

### 53. Über die photolytische Bildung von Formaldehyd aus Chlorophyll und Eosin

von Emil Baur und Hans Fricker.

(19. III. 37.)

Wir haben den Versuch, der von *Emil Baur*<sup>1)</sup> mitgeteilt worden ist, weiter verfolgt; wir berichten nachfolgend über die gewonnenen Ergebnisse.

Es handelt sich um zweiphasige Systeme, bestehend aus einer Chlorophyll-Dispersion in Kolophonium oder Kollodium und einer wässrigen Lösung, die ein Redox-Mittel enthält. Bei intensiver Belichtung beobachtete man Bildung von Formaldehyd. In den Versuchen von *E. Baur* wurde unter Stickstoff oder Kohlendioxyd belichtet, mit Durchleiten der Gase durch die Lösungen. Kollodium wurde als Film verwendet, welchem Chlorophyll und auch das Redox-Mittel, meist Methylenblau, einverleibt waren. Bei dieser Arbeitsweise kann man kaum vollkommen luftfrei arbeiten. Es ist aber wichtig, Photo-Oxydation restlos auszuschliessen, umsomehr, als sich gezeigt hat, dass Methylenblau, für sich allein belichtet, eben durch Photo-Oxydation etwas Formaldehyd bilden kann. Dieser Fehleffekt bleibt aus, wenn gründlich entlüftet worden ist. Chlorophyll für sich allein gibt nicht Formaldehyd, auch nicht bei Gegenwart von Luft. Um nun der Bedingung des Ausschlusses der Luft zu genügen, sind wir dazu übergegangen, die Belichtung der Sole ausschliesslich in flachen Flaschen (Medizinflaschen) vorzunehmen, die evakuiert und durch Sieden an der Pumpe vollständig entlüftet worden sind. Sämtliche, nachfolgend zu beschreibenden, Versuche beziehen sich auf in dieser Weise von Luft befreite Systeme. Die Belichtungsgefässe liegen in einem Kaltwasser-Thermostaten und werden von oben durch eine 1000-Watt-Osramlampe beleuchtet.

Unter diesen Umständen verlaufen die Film-Versuche weniger befriedigend, so dass wir uns auf die Mitteilung der Ergebnisse der Kolophonium-Sole beschränken.

Zum Zustandekommen des Effektes im luftfreien System ist ein Zusammenwirken von Chlorophyll und Redox-Mittel notwendig. Wir verwandten Chlorophyll-Präparate der Firma *Sandoz*-Basel. Unerheblich ist, ob reines Chlorophyll verwendet wird oder eine Paste, deren Gehalt an reinem Chlorophyll a + b zu 40% angegeben wird. Während der Belichtung verschwindet Chlorophyll, was an der Änderung der Farbe zu erkennen ist. Entsprechend geht der

---

<sup>1)</sup> Helv. 18, 1157 (1935).

Zuwachs an Formaldehyd mit der Zeit immer mehr zurück. Dauer der Belichtungen gewöhnlich 8 oder 14 Stunden; 1000-Watt-Oramlampe in etwa 30 cm Entfernung vom Belichtungsgefäß.

Zur Untersuchung werden nach der Belichtung auf 50 cm<sup>3</sup> Lösung 3 Tropfen konz. Salzsäure zugesetzt (Flockung des Kolophonium-Sols), das Filtrat mit Tierkohle entfärbt (Entfernung des Farbstoffs in der Wasserphase) und das Filtrat in stets gleichbleibendem Mengenverhältnis mit fuchsinschwefliger Säure (stets gleichbleibender Beschaffenheit) versetzt. Maximum der Farbstärke nach 6 Stunden, etwa 1 Stunde lang merklich konstant. Auswertung im Kolorimeter (Eintauchkolorimeter von *Leitz*) unter Bezugnahme auf besonders aufgenommene Eichkurve. Angabe in mg Formaldehyd im Liter.

