

## Studien über Chlorophyllassimilation.

(I. Mittheilung.)

Von

R. O. Herzog.

(Aus dem chem. Laboratorium der landw. Hochschule in Berlin und dem physiolog. Institut in Heidelberg.)

(Der Redaction zugegangen am 23. Mai 1902.)

Auf Veranlassung Herrn Professor Ed. Buchner's habe ich im Sommer 1901 versucht, aus grünen Pflanzen, ähnlich wie Buchner<sup>1)</sup> bei der Darstellung des Hefepresssaftes verfahren ist, durch Zerkleinern, Verreiben mit Sand und Kieselgur und Behandlung der so erhaltenen Masse mit hohem Druck (300 Atmosphären) einen Presssaft zu gewinnen, der auf die Fähigkeit, Kohlensäure zu assimiliren, geprüft werden sollte.<sup>2)</sup>

Als ich einige Zeit mit diesen Versuchen beschäftigt war, machte Herr Jean Friedel eine Mittheilung über dasselbe Problem: Ueber die Chlorophyllassimilation ausserhalb des lebenden Organismus,<sup>3)</sup> nach welcher die Frage als gelöst betrachtet werden musste. Herr Friedel<sup>4)</sup> hat dann seine Versuche im Herbst wiederholt, aber dabei ein negatives Resultat erhalten, das er mit schwacher Assimilationsfähigkeit

1) Vgl. Ber. d. chem. Ges., Bd. 30, S. 117, 1110, 2668 (1897); Bd. 31, S. 568, 1090, 1531 (1898).

2) Später fand ich, dass auch A. Mayer (Lehrbuch der Agriculturchemie, 5. Aufl., S. 58, Anm.) den Vorschlag macht, Presssaft grüner Gewebe in dieser Richtung zu untersuchen.

3) Compt. rend. CXXXII, 1138 (1901).

4) Compt. rend. CXXXIII, 840 (1901).

der Pflanze um diese Jahreszeit erklärt, da auch die frischen Blätter nur geringe Assimilation zeigten. Auch M. M. Harroy,<sup>1)</sup> der die Versuche Friedel's nachprüfte, war zu negativem Resultat gekommen: möglicher Weise war dasselbe ebenso zu erklären. Dagegen gelangte Herr Macchiati<sup>2)</sup> zu positivem Ergebniss.

Auf Vorschlag Herrn Professor Buchner's brach ich meine Versuche ab und arbeitete nach der Methode Friedel's. Wie ich aber durch persönliche Mittheilung Herrn Friedel's erfuhr, waren diese ersten Versuche nicht ganz einwandfrei nach seiner Vorschrift durchgeführt, so dass ich über die im vorigen Sommer erhaltenen Resultate nicht berichten will, sondern nur über die Ergebnisse in diesem Frühjahr. An dieser Stelle möchte ich Gelegenheit ergreifen, Herrn Friedel nochmals für die ganz besonders zuvorkommende Bereitwilligkeit zu danken, mit der er mich über seine Versuchsbedingungen informirt hat. Auch möchte ich Herrn Professor Buchner für die Ueberlassung des Arbeitsgebietes und ferner Herrn Professor Kossel meinen herzlichsten Dank aussprechen; Herrn Professor R. Gottlieb bin ich für die freundliche Erlaubniss, die Buchner'sche Presse benutzen zu dürfen, zu besonderem Danke verpflichtet.

Friedel hat sich bei seinen Versuchen der Spinatblätter bedient, daher habe ich zur selben Pflanze gegriffen.

Die Assimilation sollte eintreten, wenn getrocknete Blätter und ein Glycerinauszug aus den frischen Blättern dem Sonnenlicht ausgesetzt würden.

Die getrockneten Blätter wurden erhalten, indem die von den derben Rippen befreiten, feingeschnittenen Blätter in dünner Schicht auf Filtrirpapier ausgebreitet in einen auf etwa 180° erhitzten Trockenschrank gebracht wurden. Nach

1) Compt. rend. CXXXIII, 890 (1901).

2) Ital. bot. Ges. zu Florenz. Sitzg. v. 13. Oct. 1901. Ich verdanke diese Angabe der Güte Herrn Friedel's. Leider blieb mir das Original unzugänglich.



15--20 Minuten waren sie getrocknet und wurden leicht zu einem hellgrünen Pulver verrieben, wie dies Friedel auch beschreibt.

