



De foto-inactivering van auxine-A-lacton

<https://hdl.handle.net/1874/358897>

A. qu. 192, 1941

DE FOTO-INACTIVERING
VAN AUXINE-A-LACTON

G. J. SCHURINGA

s.
cht

1

DE FOTO-INACTIVERING VAN AUXINE-A-LACTON

PROEFWERK

van de *Wetenschappelijke Afdeling*
van de *Landbouwhogeschool te Wageningen*
door *Dr. J. van der Vliet*
in het jaar *1954*

DE FOTO-INACTIVERING VAN AUXINE-A-LACTON

RIJKSUNIVERSITEIT TE UTRECHT



1778 3741

Diss. Utrecht 1941

DE FOTO-INACTIVERING VAN AUXINE-A-LACTON

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN DOCTOR
IN DE WIS- EN NATUURKUNDE AAN DE RIJKS-
UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN
RECTOR MAGNIFICUS DR. H. R. KRUYT, HOOG-
LERAAR IN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUUR-
KUNDE, VOLGENS BESLUIT VAN DE SENAAT DER
UNIVERSITEIT TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE
FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE TE VER-
DEDIGEN OP MAANDAG 17 FEBRUARI 1941, DES
NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

GARRELT JURJEN SCHURINGA

GEBOREN TE STADSKANAAL

1941

DRIUKKERIJ Fa. SCHOTANUS & JENS — UTRECHT

Het is mij een behoefte mijn hartelijke dank te brengen aan de Hoogleraren, oud-Hoogleraren en Lectoren van de Faculteit der Wis- en Natuurkunde en aan hen die verder aan mijn wetenschappelijke opleiding hebben bijgedragen.

In het bijzonder U, Hooggeleerde Kögl, Hooggeachte Promotor, dank ik voor Uw voortdurende belangstelling in mijn werk en voor het assistentschap dat Gij mij hebt verleend.

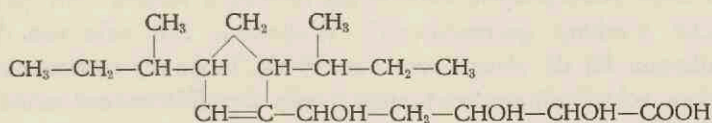
Veel erkentelijkheid ben ik verder verschuldigd aan de leden van de wetenschappelijke staf en aan het personeel van het Organisch-chemisch Laboratorium, voor de aangename wijze van samenwerken en de medewerking, die ik steeds heb mogen ondervinden.

Gaarne gebruik ik ook deze gelegenheid om allen die ik gedurende mijn studietijd mijn vrienden heb mogen noemen, te danken voor de wijze waarop zij deze tijd voor mij tot een zo bijzonder aangename hebben gemaakt.

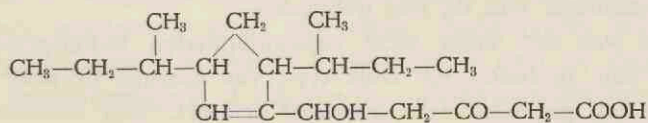
HOOFDSTUK I.

HISTORISCH OVERZICHT.

Tien jaar geleden werd in het Laboratorium voor Organische scheikunde van de Rijksuniversiteit te Utrecht door F. Kögl en zijn medewerkers het onderzoek van de auxinen ter hand genomen. De auxinen worden tot de phytohormonen gerekend; zij zijn gedefiniëerd door hun invloed op de celstrekking. Later zijn ook nog andere physiologische reacties van de auxinen bekend geworden. Reeds in 1931 hebben Kögl en Haagen Smit¹⁾ een mededeling over de afscheiding van het eerste auxine gepubliceerd, dat zij uit urine konden isoleren. Deze groeistof, welke later auxine-a genoemd werd, komt naast een daarmee verwante verbinding (auxine-b) ook voor in mout, waaruit deze phytohormonen drie jaren later in gekristalliseerde vorm werden afgescheiden. Door een reeks van afbraakreacties hebben Kögl en Erxleben²⁾ de volgende formules voor de beide auxinen kunnen afleiden:



I. auxine-a

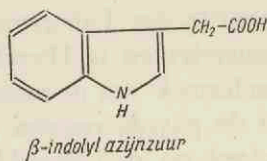


II. auxine-b

¹⁾ F. Kögl en A. J. Haagen Smit, Proc. Acad. Sci. Amsterdam **34**, 1411 (1931).

