

# HET ABSORPTIESPECTRUM VAN CHLOROPHYL

TUSSCHEN DE GOLFLENGTTEN 3,55 EN 0,25 MICRON

DOOR

PROF. DR. D. VAN GULIK.



H. VEENMAN & ZONEN — WAGENINGEN

2050442

## Het Absorptiespectrum van Chlorophyl, tusschen de golflengten 3,55 en 0,25 micron door Prof. Dr. D. van Gulik.

Geruimen tijd geleden heb ik in *Annalen der Physik* <sup>1)</sup> de uitkomsten vermeld van een onderzoek over het absorptiespectrum van chlorophyl, voornamelijk in het ultra-roode deel van het spectrum, nadat tevoren in hetzelfde tijdschrift <sup>2)</sup> een artikel van mijn hand was verschenen over de juiste plaats in het spectrum van den bekenden, zwaren absorptieband in het rood.

Het laatst genoemde onderzoek betrof een vermeende tegenspraak tusschen het resultaat van een bolometrisch onderzoek van DONATH, met hetgeen omtrent de ligging van den absorptieband in rood visueel was waargenomen en ook fotografisch vastgelegd.

Bij het in de eerste plaats genoemde onderzoek van het ultrarode absorptie-spectrum werd de D-lijn van natrium als uitgangspunt genomen en de meting der absorptie zoover voortgezet als het doorlatend vermogen van het kwartsprisma dit toeliet, d.w.z. tot een golflengte van omstreeks 3,6 micron. De optiek van het instrumentarium bestond, behalve het kwartsprisma, uit verzilverde holle en vlakke spiegels, terwijl de stralen werden opgevangen in een lineaire thermozuil. Het gebruikte zuivere chlorophyl was verkregen door bemiddeling van WILLSTÄTTER en wel de beide componenten *a* en *b* afzonderlijk, het oplossingsmiddel was zwavelkoolstof.

Het resultaat is voorgesteld in figuur 1, waarin de lijn I de z.g. absorptieconstante voorstelt voor de *a*-component en lijn II die van de *b*-component, bij een oplossingssterkte van  $\frac{1}{4}$  pro mille. Onder absorptieconstante (*A*) verstaat men de reciproke waarde van zoodanige dikte der absorbeerende laag, die de intensiteit der invallende straling tot een tiende van haar oorspronkelijke bedrag zou verminderen. In formule wordt zijne waarde uitgedrukt door:

$$A = -\frac{1}{d} \log \frac{I^1}{I} \text{ cm}^{-1},$$

waarin *I* de intensiteit is van de invallende straling en *I*<sup>1</sup> die na de vloeistof te zijn gepasseerd. De dikte der absorbeerende laag is *d*; deze was 0,5 cm, n.l. de inwendige wijidte der gebruikte dubbele kwartscuvette.

Figuur 1 leert nu, dat het opslorpend vermogen van chlorophyl zich, hoewel zeer zwak, nog doet gevoelen in het eerste deel van het ultrarood tot de golflengte van circa een micron. Langere golven laat het onverzwakt door tot voorbij 3  $\mu$ , doch vervolgens treedt bij 3,4 en 3,5  $\mu$  opnieuw

<sup>1)</sup> *Ann. d. Ph.* 46 (1915), p. 147.

<sup>2)</sup> *Ann. d. Ph.* 23 (1907), p. 277.

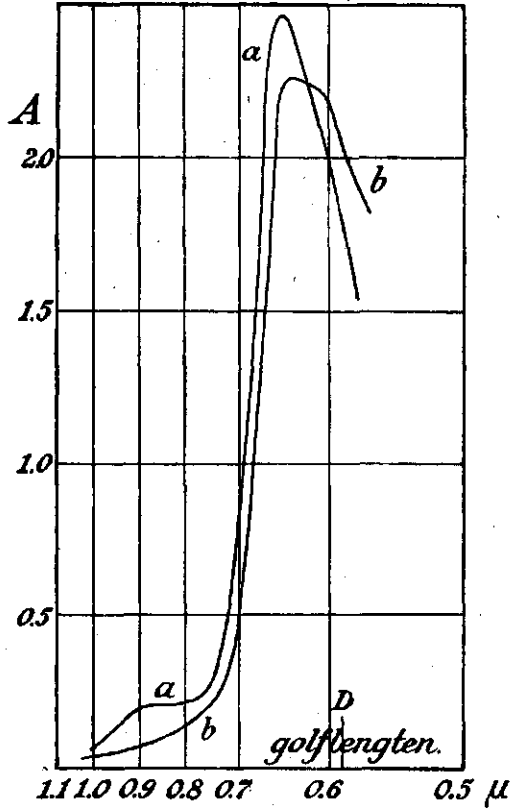


Fig. 1.

