

ANGEWANDTE CHEMIE

HERAUSGEGEBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

66. Jahrgang · Nr. 17/18 · Seite 493–580 · 7. September 1954

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«

Über Photosynthese-Fermente^{*)}

Von Prof. Dr. med., Dr. phil., Dr. h. c. OTTO WARBURG und GÜNTER KRIPPAHL

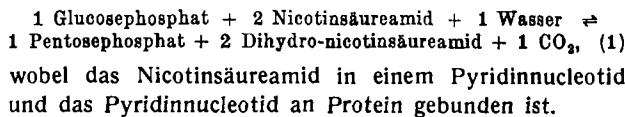
Aus dem Max-Planck-Institut für Zellphysiologie, Berlin-Dahlem

Die Energie, die einem Lichtquant zur Reduktion von einer Molekel CO_2 fehlt, wird durch einen Verbrennungsprozeß von der Zelle zur Verfügung gestellt. Hemmt man diesen Verbrennungsprozeß, so ist das Licht in grünen Zellen photochemisch unwirksam. Als Wirkungsgruppen einer Fermentkette der Photosynthese zeichnen sich Nicotinsäureamid, ein Carotinoid und Schwermetall-Ionen ab.

Da belichtetes, von der Zelle getrenntes Chlorophyll photosynthetisch unwirksam ist, so ist die Photosynthese ein Fermentproblem, wie die Atmung und die Gärung. Von der Lösung dieses Problems sind wir heute noch weit entfernt. Aber wir beginnen, wie vor 25 Jahren auf dem Gebiet der Atmung, Glieder einer Kette von Fermenten zu erkennen.

I.

Wir betrachten zunächst einen der Photosynthese entgegengesetzten Vorgang, einen Atmungsvorgang, und zwar die Oxydation von Glucosephosphat zu Pentosephosphat durch Nicotinsäureamid nach der Gleichung:



Die Reaktion wurde im wesentlichen in Dahlem 1937 gefunden¹⁾. Sie verläuft in zwei Schritten. Zunächst oxydiert 1 Molekel Nicotinsäureamid das Glucosephosphat zu Gluconsäurephosphat; dann oxydiert eine weitere Molekel Nicotinsäureamid das Gluconsäurephosphat, unter Abspaltung von Kohlensäure, zu Pentosephosphat. Für jeden der beiden Schritte ist ein spezifisches Fermentprotein erforderlich. In der Reaktion (1) wird also Glucosephosphat durch 2 Wasserstoff-übertragende Atmungsfermente, deren Wirkungsgruppe Nicotinsäureamid ist, zu Pentosephosphat oxydiert.

Man sollte denken, daß die vollständige Verbrennung der Glucose sich weiterhin so vollzieht, daß Pentosephosphat zu Tetrosephosphat, Tetrosephosphat zu Triosephosphat oxydiert wird usw. Horecker²⁾ jedoch fand, daß das nicht der Fall ist, sondern daß das Pentosephosphat, nachdem es sich durch Oxydation gebildet hat, durch ein spaltendes Ferment in kleinere Bruchstücke aufgeteilt wird und daß die Bruchstücke dann wieder zu Glucosephosphat kondensiert werden; so daß sich die Oxydation immer nur an den 6-Kohlenstoffkörpern abspielt. Ist dabei Glucosephosphat sechsmal zu Pentosephosphat oxydiert worden, so ist in der Bilanz 1 Molekel Glucosephosphat verbrannt.

^{*)} Nach einem in Lindau bei der Tagung der Nobelpreisträger am 29. Juni 1954 gehaltenen Vortrag.

¹⁾ O. Warburg u. W. Christian, Über den Abbau von Robison-Ester durch Triphospho-pyridin-nucleotid. Biochem. Z. 292, 287 [1937].

