurve 3) bezeichnend ist⁶⁾. Mit ihrem Anwachsen nimmt die Geschwindigkeit der Sauerstoff-Produktion zu. Die Abnahme der Fluoreszenz-Helligkeit in diesem Teile sagt uns, daß in zunehmendem Maße Energie vom angeregten Chl auf eine bestimmte Molekülart des Assimilations-Systems übertragen wird. Im Abschnitt B–C laufen demnach mindestens zwei Arten von Reaktionen nebeneinander: Das sich allmählich einstellende Ineinandergreifen chemisch katalytischer Vorgänge, die mit der Entbindung

⁵⁾ Über den Anteil eines enzymatischen Faktors bei der Assimilation s.: R. Willstätter u. A. Stoll, Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure (Springer, Berlin 1918), II. Abhandl., S. 41.

⁶⁾ Über die hemmende Wirkung der Blausäure auf den Assimilations-Vorgang s.: O. Warburg, l. c., S. 350.

von Sauerstoff verknüpft sind, und als Folge davon die steigende Übertragung der absorbierten Licht-Energie vom Chl auf eine zunehmend verfügbare bestimmte Molekülart des Assimilations-Systems.

Abschnitt C—D: Das gleichzeitige Zusammenwirken sämtlicher Teilvorgänge führt nach einer mehrere Minuten währenden Belichtung zu einem stationären Zustand, der normalen Assimilation unter den gegebenen Bedingungen, dem die sehr geringe, bis zum Abbruch des Versuches konstante Fluoreszenz-Helligkeit im Abschnitt C—D entspricht.

Unter Zugrundelegung unserer Annahme, daß die beobachteten Fluoreszenz-Änderungen wirklich ein sichtbarer Ausdruck für den Verlauf des Assimilations-Vorganges sind, kommen wir zu dem Schluß, daß die einzelnen Teilvorgänge, mit dem Belichten nacheinander einsetzend, erst in einigen Minuten zum Gesamtvorgang der Kohlensäure-Assimilation zusammenwirken⁷⁾.

Mit der Übertragung der vom Chl absorbierten Licht-Energie auf bestimmte Moleküle des Assimilations-Systems beginnt der Assimilationsvorgang dem Auge sichtbar durch die im Anfang fast völlig getilgte Fluoreszenz. Deshalb ist die zunächst wichtigste Frage: Auf welche Molekülart wird das erste, für den Assimilationsprozeß gebrauchte Energie-Quant vom Chlorophyll übertragen? Die weiteren Experimente werden in Hinblick auf diese Frage zunächst nur darauf gerichtet sein, festzustellen, durch welche äußeren und inneren Bedingungen die unmittelbar bei Belichtungs-Beginn gegenwärtige Fluoreszenz-Tilgung beeinflußt wird.

I. Versuchsreihe.

Wir erwähnten eingangs, daß Sauerstoff die Fluoreszenz des Chl weitgehend auszulöschen vermag. Andere Gase, wie Stickstoff, Wasserstoff, vor allem Kohlendioxyd, und auch viele, daraufhin geprüfte, organische Stoffe sind dazu nicht imstande. Sauerstoff ist überall vorhanden, er entsteht doch selbst im Assimilations-Vorgang. Deshalb mußten wir eine Entscheidung darüber treffen, ob auch in der grünen Pflanze der Sauerstoff für die Tilgung der Fluoreszenz des Chl verantwortlich ist, oder ob die Pflanze einen weitgehenden, natürlichen Schutz gegen die Energie-Abgabe auf den Sauerstoff besitzt, der sie befähigt, die vom Chl absorbierten Quanten auf die im Chloroplasten gebundene Kohlensäure oder andere lebenswichtige Moleküle zu übertragen. Die Beobachtung der Blatt-Fluoreszenz in der ersten Sekunde der Belichtung in Abhängigkeit vom Sauerstoff-Druck, viel mehr noch bei völliger Abwesenheit von freiem Sauerstoff sollte uns darüber Aufschluß geben. Bevor wir auf die Versuchs-Ergebnisse eingehen, wollen wir erklären, was unter „freiem“ Sauerstoff zu verstehen ist. R. Willstätter⁸⁾ hat auf Grund seiner Arbeiten über die Abhängigkeit der Assimilation von der Anwesenheit kleiner Sauerstoff-Mengen geschlossen, daß geringe Mengen von Sauerstoff unerläßlich für die Assimilation sind. Er unterscheidet zwischen dem freien und dem dissoziabel gebundenen Sauerstoff der assimilierenden Zelle. Durch Überleiten eines sauerstoff-freien Gasstromes wird der vorhandene freie Sauerstoff in verhältnismäßig kurzer Zeit aus dem Blatt ent-