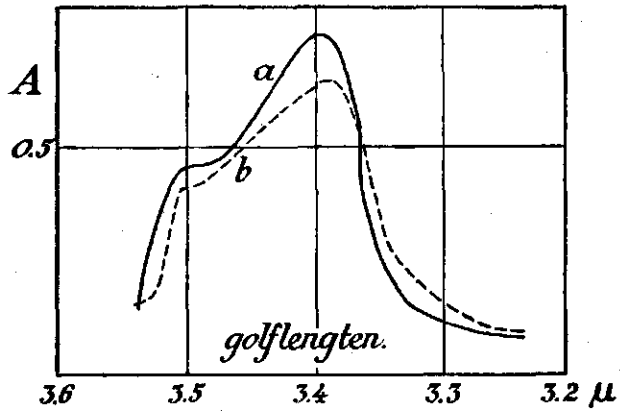


Fig. 2.

absorptie op, zooals figuur 2, die betrekking heeft op een oplossing van 1  $\frac{0}{00}$ , doet zien<sup>1)</sup>.

Na deze recapitulatie van de oudere waarnemingen, wil ik verslag doen van de uitkomsten van mijne metingen der absorptie van chlorophyl in het tegenovergestelde gedeelte van het spectrum n.l. in het ultraviolet. Deze metingen zijn thans mogelijk geworden door verbetering der hulpmiddelen, te weten: krachtiger stralingsbron voor ultraviolet, beter thermoëlement en gevoeliger galvanometer.

Als zoodanige stralingsbron komen o.a. in aanmerking, ontladingsvonken tusschen ijzelelectroden en de kwik-kwartslamp (hoogtezon). De eerste is voor hetzelfde doel aangewend door LEWKOWITSCHE<sup>2)</sup>, de laatste heb ik — zooals straks zal blijken — voor bepaalde onderdeelen ook met vrucht kunnen toepassen.

Genoemde stralingsbronnen hebben echter o.a. het nadeel van een lijnen-spectrum uit te zenden, d.w.z. zij zenden slechts een aantal zeer bepaalde golflengten uit, maar de daartusschen liggende golven niet. Ik wenschte echter het geheele ultraviolette spectrum tot 0,25  $\mu$  in vloeiende opeenvolging te onderzoeken en had derhalve een doorlopend (continu) spectrum noodig van voldoende sterkte in de kleine golflengten. Dit verschafte mij PHILIPS te Eindhoven in den vorm van een speciaal gloeilampje in kwartsballon, waarvan het gloeilichaam bestaat uit een wolframbandje, lang circa 20 mm. en breed 2 mm. De vereischte stroomsterkte van ruim 15 ampère moest, ter wille van het vereischte constant zijn van den stroom aan de accumulatorenbatterij worden onttrokken.

Als thermoëlement maakte ik gebruik van het nieuwe, snelle vacuumthermoëlement van KIPP te Delft, voorzien van een kwartsvenster. De gevoeligheid van dit instrument bedraagt een microvolt door een bestraling van  $5 \times 10^{-8}$  cal. sec. Het element, dat de straling opvangt is 2 mm. lang en heeft een breedte van slechts 0,1 mm.; zoo smal is derhalve telkens het strookje van het spectrum, waarvan de intensiteit gemeten wordt.

Het meetinstrument was de spiegelgalvanometer van ZERNIKE<sup>3)</sup> met een uitslag van 50 mm. voor  $1 \times 10^{-7}$  Volt, bij een meter schaalafstand.

De kwartsspectrometer tenslotte was samengesteld uit het vroeger gebruikte groote kwartsprisma, vast opgesteld voor minimumdeviatie der Natriumlijn, tusschen twee kwartslenzen, in welke hoofdbrandvlakken zich resp. het spleetstuk en het thermoëlement bevonden. Aangezien de lenzen niet waren geachromatiseerd, lag het beeldvlak van het spectrum op verre na niet loodrecht op de stralenrichting, maar week hiervan niet minder dan 60 °af. Inderdaad bleek, dat op een fotografische plaat, die onder dezen hoek was opgesteld, de spectraallijnen van de kwarts lamp tot 0,24  $\mu$  volkomen scherp werden afgebeeld. Deze fotografie, waarop dus een aantal kwiklijnen van bekende golflengte voorkwamen,

<sup>1)</sup> Merkwaardig in dit verband is, dat *Ursprung* zetmeelvorming heeft geconstateerd bij een blad, dat van het licht was afgesloten door een plaatje eboniet, welke stof alleen de lange stralen van het ultrarood doorlaat. Ber. d. Deut. Bot. Ges. 36 (1918) blz. 96.

