

Photochemische Synthese der Kohlenhydrate aus Kohlensäureanhydrid und Wasserstoff in Anwesenheit von Kaliumhydroxyd, in Ab- wesenheit von Chlorophyll

von

Julius Stoklasa und Wenzel Zdobnický.

Aus der Chemisch-physiologischen Versuchsstation an der k. k. böhmischen
technischen Hochschule in Prag.

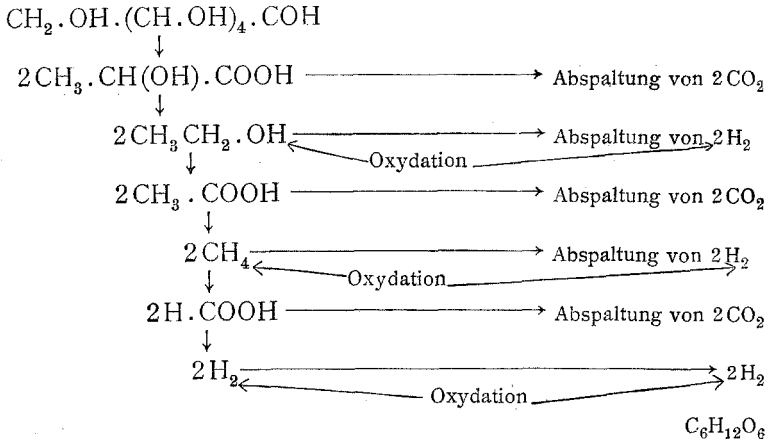
(Mit 2 Tafeln.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 13. Oktober 1910.)

Schon längere Zeit tragen wir uns mit der Idee, das Problem zu lösen, wie eigentlich die Synthese der Kohlenhydrate in der lebenden Zelle der autotrophen Pflanzen vor sich geht. Wir haben schon im Jahre 1906 und 1907 in unseren Arbeiten¹ darauf hingewiesen, daß dem von uns mit voller Gewißheit konstatierten Wasserstoff, welcher bei der Degradation der Kohlenhydrate, und zwar durch die Wirkung der aus dem Pflanzenorganismus von uns isolierten glukolytischen Enzyme als Endprodukt entsteht, in der lebenden chlorophyllhaltigen Zelle eine bedeutungsvolle Funktion bei der Assimilation des Kohlendioxyds zugewiesen ist. Wir lassen hier im nachstehenden auf Grund unserer Studien ein hypothetisches

¹ J. Stoklasa, Fermentation lactique et alcoolique dans les tissus des plantes. Enzymes qui provoquent cette fermentation. Vortrag, gehalten auf dem VI. Internationalen Chemikerkongreß in Rom 1906. — J. Stoklasa unter Mitwirkung von Adolf Ernest und Karl Chocenský, Über die glykolytischen Enzyme im Pflanzenorganismus, Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 50, Heft 4 und 5 (1907).

Schema des Abbaues der Glukose, verursacht durch glukolytische Enzyme, folgen:



Wir haben unter den in dem obigen hypothetischen Schema angeführten Abbauprodukten alle mit Bestimmtheit — bis auf das Methan, dessen Nachweis uns bis jetzt nicht gelungen ist — konstatiert. Heute herrscht bereits kein Zweifel mehr darüber, daß in sämtlichen Zellen, namentlich in den chlorophyllhaltigen Zellen der einzelnen Pflanzenorgane, die von uns isolierten glukolytischen Enzyme vorhanden sind.¹

Von großem Interesse ist, daß Henri Bierry, Viktor Henri und Albert Ranc² durch die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf die *d*-Fruktose einen tiefen Abbau bis zur Bildung von Formaldehyd und Kohlenoxyd beobachtet hatten. Dasselbe konstatierten bei dem Abbau der Glukose Daniel Berthelot und Henri Gaudechon.³ Diese Forscher fanden bei dem Abbau

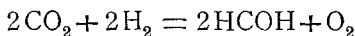
¹ Siehe Hans Euler, Allgemeine Chemie der Enzyme. Wiesbaden 1910. Karl Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1909. W. Palladin und S. Kostytschew, Biochemische Zeitschrift. Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft. Zeitschrift für physiologische Chemie, 1906 bis 1910.

² Henri Bierry, Viktor Henri und Albert Ranc, Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, Tome 151, No 4, Paris 1910.

³ Daniel Berthelot und Henri Gaudechon, Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, Tome 151, No 5, Paris 1910.

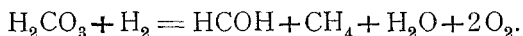
der Monosaccharide und Disaccharide Kohlendioxyd, Methan und Wasserstoff.

Wir haben schon damals die Möglichkeit der Bildung von Formaldehyd durch Reduktion des Kohlendioxyds nach der Formel:

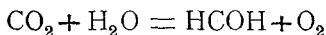


in Aussicht gestellt.

Man könnte sich auch die Zersetzung der Kohlensäure unter Einwirkung der Sonnenstrahlen nach folgender Gleichung vorstellen:



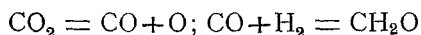
Unsere Hypothese, daß das Kohlendioxyd durch Wasserstoff in statu nascendi unter Einwirkung der Sonnenstrahlen in der chlorophyllhaltigen Zelle zu Formaldehyd reduziert wird, hat sich bewahrheitet, doch muß nebstdem noch in der chlorophyllhaltigen Zelle die von Baeyer beobachtete Reaktion, die durch folgende Gleichung versinnlicht wird,



stattgefunden haben.

Im Jahre 1860 hat Berthelot die Vermutung ausgesprochen, daß in der chlorophyllhaltigen Zelle das Kohlenoxyd als Kohlenstoffquelle für die Bildung der organischen Substanzen angesehen werden kann. Durch die Einwirkung des Kohlenoxyds auf Wasserstoff soll Formaldehyd entstehen. Infolge der weiteren Kondensation bildet dann nach Berthelot's Anschauung die Formaldehydgruppe Zucker.

Baeyer, welcher sich der Ansicht Berthelot's anschloß, behauptete im Jahre 1870, daß unter dem Einfluß des Sonnenlichtes sich das Kohlensäureanhydrid in Kohlenoxyd und Sauerstoff zersetzen kann. Das gebildete Kohlenoxyd soll mit Wasser zusammentreten und unter abermaligem Sauerstoffaustritt Formaldehyd nach der Gleichung:



bilden.