⁷⁾ O. Warburg hat früher in ganz andersartigen Versuchen gezeigt, daß die Assimilation einer Grünalge (Chlorella) ebenfalls eine Induktions-Periode von einigen Minuten besitzt.

⁸⁾ I. c. VI. Abhandl., S. 344.

fernt. Es bleibt aber ein hartnäckig anhaftender Rest von dissoziabel gebundenem Sauerstoff in der Zelle, der beim Belichten derselben ein rasches Einsetzen der Assimilation ermöglicht. Wir konnten jetzt einen direkten Nachweis der von Willstätter geforderten Bindung des Sauerstoffs im Blatte erbringen. Blätter, aus denen bei geringerer Temperatur, im Dunkeln der freie Sauerstoff durch andauerndes Überleiten von reinstem Stickstoff⁹⁾ völlig entfernt wurde, geben ohne Licht-Zutritt beim Erwärmen Sauerstoff ab, und zwar ist die Menge des abgegebenen Sauerstoffs von der Temperatur abhängig; sie ist um so größer, je höher das Blatt erwärmt wird.

Eine große Reihe von Versuchen wurde angestellt, in denen bei genügender Kohlensäure-Versorgung den Blättern durch Überleiten eines sauerstofffreien, feuchten Gasstromes (Stickstoff und ca. 1% Kohlensäure) der freie Sauerstoff rasch entzogen wird. Bei diesen Versuchen wurde sehr darauf geachtet, daß sich die Versuchs-Blätter, erneut auf natürliche Umgebungsbedingungen gebracht, wieder völlig normal verhalten, d. h. durch den Versuch nicht geschädigt werden. Ein Blatt, z. B. von *Parietaria ramiflora*, befindet sich in einer kleinvolumigen, vorerst verdunkelten, Assimilations-Kammer, durch die das sauerstoff-freie Gas strömt. Wenn hinter dieser Kammer im Gasstrom längere Zeit kein Sauerstoff auch mit den empfindlichsten Methoden (Phosphoreszenz-Tilgung trockner Adsorbate fluoreszierender Farbstoffe¹⁰⁾) mehr nachgewiesen werden kann, wird belichtet. Im Augenblick des Belichtens fluoresciert das Blatt sofort sehr hell. Es ist überhaupt keine anfänglich vorhandene Schwächung, und somit auch kein Anstieg der Fluoreszenz-Helligkeit, zu beobachten. Ist erneut Sauerstoff vorhanden, so ist auch bei geringeren Sauerstoff-Teildrücken bei Belichtungs-Beginn, wie im Blatt unter normalen Bedingungen, zuerst geringe Helligkeit und unmittelbar anschließend der Anstieg der Fluoreszenz-Intensität zu sehen. Bei völligem Mangel an freiem Sauerstoff fluoresciert das Blatt also trotz genügender Kohlensäure-Versorgung im Augenblick des Belichtens sofort hell: eine direkte Übertragung der absorbierten Licht-Energie vom Chl auf die im Blatt gebundene Kohlensäure scheint nach diesem Ergebnis nicht in Frage zu kommen. Unsere Versuche weisen entschieden darauf hin, daß die gesamten Änderungen der Fluoreszenz-Helligkeit, die wir an Blättern unter normalen Bedingungen beobachten, auf Änderungen der Konzentration des Sauerstoffs im Chloroplasten zurückzuführen sind, daß also der normale Sauerstoff die besondere Molekularart im Assimilations-System ist, auf welche die vom Chl absorbierten Licht-Quanten, sichtbar durch die Fluoreszenz-Tilgung, übertragen werden. Die ursprünglich im Gleichgewicht mit der Atmosphäre stehende Konzentration des Sauerstoffs im Chloroplasten bewirkt danach die zuerst vorhandene Fluoreszenz-Tilgung, im Anstieg der Fluoreszenz-Intensität vermindert sich diese vorhandene Sauerstoff-Menge, und sie erhöht sich wieder im Gebiet der abfallenden Helligkeit durch den zunehmend frei werdenden Assimilations-Sauerstoff.