²⁾ F. Kögl en H. Erxleben, Z. Physiol. Chem. **227**, 51 (1934).

Zoals uit de formules blijkt, zijn deze auxinen alicyclische carbon-zuren. Aangezien reeds door kleine veranderingen, b.v. door hydreren van de dubbele binding de physiologische werkzaamheid verdwijnt, was het zeer verrassend, dat — eveneens in 1934 — uit urine en later ook uit gist een verbinding geïsoleerd werd, welke een soortgelijke invloed op de celstrekking uitoefende, hoewel zij in chemisch opzicht met de vroeger ontdekte auxinen niet verwant was. Deze nieuwe groeistof bleek namelijk identiek te zijn met het reeds lang bekende β -indolyl-azijnzuur (indol-3-azijnzuur) III.



III.

Uit het onderzoek van Kögl en Kostermans³⁾ bleek, dat de physiologische werking van hetero-auxine, zoals de nieuwe groeistof genoemd werd, minder aan een bepaalde constitutie is gebonden, dan oorspronkelijk te verwachten was. Aangezien het molecule van β -indolyl-azijnzuur buitengewoon eenvoudig is, lag het voor de hand, een onderzoek in te stellen naar de physiologische activiteit van tal van meer of minder analoge verbindingen. Inderdaad werd vooral door Amerikaanse auteurs bij tientallen stoffen een physiologische werking geconstateerd. Weliswaar zijn vele van deze verbindingen bij de *Avena*-test van F. W. Went⁴⁾ onwerkzaam; zij bleken echter bij de erwtentest⁵⁾ van dezelfde auteur actief te zijn. Evenals deze test is ook de veel onderzochte invloed op de wortelvorming van stekken veel minder dan de havertest aan een bepaalde constitutie van de stof gebonden.

Uiteraard was het onder deze omstandigheden buitengewoon belangrijk, aan te tonen tot welk type van auxinen de door de coleoptielen zelf geproduceerde groeistof behoort. Een onderzoek

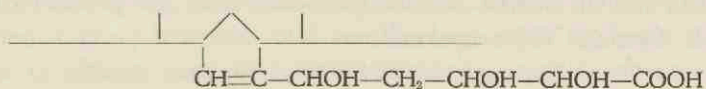
³⁾ F. Kögl en D. G. F. R. Kostermans, Z. physiol. Chem. 235, 201 (1935).

⁴⁾ F. W. Went, Rec. trav. bot. néerl. 25, 1 (1928).

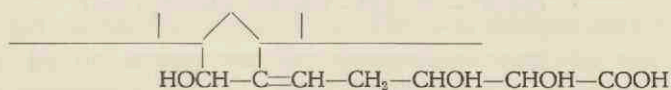
⁵⁾ F. W. Went, Proc. Acad. Sci. Amsterdam 37, 547 (1934).

van Kögl, Haagen Smit en Erxleben ⁶⁾ heeft met behulp van indirecte methoden vrijwel bewezen, dat deze groeistof met het auxine-a identiek is.