### *Chlorophyll in Kolophonium.*

Es sollte bewiesen werden, dass die zusätzlich notwendigen Redox-Mittel sich gegenseitig ersetzen können. Wir haben also vergleichende Messungen vorgenommen mit reduzierbaren Farbstoffen verschiedener Klasse, sowie mit Hydrochinon und Ferrichlorid.

Die Ansätze sind:

- A) 4 cm<sup>3</sup> Chlorophyll-Lösung (Gehalt 2 g/L in Äthylalkohol)
- B) 4 cm<sup>3</sup> Kolophonium-Lösung (Gehalt 20 g/L in Äthylalkohol)
- C) 2—4 cm<sup>3</sup> Redox-Mittel (Gehalt 1 g/L in Wasser oder Äthylalkohol)
- D) 45 cm<sup>3</sup> Wasser.

A wird in B gegeben, C wird in D gegeben, hierauf die alkoholische Lösung in die wässrige gegossen. Wenn der Farbstoff, z. B. Quercetin, in Alkohol löslich ist, wird er der vereinigten alkoholischen Lösung einverleibt.

In der folgenden Tabelle 1 steht unter „Umsatz in Prozent“ die verhältnismässige Menge Formaldehyd, bezogen auf die beiden Carboxyle des im Versuch anwesenden Chlorophylls.

Tabelle 1.

Redox-Mittel	Belichtungszeit in Stunden	CH <sub>2</sub> O in mg/Liter	Umsatz in %
Methylenblau . .	14	3,0	69,8
Quercetin . . . .	14	2,1	48,9
<i>Lauth'sches</i> Violett	14	1,8	41,8
Malachitgrün . .	14	1,8	41,8
Safranin . . . . .	14	1,6	37,2
Janusgrün . . . .	14	1,6	37,2
Phenosafranin . .	8	2,1	48,9
Neutralrot . . . .	8	1,35	31,4
Gallocyanin . . .	8	1,15	26,8
Hydrochinon . . .	8	1,0	23,3
FeCl <sub>3</sub> . . . . .	8	0,9	20,9
Nilblau . . . . .	8	0,7	16,3
ohne Zusatz . . .	8	0,0	

Das allgemeine Ergebnis dieser Messungen besteht in dem Nachweis, dass die verschiedenen Redox-Mittel zu der von der Theorie *Baur's* geforderten Funktion eines Vorspanns taugen und sich hierin vertreten können, wie es die Theorie verlangt. Von besonderer Wichtigkeit sind die Wirkungen des Flavonols Quercetin, des Hydrochinons und des Eisen(III)salzes. Denn diese Stoffe haben biologische Bedeutung. Flavonole (Anthocyane) sind in den Blättern allgemein verbreitet<sup>1)</sup>, ebenso Polyphenole; Eisensalze sind ein notwendiger Bestandteil der grünen Blätter, da sie ohne Eisenverbindungen schon gar nicht ergrünen. Obwohl vorliegende Untersuchung nur eine gewisse photolytische Zersetzung des Chlorophylls betrifft, so können wir doch nicht umhin, die Beziehungen zur pflanzlichen Assimilation zu bemerken und insbesondere zu vermerken, dass bei dieser die genannten Redox-Mittel ebendieselbe Funktion ausüben, wie in unseren Versuchen.