II. Versuchsreihe.

Die weiteren Versuche bemühen sich um die Aufklärung des mit der Belichtung einsetzenden Fluoreszenz-Anstieges. Der Anstieg der Fluoreszenz-

⁹⁾ H. Kautsky u. H. Thiele: Die Herstellung von völlig sauerstoff-freiem Stickstoff, *Ztschr. anorgan. allgem. Chem.* **152**, 342 [1926].

¹⁰⁾ H. Kautsky u. A. Hirsch, *B.* **64**, 2679 [1931].

Helligkeit kann nur dann zustande kommen, wenn bei der gegebenen Beleuchtungs-Stärke die Abnahme der Konzentration an freien Sauerstoff im Inneren der Chloroplasten rascher erfolgt als das Hinein-diffundieren des umgebenden Sauerstoffs in den Chloroplasten. Ähnliche Verhältnisse, wie sie hier in Betracht zu ziehen sind, finden sich bei den Papier-Phosphoren¹¹⁾, an denen der Zusammenhang zwischen Lumineszenz und Sauerstoff-Diffusion in Gelen in Hinblick auf die Assimilation näher untersucht wurde.

Wir haben versucht, durch Änderung des osmotischen Drucks und der Wasserstoff-ionen-Konzentration der den Chloroplasten umgebenden Flüssigkeit die Geschwindigkeit des Eindringens von Sauerstoff in denselben zu erhöhen und die dadurch bedingten Änderungen im Fluoreszenz-Verhalten der Chloroplasten zu beobachten. In Parallelversuchen wurde gleichzeitig gemessen, ob und wie rasch Sauerstoff durch die jeweils veränderten, belichteten Chloroplasten verbraucht wird.

Der Gegenstand dieser Untersuchungen ist nicht das lebende Blatt, sondern salbenartige, dunkelgrüne Sedimente von Chloroplasten-Bruchstücken einer Clematis-Art, die in ähnlichem Vorgehen wie bei K. Noack¹²⁾ durch Auspressen von Säften geeigneter Pflanzen und Zentrifugieren derselben gewonnen werden. Um osmotische Störungen vorerst zu vermeiden, haben wir die Sedimente in einer 10-proz. Zucker-Lösung hergestellt. Ein solches Sediment bezeichnen wir als „normales“ Sediment. Den normalen Sedimenten ist trotz Zerstörung der Zellstruktur die Eigenschaft lebender Blätter erhalten geblieben, bei Belichtungs-Beginn einen starken Anstieg der Fluoreszenz-Helligkeit des Chl zu zeigen. Er ist ebenso wie im Blatt nach Einschalten kurzer Dunkelperioden beliebig oft wiederholbar. Das Chloroplasten-Sediment assimiliert nicht mehr, es fehlt der auf den Fluoreszenz-Anstieg folgende Intensitäts-Abfall. Der Fluoreszenz-Anstieg ist hier somit leicht gesondert zu untersuchen.

Aus den mannigfachen Versuchen heben wir nur einen hervor, der besonders anschaulich die Wirkung des durch Alkali-Zusatz erleichterten Eindringens von Sauerstoff in die Chloroplasten erläutert. Ein frisch hergestelltes alkalisches Chloroplasten-Sediment, welches in dünner, gleichmäßiger Schicht auf einen Objekt-Träger aufgestrichen ist, läßt im Gegensatz zu dem normalen Sediment keinen Helligkeits-Anstieg der Fluoreszenz sehen, die Fluoreszenz bleibt vom Augenblick des Belichtens an dauernd fast völlig getilgt. Pressen wir jedoch das Sediment zwischen zwei Objekt-Träger, so daß eine beiderseitig von Glas bedeckte, sehr dünne Lamelle desselben entsteht, und belichten, dann erscheint das Sediment nur im ersten Augenblick dunkel; die Fluoreszenz steigt wie im normalen Sediment rasch zu großer, dauernder Helligkeit an. Hierauf bringen wir einen Teil der hell fluoreszierenden Lamelle des Sedimentes, immer noch unter der Lampe, wieder in volle Berührung mit dem Luft-Sauerstoff einfach so, daß man den darüberliegenden Objekt-Träger etwas zur Seite schiebt. In dem frei gelegten Teil der Lamelle erlischt rasch durch den eindringenden Sauerstoff die Fluoreszenz, im bedeckten bleibt sie unverändert hell.