Schon im Jahre 1895 hat Ad. Lieben¹ interessante Versuche angestellt über die Reduktion der Kohlensäure bei gewöhnlicher Temperatur. Lieben gelangte zu nachstehenden Resultaten:

»1. In Wasser gelöste Kohlensäure wird durch naszierenden Wasserstoff bei gewöhnlicher Temperatur überhaupt nicht reduziert.

2. Bicarbonate von Alkali- oder alkalischen Erdmetallen (nicht von Magnesium), besonders wenn sie in Entstehung begriffen, d. h. die Bedingungen zu ihrer Bildung gegeben sind, werden durch naszierenden Wasserstoff leicht, und zwar immer zu ameisensaurem Salz reduziert.

3. Jedesmal, wenn in den beschriebenen Versuchen überhaupt Ameisensäure sich gebildet hat, ist ihre Bildung nach 2. erfolgt.

4. Das Licht spielt bei den hier behandelten Reduktionen keinerlei Rolle.

5. Das einzige Reduktionsprodukt ist Ameisensäure.«

Wie bekannt, sind stille Entladungen eine in physikalischer Hinsicht komplizierte Erscheinung, bei welcher unter anderen ultraviolette Strahlen entstehen.

Walter Löb hat gefunden, daß sich durch den Einfluß solcher Entladungen auf Kohlensäure ganz minimale Quantitäten von Kohlenoxyd, Sauerstoff, Hydroperoxyd und Ameisensäure bilden.

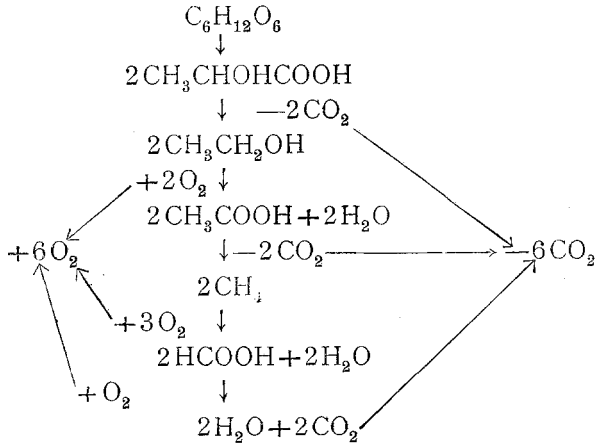
Schon früher als Löb zeigten Losanitsch und Jovitschitsch (Belgrad), daß sich durch dunkle elektrische Entladungen aus Kohlensäure und Wasser Sauerstoff und Ameisensäure bilden.²

Walter Löb³ hat unser hypothetisches Schema des Glukoseabbaues durch Atmungsenzyme anders konstruiert. Wir geben daher dieses Schema nachstehend wieder:

¹ Ad. Lieben. Monatshefte für Chemie, Wien 1895 und 1897.

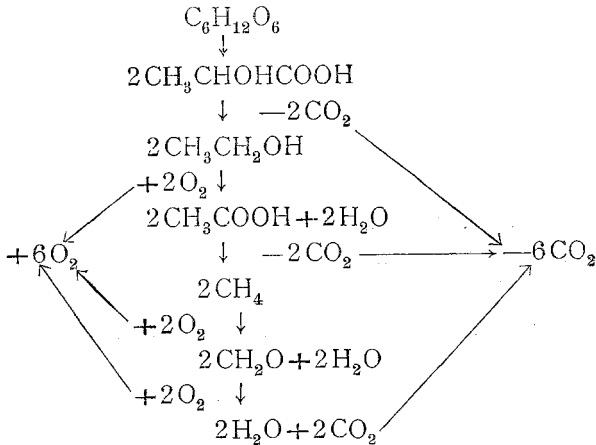
² Ich verweise hier auf die Chemie der Zuckerarten von Prof. Dr. Edm. O. v. Lippmann, Braunschweig 1904, und auf die Pflanzenchemie von H. Euler, Braunschweig 1908 und 1909, woselbst sich über die Natur des ersten Assimilationsproduktes der chlorophyllhaltigen Zelle nähere Angaben befinden.

³ Walter Löb, Zeitschrift für Elektrochemie, 1905; Landwirtschaftliche Jahrbücher, 1906.



Diese Form ist in bezug auf den Assimilationsvorgang gewählt, um sichtbar zu machen, daß das Volumen der bei dem Abbau abgegebenen Kohlensäure mit dem des aufgenommenen Sauerstoffes übereinstimmt.

Das folgende Schema, welches Löb zusammenfaßte, berücksichtigt die chemisch durchaus mögliche intermediäre Bildung von Formaldehyd:



Hier sind Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureproduktion dem Volumen nach natürlich gleich, nur ist die Verteilung eine andere.

Behufs eines näheren Studiums der photochemischen Synthese der Kohlenhydrate stellten wir neuerdings Experimente an und beobachteten dabei den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf gasförmige Körper. Die ultravioletten Strahlen üben bekanntlich eine chemische Wirkung aus.

Wir studierten zunächst die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kohlendioxyd sowie auf den in statu nascendi und nicht in statu nascendi wirkenden Wasserstoff. Auch bezüglich des Einflusses des Wasserstoffes auf Kohlendioxyd ohne Einwirkung der ultravioletten Strahlen wurden von uns Versuche angestellt. Ferner machten wir auch Experimente über die Wirkung ultravioletter Strahlen auf Kohlendioxyd und Wasserdampf. Die chemischen Reaktionen, welche durch ultraviolette Strahlen entstehen, wurden schon von verschiedenen Forschern studiert.

So z. B. hat H. Herchfinkel¹ im Laboratorium der Madame Curie bezüglich der Zersetzung der Kohlensäure durch ultraviolettes Licht Versuche ausgeführt. In einem Glasballon mit zirka 80 cm^3 Kohlensäure hatten sich nach 80 Stunden Belichtung etwa 260 mm^3 Kohlenoxyd gebildet; ein nicht bestrahlter Ballon enthielt keine Spur von Kohlenoxyd. Es fand eine Zersetzung des Kohlendioxyds in Kohlenoxyd und Sauerstoff statt.

Die Bildung von Ozon unter dem Einfluß von ultraviolettem Licht beobachteten Bordier und Nogier² und Edm. Van Aubel.³

Diesen Forschern ist es gelungen, als sie mittels einer Quarzquecksilberlampe destilliertes Wasser bestrahlten, darin die Anwesenheit von Wasserstoffperoxyd nachzuweisen.

Hermann Thiele und Wolf⁴ studierten die Bildung von Ameisensäure unter dem Einfluß des ultravioletten Lichtes

¹ H. Herchfinkel, Chemische Wirkungen der Radiumemanation und des ultravioletten Lichtes. *Le Radium*, 6, 228, 30. August.