#### *Chlorophyll in Benzol mit Ruben.*

Wenn, wie wir annehmen, die beobachtete Photolyse darin besteht, dass die Carboxylgruppen des Chlorophylls reduziert werden, so muss auf 1 Mol Formaldehyd 1 Mol Sauerstoff entstehen. Dieser dürfte für das übrige Chlorophyll schädlich sein; denn es ist häufig bemerkt worden, dass belichtete Chlorophyll-Lösungen in Sauerstoff-freiem Medium beträchtlich länger haltbar sind. Nur, wenn gleichzeitig ein anodischer Depolarisator (Reduktionsmittel) vorhanden ist, erträgt (durch Desensibilierung<sup>2)</sup>) Chlorophyll den Sauerstoff ohne Schaden<sup>3)</sup>. Zum Schutz des Chlorophylls braucht man einen Sauerstoff-Akzeptor. Hier könnte man nun daran denken, solche Kohlenwasserstoffe heranzuziehen, die gerade im Licht mit Sauerstoff dissoziierbare Moloxyde zu bilden vermögen. Einen Kohlenwasserstoff mit dieser Eigenschaft besitzen wir im Ruben, C<sub>42</sub>H<sub>28</sub> (= Dibenzol-difulven), synthetisch hergestellt und ausführlich untersucht von *Ch. Dufraisse*<sup>4)</sup>. Die Chlorophyll-schützende Wirkung müsste an einer Vermehrung der Formaldehyd-Ausbeute in gegebener Zeit zu erkennen sein, und die Funktion des Akzeptors wäre diejenige eines Sauerstoff-Puffers.

Wir haben also einen entsprechenden Versuch gemacht. Da für Ruben nur Benzol als geeignetes Lösungsmittel in Frage kommt, wurde folgender Ansatz hergestellt:

<sup>1)</sup> *Kurt Noack*, Z. Botanik, 14, 1 (1922).

<sup>2)</sup> Auf ausdrücklichen Wunsch des Verfassers drucken wir „Desensibilierung“ statt Desensibilisierung und ähnlich bei Wörtern desselben Stammes.

<sup>3)</sup> Vgl. *Kurt Noack*, Photochem. Wirkungen des Chlorophylls, Z. Botanik 17, 481—548 (1925). — *Hans Gaffron*, Bioch. Z. 264, 251 (1933). — *Karl Weber*, Photochem. Ausbleichen des Chlorophylls, B. 69, 1026 (1936).

<sup>4)</sup> Zusammenfassung siehe *Ch. Dufraisse*, Bl. [4] 53, 789 (1933).

4 cm<sup>3</sup> Chlorophyll in Benzol (Gehalt 2 g/L)  
 4 cm<sup>3</sup> Ruben in Benzol (Gehalt 1 g/L)  
 2 cm<sup>3</sup> Methylenblau in Wasser (Gehalt 1 g/L)  
 42 cm<sup>3</sup> Wasser  
 Dasselbe frei von Ruben.

Die Belichtungsflaschen werden im Kaltwasser-Thermostaten geschüttelt, um genügende Durchmischung beider Phasen zu erreichen.

Wir bekamen folgende Umsätze (mg/L Formaldehyd).

Tabelle 2.

Zeit Stunden	mit Ruben	ohne Ruben
2	1,2	1,1
4	1,6	1,6
6	1,8	2,0
8	1,9	2,2

Das Ergebnis ist, dass Ruben keinen deutlichen Einfluss ausübt. Wichtig erscheint, dass Chlorophyll in Benzollösung sich benimmt, wie in den Kolophoniumsolen und auch in den Kollodiumfilmen. Ein Gleiches gilt von Chlorophyll in Öl, wie der folgende Versuch zeigt.

*Chlorophyll in Öl mit Carotin.*

Es ist wahrscheinlich, dass auch Carotin, C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>, zur Bildung dissoziierbarer Oxyde im Licht befähigt ist<sup>1)</sup>. Es könnte also grundsätzlich wohl auch als Sauerstoff-Puffer in Betracht kommen. Freilich schliessen sich an die erste, reversible, Aufnahme von Sauerstoff durch Carotin alsbald tiefere Zersetzungen an. Jedenfalls lohnte es sich, den Einfluss von Carotin auf unseren Effekt kennen zu lernen.

Dass Carotin der Photo-Oxydation unterliegt, und dass auf diesen Vorgang Chlorophyll sensibilatorisch befördernd einwirkt, ist bekannt<sup>2)</sup>. Eine Abfangwirkung konnte also mit gutem Grunde erwartet werden. Wie der folgende Versuch zeigt, ist der Effekt auch eingetreten.