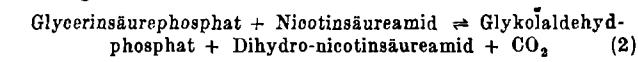
²⁾ D. B. M. Scott u. S. S. Cohen, J. biol. Chemistry 188, 509 [1951]; B. L. Horecker u. Mitarb., ebenda 193, 371, 383 [1951]; 196, 135 [1952]; J. Amer. chem. Soc. 75, 1009, 1010 [1953].

worden. So erreicht die lebende Natur, daß sie bei der Verbrennung der sechs Kohlenstoffatome der Glucose mit zwei Oxydationsfermenten auskommt, während, würde Glucose nicht immer wieder zurückgebildet, $6 \times 2 = 12$ Oxydationsfermente notwendig wären.

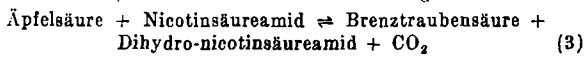
Von diesem sinnvollen Mechanismus ist ferner zu sagen, daß das durch die Oxydation entstehende Pentosephosphat nicht Arabinosephosphat ist, wie man erwartet hätte, sondern es ist, wie Horecker²⁾ fand, das Phosphat der Ribulose, einer Ketopentose, die bisher in der Natur nur selten gefunden worden ist; und es ist ferner zu sagen, daß bei der Rekombination der Pentose-Bruchstücke zu Glucosephosphat als Zwischenprodukt ein weiterer seltener Zucker auftritt, das Phosphat der Sedoheptulose, einer Ketose der 7-Kohlenstoffreihe. Diese seltenen Zucker also, Ribulosephosphat und Sedoheptulosephosphat, sind Zwischenprodukte bei der Verbrennung der Glucose durch Nicotinsäureamid.

Was aber haben diese speziellen Tatsachen der Glucose-Verbrennung mit der Photosynthese zu tun? Bei Belichtung der Grünalge *Chlorella* in Gegenwart von radioaktiver Kohlensäure ist in Calvin's Institut³⁾ in Berkeley gefunden worden, daß schon sehr bald nach Einsetzen der Belichtung radioaktive Kohlenstoffverbindungen nachgewiesen werden können, die Ribulose- und Sedoheptulosephosphat sind. Fügen wir noch hinzu, daß die Fermentreaktion (1) *in vitro* von rechts nach links verläuft, wenn man Pentosephosphat und Dihydro-nicotinsäureamid zusammengibt, so ist es möglich, daß Gleichung (1) die Reduktionsgleichung der Kohlensäure bei der Photosynthese ist.

Allerdings fand Calvin nach Einsetzen der Belichtung noch früher als Sedoheptulose- und Ribulosephosphat das Glycerinsäure-phosphat, so daß als Reduktionsgleichung der Kohlensäure auch in Betracht zu ziehen ist:



während Ochoa⁴⁾ in erster Linie an die Gleichung denkt:



Alle diese Reaktionen sind reduktive Carboxylierungen durch hydriertes Nicotinsäureamid. Sind sie bei der Photo-

³⁾ A. A. Benson, J. A. Bassham u. M. Calvin, J. Amer. chem. Soc. 73, 2970 [1951].

⁴⁾ A. L. Grafflin u. S. Ochoa, Biochem. Acta 4, 205 [1950]; J. B. Veiga Salles u. S. Ochoa, J. biol. Chemistry 187, 849 [1950]; W. Vishniac u. S. Ochoa, ebenda 195, 75 [1952].

synthese wirksam, so sind Wasserstoff-übertragende Fermente, mit der Wirkungsgruppe Nicotinsäureamid, in der einen Richtung Atmungsfermente, in der anderen Richtung Photosynthese-Fermente, und die Reduktion der Kohlensäure bei der Photosynthese ist nicht nur in der Bilanz, sondern auch in ihrem chemischen Mechanismus die „Umkehr der Atmung“.

II.