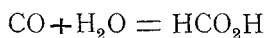
² Bordier und Nogier, *Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences Paris*, Tome 147.

³ Edm. Van Aubel, *Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences Paris*, Tome 150, 96 bis 98.

⁴ H. Thiele und Wolf, *Arch. f. Hyg.*, 60, 29; C. 1907, I, 492.

und benutzten hierzu eine Hochspannungsquecksilberlampe von Heraeus. Das Reaktionsgefäß war ein Meßkolben aus Quarzglas; um die Wärmestrahlung der Lampe zu verringern, wurden die Meßkolben mit Wasser gekühlt.

Die Bildung von Ameisensäure unter dem Einfluß der ultravioletten Strahlen nach der Gleichung:



war bei diesen Experimenten sehr unerheblich; dagegen erfährt nach den Ansichten der obgenannten Autoren die Ameisensäure durch die Wirkung des Lichtes tief eingreifende Veränderungen. Außer Kohlendioxyd und Kohlenoxyd enthielt das hierbei resultierende Gasgemisch noch Methan, Wasserstoff und Stickstoff. Bei diesen Versuchen hinterließ beim Verdampfen die belichtete Säure einen hellgelben, hygroskopischen, sauer reagierenden, bitter schmeckenden Niederschlag, der in Wasser zum größten Teile löslich, in sehr verdünntem Alkohol vollständig löslich ist. Es entstehen also aus der Ameisensäure durch die Wirkung des Lichtes offenbar hochkomplizierte Körper, eine Tatsache, die für die lebende Pflanze von Bedeutung ist. Thiele und Wolf bemerkten bei dem Verhalten von Ammoniumoxalat eine Ähnlichkeit mit dem der Ameisensäure; das entwickelte Gas bestand zum großen Teil aus Kohlendioxyd.

Während der Zeit, als wir unsere Experimente bezüglich des Einflusses der ultravioletten Strahlen auf die Synthese der Kohlenhydrate ausführten, publizierten Daniel Berthelot und Henri Gaudechon¹ eine Reihe von Arbeiten über die chemischen Wirkungen der ultravioletten Strahlen auf gasförmige Körper. In der Sitzung der Akademie der Wissenschaften in Paris am 20. Juni 1910 legten diese Autoren eine Arbeit vor, in welcher sie den Nachweis erbrachten, daß ein Gemisch aus 1.95 cm^3 CO und 0.63 cm^3 O₂ nach elfstündiger Bestrahlung mit einer Quecksilberlampe von Heraeus von 110 Volt,

¹ Daniel Berthelot und Henri Gaudechon, Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences, Tome 150, p. 1169, 1327, 1517 et 1690. Paris, 1910.

2·5 Ampère und 1 *cm* Abstand 0·48 *cm*³ CO₂ ergibt; CO₂ allein zeigte bei der Bestrahlung eine scharfe Zersetzung in CO und O₂; ein Gemisch von 1·44 *cm*³ CO₂ + 2·19 *cm*³ H₂ ergab nach 11½-stündiger Bestrahlung 1·30 CO₂ + 2·05 H₂ + 0·05 CO neben einigen Tröpfchen Wasser und festem Formaldehyd; bei längerer Bestrahlung (26 Stunden) entstand mehr Wasser und mehr Formaldehyd. Bei genügend langer Einwirkung der ultravioletten Strahlen, z. B. 13½ Stunden, vereinigten sich freier Sauerstoff und freier Wasserstoff zu Wasser. Umgekehrt wird Wasserdampf in seine Komponenten zersetzt; erfolgt die Zersetzung in Gegenwart von Kohlenoxyd, so läßt sie sich an der Bildung von Formaldehyd nachweisen, ist dagegen Phosphor zugegen, so wird der entstehende Sauerstoff absorbiert und Wasserstoff allein bleibt übrig. Kohlenoxyd und Wasserstoff vereinigten sich unter dem Einfluß des ultravioletten Lichtes zu Formaldehyd. Bei diesen Experimenten wirkten die höchst intensiven Quellen ultravioletten Lichtes auf die sorgfältig getrockneten Gase, die in Quarzröhren von etwa 0·6 *mm* Wanddicke unter einem Drucke von nahezu 75 *cm* eingeschlossen waren.

Nun schreiten wir zu unseren eigenen Versuchen.

Experimenteller Teil.

Wir benutzten zu unseren Experimenten eine Quecksilberquarzlampe von der Allgemeinen Elektrizitäts-Gesellschaft in horizontaler Lage, welche einen großen Teil ihrer Strahlen nach unten, unter sich, aussendet. Diese Lampe hat 110 Volt und 4 Ampère.

Unsere Versuche wurden in einer ganz vernickelten Schale aus Kupferblech ausgeführt (siehe Abbildung in Taf. I), welche oben mit einer reinen durchsichtigen Quarzplatte oder mit einer 0·15 *mm* starken, durchsichtigen Glimmerplatte geschlossen war, denn bekanntlich läßt Glimmer 60% ultravioletter Strahlen in der Länge von 350 bis 240 μ durch, während Glas z. B. nur etwa 5% durchläßt. Zwischen der Platte und dem Rande der Schale befand sich eine Dichtungsscheibe aus weichem Blei, den Rändern der Schale entsprechend zugeschliffen. Die 6 *mm* dicke Quarzplatte samt der Dichtungsscheibe war

an den Rändern der Schale mit Messingklammern fest zusammengezogen. Andere Dichtungen konnten nicht benutzt werden, da wir organisches Material vollständig vermeiden wollten.

Diese Schale verwendeten wir aus dem Grunde, um sie mit einer großen Menge Gase in Berührung bringen zu können. In die Schale mündeten drei Röhren: Eine schlangenförmige, mit Kapillaröffnungen versehene, durch welche Kohlendioxyd aus der Bombe zugeführt wurde. Die zweite, welche zirka 1 *cm* über dem Schalenboden endete, diente zum Zutropfen von Lauge bei den Versuchen III, IV, V und VI und zur Zuleitung von Wasserdampf beim Versuch II. Die dritte Röhre endete einen halben Zentimeter vom oberen Rande und diente zur Ableitung der überschüssigen und eventuell entstehenden Gase. Die etwa mitgerissene Flüssigkeit wurde in einem angeschlossenen Kühler aufgefangen und tropfte in die Schale zurück. Das Kohlendioxyd wurde zuerst in einer Kaliumpermanganatlösung (mit Schwefelsäure angesäuert), dann in ammon-alkalischer Silberlösung und zuletzt in konzentrierter Schwefelsäure gewaschen und unter sehr kleinem Druck (zirka $\frac{1}{20}$ Atmosphäre) in der Weise abgelassen, daß in einer Sekunde zwei bis vier Gasbläschen durch die Gaswaschflaschen gingen. Die ganze Schale war mit ihren Röhren auf dem Metallmantel der Lampe aufgehängt und von einer gläsernen Schutzkugel umschlossen; selbstredend waren die Röhren durch die Öffnungen in dem Metallmantel hindurchgeführt, was am besten aus der Abbildung in der beigefügten Taf. I ersichtlich ist.