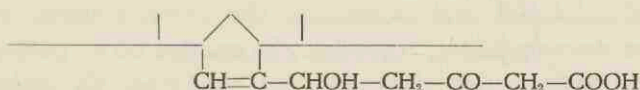
Zoals op grond van de zeer uiteenlopende structuur van de eigenlijke auxinen en de „hetero-auxinen” te verwachten is, hebben deze groepen verschillende eigenschappen. Het voornaamste verschil is het merkwaardige verschijnsel, dat auxine-a en auxine-b in oplossing, maar ook in gekristalliseerde toestand binnen enkele maanden fysiologisch geheel onwerkzaam worden. De oorzaak van deze auto-inactivering werd door een onderzoek van Kögl, Koningsberger en Erxleben ⁷⁾ gevonden. Het bleek, dat de pseudo-auxinen door een allyl-verschuiving ontstaan:



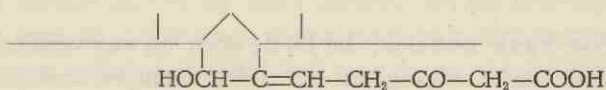
I.



IV. pseudo-auxine-a



II.



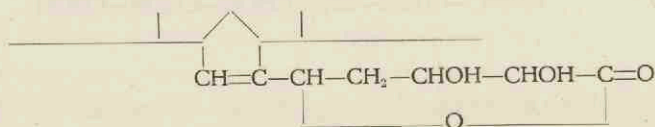
V. pseudo-auxine-b

Hierbij verspringt dus de oorspronkelijk in de ring aanwezige dubbele binding en neemt een semi-cyclische positie in, terwijl de aan het δ -C-atoom aanwezige hydroxylgroep naar de ring verhuist. Het merkwaardige is, dat de reactie volledig naar één kant verloopt.

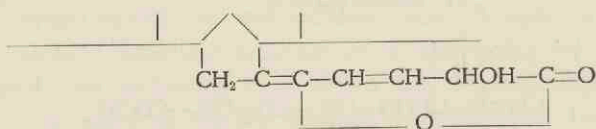
⁶⁾ F. Kögl, A. J. Haagen Smit en H. Erxleben, Z. physiol. Chem. 228, 104 (1934).

⁷⁾ F. Kögl, C. Koningsberger en H. Erxleben, Z. physiol. Chem. 244 266 (1936).

Auxine-a vertoont in oplossing het verschijnsel der mutarotatie. Deze wordt veroorzaakt door de omkeerbare overgang in het overeenkomstige δ -lacton. Het gekristalliseerde auxine-a-lacton wordt eveneens binnen enkele maanden geheel inactief. Aangezien de bij de allyl-verschuiving betrokken hydroxylgroep in dit geval door inwendige verestering waarschijnlijk gefixeerd is, kan het mechanisme van deze inactivering uiteraard geen allyl-verschuiving zijn. De bovengenoemde auteurs hebben ook reeds een begin gemaakt met het bestuderen van de inactivering van auxine-a-lacton. Bij dit nog niet gepubliceerde onderzoek, dat gedeeltelijk in de dissertatie van C. Koningsberger⁸⁾ is opgenomen, zijn een reeks zeer merkwaardige feiten naar voren gekomen. Op grond van afbraakreacties werd aan het uit auxine-a-lacton gevormde inactieve product voorlopig de formule VII toegekend.



VI. auxine-a-lacton



VII.

Uit de analyse bleek namelijk, dat bij de vorming van verbinding VII een molecule water afgesplitst is, zodat dienovereenkomstig één dubbele binding meer aanwezig is dan in het auxine-a-lacton zelf. Tevens kon worden vastgesteld, dat één dubbele binding een semi-cyclische positie inneemt; dit bleek uit de afbraak met behulp van ozon. Hierbij ontstond namelijk het verzadigde ringketon $C_{18}H_{24}O$, dat vroeger reeds door oxydatieve afbraak van dihydroauxine-a verkregen was. Verbinding VII reageert evenals de uitgangsstof neutraal, de lactonring moet dus behouden zijn gebleven. Uit de afbraak met ozon volgt tevens, dat de tweede dubbele

⁸⁾ C. Koningsberger, Dissertatie Utrecht 1936.

binding in de lactonring aanwezig moet zijn. Aangezien bij de bepaling volgens Tschugaeff-Zerewitinoff blijkt dat verbinding VII een actief waterstofatoom bevat, moet het tweede zuurstofatoom in een hydroxylgroep aanwezig zijn, en wel — eveneens op grond van de ozonafbraak — aan de lactonring. Het reactieproduct geeft geen ijzerchloride-reactie; de hydroxylgroep zal dus niet een enolisch, maar een alcoholisch karakter hebben.