In anderen Versuchen wurde der Sauerstoff-Verbrauch in normalen und in veränderten Sedimenten bei Belichtung in der Barcroft-Warburg-

¹¹⁾ H. Kautsky u. A. Hirsch, B. 65, 403 [1932].

¹²⁾ Biochem. Ztschr. 183, 142 [1927].

Apparatur manometrisch gemessen. Das Ergebnis war, daß, abgesehen von der Alkalität, um so mehr Sauerstoff gebunden wird, je größer und dauernder die Fluoreszenz-Tilgung während der Belichtung ist.

Es ist noch wichtig zu betonen, daß in besonderen Fällen die abnormal erhöhte Durchlässigkeit der Chloroplasten für Sauerstoff wieder so weit rückgängig gemacht werden kann, daß sich das Sediment normal verhält, d. h. daß beim Belichten an freier Luft die Fluoreszenz zu dauernder großer Helligkeit ansteigt.

Diese experimentellen Ergebnisse lassen sich ungezwungen so deuten, daß während der Belichtung im alkalischen Medium, im gegensätzlichen Verhalten zum normalen Chloroplasten, die Geschwindigkeit der Diffusion des Sauerstoffs in den Chloroplasten hinein größer ist, als die Geschwindigkeit des Sauerstoff-Verbrauchs im Innern des Chloroplasten. Die dadurch bewirkte, dauernd hohe Konzentration des Sauerstoffs im Chloroplasten ruft eine ständige, fast völlige Tilgung der Chl-Fluoreszenz hervor. Die gesamte, zwischen die beiden Glasplatten gepreßte Lamelle des alkalischen Sediments verhält sich gewissermaßen wie ein Modell eines normalen Chloroplasten: Beim Belichten steigert sich die Fluoreszenz-Intensität infolge der raschen Bindung von freiem Sauerstoff in der Lamelle, dessen Nachlieferung aus der Luft vom Rande der Lamelle her in die dünne, zweifach bedeckte Schicht außerordentlich behindert ist. Sobald durch Wegziehen der einen Glasplatte der Luft wieder freier Zutritt gewährt wird, tilgt der rasch eindringende Sauerstoff die Fluoreszenz in wenigen Augenblicken. Diese Wirkung ist vergleichbar derjenigen des bei der Assimilation entwickelten Sauerstoffs in normalen Blättern.

Ausgedehnte Versuche, von denen ein einzelner hier herausgegriffen wurde, geben uns die Sicherheit zu der Behauptung, daß die Fluoreszenz-Änderungen in den Chloroplasten-Sedimenten nur durch Änderung der Konzentration des Sauerstoffs in den einzelnen Chloroplasten-Bruchstücken hervorgerufen werden. Wir sind der Meinung, daß die gleichen Vorgänge, die den Fluoreszenz-Anstieg im normalen Chloroplasten-Sediment bedingen, auch für den Fluoreszenz-Anstieg im normalen Chloroplasten des lebenden Blattes verantwortlich sind: Im normalen Sediment, wie auch im normalen lebenden Chloroplasten, besteht offensichtlich eine Hemmung gegen das rasche, ungehinderte Hinein-diffundieren von Sauerstoff, der es zu verdanken ist, daß überhaupt Fluoreszenz-Änderungen in diesen Systemen zu sehen sind, und daß nicht eine ständige Tilgung der Chl-Fluoreszenz durch Sauerstoff während der Belichtung vorhanden ist. Dieser Schutz vor dem hemmungslosen Eindringen des Sauerstoffs hat vielleicht eine Bedeutung für die Regulierung des Verhältnisses der Größe der Energie-Übertragung vom Chl auf Sauerstoff zu der Größe der möglichen Energie-Verwertung für die Kohlensäure-Reduktion.