Zur qualitativen Bestimmung des etwa während der Versuche entstehenden Formaldehyds benutzten wir zwei Gaswaschflaschen mit Feder'scher Quecksilberlösung, aus welcher durch Formaldehyd metallisches graues Quecksilber bereits bei einer Verdünnung von 0.5 *mg* CH_2O auf 100 *cm*³ ausgeschieden wird. Dieses Reagens verwendeten wir aus dem Grunde, weil es sehr empfindlich ist und die Reaktion auch in der Kälte ziemlich rasch verläuft.¹

¹ Feder stellte ein Reagens auf Aldehyde, besonders Formaldehyd in folgender Weise dar: 20 *g* Quecksilberchlorid werden in 1 *l* Wasser aufgelöst.

Zur Formaldehydfeststellung benutzen wir auch noch das neue spezifische Formaldehydreagens von Viktor Grafe.¹ Dieses Reagens besteht in einer einprozentigen Auflösung von Diphenylamin in konzentrierter Schwefelsäure. Läßt man zu einer schwach formolhaltigen wässerigen Lösung etwa 1 cm^3 des Reagens vorsichtig an der Eprovettenwand herabfließen, so bildet sich zunächst ein weißer Niederschlag (ausfallendes Diphenylamin), sofort erscheint aber auch an der Berührungsstelle des Niederschlages und des Reagens ein smaragdgrüner Ring. Beim Schütteln der Eprovette und eventuellem Hinzufügen kleiner Mengen des Reagens färbt sich der ganze Niederschlag tiefgrün infolge Bildung eines grünen Kondensationsproduktes des Formaldehyds und Diphenylamins. Die Reaktion war un-
gemein empfindlich.

Den zur Durchführung der Reaktion $2CO_2 + 2H_2$ in den Versuchen III, IV, V erforderlichen Wasserstoff entwickelten wir durch Zutropfen einer siebenprozentigen, von organischen Stoffen freien Kaliumhydroxydlösung in die Reaktionsschale, auf deren Boden eine pulverige, stark geglühte (bei zirka 250°) Devarda'sche Legierung (die Legierung enthielt 59% Aluminium, 39% Kupfer und 2% Zink) sich befand. Gleichzeitig wurde durch Parallelversuche Folgendes ermittelt:

1. Ob der sich aus siebenprozentigem Kaliumhydroxyd und der Devarda'schen Legierung entwickelnde Wasserstoff Feder'sches Reagens reduziert, wenn er durch die Lösung durchgeleitet wird. In diesem Falle stellten wir fest, daß bei langem Durchstreichen von Wasserstoff nur Spuren von Quecksilber aus dem Feder'schen Reagens ausgeschieden wurden, während die bei den Versuchen II, III, IV eingetretene Reaktion

ferner werden 100 g Natriumsulfit und 80 g Ätznatron ebenfalls in 1 l Wasser gelöst. Beim Gebrauch werden gleiche Volumina beider Lösungen gemischt, und zwar wird die alkalische Sulfitlösung unter Umschwenken schnell zu der Quecksilberlösung hinzugefügt. Es resultiert eine völlig klare Lösung, in der die Gegenwart von ganz geringen Mengen Formaldehyd augenblicklich eine Abscheidung von metallischem Quecksilber hervorruft. Feder, Arch. d. Pharm. 245, 25, 1907; Die Methoden der organischen Chemie von Th. Weyl (Schmidt, Aldehyd- und Ketongruppe), II. Bd., 4. Lieferung. Verlag von Georg Thieme, Leipzig 1909.

¹ Viktor Grafe, Österreichische botanische Zeitschrift, Jahrg. 1906, Nr. 8.

in der gleichen Zeit eine starke war, was somit auf Rechnung des entweichenden Formaldehyds zu setzen ist.

2. Weiters wurde untersucht, ob die Lösung, in welcher sich die Devarda'sche Legierung und der Wasserstoff entwickelt haben, organische Substanzen enthält. Diese Lösung filtrierten wir durch Asbest, neutralisierten mit Schwefelsäure und führten die Reaktion auf organische Substanzen mit Permanganat durch. In der Lösung waren nur Spuren von organischen Substanzen vorhanden.

Nach der kurzen Schilderung unserer Versuchsmethodik gehen wir zur Beschreibung der einzelnen Experimente über.

I. Versuch.

Baeyer hat bekanntlich im Jahre 1870 die Hypothese ausgesprochen, daß Formaldehyd das erste Assimilationsprodukt in den Pflanzen bildet und daß Zucker hieraus durch eine Serie von Kondensationen entsteht.

Dieser und der folgende von uns angestellte Versuch betraf die Feststellung der Richtigkeit der Bayer'schen Gleichung $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 = \text{HCOH} + \text{O}_2$. Die Reaktionsschale wurde derart mit destilliertem Wasser gefüllt, daß dessen Spiegel 1 *cm* unter der Ableitungsöffnung sich befand. Ein schlangenförmiges Bleirohr zur Zuleitung von Kohlendioxyd wurde bis an den Boden der Schale eingetaucht, so daß das Kohlendioxyd durch das Wasser blasen mußte. Die Dauer des Versuches bei ununterbrochener Bestrahlung betrug 70 Stunden.

Während des Versuches erfolgte keine Quecksilberausscheidung aus der Feder'schen Lösung. Nach Beendigung des Versuches wurde die Schale herausgenommen und mit der Flüssigkeit folgende Reaktionen ausgeführt:

1. Wurde auf das Vorhandensein der organischen Substanzen geprüft. Letztere waren überhaupt nicht nachweisbar.
2. Mit fuchsinschwefliger Säure wurde keine Reaktion auf Aldehyde konstatiert.
3. Mit ammonalkalischer Silberlösung wurde keine Reduktion beobachtet.

Durch diese Reaktionen wurde nachgewiesen, daß sich kein Formaldehyd gebildet hat und daß

in der Lösung keine organischen Substanzen zugegen waren.