<sup>2)</sup> Biochem. Journ. 22 (1928), p. 777.

<sup>3)</sup> Verslag K.A. Amsterdam Dl. XXX, no. 4.

diende tevens tot het iken in golflengten van de schaal, waarop de verplaatsing van het thermoëlement werd afgelezen. Het spreekt vanzelf, dat deze verplaatsing door het spectrum eveneens in de genoemde schuine richting plaats had, om het spectrum steeds scherp op het element ingesteld te houden.

De serieën van waarnemingen werden nu zoo verkregen, dat de uitslag van den galvanometer (I) werd bepaald bij bestraling, eerst door een kwartscuvette met alleen het oplosmiddel, en vervolgens door de chlorophyloplanning (I<sup>1</sup>). Dan werd het thermoëlement over een kleinen afstand verschoven en beide metingen herhaald, en zoo vervolgens tot het geheele spectrum was doorlopen, te beginnen met instelling op de natriumlijn tot de uitslagen van den galvanometer te klein werden om betrouwbaar te zijn. De grootte der opeenvolgende verschuivingen bedroeg meestal 0,5 mm., soms echter een mm., maar ook wel 0,2 mm.; de spleetwijdte was hiermede in overeenstemming gebracht.

Als oplosmiddel kwamen alleen vloeistoffen in aanmerking, die zelve de ultraviolette straling zeer weinig absorbeeren. Meestal was het methylalcohol, enkele serieën zijn ook met aethylalcohol gemaakt.

Het resultaat is af te lezen uit figuur 3, zowel voor de absorptiebreuk:

$$E = \frac{I - I^1}{I},$$

alsook voor de boven gedefinieerde absorptieconstante:

$$A = - 2 \log \frac{I^1}{I}$$

waarin de wijdte van een halven centimeter voor  $d$  is gesubstitueerd.

Voor golflengten beneden  $0,3 \mu$  zijn de curven gestippeld, omdat de stralingsintensiteit hier zoozeer bleek te zijn verzwakt, dat het „valsche licht” een niet te verwaarloozen rol begon te spelen, zoodat hiervoor correctie moest worden aangebracht, die de uitkomst hoe langer hoe onzekerder maakte. De gelukkige omstandigheid doet zich hierbij evenwel voor, dat het voorgestelde eindpunt weer met voldoende nauwkeurigheid te bepalen is door de wolframlamp te vervangen door de kwartslamp. Deze laatste heeft n.l. een vrij krachtige emissielijn van de golflengte  $0,254 \mu$ , en bovendien is hier de invloed van het „valsche licht” nauwkeurig te bepalen door vervolgens het thermoëlement zoover te verschuiven, dat het juist deze spectraallijn was gepasseerd.

Men ziet dan uit figuur 3 in de eerste plaats, dat onjuist is de gebruikelijke <sup>1)</sup> benaming „eindabsorptie” voor de absorptieband in het blauw en paars, een benaming die den indruk wekt, als ware voor kleinere golflengten dan paars de absorptie verder vrijwel volkomen. Integendeel blijkt de absorptie, na een maximum bij golflengte  $0,48 \mu$ , reeds in het zichtbare spectrum merkbaar af te nemen, om eerst een secundaire minimumwaarde te bereiken bij  $0,46$  en vervolgens een dieper minimum bij  $0,423$ . Dan, op het ultraviolet overgaande, volgt op een maximum bij  $0,397$  een

<sup>1)</sup> O.a. bij WILLSTÄTTER und STOLL; Unt. u. Chlor. p. 365 en p. 368.