Nicht nur bei der Reduktion der Kohlensäure, sondern schon früher im Mechanismus der Photosynthese spielen Atmungsfermente eine entscheidende Rolle. Belichtet man vorher verdunkelte *Chlorella*, so wird durch 1 absorbiertes Lichtquantum 1 Moleköl Sauerstoff entwickelt und 1 Moleköl Kohlensäure reduziert. Verdunkelt man wieder, nachdem dies geschehen ist, so sieht man, wie ein Verbrennungsprozeß einsetzt, bei dem $\frac{2}{3}$ des im Licht entwickelten Sauerstoffs zurückreagiert und $\frac{2}{3}$ der im Licht reduzierten Kohlensäure wieder erscheint⁵⁾. Verhindert man diesen Verbrennungsprozeß, so ist das Licht nicht mehr imstande, photosynthetisch zu wirken oder anders ausgedrückt: erst der Ablauf eines Verbrennungsprozesses ermöglicht es, daß das Licht in grünen Zellen photosynthetisch wirkt.

Die manometrischen^{5a)} Methoden zur Demonstration und zur Messung dieser für die Photosynthese fundamentalen Erscheinungen sind in den letzten Monaten in Dahlem weiter entwickelt worden. Heute sind die manometrischen Ausschläge nicht mehr klein. Z. B. lassen wir in 100 mm³ *Chlorella* in 1 min 25 mm³ Quanten (1 Mikromol Quanten = 22,4 mm³) absorbieren und erhalten dann in dieser einen Hellminute eine Entwicklung von nahezu 25 mm³ Sauerstoff und eine gleichzeitige Absorption von nahezu 25 mm³ Kohlensäure. Die Quantenausbeute 1 wird also heute mit sehr großen manometrischen Ausschlägen erhalten und kann deshalb sehr genau gemessen werden.

Natürlich kann dann mit Ausschlägen der gleichen Größenordnung die Rückreaktion des Sauerstoffs gemessen werden. Verdunkeln wir, nach dem Ablauf der einen Hellminute, so reagieren, je nach der Temperatur, in 5 bis 10 min $\frac{2}{3}$ des im Licht entwickelten Sauerstoffs, also 17 mm³ Sauerstoff, zurück und es werden etwa 17 mm³ der im Licht absorbierten Kohlensäure zurückentwickelt. Ist dies geschehen, so ist die Zelle „erholt“, und läßt man nunmehr eine zweite Hellminute folgen, so geschieht alles wie in der ersten Hellminute, d. h., der Sauerstoff wird mit der Quantenausbeute 1 entwickelt und die Kohlensäure wird mit der Quantenausbeute 1 absorbiert.

Läßt man aber die zweite Hellminute, ohne die Erholung abzuwarten, sofort auf die erste Hellminute folgen, so wird in der zweiten Hellminute viel weniger Sauerstoff entwickelt, als in der ersten Hellminute. Die Erholung braucht also Zeit. Daß es der Verbrennungsprozeß ist, der die Erholung bewirkt, kann man beweisen, indem man den Zellen nach Ablauf der Lichtreaktion den Sauerstoff entzieht. Dann wird, solange man auch die Dunkelzeit ausdehnen mag, bei Belichtung kein Sauerstoff entwickelt. Läßt man aber den Sauerstoff wieder zutreten, so kehrt in dem Maße, als Sauerstoff in dem nun einsetzenden Verbrennungsprozeß verbraucht wird, die photosynthetische Wirksamkeit des Lichts zurück.

III.

Autotrophe *Chlorella* gehört zu denjenigen Organismen, deren Atmung durch Blausäure nicht gehemmt wird. Um so bemerkenswerter ist es, daß der durch das Licht

⁵⁾ Dean Burk u. O. Warburg, Z. Naturforsch. 6b, 12 [1951]; O. Warburg, H. Geleick u. K. Brieske, ebenda 6b, 417 [1951].

^{5a)} Die elektrochemische Methode nach Tödt (Biochim. Biophys. Acta 72, 347 [1953]) hat sich in unseren Händen nicht bewährt.

induzierte Verbrennungsprozeß, auf dem die Erholung beruht, durch n/10000 Blausäure vollständig gehemmt wird. Auf der Hemmung eines besonderen Verbrennungsprozesses also beruht die große Empfindlichkeit der Photosynthese gegen Blausäure, die wir vor vielen Jahren gefunden haben⁶⁾. Diese Hemmung ist glatt reversibel. Ist die *Chlorella* mit Blausäure in ihrem sauren Kulturmedium suspendiert, so kann man die Blausäure aus den Manometergefäßern durch kohlensäurehaltige Luft vertreiben und stellt damit die normale photosynthetische Wirksamkeit der Zellen wieder her.