II. Versuch.

Der II. Versuch wurde in der Weise ausgeführt, daß auf den Boden der Schale 20 cm^3 siebenprozentige Kaliumhydroxydlösung gegeben wurden. Durch ein 3 cm über den Boden reichendes Schlangenrohr wurde Kohlendioxyd zugeführt. Durch ein zweites, beim Boden mündendes Rohr wurde Wasserdampf eingelassen. Der Abstand des Glimmers vom Brenner betrug 4 cm , die Dauer des Versuches 15 $\frac{1}{2}$ Stunden.

Resultate:

1. Aus der Feder'schen Lösung wurde im Laufe des Versuches Quecksilber in merklicher Menge ausgeschieden, es waren somit Spuren eines gasförmigen reduzierenden Stoffes entstanden, offenbar Formaldehyd.

2. Von organischen Substanzen waren nur Spuren konstatierbar.

3. Mit ammonalkalischer Silberlösung war keine Reduktion.

4. Mit fuchsinschwefliger Säure keine Färbung. Bei Vorhandensein von Aldehyd wird bekanntlich intensiv rot bis violett gefärbt.

5. Die bekannte α = Naphtolreaktion nach Molisch lieferte ein negatives Resultat.

Aus dem Angeführten kann geschlossen werden, daß unter diesen Bedingungen zwar kleine Mengen von Formaldehyd auftreten, daß aber nicht im mindesten eine Kondensation des Formaldehyds zu Kohlenhydrat bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd stattgefunden hat, obgleich die Bedingungen für die Entstehung des Kohlenhydrates, nämlich die Dauer der Bestrahlung etc., die gleichen waren wie bei den folgenden Versuchen. Die von Daniel Berthelot und Henri Gaudchon beobachtete, sich bei der Einwirkung von ultravioletten Strahlen auf Wasserdampf und Kohlensäureanhydrid gebildete merkliche Menge von Formaldehyd haben wir bei unseren Experimenten nicht gefunden.

III. Versuch.

Bei dieser Versuchsreihe handelte es sich um Bestätigung der Gleichung $2\text{CO}_2 + 2\text{H}_2 = 2\text{HCOH} + \text{O}_2$.

Diese Versuche wurden wie folgt ausgeführt:

Auf den Boden der Schale wurden 110 g Devarda'sche Legierung gegeben und siebenprozentige Kaliumhydroxydlösung kontinuierlich aus einem Tropftrichter mit Kapillarröhrchen zutropfen gelassen. Kohlendioxyd wurde durch ein 3 cm über den Boden der Schale reichendes Spiralrohr zugeführt. Die Bestrahlungsdauer betrug 48 Stunden, der Abstand 3 cm. Kohlendioxyd wurde durch 32 Stunden eingeführt, Wasserstoff durch 48 Stunden entwickelt. Während des Versuches bildete sich in der Feder'schen Lösung ein beträchtlicher Niederschlag metallisch grauen Quecksilbers. Nach Beendigung des Versuches wurde das in der Versuchsschale befindliche Reaktionsgemisch im siedenden Wasserbad mit einem kleinen Quantum reinen destillierten Wassers drei Stunden hindurch gründlich ausgewaschen. Hierauf wurde über reinen Asbest abfiltriert, mit verdünnter Salzsäure neutralisiert und folgende Reaktionen ausgeführt:

1. Eine große Menge organischer Substanzen wurde mittels Kaliumpermanganats und durch die Verbrennung mit Sicherheit nachgewiesen.

2. Ammonalkalische Silberlösung wurde schon in der Kälte schwarz gefärbt; durch Kochen setzte sich das Silber als Spiegel an das Glas.

3. Durch Kochen mit Fehling'scher Lösung entstand Cu_2O .

4. Die untersuchte Lösung zeigte sich optisch-inaktiv.

Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß durch Photosynthese die Bildung von Formaldehyd stattgefunden hat und aus dem gebildeten Formaldehyd durch Kondensation ein unbekanntes Kohlenhydrat entstanden ist.

IV. Versuch.

Auf Grund der vorstehenden Befunde schritten wir zur Wiederholung des vorerwähnten Versuches, was unter den

sorgfältigsten Bedingungen geschah. Die Dauer des Versuches nahm 46 Stunden in Anspruch. Der Abstand betrug 4 *cm*, das Gewicht der benutzten Devarda'schen Legierung 140 *g*. Während des Versuches trat abermals eine starke Reduktion des Feder'schen Reagens ein.

Das Reaktionsgemisch wurde mit Wasser in eine Porzellanschale abgespült, die Stückchen der Legierung mit einem Schlägel zerrieben und zwei Stunden am Wasserbad unter fortwährendem Rühren bei einer kleinen Flamme (Temperatur 90° C) ausgekocht, wobei ein deutliches Brausen wahrzunehmen war. Sodann wurde über Asbest filtriert, quantitativ ausgewaschen, mit verdünnter Chlorwasserstoffsäure bis zur neutralen Reaktion neutralisiert, am Wasserbad (90° C) eingedampft und nach Abfiltrieren auf 250 *cm*³ aufgefüllt. Bei der Konzentration wurde die ursprünglich farblose Flüssigkeit gelb und schied eine braune gallertartige Substanz aus, wobei sich ein schwacher Karamelgeruch bemerkbar machte. Die erwähnte Versuchsflüssigkeit besaß eine Dichte von 1·01315, welche letztere pyknometrisch bei 17¹/₂° C bestimmt wurde. Die Flüssigkeit war von gelblichgrüner Farbe.

Mit der Lösung wurden folgende qualitative Reaktionen ausgeführt:

1. Zuerst wurde in der Lösung die Trockensubstanz bestimmt. Auf einer Platinschale wurden 20 *cm*³ Lösung langsam abgedampft, dann im Vakuumtrockenapparat bei 80° C getrocknet, gewogen und hierauf langsam verascht. Die Asche bestand bloß aus Kaliumchlorid. Es wurden pro 250 *cm*³ der Lösung 2·5625 *g* organischer Substanz gefunden.

2. Von den organischen Substanzen war mittels Kaliumpermanganats und durch die Verbrennung eine große Menge konstatierbar.

3. Ammon-alkalische Silberlösung wurde schon in der Kälte schwarz gefärbt; durch Kochen setzte sich das Silber als Spiegel an das Glas.

4. Bei der Nylander'schen Probe mit alkalischer Wismutlösung (von Almèn und Nylander modifizierte Böttger'sche Probe) wurde nach einem zwei Minuten lang währenden Sud Wismut ausgeschieden.