Zeer opmerkelijke resultaten werden voorts bij het onderzoek van de absorptiespectra in het ultraviolet verkregen. Zoals uit de voor auxine-a afgeleide formule te verwachten was, absorbeert deze groeistof geen licht in het gemakkelijk toegankelijke ultraviolette gebied. Dit is wel het geval bij auxine-b, dat als β -ketozuur een karakteristiek maximum vertoont, en wel bij 250 $m\mu$. De tot de inactivering leidende allyl-verschuiving heeft bij beide auxinen geen of althans geen essentiële verandering van de absorptie tengevolge, wat eveneens te verwachten was. Bij de ringsluiting, die van auxine-a tot zijn δ -lacton leidt, treedt geen verandering van het chromofore systeem op. Het was daarom zeer verrassend toen bij de meting van het absorptiespectrum van een oplossing van auxine-a-lacton een zeer karakteristieke absorptie met een maximum bij 295 $m\mu$ werd gevonden. Deze kon uiteraard niet door auxine-a-lacton zelf veroorzaakt zijn. Inderdaad bleek, dat de oplossing na de meting, fysiologisch geheel onwerkzaam was geworden. Er moet dus reeds door de zeer zwakke bestraling gedurende de meting een sterk absorberend product gevormd zijn. Het nadere onderzoek heeft geleerd, dat het reactieproduct identiek was met de verbinding, welke door auto-inactivering van auxine-a-lacton ontstaat. In verband met de in theoretisch opzicht zeer opvallende fotochemische reactie, werd de verbinding lumi-auxine-a-lacton (VII) genoemd. Het lumi-auxine-a-lacton werd in het vervolg altijd door bestraling van auxine-a-lacton bereid. Deze bestraling leidt ook bij het gekristalliseerde lacton tot hetzelfde product.

Op grond van de bepaling der mutarotatie van auxine-a en zijn lacton was bekend, dat het evenwicht in alcoholische oplossing in de loop van enkele uren bereikt wordt. Men had daarom kunnen verwachten, dat ook bij de bepaling van de absorptie-spectra, onafhankelijk daarvan of men van het vrije zuur dan wel van het

lacton uitgaat, gedurende de meting altijd een zekere hoeveelheid lumi-auxine-a-lacton zou ontstaan. In werkelijkheid werd bij de meting van een auxine-a-oplossing geen absorptie gevonden; er kon dus in dit geval *geen* auxine-a-lacton door de evenwichtsreactie zijn gevormd. De verklaring van dit merkwaardige feit ligt in het verschil in concentratie. Voor de bepaling van de mutarotatie wordt namelijk met een ± 10 proc. oplossing gewerkt, terwijl de absorptiemeting met een 0,02 proc. oplossing wordt uitgevoerd. Klaarblijkelijk heeft men dus in de verdunde oplossing geen evenwicht tussen het vrije zuur en zijn lacton, althans moet de reactiesnelheid van de wederzijdse omzetting veel kleiner zijn.

Deze opvatting kon worden bevestigd, door na het bereiken van het evenwicht in de geconcentreerde oplossing, deze oplossing te verdunnen voor de absorptiemeting. Daarbij vond men inderdaad steeds een percentage van 60 % lumi-auxine-a-lacton, onafhankelijk daarvan, of bij de proef van auxine-a of van zijn lacton werd uitgegaan. Dit percentage kwam goed overeen met de verhouding, welke kon worden berekend uit de specifieke draaiing na het bereiken van het evenwicht in de geconcentreerde oplossing. Als verklaring van dit verschijnsel werd aangenomen, dat de concentratie van de waterstof-ionen van invloed was op de snelheid, waarmee het evenwicht wordt bereikt. Het aantal waterstof-ionen in de geconcentreerde oplossing moet zeer veel groter zijn dan dat in de verdunde oplossing. De door auxine-a geleverde waterstof-ionen zouden dus op de omzetting een katalytisch effect kunnen uitoefenen.