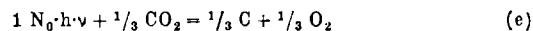
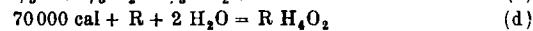
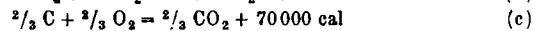
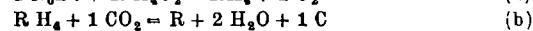
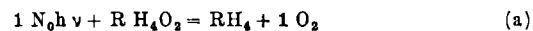
IV.

Ein zweiter Schwermetall-Komplexbildner, dessen Wirkung wir untersucht haben, ist α - α' -Phenanthrolin. Während Blausäure in saurer Lösung mit freien Eisen-Ionen nicht reagiert, ist Phenanthrolin das Reagenz auf freie Eisen-Ionen (oder andere freie Schwermetall-Ionen) in saurer Lösung.

Gibt man Phenanthrolin zu *Chlorella*, die bei p_H 4 in ihrem Kulturmedium suspendiert ist, so dringt so wenig Phenanthrolin in die Zellen ein, daß man eine Aufnahme nicht messen kann. Indessen färbt sich die Flüssigkeit, die die Zellen umgibt, rötlich, ein Zeichen, daß das Phenanthrolin den Zellen Fe(II)-Ionen entzogen hat. Unter diesen Bedingungen hemmt n/10000 Phenanthrolin die photosynthetische Wirksamkeit der Chlorella vollständig. Erzeugt man mit weniger Phenanthrolin eine mittlere Hemmung, so kann man zeigen, daß der durch das Licht induzierte Verbrennungsprozeß durch Phenanthrolin nicht gehemmt wird. Während also Blausäure die oxydative Erholung verhindert und erst dadurch die Lichtwirkung hemmt, hemmt Phenanthrolin die Lichtwirkung direkter.

V.

Die folgenden Gleichungen fassen unsere Messungen der Lichtreaktion und der Erholungsreaktion zusammen. Bei unserer Versuchsanordnung, bei der die beiden Reaktions-Phasen zeitlich getrennt sind, verlaufen (a) und (b) im Licht, (c) und (d) im Dunkeln. Im stationären Zustand der Photosynthese verlaufen alle vier Reaktionen gleichzeitig, und was man mißt, ist nur die Reaktion (e), die im Rot, für N₀hv = 40000 cal, eine Ausbeute an chemischer Energie von mindestens $\frac{1/2 \times 112\ 000}{40\ 000} = 93\%$ ergibt.



Die Gleichungen (a) bis (d), die keine Theorie enthalten, sind die vollständige Lösung des Quantenproblems der Photosynthese. Die Energie, die dem einen Lichtquantum zur Reduktion der Kohlensäure fehlt, wird von der Zelle der Lichtreaktion durch die Reaktion (d) zur Verfügung gestellt und nach Ablauf der Lichtreaktion durch die Reaktion (c) zurückgegeben.

Da die Energieausbeute in der Bilanzreaktion (e) sehr gut ist, so müssen auch die Ausbeuten in den Teilreaktionen sehr gut sein. Reaktion (a) muß also nahezu 40000 cal. erfordern und Reaktion (d) nahezu diejenigen 70000 cal., die durch die Reaktion (c) frei werden. Denkt man an die Regeneration des Kreatinphosphats im Muskel durch die Energie der Glykolyse, so sind dies Forderungen, die zu erfüllen der Natur nicht schwer fallen werden.

⁶⁾ O. Warburg, Biochem. Z. 100, 230 [1919]; 103, 188 [1920].