Die Zahlenwerte der Tabelle 3 bedeuten mg/L Formaldehyd. Mbl = Methylenblau.

Die luftfreie Belichtung erfolgt in lebhaft geschüttelten Gefässen bei 33–36°, um Emulsion des dann flüssigen Palmöls zu bewirken. Nach Belichtung Zentrifugieren der Wasserphase zur Abtrennung feiner Öltröpfchen. Palmöl von der Firma *Gebr. Schnyder-Biel*; Erdnussöl der Firma *Astra-Thun*. — Bemerkenswert der Kontrollversuch ohne Methylenblau, der zeigt, dass der gefundene Formaldehyd nicht etwa vom Öl abstammt.

<sup>1)</sup> E. Baur, *Helv.* **19**, 1210 (1936).

<sup>2)</sup> Kurt Noack, *Z. Botanik* **17**, 481 (1925). — E. Baur und G. Fabbriotti, *Helv.* **18**, 7 (1935).

Tabelle 3.

Ansatz Zeit	mit Carotin	ohne Carotin	ohne Mbl.
	4 cm <sup>3</sup> Palmöl mit 2 g/L Chlorophyll 2 cm <sup>3</sup> Mbl (1 g/L) 48 cm <sup>3</sup> Wasser	4 cm <sup>3</sup> Erdnussöl mit 2 g/L Chlorophyll 2 cm <sup>3</sup> Mbl (1 g/L) 48 cm <sup>3</sup> Wasser	4 cm <sup>3</sup> Palmöl mit 2 g/L Chlorophyll 50 cm <sup>3</sup> Wasser
2 Std.	2,0	1,6	0
4 „	2,3	1,8	0
6 „	2,6	1,9	0
8 „	2,7	2,2	0

Wir wiederholen, dass unsere Photolyse nicht etwa der pflanzlichen Assimilation gleichzusetzen ist, aber es liegt auf der Hand, zu vermuten, dass die physiologische Funktion der Carotine im Chloroplasten gerade im Abfangen (und Weitergeben) des entbundenen Sauerstoffs bestehe.

#### *Chlorophyll an Tonerde.*

Es wäre gewiss wünschenswert, die Chlorophyll-Photolyse vorzunehmen unter Ausschluss eines organischen Trägers oder Lösungsmittels. Nun ist es leicht, Chlorophyll aus ätherischer Lösung auf Aluminiumoxyd, Präparat von *Merck*, standardisiert von *Brockmann* für die Zwecke der chromatographischen Analyse, niederzuschlagen. Man versetzt die ätherische Lösung mit einer passenden Menge des Pulvers (etwa 2 mg Chlorophyll auf 1 g Adsorbens) und verjagt den Äther an der Pumpe. Der Belichtungsversuch erfolgt mit Methylenblau und mehreren anderen der in Tabelle 1 verzeichneten Redox-Mitteln, luftleer in Röhren, die durch eine passende Vorrichtung in drehender Bewegung gehalten werden.

Erfolg negativ. Die Redox-Farbstoffe werden an der mit Chlorophyll belegten Tonerde adsorbiert. Dies sollte kein Hinderungsgrund sein. Man wird sagen müssen, dass das Chlorophyll selbst, an seinem Träger verhaftet, in seiner photochemischen Tätigkeit gehemmt ist (vermutlich Verlust der Fluoreszenz). — Es sei darauf hingewiesen, dass der Null-Effekt dieser Versuche zum Erweis dienen kann, dass der sonst gefundene Formaldehyd nicht etwa den Redox-Farbstoffen entstammt.

#### *Denaturiertes Chlorophyll.*

Wenn man den Normalversuch (mit Methylenblau) statt mit nativem, fluoreszierendem Chlorophyll mit Chlorophyll-Präparaten des Handels anstellt, welche gewöhnlich gekupfert sind und nicht fluoreszieren, so bekommt man keinen Effekt. Mit dem Verlust der Fluoreszenz verliert Chlorophyll seine photochemischen Eigenschaften.