Bij het onderzoek van Kögl, Koningsberger en Erxleben zijn verschillende vraagstukken onopgehelderd gebleven.

1. Het was wenselijk, de bovenvermelde invloed van de waterstof-ionen op de reactiesnelheid (auxine-a \rightleftharpoons auxine-a-lacton) aan een nader onderzoek te onderwerpen.

2. De gevonden foto-chemische reactie moest nauwkeurig worden onderzocht door met monochromatisch licht van verschillende golflengten te werken en daarbij ook de intensiteit van de bestraling te bepalen.

3. Het was theoretisch niet te begrijpen hoe auxine-a-lacton

wordt geïnactiveerd door licht van een golflengte, welke het niet kan absorberen.

4. De voor lumi-auxine-a-lacton op grond van het chemisch onderzoek opgestelde voorlopige formule (VII) verklaart niet zonder meer de absorptie met een maximum bij 295 $m\mu$.

5. Er moest worden nagegaan, in hoeverre de eigenaardige fotochemische reactie van auxine-a-lacton betekenis kon hebben voor de verklaring der fototropische verschijnselen bij planten.

HOOFDSTUK II.

DE INVLOED VAN WATERSTOF-IONEN OP HET BE- REIKEN VAN HET EVENWICHT VAN AUXINE-A MET ZIJN LACTON.

De resultaten van het werk van C. Koningsberger betreffende het evenwicht tussen auxine-a en auxine-a-lacton waren aanleiding, om de invloed van waterstof-ionen op het bereiken van dit evenwicht te onderzoeken. Dank zij het feit, dat het inactiveringsproduct van auxine-a-lacton, het lumi-auxine-a-lacton, zulk een karakteristieke absorptie vertoont, bleek het mogelijk, de afhankelijkheid van de p_H met technisch eenvoudige experimenten na te gaan. Voor het veranderen van de p_H van oplossingen van auxine-a resp. auxine-a-lacton in alcohol, werd gebruik gemaakt van zuiver azijnzuur, omdat azijnzuur geen licht absorbeert in het door ons onderzochte ultraviolette gebied. De absorptiespectra van deze oplossingen werden gemeten zonder azijnzuur en na toevoegen van azijnzuur. Wanneer nu in een aangezuurde oplossing van auxine-a in alcohol een evenwicht tot stand komt tussen auxine-a en zijn lacton, dan zal onder invloed van de bestraling bij het meten van de absorptie, het auxine-a-lacton worden omgezet in lumi-auxine-a-lacton. Wij moeten dus in dit geval verwachten, dat het absorptiespectrum van lumi-auxine-a-lacton gevonden wordt; de grootte van de absorptie is bepaald door de snelheid, waarmee het evenwicht van auxine-a met auxine-a-lacton wordt bereikt. Uit de hoogte van de absorptiekromme kunnen wij dus conclusies trekken ten aanzien van de snelheid, waarmee de evenwichtsreactie (auxine-a \rightleftharpoons auxine-a-lacton) bij een bepaalde p_H verloopt. Wanneer de reactiesnelheid onder invloed van de waterstof-ionen groot wordt, kunnen wij zelfs een absorptie verwachten, die vol-

komen overeenkomt met die van lumi-auxine-a-lacton. Dit laatste bleek inderdaad het geval te zijn.

a. Van twee oplossingen van auxine-a in alcohol werden tegelijker-tijd de absorptiespectra gemeten. Oplossing I bevatte 197,4 mg auxine-a per liter. Oplossing Ia bevatte 196,0 mg auxine-a per liter, terwijl aan deze oplossing bovendien een weinig ijsazijn (p.a.) was toegevoegd, zodat de p_H was gedaald tot 4,3. Oplossing I absorbeerde in 't geheel geen licht. Oplossing Ia daarentegen bleek een absorptiespectrum te hebben, dat volkomen overeenkwam met dat van lumi-auxine-a-lacton (fig. 1, tabel I).