Unter der experimentell wohlbegründeten Voraussetzung, daß das Chl die gesamte, zur Assimilation benötigte Licht-Energie absorbiert und auf das Assimilations-System überträgt, und daß diese Übertragung mit einer mehr oder minder starken Tilgung der Chl-Fluoreszenz verknüpft sein muß, ergibt sich aus unseren verschiedenartigen Versuchen übereinstimmend der Schluß, daß der Sauerstoff die einzige Molekülarart im Assimilations-System ist, auf welche die vom Chl absorbierte

Licht-Energie, sichtbar durch die Tilgung der Chl-Fluoreszenz, übertragen wird. Damit wird der Sauerstoff zum Zwischenträger und Sammler der Assimilations-Energie^{13a)}.

In diesem Sinne glauben wir auch noch eine Beobachtung von K. Noack deuten zu dürfen, nämlich die, daß in die Pflanzenzelle eingeführtes Benzidin beim Belichten ausschließlich im Chloroplasten photodynamisch oxydiert wird¹³⁾. Wir können nach unseren vorhergehenden Arbeiten über die photodynamische Oxydation behaupten, daß der primäre Vorgang, welcher der photodynamischen Benzidin-Oxydation im Chloroplasten zugrunde liegt, die Übertragung der vom Chl absorbierten Licht-Energie auf das Sauerstoff-Molekül ist. Diese Übertragung muß, wie wir auch außerhalb der Pflanze in acceptor-freien und acceptor-haltigen Chl-Lösungen nachgewiesen haben, immer mit einer Schwächung der Chl-Fluoreszenz verknüpft sein.

Unsere Versuche sind noch nicht so weit vorgeschritten, daß wir eine Aussage darüber machen könnten, in welcher Weise der Sauerstoff bei dem mit der Belichtung beginnenden Fluoreszenz-Anstieg gebunden bzw. verändert wird. Jedenfalls wird der Sauerstoff im Chloroplasten zuerst in die aktivierte metastabile Modifikation des Sauerstoffs übergeführt. Im Chloroplasten-Sediment könnte (die Untersuchung ist noch nicht abgeschlossen) der gemessene Sauerstoff-Verbrauch auf eine irreversible Bindung des Sauerstoffs im Chloroplasten zurückzuführen sein, nicht aber im lebendigen assimilierenden Chloroplasten, da bei der Assimilation das Verhältnis von verbrauchter Kohlensäure zu entstehendem Sauerstoff, der Assimilations-Koeffizient, genau 1 ist¹⁴⁾. Eine andauernde Oxydation der Chloroplasten-Substanz durch den in der Assimilation ständig aktivierten Sauerstoff bis zur Kohlensäure, die den Assimilations-Koeffizienten nicht ändern würde, kommt im normalen Assimilations-Vorgang wohl unmöglich in Frage. Der Fluoreszenz-Anstieg und seine besonderen Eigentümlichkeiten sprechen ganz dafür, daß der einmal aktivierte Sauerstoff nicht sofort wieder desaktiviert, sondern gebunden wird und dadurch in einen Zustand übergeht, in welchem er die vom Chl erhaltene Anregungs-Energie in chemische Energie zur Kohlensäure-Reduktion verwandelt.

Aus dem Assimilations-Koeffizienten leitet sich die Bedingung ab, daß der im Assimilations-Prozeß aktivierte, molekulare Sauerstoff nach seiner irgendwie gearteten Energie-Abgabe in seiner Gesamtmenge als normaler Sauerstoff im Assimilations-Vorgang wieder erscheinen muß.

Im Hinblick auf diese Überlegung hat eine von H. Gaffron im Laboratorium von O. Warburg gefundene Tatsache unser Interesse erregt. Gaffron¹⁵⁾ fand in belichteten Lösungen von Chl und anderen fluoreszierenden Farbstoffen, in aliphatischen Aminen eine Bindung von molekularem Sauerstoff an das Amin. Der so gebundene Sauerstoff kann rein katalytisch in seiner Gesamtmenge wieder entbunden werden. Gerade diese Tatsache zeigt besonders deutlich, daß die metastabile, aktive Modi-

^{13a)} Bedeutungsvoll in dieser Hinsicht ist es, daß die Anregungs-Energie des Sauerstoffs (ca. 38000 cal) nur wenig geringer ist, als die Energie der Quanten, die der roten Fluoreszenz des Chl entsprechend, für die Assimilation zur Verfügung steht.