Von *K. Noack*<sup>1)</sup> wird ein Gleiches für Photo-Oxydationen mit Chlorophyll angegeben.

Verwendet wurde Kolophoniumsol, versetzt mit der alkoholischen Lösung von Chlorophyllum techn. „lichtgrün“ *Merck* (Paste) und Chlorophyllum purum sol. spiritosa *Merck*.

Desgleichen wird kein Effekt erzielt, wenn aus nativem Chlorophyll (*Sandoz*) ein Wasser-Sol, Methylenblau-haltig, hergestellt wird. Das Wasser-Sol fluoresziert nicht; zugleich erlischt die photochemische Wirksamkeit.

*Eosin S (Spriteosin)*  
= Eosin-äthylester.

Wenn es richtig ist, dass es die Carboxylgruppen des Chlorophylls sind, welche den Formaldehyd liefern, so mussten wir versuchen, unseren Effekt zu verwirklichen mit künstlichen organischen Farbstoffen, die Carboxylgruppen enthalten, photochemisch empfindlich sind, löslich in nichtwässriger Phase und vielleicht auch verestert. Glücklicherweise erfüllt der bekannteste und wirksamste photochemische Sensibilator, das Eosin, in Form seines Äthylesters die genannten Bedingungen sämtlich. In der Tat lieferte der Versuch ein positives Ergebnis.

Ansatz:

- 3 cm<sup>3</sup> Eosin S (Gehalt 2 g/L in Alkohol)
- 4 cm<sup>3</sup> Kolophonium (Gehalt 20 g/L in Alkohol)
- 2 cm<sup>3</sup> Redox-Mittel (Gehalt 1 g/L, meist in Wasser)
- 41 cm<sup>3</sup> Wasser

Belichtung:

1000-Watt-Osramlampe. Luftfrei. Flache Flaschen. 12°-Thermostat.

Belichtungszeit: 14 Stunden

Tabelle 4 enthält die Messungen.

Tabelle 4.

Redox-Mittel	mg/L Formaldehyd
Neutralrot . . . . .	2,1
Methylenblau . . . . .	1,6
FeCl <sub>3</sub> . . . . .	1,4
Phenosafranin . . . . .	1,3
<i>Lauth'sches</i> Violett. . . . .	1,3
Malachitgrün . . . . .	0,5
Quercetin . . . . .	0,4
ohne Zusatz . . . . .	0,0

Im Verlauf der Belichtung beobachtet man eine fortschreitende Änderung der Mischfarbe (Eosin + Redox-Farbstoff) in Richtung auf die reine Farbe des Redox-Farbstoffes. D. h. Eosin wird, ähnlich

<sup>1)</sup> A. a. O., S. 545.

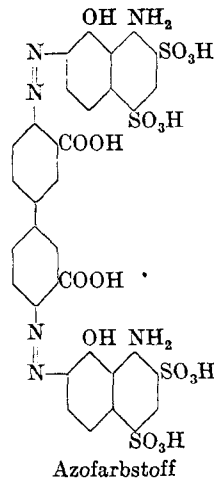
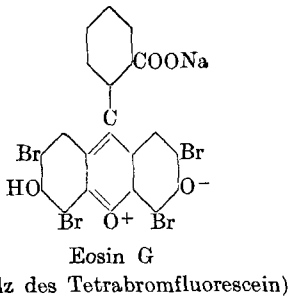
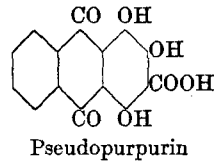
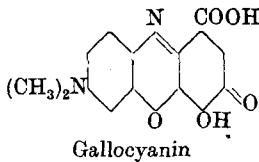
wie es der Fall ist beim Chlorophyll, unter den Versuchsumständen gebleicht, ganz im Gegensatz zu der verhältnismässigen Lichtbeständigkeit gewöhnlicher Eosinlösungen.