5. Durch Erhitzen mit konzentrierter H_2SO_4 Bräunung.

6. Durch Kochen mit konzentrierter Chlorwasserstoffsäure rotgelbe Färbung.

7. Die Lösung wurde auf einer Platinplatte bis zur Trockenheit abgedampft. Zuerst bräunte sich die Flüssigkeit fortwährend; beim Abdampfen gab sie einen intensiven Karamelgeruch von sich, durch weiteres Brennen schied in reichlicher Menge Kohlenstoff aus, welcher eingeäschert wurde. Die in Wasser gelöste Asche ergab mit Silbernitrat eine Reaktion auf Chlor.

8. Mit der alkoholischen Lösung mit α -Naphtol bildete sich beim Einlaufen von konzentrierter, reiner, von Salpetersäure ganz freier Schwefelsäure eine violette Zone.

9. Bei Verwendung von Thymol eine intensiv gefärbte rote Zone.

10. Mit Resorcin und konzentrierter Salzsäure eine intensiv rote (kirschrote) Färbung, nach einer Weile ein brauner Niederschlag.

11. Die untersuchte Lösung war optisch-inaktiv.

12. Hierauf wurde die Reduktion mit Fehling'scher Lösung vorgenommen und das reduzierte Kupfer quantitativ bestimmt. Dazu wurde die bekannte Methode von Allihn in Anwendung gebracht. Das ausgeschiedene Kupferoxyd, das mittels einer Asbestschicht im Gooch'schen Platintiegel aufgefangen wird, ist nach erfolgtem Auswaschen reduziert und als metallisches Kupfer gewogen worden. Das Gewicht des aus 10 cm^3 Lösung reduzierten Kupfers betrug 0.1190 g . Umgerechnet auf 250 cm^3 oder auf die gesamte entstandene organische Substanz beträgt dies 2.975 g Kupfer.

13. In der Lösung wurde auch der Kohlenstoff nach Messinger bestimmt. Wir fanden, daß in 2.5625 g Substanz 0.988 g Kohlenstoff vorhanden sind. In Prozenten ausgedrückt ergibt dies 38.55 .

14. Um uns zu orientieren, ob aus der Lösung Krystalle zur Ausscheidung gelangen, haben wir die Lösung im Vakuum bei 55° C . bis auf ein kleines Volum abgedampft und stehen gelassen. Krystalle wurden nicht ausgeschieden. Dann wurde die Lösung nochmals abgedampft und mit Äthylalkohol

behandelt. Aus den alkoholischen Lösungen wurden ebenfalls keine Krystalle ausgeschieden.

15. Phenylhydrazinreaktionen.

Die Lösung wurde mit essigsauerm Phenylhydrazin versetzt, drei Stunden unter gelegentlichem Umrühren im kochenden Wasserbad erhitzt. Es entstanden bräunlich-gelbe Sedimente.

Diese Sedimente wurden in destilliertem Wasser ausgekocht, dann mit destilliertem Wasser ausgewaschen und auf einer Tonplatte getrocknet. Diese Substanz war in Wasser unlöslich, in Alkohol sehr leicht löslich, in Äther und Benzol etwas löslich. Die alkoholische Lösung wurde langsam abgedampft und wir erhielten Phenyllosazone, welche unter dem Mikroskop kleine krystallinische Nadeln von gelbbrauner Farbe zeigten. Die Phenyllosazone wiesen einen Schmelzpunkt von 188 bis 192° C. auf. Diese Osazone kochten wir in Benzol aus. Ein Teil davon löste sich, ein größerer Teil blieb jedoch ungelöst. Diese unlösliche Substanz wurde ausgewaschen und nochmals in Alkohol gelöst. Die Lösung wurde bis zur Krystallisation abgedampft. Osazone wurden ausgeschieden, welche unter dem Mikroskop eine Reihe schöner, gelber, krystallinischer Nadeln in der Größe von 150 bis 900 μ (siehe Abbildungen in Taf. II) zeigten. Diese Phenyllosazone schmelzen bei 196 bis 200° C.

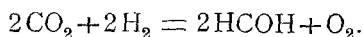
16. Gärversuch mit *Saccharomyces cerevisiae*.

Von großem Interesse war natürlich die Frage, ob der von uns synthetisch gewonnene Zucker ein Gärvermögen besitzt. Ich habe mit meinem Mitarbeiter Franz Černý, Adjunkt der gärungsphysiologischen Abteilung unserer Versuchsstation, Gärversuche mit unserem fraglichen Kohlenhydrat vorgenommen, aber gefunden, daß der synthetisch gewonnene Zucker bei Gegenwart von Pepton und aller mineralischen Nährstoffe nicht gärungsfähig ist. Die Menge des gebildeten Kohlendioxyds war fast dieselbe wie bei den blinden Versuchen.

Um uns zu überzeugen, ob der durch die photochemische Synthese produzierte Zucker durch die Schimmelpilze und

Bakterien zersetzt werden kann, werden wir noch eingehende Untersuchungen vornehmen.

Aus unseren Versuchen geht deutlich hervor, daß unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kohlendioxyd und Wasserstoff, welcher letzterer in statu nascendi vorhanden ist, eine Photosynthese nach folgender Gleichung vor sich ging:



Bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd kondensierte sich der gebildete Formaldehyd zu Zucker oder zu mehreren Zuckerarten.

V. Versuch.

Dieser Versuch war ein blinder Versuch, d. h., es wurde Kohlendioxyd durchstreichen gelassen, Wasserstoff entwickelt, aber nicht mit der Quecksilberlampe belichtet.

Behufs Erzielung gleicher Temperaturbedingungen wurde die Schale von unten vorsichtig mit einer mäßigen Flamme erhitzt. Der Versuch dauerte 34 Stunden; das Gewicht der verwendeten Devarda'schen Legierung betrug 102 g.

Während des Versuches schied aus der Federer'schen Lösung kein Quecksilber aus. Nach Beendigung des Versuches wurden die gleichen Prozeduren wie bei Versuch III und IV vorgenommen und folgende Reaktionen ausgeführt:

1. Organische Substanzen wurden überhaupt nicht nachgewiesen.
2. Mit ammon-alkalischer Silberlösung keine Reduktion.
3. Mit Fehling'scher Lösung keine Reduktion.
4. Mit α -Naphтол keine Färbung.

Somit bildeten sich, wie ersichtlich, nicht einmal Spuren von Formaldehyd und auch kein Kohlenhydrat.