Der Glycerinauszug wurde auf folgende Weise hergestellt. Die von den Rippen befreiten, fein zerkleinerten Blätter wurden mit Quarzsand und Kieselgur (bis zur plastischen Consistenz) nach Zusatz von soviel Glycerin, dass der Presssaft etwa 3% davon enthielt, verrieben: hierauf wurde die Masse in einer Buchner'schen Presse bis auf 150 Atmosphären ausgepresst. Der Presssaft war klar, in dünner Schicht bräunlichgrün, in dicker von recht dunkler Farbe, die übrigens im Stehen noch zunahm.<sup>1)</sup> Die Reaction war schwach amphoter.<sup>2)</sup> Biuretreaction wurde nicht erhalten; auf Alkalizusatz trat erst Gelbfärbung, dann voluminöse Fällung ein. Essigsäure fällte ebenfalls. Durch Alkohol konnte ein ziemlich reichlicher hellgrauer Niederschlag abgeschieden werden, der sich nicht ganz leicht wieder in Wasser löst.

Die Versuche wurden angestellt, indem etwa 3 cm. weite Glasröhren, die an beiden Enden in durch Kautschuckschlauch und Quetschhahn leicht gasdicht verschliessbare enge Röhrchen ausliefen und ca. 120 ccm. fassten, mit einem Gemisch von bekanntem Gehalt an Luft und Kohlensäure<sup>3)</sup> und je 20 ccm. Flüssigkeit beschickt wurden. Die Röhren wurden sogleich nach dem Füllen<sup>4)</sup> exponirt und das Gas sofort nach Beendigung des Versuches in Hempel'sche Büretten übergeführt. Die Expositionszeit betrug 3—4 Stunden bei zerstreutem Tageslicht und zeitweiliger Besonnung. Die Versuche wurden zwischen 11 und 3 Uhr ausgeführt. Die Assimilationsfähigkeit der lebenden Blätter wurde jedesmal durch Parallelversuche geprüft.

Es seien im Folgenden nur drei Versuchsreihen angeführt,

1) Vgl. M. Hahn, Ber. d. chem. Ges., Bd. 33, S. 3556 (1901).

2) Im Juli in Berlin hergestellter Presssaft zeigte ziemlich stark alkalische Reaction. Möglicher Weise lag eine andere Species der Pflanze vor.

3) Ueber die Mengenverhältnisse zwischen CO<sub>2</sub> und Luft vgl. z. B. Godlewski, Arb. d. Bot. Inst. in Würzburg, Bd. 1, S. 343 (1873).

4) Es wurde nur frisch bereiteter Presssaft verwendet.

die mir besonders instructiv und zugleich genügend zur Beurteilung scheinen.

Tabelle I.

	Versuchsgas	Presssaft + getr. Bl. im Sonnenlicht	Presssaft + getr. Bl. im Dunkeln	Presssaft	Getr. Blätter mit Wasser verrieben
Ursprüngl. Vol. (in ccm.) . . . . .	99,8	80,7	81,0	84,8	81,9
Davon betrug CO <sub>2</sub> (in ccm.) . . . . .	5,2	2,9	3,1	3,1	3,3
O (in ccm.) . . . . .	24,3	15,4	15,5	16,5	16,0

Oder umgerechnet in Volumprocente:

	Versuchsgas	Presssaft + getr. Bl. im Sonnenlicht	Presssaft + getr. Bl. im Dunkeln	Presssaft	Getr. Blätter mit Wasser verrieben
CO <sub>2</sub> . . . . .	5,2	3,7	3,8	3,6	4,0
O . . . . .	19,2	19,0	19,1	19,4	19,5

Expositionszeit: 4 Stunden 15 Minuten.

Tabelle II.

	Versuchsgas	Presssaft + getr. Bl. im Sonnenlicht	Presssaft + getr. Bl. im Dunkeln	Presssaft	Getr. Blätter mit Wasser verrieben
Ursprüngl. Vol. (in ccm.) . . . . .	100,0	83,5	77,0	84,8	76,9
Davon betrug CO <sub>2</sub> (in ccm.) . . . . .	5,2	3,4	2,7	3,6	2,8
O (in ccm.) . . . . .	19,2	15,7	14,9	16,1	14,9

Umgerechnet in Volumprocente:

	Versuchsgas	Presssaft + getr. Bl. im Sonnenlicht	Presssaft + getr. Bl. im Dunkeln	Presssaft	Getr. Blätter mit Wasser verrieben
CO <sub>2</sub> . . . . .	5,2	4,0	3,5	4,2	3,6
O . . . . .	19,2	18,9	19,3	18,9	19,3

Expositionszeit: 4 Stunden.