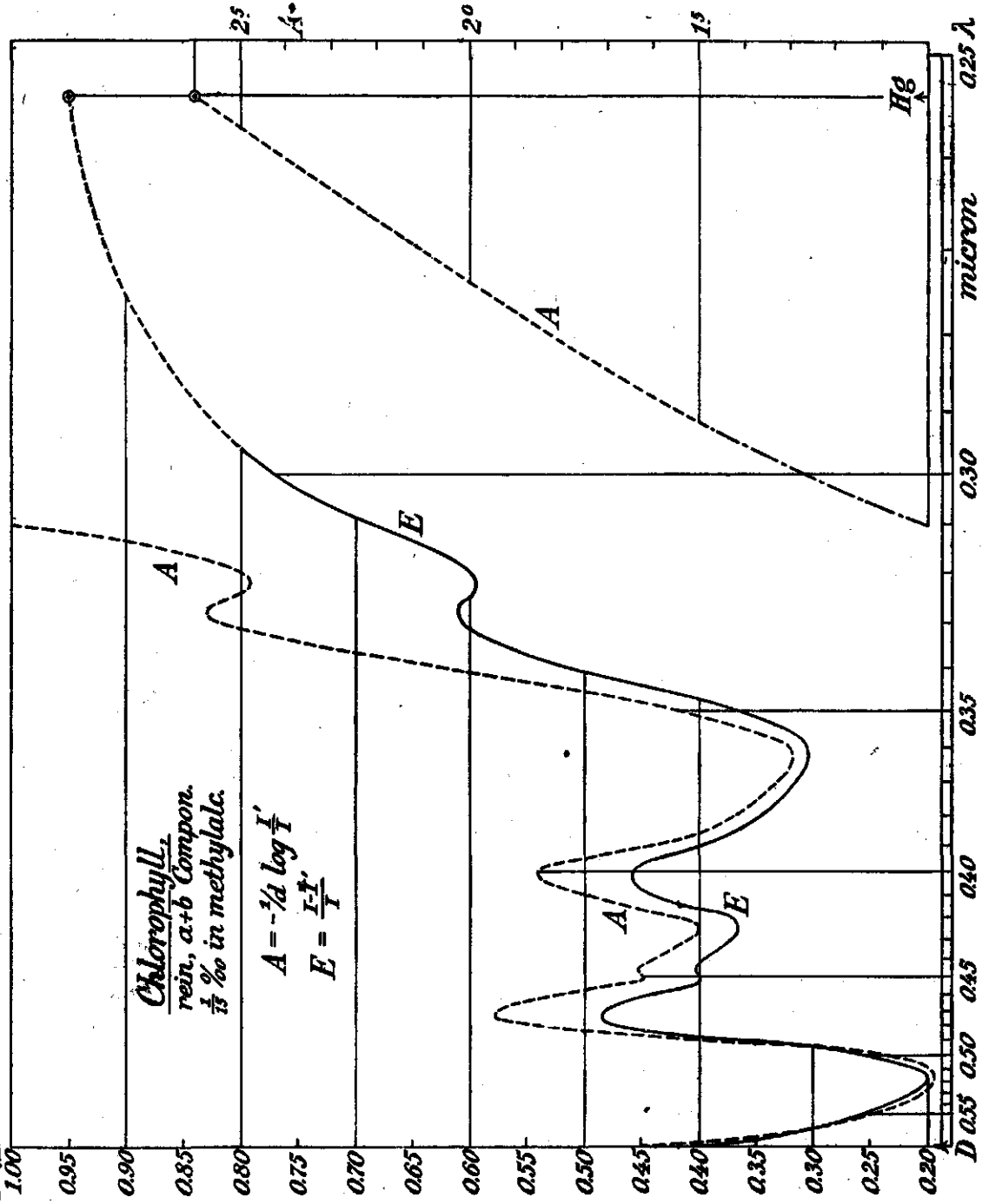


Fig. 3.

diep minimum bij 0,358, waarna de absorptiecurve snel stijgt tot een hoog maximaal bedrag bij 0,323, hetwelk, na een inzinking overgaat in wat dan met meer recht den naam van eindabsorptie zou mogen dragen.

Vergelijking met figuur 4, die de resultaten van LEWKOWITSCH (loc. cit.) afbeeldt, geeft goede overeenstemming in het gebied der korte golven.

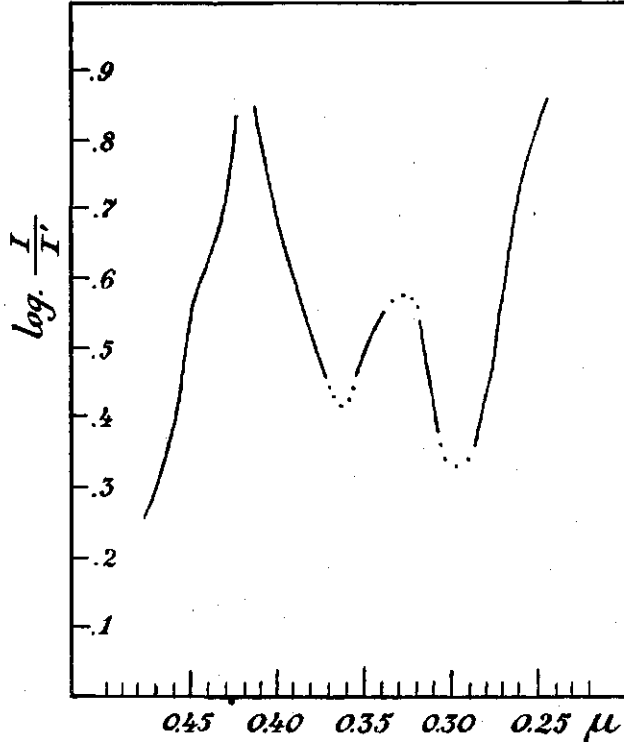


Fig. 4.