VI. Versuch.

Von großer Bedeutung ist die Frage, ob der Wasserstoff, welcher nicht im statu nascendi entsteht, dieselbe Energie

besitzt, das Kohlendioxyd zu zersetzen und Formaldehyd zu bilden wie der Wasserstoff im statu nascendi. Diesen Versuch leiteten wir genau so ein wie die früheren. Der Wasserstoff wurde aus einer Bombe ausströmen gelassen und sorgfältig gereinigt. Wir reinigten und trockneten das Wasserstoffgas durch eine Batterie von drei Gaswaschflaschen, deren erste mit gesättigter wässriger Kaliumpermanganatlösung beschickt ist, während die zweite Kalilauge, die dritte reine Schwefelsäure enthält. Dieser Versuch dauerte 32 Stunden. Während des Versuches schied aus der Federer'schen Lösung kein Quecksilber aus. Nach Versuchsschluß wurden zur Untersuchung der Versuchsflüssigkeit dieselben Methoden angewandt, wie sie bei den früheren Versuchen genau angeführt wurden. In der Lösung konnten wir kein Formaldehyd und Kohlenhydrat nachweisen. Diese Beobachtungen stimmen mit denen von Berthelot und Gaudechon nicht überein.

Wir können uns heute über den chemischen Charakter des Zuckers, welcher durch die photochemische Synthese entstanden ist, noch nicht mit Bestimmtheit äußern, da wir diese Versuche noch einigemal wiederholen müssen, um genaue, verlässliche Daten zu erhalten. Es fehlt bisher die Reindarstellung und Trennung der Zuckerarten sowie die Bestimmung ihrer Konstitution. Es läßt sich aber wohl annehmen, daß durch die photochemische Synthese labile Formen der Zuckerarten entstehen, und es ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß wir schon nach Beendigung der Versuche die durch die Metamorphose der labilen Zuckerarten entstandenen Zersetzungsprodukte untersuchten. Heute können wir nur so viel mit Sicherheit behaupten, daß bei dem durch die photochemische Synthese entstandenen Zucker (Zuckerarten) alle asymmetrischen Bedingungen fehlen.

Der gefundene Schmelzpunkt unserer Osazone zeigt, daß Formose und β -Formose sowie β -Acrose in unserer Lösung nicht vorhanden waren. Formose-Phenyllosazone schmelzen nach Loew bei 122° , nach Fischer bei 133° . β -Formose-

Phenylosazone schmelzen bei 123°, nach den späteren Angaben sogar bei 148°. Das β -Acrosazon $C_{18}H_{22}N_4O_4$ schmilzt bei 158 bis 159°.

Die erste Gruppe unserer Phenylosazone zeigt, wie bereits erwähnt, einen Schmelzpunkt von 188 bis 192°, die zweite Gruppe einen solchen von 196 bis 200°.

Gemäß den Versuchsergebnissen Fischer's,¹ Loew's,² Neuberg's,³ Euler's,⁴ sowie Walter Löb's und Georg Pulvermacher's⁵ entstehen bei der Zuckersynthese aus Formaldehyd immer Pentosen. Wir konnten aber das Auftreten von Pentosenreaktionen nicht beobachten. Eine charakteristische Pentosenreaktion wurde niemals konstatiert.

Walter Löb und Georg Pulvermacher haben in der letzten Zeit über die Zuckersynthese aus Formaldehyd Versuche angestellt und die Kondensation des Formaldehyds unter der Einwirkung von Bleihydroxyd ausgeführt. Derartige Versuche sind bekanntlich schon früher von Lobry de Bruyn und van Eckenstein⁶ vorgenommen worden.

Löb und Pulvermacher erhielten einen Trockensirup, welcher vergärbaren Zucker enthalten hat. Der von uns durch die photochemische Synthese erzeugte Zucker ist jedoch nicht vergärbar.

Die Bestrahlung mit ultraviolettem Licht bedingt eine Zufuhr von chemischer Energie. Durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kohlendioxyd und Wasserstoff, welch letzterer in statu nascendi vorhanden ist, wird als erste Phase der Zuckersynthese Formaldehyd gebildet. Dies scheint

¹ Fischer, Ber. d. chem. Gesellschaft, 1888, Bd. 21, p. 988; 1889, Bd. 22, p. 359.

² Loew, Ber. d. chem. Gesellschaft, 1888, Bd. 21, p. 271; 1889, Bd. 22, p. 478.

³ Neuberg, Ber. d. chem. Gesellschaft, 1902, Bd. 35, p. 2632.

⁴ Euler, Ber. d. chem. Gesellschaft, 1906, Bd. 39, p. 45.

⁵ Walter Löb und Georg Pulvermacher, Biochem. Zeitschrift, Bd. 26, 3. und 4. Heft, p. 231, 1910.

⁶ Lobry de Bruyn und van Eckenstein, Recueil des travaux chimiques des Pays Bas, 18, 309.

nach unseren Berechnungen ein exothermischer Prozeß zu sein.¹ Aus dem Formaldehyd entsteht bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd durch Kondensation Zucker, dessen Konstitution wir aber jetzt noch nicht näher charakterisieren können, und dies wird uns vielleicht erst bei weiteren Versuchen möglich sein.

Bei den autotrophen Pflanzen ist der erste Prozeß der Kohlendioxydreduktion Aufbau und Assimilation, der zweite ist gerade im Gegenteil Abbau, Dissimilation, und man darf wohl vermuten, daß diese beiden Prozesse in kausalem Konnex stehen. Nach dem jetzigen Stande der Forschungen läßt sich mit vollem Rechte voraussetzen, daß in der chlorophyllhaltigen Pflanzenzelle als erstes Reduktionsprodukt des Kohlendioxyds Formaldehyd gebildet wird. Es besteht eine große chemische Wahrscheinlichkeit für die Formaldehydhypothese, da sich kein anderer Stoff mit einem Kohlenstoffatom im Molekül so zur Bildung hochzusammengesetzter organischer Verbindungen eignet wie der Formaldehyd.