Tabelle III.

	Versuchsgas	Presssaft + getr. Bl. im Sonnenlicht	Presssaft + getr. Bl. im Dunkeln	Presssaft	Getr. Blätter mit Wasser verrieben
Ursprüngl. Vol. (in ccm.)	90,0	88,0 <sup>1)</sup>	97,2	88,3	86,1
Davon betrug CO <sub>2</sub> (in ccm.)	10,8	9,6	7,1	7,3	7,7
O (in ccm.)	16,0	15,2	18,2	16,0	15,6

Umgerechnet in Volumprocente.

	Versuchsgas	Presssaft + getr. Bl. im Sonnenlicht	Presssaft + getr. Bl. im Dunkeln	Presssaft	Getr. Blätter mit Wasser verrieben
CO <sub>2</sub>	12	10,9 <sup>1)</sup>	7,3	8,2	8,9
O	17,8	17,2	18,7	18,1	18,1

Expositionszeit: 3 Stunden.

Man sieht aus den Zahlen, dass eine merkbare Assimilation nicht stattgefunden hat. Während die lebenden Blätter in derselben Expositionszeit und in demselben Gasgemisch einen sehr deutlichen Verbrauch an CO<sub>2</sub> und eine entsprechende Produktion an O<sup>2)</sup> zeigten, sind besonders die beiden ersten Tabellen recht deutlich der Ausdruck dafür, dass von der zugesetzten Flüssigkeit (Presssaft, Wasser) ein Theil der Gase gelöst wurde. Im Allgemeinen gleichen sich die Zahlen (insbesondere von Tab. I und Tab. II) so weit, dass ein Unterschied im Verhalten zwischen dem Gemisch von Presssaft und getrockneten Blättern, das dem Licht ausgesetzt war, und dem im Dunkel gehaltenen nicht auftritt. Ebenso wenig differenzieren die für den reinen Presssaft gefundenen

<sup>1)</sup> Mittel aus zwei untereinander gut übereinstimmenden Bestimmungen.

<sup>2)</sup> Für Tab. I z. B. lieferte ein Parallelversuch (dieselbe Menge an Versuchsgas, dieselbe Expositionszeit, Gewicht der Blätter etwa gleich  $\frac{1}{20}$  des pro Rohr verwendeten Presssaftes) um 3,8 Volumprocente Abnahme an CO<sub>2</sub> und um 4,1% Zunahme an O.

Daten wesentlich mit denen, die vom Gemisch des Presssaftes und der Blätter geliefert wurden.

Neben dem Lösungsprocess vollzieht sich allerdings gewiss noch eine Reihe anderer Vorgänge, die grosse Unregelmässigkeiten in die Ergebnisse einzelner Versuche bringen: dies ist wohl auch ohne Weiteres bei einer solchen Summe an complicirten Produkten und Fermenten,<sup>1)</sup> wie der Presssaft sie enthält, ohne Weiteres verständlich. Tab. III zeigt z. B. in dieser Hinsicht besonders auffällige Zahlen. Durch die Complicirtheit des Phänomens dürften sich vielleicht auch die von Herrn Friedel gefundenen Daten erklären lassen. Aus den Zahlen aber, die mir zur Verfügung stehen, meine ich nicht das Recht zu haben,  $\text{CO}_2$ -Assimilation, sei es durch den Presssaft<sup>2)</sup> allein, sei es durch das Gemisch von Presssaft und getrockneten Blättern anzunehmen.

Es scheint also der Satz zu Recht zu bestehen, den Engelmann<sup>3)</sup> in seiner klassischen Arbeit ausspricht — wobei noch zu bedenken ist, dass seine um so viel empfindlichere Methode des O-Nachweises als die der Gasanalyse ihn zu den Schlüssen geführt hat — sobald die Structur des Chlorophyllkörpers überall zerstört ist, hört die Möglichkeit der O-Produktion sofort und definitiv auf.

<sup>1)</sup> Vgl. M. Hahn l. c.

<sup>2)</sup> Eine Anzahl von Versuchen mit *Elodea canadensis* hat ebenfalls negative Resultate ergeben.

<sup>3)</sup> Bot. Zeitg. 1881, S. 446. Vgl. übrigens Haberlandt (Function und Lage des Zellkerns, 1887, S. 118), der die Versuche Engelmann's bestätigt.