In der Grössenordnung stimmen die Umsätze überein mit den beim Chlorophyll erzielten (vgl. Tabelle 1). In der Reihenfolge der Wirksamkeit der Redox-Mittel bemerken wir gewisse Umstellungen. Wichtig erscheint das Aufrücken des Ferri-Ions an die dritte Stelle. Grösster Nachdruck ist zu legen auf den Null-Effekt im Zusatzfreien System. Es darf auch darauf hingewiesen werden, dass z. B. im  $\text{FeCl}_3$ -Eosin S-System keine Methylgruppen vorkommen, die etwa als Formaldehyd-Quelle verdächtigt werden könnten.

Es versteht sich, dass es unsere Aufgabe sein muss, für den vorliegenden Effekt weitere Beispiele aufzusuchen, um die Verallgemeinerung durchzuführen und um von den Beschränkungen frei zu werden, denen das Chlorophyll untersteht.

*Andere carboxylhaltige Farbstoffe.*

Ohne Wirkung fanden wir die folgenden Farbstoffe:



Untersuchung luftfrei mit verschiedenen Redox-Mitteln (Methylenblau, Pheno-safranin,  $\text{FeCl}_3$ ).

Hiezu ist nun Folgendes zu bemerken. Gallocyanin, Pseudo-Purpurin und der blaue Azofarbstoff fluoreszieren nicht und scheinen

nicht photochemisch empfindlich; somit fehlt bei ihnen die erste Voraussetzung zu einer photolytischen Wirkung auf sich selbst. Beim Eosin-G ist diese Vorbedingung zwar sicher erfüllt; es fehlt aber eine andere Bedingung. Da Gallocyanin, Eosin-G und der Azofarbstoff wasserlöslich sind, wurden die entsprechenden Versuche in rein wässriger Phase (ohne Kolophonium-Sol) durchgeführt. Eine Anfärbung des Kolophonium-Sols mit diesen Farbstoffen tritt nicht ein. Man muss nun schliessen, dass es zur Ingangsetzung der Formaldehyd-bildenden Photolyse notwendig ist, dass der sensibilatorische Farbstoff in nichtwässriger Phase vorliege, und wahrscheinlich auch, dass die Carboxylgruppe verestert sei.

*Zusammenfassung.*

1. Es wird eine bestimmte Photolyse von Chlorophyll beschrieben, die dahin ausgelegt wird, dass die Carboxylgruppen des Chlorophylls zu Formaldehyd reduziert werden.

2. Für diese Photolyse ist die Mitwirkung von Redox-Mitteln notwendig. Die Redox-Mittel können organischer oder anorganischer Natur sein.

3. Es wird nachgewiesen, dass Eosin S denselben photolytischen Effekt hervorbringt, wie Chlorophyll.

Für die freundliche Überlassung wertvoller Präparate von Ruben, Quercetin und eines blauen Azofarbstoffes haben wir den Herren *Ch. Dufraisse*, *P. Karrer* und *E. Fierz* vielen Dank zu sagen.

Wegen Einzelheiten vergleiche man die Diss. (Zürich 1937) von *Hans Fricker*.

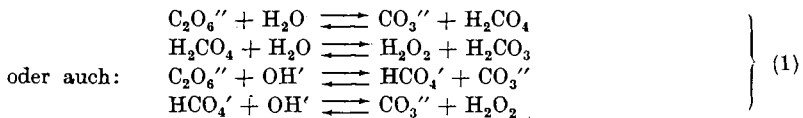
Zürich, Physikalisch-chemisches Laboratorium der E. T. H.  
März 1937.

**54. Formaldehyd aus Percarbonat**

von **Emil Baur.**

(19. III. 37.)

Wässrige Lösungen von Kaliumpercarbonat, dargestellt durch Elektrolyse nach *Constam* und *Hansen*<sup>1)</sup>, unterliegen, mit oder ohne Ansäuern, den reversiblen Hydrolysen:



<sup>1)</sup> Z. El. Ch. 3, 137, 445 (1897).