TABEL I.

golflengte in $m\mu$	moleculaire absorptie- coëff. van opl. I	moleculaire absorptie- coëff. van opl. Ia
313	—	$5,3 \cdot 10^3$
302	—	$16,8 \cdot 10^3$
297	—	$18,2 \cdot 10^3$
289	—	$16,8 \cdot 10^3$
280	—	$10,3 \cdot 10^3$
275	—	$7,0 \cdot 10^3$
270	—	$4,3 \cdot 10^3$
265	—	$3,1 \cdot 10^3$
254	—	$1,7 \cdot 10^3$
248	—	$2,8 \cdot 10^3$
240	—	$7,2 \cdot 10^3$

In de tweede kolom vinden wij de moleculaire absorptie-coëfficiënt van de niet aangezuurde auxine-a-oplossing. In de derde kolom die van de auxine-a-oplossing, die na toevoeging van azijnzuur een $p_H = 4,3$ had.

b. Van twee oplossingen van auxine-a-lacton in alcohol werden eveneens tegelijkertijd de absorptiespectra gemeten. Oplossing II bevatte 198,2 mg auxine-a-lacton per liter en oplossing IIa bevatte 204,4 mg per liter. Aan deze laatste oplossing was een weinig ijsazijn toegevoegd, waarna de $p_H = 4,1$ was. Beide oplossingen hadden een absorptiespectrum, dat volkomen overeenkwam met dat van lumi-auxine-a-lacton (fig. 2, tabel II).

In figuur 1 zien wij, dat het evenwicht onder invloed van azijnzuur, in dit geval bij $p_H = 4,3$, zeer snel wordt bereikt. Uit dezelfde kromme kunnen we eveneens besluiten, dat de snelheid, waarmee het auxine-a-lacton onder invloed van het ultraviolette licht wordt omgezet, zeer groot is. Wij zijn de absorptiemetingen begonnen

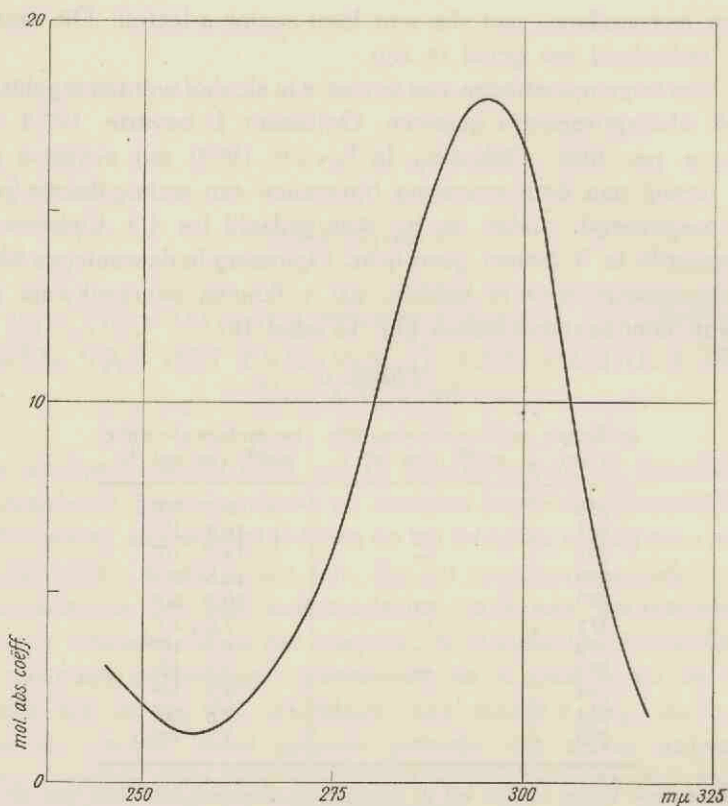


Fig. f.