Was aber ist der Rest R unserer Gleichungen? Wir können darüber zunächst nur eine sichere Aussage machen: daß eine gegebene Menge grüner Zellen ebensoviel Mole R enthalten muß, wie aus ihr Mole Sauerstoff mit der Quantenausbeute 1 entwickelt werden können. Wenn wir also aus 100 mm³ *Chlorella* 1 Mikromol Sauerstoff mit der Quantenausbeute 1 entwickeln können, so müssen 100 mm³ *Chlorella* mindestens 1 Mikromol R enthalten.

100 mm³ unserer *Chlorella* enthielten rund 1 Mikromol Chlorophyll. Hiernach wäre es aus quantitativen Gründen möglich, daß R ein Chlorophyll-Rest ist, der dann allerdings bei Aufnahme und Abgabe der Elemente des Wassers sein Absorptionsspektrum nicht wesentlich ändern dürfte. Daß dies nicht unmöglich ist, ergibt sich aus dem Beispiel der *Conantschen Reaktion*⁷⁾, die sich nach *Hans Fischer*⁸⁾ an dem Kohlenstoff-Atom 10 seiner Formel abspielt, und bei der sich das Absorptionsspektrum des Chlorophylls nur unwesentlich ändert.

100 mm³ *Chlorella* enthalten aber auch mehr als genug Eisen, nämlich 2 Mikromole. Hiernach wäre es auch möglich, daß der Rest R eine Eisen-Verbindung ist, die 1 oder 2 Atome Eisen enthält; wozu stimmen würde, daß Phenanthrolin die Lichtreaktion (a) hemmt.

Nach dem, was anfangs über das Nicotinsäureamid gesagt worden ist, und nach dem, was wir im folgenden über andere Ferment-Wirkungsgruppen erfahren werden, ist es kaum nötig zu erwähnen, daß die Gleichungen (a) bis (d) nur Bilanzgleichungen, keine Gleichungen der Mechanismen sind.

VI.

Wodurch unterscheiden sich unsere Gleichungen von der Theorie *James Francks*⁹⁾, nach der bekanntlich bei der Photosynthese nur etwa 25% der absorbierten Lichtenergie als chemische Energie gewonnen werden können? „We know now that the high efficiency is only apparent and that the true efficiency is probably only a third of it, namely 12 quanta per molecule CO₂ reduced“. Von unserer Gleichung (a) unterscheidet sich also die Theorie von *Franck* durch einen Faktor von 12, den übrigens *Ehrmantraut* und *Rabinowitsch*¹⁰⁾ noch im Jahre 1952 durch Experimente glaubten bestätigen zu können.

Franck geht davon aus, daß bei der Reduktion von 1 Moleköl CO₂ mehrere Lichtquanten zusammenwirken müssen; daß dies nur möglich ist, wenn im Licht beständige photochemische Zwischenprodukte entstehen; und daß dabei Energie verloren werden muß, da andernfalls die Zwischenprodukte nicht beständig sein könnten. Wir haben diese Überlegungen, die *Franck* seit 14 Jahren unablässig wiederholt, und für die *Rabinowitsch* in seinen Büchern über Photosynthese Propaganda macht, niemals ernst genommen, da sie unseren Experimenten widersprachen. Heute können wir als zweites Argument hinzufügen, daß wir jetzt wissen, warum die Theorie von *Franck* falsch war: weil bei der Reduktion von 1 Moleköl CO₂ nicht mehrere Quanten zusammenwirken, sondern weil es ein Quantum ist, das die Reduktion von 1 Moleköl CO₂ bewirkt. Damit aber ist *Francks* Ausgangspunkt, seine Forderung nach den beständigen photochemischen Zwischenprodukten, d. h. die Forderung der großen Energieverluste bei der Photosynthese, hinfällig geworden. Der Genius der lebenden Natur

war nicht bereit, sich mit 25% Ausbeute zu begnügen, sondern er hat eine Lösung des Quantenproblems der Photosynthese gefunden, die wir in ihrer Einfachheit bewundern, und die doch kein Theoretiker ahnte.

VII.