Ook hier een absorptietop bij 0,33, die naar rechts — na een inzinking — overgaat in de eindabsorptie, en naar links afdaalt naar een minimum bij 0,36. Overigens is deze curve veel minder gedetailleerd en juist op belangrijke punten hier en daar afgebroken. De afwijkingen met figuur 3 meen ik te mogen toeschrijven aan de stralingsbron (ontladingsvonken), die — zooals gezegd — geen doorlopend spectrum oplevert en bovendien veel minder constant is te houden. Hierbij komt, dat door LEWKOWITSCH geen rein chlorophyl werd gebruikt en derhalve de gele pigmenten mede aanwezig waren.

Behalve het bovenbedoelde is over de absorptie van chlorophyl in ultraviolet nog een onderzoek gepubliceerd van DHÉRÉ en DE ROGOWSKI<sup>1)</sup>. Aangezien door hen de fotografische methode werd toegepast, is nauwkeurige vergelijking met de resultaten onzer stralingsmetingen buitenge-

<sup>1)</sup> Compt. Rend. 155 (1912) II p. 653.

sloten, gelijk WILLSTÄTTER<sup>1)</sup> opmerkt, maar vooral door WEIGERT uitvoerig is betoogd<sup>2)</sup>). Men kan echter zeggen, dat voorzoover overeenstemming mag worden verwacht, deze ook aanwezig is.

Ten overvloede moge nog worden opgemerkt, dat het bestaan van bepaalde absorptiebanden geenszins insluit, dat deze ook tot de koolstof-assimilatie der plant bijdragen; dit ware nog door b.v. de klassieke methode van ENGELMANN te onderzoeken. Zoo zou men wat de eindabsorptie betreft, die juist inzet in het gedeelte van het ultraviolet, dat in den laatsten tijd zoozeer de aandacht ook van biologen en medici op zich heeft gevestigd, kunnen denken aan absorptie ter bescherming van de dieper gelegen planten cellen tegen beschadiging door deze stralen. Want van het waterige celvocht is hier waarschijnlijk geen krachtige absorptie te verwachten, omdat water het geheele ultraviolet tot  $0,25 \mu$  vrijwel onverzwakt doorlaat. Men zou hier dan bij de plant een vergelijkbaar geval hebben met de menselijke huid, die volgens DORNO<sup>3)</sup> bij bestraling door golflengten van  $0,32 \mu$  en kleiner (met een maximale werking bij  $0,30$ ) een bruin pigment vormt, ter bescherming van het onderliggende weefsel tegen de schadelijke inwerking van dit stralengebied.

Evenmin mag men aan den anderen kant besluiten, dat de afwezigheid van absorptie, b.v. in het ultrarood, het assimilatie proces hier noodzakelijk buitensluit. Het chlorophyl toch maakt zich over het algemeen door absorptie meester van de stralingsenergie en draagt bovendien, als een katalysator, dit arbeidsvermogen op nog onbekende wijze over op het aanwezige koolzuur en water, die hierdoor worden in staat gesteld hunne atomen tot een meer gecompliceerde scheikundige verbinding te groepeeren. Maar men zou zich kunnen denken, dat voor het ultrarood, omdat dit door water juist zeer krachtig wordt opgeslorpt, een absorbeerende kleurstof overbodig ware, daar het celvocht hier zelf voor de vermeestering der stralingsenergie kan zorg dragen. Ondersteld altijd, dat ook hier dat verborgen agens werkzaam is, want absorbeeren is wel een vereischte, maar alleen niet voldoende, hier evenmin als bij chlorophyl, dat in alcoholisch extract b.v. nog wel absorbeert, maar zijn assimileerend vermogen volkomen verliest.

---

<sup>1)</sup> Unters. üb Chl. p. 417.

<sup>2)</sup> Ber. d. D. Chm. Ges. 49 (1916) I p. 1496.

<sup>3)</sup> Institut für Hochgebirge — Physik etc. p. 39.