¹³⁾ K. Noack, Naturwiss. 14, 385 [1926]. Dasselbst finden sich auch Literatur-Angaben über vorhergehende Arbeiten, auf die hingewiesen sein soll.

¹⁴⁾ R. Willstätter u. A. Stoll, l. c., V. Abhandl., S. 315.

¹⁵⁾ H. Gaffron, B. 60, 2229 [1927].

fikation des Sauerstoffs ganz spezifisch anders als normaler Sauerstoff oder Peroxyde zu reagieren vermag. Deshalb versuchen wir, wenigstens einmal vorläufig, die Möglichkeit einer vorübergehenden Bindung des aktivierten Sauerstoffs an Chloroplasten-Bestandteile unter völliger Rückgewinnung desselben als normalen Sauerstoff im Assimilations-Vorgang in Betracht zu ziehen.

Mutmaßungen über den weiteren Verlauf des Assimilations-Vorganges wollen wir noch nicht äußern; wir überlassen die fernere Aufklärung unseren in Gang befindlichen Experimenten.

Dem Direktor des Chemischen Instituts, Hrn. Prof. Freudenberg, und dem Direktor des Botanischen Instituts, Hrn. Prof. Jost, danken wir herzlichst für ihr außerordentliches Entgegenkommen. Hr. Prof. Jost hat uns in liebenswürdiger Weise die Benutzung des Botanischen Gartens gestattet. Vielen Dank sprechen wir dem Inspektor des Gartens, Hrn. Steinberger, und dem Gartenmeister, Hrn. E. Schröder, für ihre freundliche Hilfe aus.

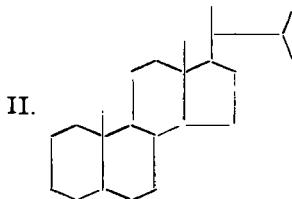
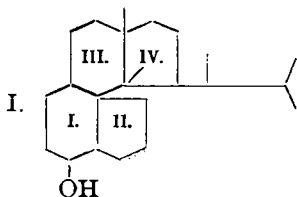
Sowohl der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft, mit deren Mitteln vorliegende Arbeit durchgeführt wurde, als auch der Gesellschaft der Freunde der Universität Heidelberg und der I.-G. Farbenindustrie, Ludwigshafen und Oppau, danken wir ganz besonders für ihre wertvolle Unterstützung.

350. Rudolf Criegee: Die Größe von Ring II im Cholesterin (Vorläuf. Mitteil.).

[Aus d. Chem. Instituten d. Universitäten Würzburg u. Marburg.]

(Eingegangen am 24. Oktober 1932.)

Nach der „klassischen“ Cholesterin-Formel (I), die sich aus den zahlreichen Arbeiten von Windaus, Wieland und anderen ergab, ist der die Doppelbindung enthaltende Ring II ein Fünfring. Als Beweis dafür galt vor allem das Verhalten einer Dicarbonsäure, die aus dem Cholesterin durch oxydative Sprengung dieses Ringes entstanden war, bei der thermischen Zersetzung¹⁾. Es entstand dabei ein Anhydrid, was nach der Regel von Blanc²⁾ auf 1.5-Stellung der Carboxylgruppen schließen ließ.



Nun haben neuerdings Wieland und Dane³⁾ an einer Tricarbonsäure, die aus der Cholsäure unter Aufspaltung von Ring III des Sterin-Skeletts gewonnen wurde, einen Fall entdeckt, in welchem anscheinend die Blancsche Regel versagt. Bei der thermischen Zersetzung erhielten sie nämlich ebenfalls

¹⁾ B. 52, 162 [1919]. ²⁾ Compt. rend. Acad. Sciences 144, 1356 [1907].

³⁾ Ztschr. physiol. Chem. 210, 268 [1932].