Zu den bisher beschriebenen Experimenten sind in den letzten Monaten eine Reihe neuer Experimente mit einem sehr wichtigen Ergebnis hinzugekommen¹¹⁾.

Schon seit Jahren war es uns aufgefallen, daß die photosynthetischen Ausbeuten allmählich absanken, wenn dünne Zellsuspensionen längere Zeit mit monochromatischem grünem oder rotem Licht belichtet wurden; daß aber die Ausbeuten konstant blieben, wenn dabei die Atmung mit weißem Licht kompensiert wurde. Es war uns ferner aufgefallen, daß die Ausbeuten im Winter oft schneller absanken als im Sommer, wenn die Versuchszellen zwar mit Metallfadenlicht, aber an einem Südfenster, also unter Zusatz von Tageslicht, gezüchtet worden waren. Beides, sowohl der Einfluß des weißen Kompensationslichtes bei den Messungen der Ausbeute als auch der Einfluß des Tageslichtes bei den Kulturen, deutete auf einen unbekannten Einfluß der Wellenlänge hin.

Eine nähere Untersuchung ergab, daß eine vollständige Kompensation der Atmung durch weißes Licht nicht nötig war, um das Absinken der Ausbeuten im Rot zu verhindern; daß vielmehr schon ohne merkliche Kompensation der Atmung die Wirkung des weißen Lichtes nachweisbar war; und weiterhin, daß von dem weißen Licht vor allem der blaugrüne Teil, in schwächerem Maße auch der blaue Teil, wirksam war. So wenig blaugrünes Licht genügte, daß es energetisch gegen das grüne oder rote Meßlicht zu vernachlässigen war, ein überraschendes Ergebnis, das die Anordnung der Experimente und ihre Deutung wesentlich erleichtert hat.

In Bild 1 (s. S. 496) ist ein Experiment graphisch dargestellt, bei dem eine sehr dünne Zellsuspension in zwei Gefäßen von ungleichem Volumen kontinuierlich mit einer konstanten und hohen Intensität der Wellenlänge 644 m μ in Manometriegefäßen belichtet wurde. Abwechselnd wurde blaugrünes Licht der Wellenlängen 468, 480 und 509 m μ (die blaugrünen Linien einer Cadmiumlampe) hinzugefügt und wieder fortgenommen. Bei der Berechnung der Lichtwirkungen nach den Formeln der 2-Gefäßmethode wurden nur die positiven Drucke berücksichtigt. Unseren neuen Vorschriften gemäß¹²⁾ wurde also die Atmung vernachlässigt.

Betrachten wir den Versuch der Abbildung, so beträgt nach Zusatz von blaugrünem Licht der Quantenbedarf $1/\varphi$ nach 2 Std. 4,4, das entspricht einer Ausbeute an chemischer Energie von 60%. Wurde dann das Blaugrün fortgenommen, so stieg der Quantenbedarf alsbald auf unendlich, d. h., die Energieausbeute wurde Null. Wurde dann das Blaugrün wieder zugegeben, so sank der Quantenbedarf auf 3,6, d. h., die Energieausbeute stieg auf 75%. Wurde dann das Blaugrün wieder fortgenommen, so stieg der Quantenbedarf auf 17, d. h., die Ausbeute an chemischer Energie sank auf 16%. Wurde dann das Blaugrün wieder zugegeben, so sank der Quantenbedarf auf 3,2, d. h. die Ausbeute an chemischer Energie stieg auf 83%. Wurde dann das Blaugrün wieder fortgenommen, so stieg der Quantenbedarf auf 12, d. h. die Ausbeute an chemischer Energie sank auf 22%. Im ganzen war also die Ausbeute an chemischer Energie bei Abwesenheit von Blaugrün sehr schlecht und wurde bei Zusatz von Blaugrün

⁷⁾ J. B. Conant u. Mitarbb., Science [New York] 73, 268 [1931]; J. Amer. chem. Soc. 53, 359, 1615, 2383, 3522, 4436 [1931]. Nur diejenigen Chlorophyll-Derivate, die Magnesium enthalten, reagieren in der *Conantschen Reaktion* mit Sauerstoff.