Wie wir schon in der Einleitung unserer vorliegenden Abhandlung erwähnt haben, entsteht der Wasserstoff tatsächlich in der Pflanzenzelle bei dem durch die glukolytischen Enzyme hervorgerufenen Atmungsprozeß. Die Aufgabe des Chlorophylls bei dem Assimilationsprozeß besteht in der Absorption der ultravioletten Strahlen. Das Chlorophyll müssen wir als einen Sensibilisator der Strahlenenergie in der Pflanzenzelle ansehen. In der chlorophyllhaltigen Pflanzenzelle entsteht Formaldehyd nicht nur durch die Reduktion des Kohlendioxyds mittels Wasserstoffes, welcher unter Einwirkung der Atmungsenzyme gebildet wird, sondern Formaldehyd bildet sich auch aus Wasser und Kohlendioxyd. Diese beiden Prozesse verlaufen natürlich parallel nebeneinander unter dem Einfluß der ultravioletten Strahlen. Wir können heute mit ruhigem Gewissen annehmen, daß Formaldehyd in der chlorophyllhaltigen Pflanzenzelle vorhanden ist

¹ Ob dies ein endothermischer oder ein exothermischer Prozeß ist, werden unsere weiteren Experimente beweisen.

und von derselben auch assimiliert wird. Diesbezügliche mühsame Untersuchungen hat zuerst G. de Pollacci¹ vorgenommen.

Czapek² unterzog Pollacci's Arbeiten einer Kritik und wies darauf hin, daß die meisten dieser Reaktionen, welche Pollacci anwendete, allgemeine Aldehydreaktionen sind, d. h. auch von anderen Aldehyden außer Formaldehyd gegeben werden.

In neuester Zeit ist es Viktor Grafe³ gelungen, durch ein rein spezifisches Formaldehydreagens Spuren von Formaldehyd in den assimilierenden Blättern nachzuweisen.

Wir können die Befunde Grafe's nur bestätigen, nachdem wir ebenfalls in der Lage waren, in dem Destillat aus den Blättern Formaldehyd festzustellen. Die bezüglichen Versuche hat in unserem Laboratorium E. Senft ausgeführt.

Weitere Beiträge zum Nachweis des Formaldehyds in Pflanzen publizierte L. Gentil.⁴ Die Feststellung des durch die Destillation im Vorlauf angereicherten Formaldehyds erfolgte auf fünffache Weise:

1. nach Farnsteiner mit schwefliger Säure und Eisenchlorür;
2. nach Tollens mit ammoniakalischer Silberlösung;
3. nach Lebbin mittels einer alkalischen Resorcinlösung;
4. mit Dimethylanilin und
5. mit Anilin.

Aus den Ergebnissen Gentil's können wir folgende Schlüsse ziehen:

»1. Es konnte Formaldehyd in den Blättern und Wurzeln der Rübe während deren ganzen Vegetationszeit nachgewiesen werden.

2. Die Menge des freien Formaldehyds ist gering, aber bestimmbar.

¹ Pollacci, Atti Acad. dei Lincei, 1907.

² Czapek, Bot. Zeitg., Nr. 10, 1900, p. 153.

³ Viktor Grafe, Über ein neues spezifisches Formaldehydreagens. Österr. botan. Zeitschr., Jahrg. 1906, Nr. 8.

⁴ L. Gentil, Beiträge zum Nachweis des Formaldehyds in Pflanzen (Rüben). Bull. des Chim. de Sucr. et Dist., 27 (1909 bis 1910), 169 bis 179.

3. Während des Verlaufes der Vegetation ist die Menge des Formaldehyds in den Blättern größer als in der Wurzel. Dies ist erklärlich, da die Blattorgane die Formaldehydbildner sind.

4. Die Menge des Formaldehyds in den frischen Blättern scheint pro Kilogramm regelmäßig 0·0056, 0·0051, 0·0052, 0·0053 g zu betragen, während in den Wurzeln große Schwankungen im Formaldehydgehalt gefunden wurden, 0·0036, 0·0050, 0·00428, 0·005, 0·004 g.

5. Sobald die Blätter vergilben, beobachtet man nur zu vernachlässigende Spuren von Formaldehyd.«

S. B. Schryver¹ hat Formaldehyd in den chlorophyllhaltigen Organen nachgewiesen, wie dies auch schon früher bei Usher, Priestley, R. J. Harvey, Gibson und A. W. Titherley der Fall war.

In den jüngsten Arbeiten von Viktor Grafe und Emmy Vieser² sowie Viktor Grafe und Leopold R. v. Portheim³ wird der Nachweis erbracht, daß Formaldehyd von der grünen Pflanze assimiliert werden kann und daß das Wachstum der *Phaseolus*-Blätter durch Formaldehyd gefördert wird.

Weitere Mitteilungen über Kohlensäureassimilation und Ernährung von Pflanzen mit Formaldehyd hat Th. Bokorny⁴ geliefert. Dieser Forscher hat schon in seinen früheren darauf bezughabenden Arbeiten gezeigt und durch seine jetzigen Untersuchungen zweifellos nachgewiesen, daß Formaldehyd zur Assimilation und Stärkebildung verwendet werden kann.

Bemerkenswert ist noch, daß sich die grünen Pflanzenteile gegenüber dem Formaldehyd sehr widerstandsfähig erwiesen, während bekanntlich Formaldehyd Pilze und Bakterien

¹ S. B. Schryver: The Photochemical Formation of Formaldehyde in Green Plants. Proceedings of the royal society, B. Vol. 82.

² Viktor Grafe und Emmy Vieser, Untersuchungen über das Verhalten grüner Pflanzen zu gasförmigem Formaldehyd, Ber. d. deutsch. Bot. Ges., Jahrg. 1909, Bd. XXVII, Heft 7.

³ Viktor Grafe und Leopold R. v. Portheim, Orientierende Untersuchungen über die Einwirkung von gasförmigem Formaldehyd auf die grüne Pflanze. Österr. botan. Zeitschrift, 1909, Jahrg. 59, p. 19 bis 25, 66 bis 74.

⁴ Th. Bokorny, Archiv für Physiologie, Bd. 128, 1909, p. 565.

schnell abtötet. Eine hochinteressante Ergänzung zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit ist, daß K. Grube¹ unter E. Pflüger's Anleitung gezeigt hat, daß Schildkrötenleber in sehr verdünnter Formaldehydlösung Glykogen bildet.

Durch unsere weiteren physiologischen Untersuchungen sind wir zu dem Resultate gelangt, daß die ultravioletten Strahlen nicht nur auf die Bildung, sondern auch auf die Metamorphose des Chlorophylls bei den autotrophen Pflanzen einen großen Einfluß ausüben. Diese Experimente wurden von der Keimung angefangen bis zur Blüte und Fruchtansatz an autotrophen Pflanzen in normalem und etioliertem Zustande vorgenommen. Die Ergebnisse der diesbezüglichen Versuche werden wir in einer speziellen Abhandlung ausführlich publizieren.

¹ K. Grube, Pflüger's Archiv, Bd. 121, p. 636. Ibid., Bd. 126, p. 585.