⁸⁾ Hans Fischer u. Adolf Stern: Die Chemie des Pyrrots, Bd. II, 2, S. 25, Leipzig 1940.

⁹⁾ James Franck u. Hans Gaffron, Advances in Enzymol. 7, 199 [1941].

¹⁰⁾ E. Rabinowitsch u. Ehrmantraut, Arch. Biochemistry 38, 67 [1952].

¹¹⁾ O. Warburg, G. Krippahl, W. Schröder, W. Buchholz u. E. Theel, Z. Naturforsch. 9b, 164 [1954].

¹²⁾ O. Warburg, G. Krippahl, W. Buchholz u. W. Schröder, Z. Naturforsch. 8b, 675 [1953].

sehr gut. Würde man, was wir nicht getan haben, den veratmeten Sauerstoff zu dem durch das Licht entwickelten Sauerstoff hinzufügen, so würde man für die beiden

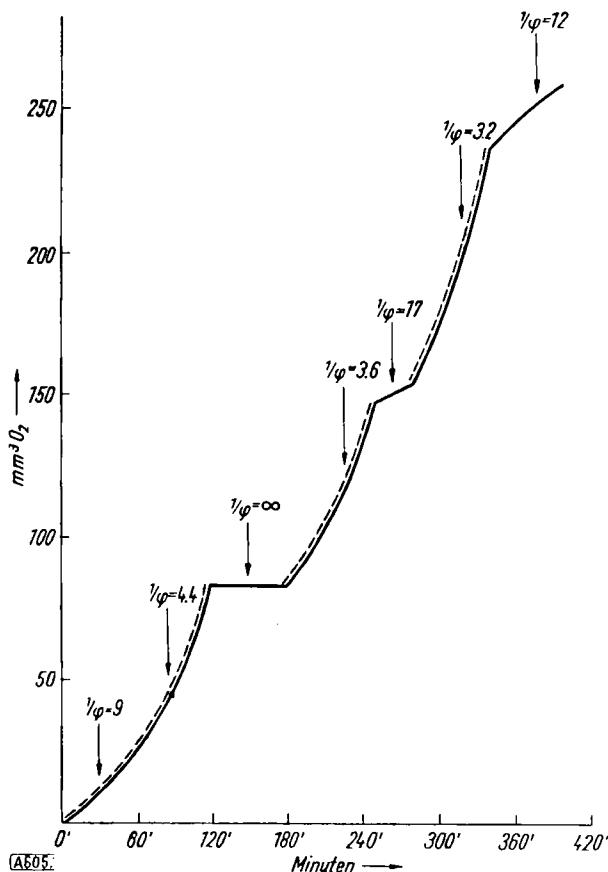


Bild 1

Ausgezogene Linie: Belichtung mit Rot ($J = 16 \text{ mm}^3 \text{ Quanten/min}$)
Gestrichelte Linie: Belichtung mit Blaugrün ($J = 0.3 \text{ mm}^3 \text{ Quanten/min}$)

$$\frac{1}{\varphi} = \frac{h \cdot v}{O_2} = \text{Quantenbedarf}$$

letzten Blaugrün-Perioden im Mittel einen Quantenbedarf von 2,85 finden, was einer Ausbeute an chemischer Energie von 93% entsprechen würde.

VIII.

Da sehr wenig blaugrünes Licht große photochemische Umsätze erzeugt, so ist das Ergebnis des beschriebenen Experiments, daß blaugrünes Licht aus einem Proferment ein Ferment der Photosynthese erzeugt, das sich in monochromatischem Rot wieder zu Proferment zurückbildet. Nach dem Wirkungsspektrum — Maximum im Blaugrün, schwächere Wirkung im Blau bei $436 \text{ m}\mu$, keine Wirkung im Grün bei $546 \text{ m}\mu$ und keine Wirkung im Rot bei $644 \text{ m}\mu$ — kommen von Bestandteilen grüner Zellen als Profermente nur die Carotinoide und die Flavine in Betracht. Wir entscheiden uns für die Carotinoide, angesichts der Untersuchungen von George Wald¹³⁾ über den Sehpurpur, als dessen Wirkungsgruppe er ein Carotinoid fand, das gebunden an Protein, bei Belichtung seine Konfiguration reversibel ändert. In der Tat erinnert das

¹³⁾ G. Wald: The Molecular Basis of Visual Excitation, Amer. Scientist 42, 73 [1954].

Ausbleichen des Seh-Carotinoids und seine Rückbildung im Dunkeln so sehr an die hier gefundenen Erscheinungen, daß uns die beiden wichtigsten photochemischen Reaktionen der organischen Welt, das Sehen und die Photosynthese, nunmehr durch die Carotinoide verbunden erscheinen.

Wir sind also nicht der Ansicht, daß das Proferment der Photosynthese ein Flavin ist. Flavine müssen zwar bei der Photosynthese, wie das Nicotinsäureamid, als Wirkungsgruppen Wasserstoff-übertragender Fermente mitwirken, aber dem Entdecker der Flavine, insbesondere des Lumiflavins, sind keine Reaktionen bekannt, in denen an Protein gebundene Flavine unter physiologischen p_H -Bedingungen durch Licht reversibel umgelagert werden.

IX.

Wegen der oben beschriebenen Wirkung der Schwermetall-Komplex-bildner auf die Photosynthese haben wir untersucht, ob die Wirkung des blaugrünen Lichtes durch Phenanthrolin oder durch Blausäure beeinflußt wird. Wurde die Photosynthese durch $n/30000$ Phenanthrolin auf die Hälfte gehemmt, so reagierten die Zellen auf Blaugrün ebenso wie die Kontrollen ohne Phenanthrolin. Zusatz von Blausäure jedoch ergab ein interessantes Ergebnis. Die äußerst kleine Blausäure-Konzentration von $n/350000$, die auf andere Teilreaktionen der Photosynthese nicht wirkt, verhindert die Wirkung des blaugrünen Lichtes vollständig, d. h., ist die Ausbeute in monochromatischem Rot schlecht, so kann sie durch Zusatz von Blaugrün nicht verbessert werden; während die Wirkung des Blaugröns sofort erscheint, wenn man durch die Manometriegeräte Kohlensäure-haltige Luft bläst und dadurch die Blausäure-Spuren entfernt. Die Bildung des Ferments aus dem Proferment durch blaugrünes Licht ist also keine direkte, sondern eine durch ein Schwermetall vermittelte photochemische Reaktion. Dieses Schwermetall braucht nicht Eisen zu sein. Es kann jedes der für *Chlorella* lebensnotwendigen Schwermetalle sein, zu denen nach einer neueren Entdeckung von Arnon¹⁴⁾, die wir bestätigen können, auch Vanadium gehört.

X.

Fassen wir zusammen, so sind die wichtigsten Experimente die Messung der Quantenausbeute 1 und dazugehörend, die Messung der durch das Licht induzierten Atmung, weil durch diese Messungen die Brücke von der Problematik der Photosynthese zu Physik und Chemie geschlagen worden ist, zu dem Weg, auf dem nunmehr die Fermentchemie der Photosynthese vorgeht. Auf diesem Wege sind bisher Anzeichen für die folgenden Wirkungsgruppen einer Fermentkette der Photosynthese gefunden worden: Nicotinsäureamid als Wirkungsgruppe der reduktiven Carboxylierung; Carotinoid als Wirkungsgruppe der Wasserstoff-Übertragung (zum Nicotinsäureamid); Schwermetall als Wirkungsgruppe der Oxygenase der Rückreaktion des Sauerstoffs; Schwermetall als Wirkungsgruppe einer Carotinoid-Photomutase; und vielleicht, aber noch in Konkurrenz mit dem Magnesium des Chlorophylls, Eisen als Träger des in der Lichtreaktion entwickelten Sauerstoffs.

Eingeg. am 8. Juli 1954 [A 605]

¹⁴⁾ D. I. Arnon u. G. Wessel, Nature [London] 172, 1039 [1953].