Absorptiespectrum van een oplossing van auxine-a in alcohol (196 mg/l), gemeten na aanzuren met azijnzuur tot $p_H = 4,3^*$.

*) Bij de in dit proefschrift opgenomen absorptiespectra is op de verticale as, de moleculaire absorptie-coëfficiënt (x) in duizendtallen afgezet.

$$x = \frac{1}{c d} \ln \frac{I_0}{I_D}$$

In deze vergelijking is:

c = de concentratie in molen per liter.

d = de dikte van de vloeistoflaag in cm.

I_0 = de intensiteit van het invallende licht.

I_D = de intensiteit van het doorgelaten licht.

met de golflengten $405 \text{ m}\mu$, $365 \text{ m}\mu$ en $334 \text{ m}\mu$, die, omdat licht van die golflengten niet wordt geabsorbeerd, niet in de tabel zijn opgenomen. Bij $\lambda = 313 \text{ m}\mu$ wordt reeds een absorptie gemeten, die overeenkomt met die van het lumi-auxine-a-lacton. Dat wil dus zeggen, dat wanneer wij bij $313 \text{ m}\mu$ zijn gekomen, al het auxine-a reeds is omgezet in lumi-auxine-a-lacton. Dit moet dus gedurende de meting hebben plaats gevonden door licht van de drie eerstgenoemde, niet geabsorbeerde golflengten. De duur van de belichting bij het meten van deze drie golflengten, bedraagt in totaal ten hoogste vijf minuten, terwijl de intensiteit zeer gering is.

Tabel II.

golflengte in $\text{m}\mu$	moleculaire absorp- tie-coëff. van opl. II	moleculaire absorp- tie coëff. van opl. IIa
313	$3,7 \cdot 10^3$	$3,6 \cdot 10^3$
302	$15,5 \cdot 10^3$	$14,4 \cdot 10^3$
297	$17,8 \cdot 10^3$	$17,7 \cdot 10^3$
289	$16,0 \cdot 10^3$	$16,2 \cdot 10^3$
280	$10,0 \cdot 10^3$	$9,9 \cdot 10^3$
275	$6,4 \cdot 10^3$	$6,5 \cdot 10^3$
270	$3,9 \cdot 10^3$	$4,0 \cdot 10^3$
265	$2,8 \cdot 10^3$	$2,7 \cdot 10^3$
254	$1,4 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^3$
248	$2,4 \cdot 10^3$	$2,4 \cdot 10^3$

In de tweede kolom vinden wij de moleculaire absorptie-coëfficiënt van de auxine-a-lacton-oplossing, waaraan geen azijnzuur is toegevoegd. In de derde kolom de moleculaire absorptie-coëfficiënt van de auxine-a-lacton-oplossing, welke door toevoeging van azijnzuur op $\text{p}_\text{H} = 4,1$ was gebracht.

In figuur 2 vinden wij twee krommen, waarvan één het resultaat is van een absorptiemeting van een neutrale auxine-a-lacton-oplossing en de andere van een aangezuurde auxine-a-lacton-oplossing. Deze krommen zijn beide volkomen identiek met die van lumi-auxine-a-lacton.

De resultaten verkregen met auxine-a-lacton zijn in overeenstemming met die van auxine-a. Na toevoegen van azijnzuur aan de oplossing van auxine-a-lacton wordt het evenwicht (auxine-a \rightleftharpoons auxine-a-lacton) bereikt. Door de zwakke bestraling gedurende het meten van de eerste golflengten wordt auxine-a-lacton aan het evenwicht onttrokken, waarna dit evenwicht onder invloed van de waterstof-ionen wederom snel wordt bereikt.

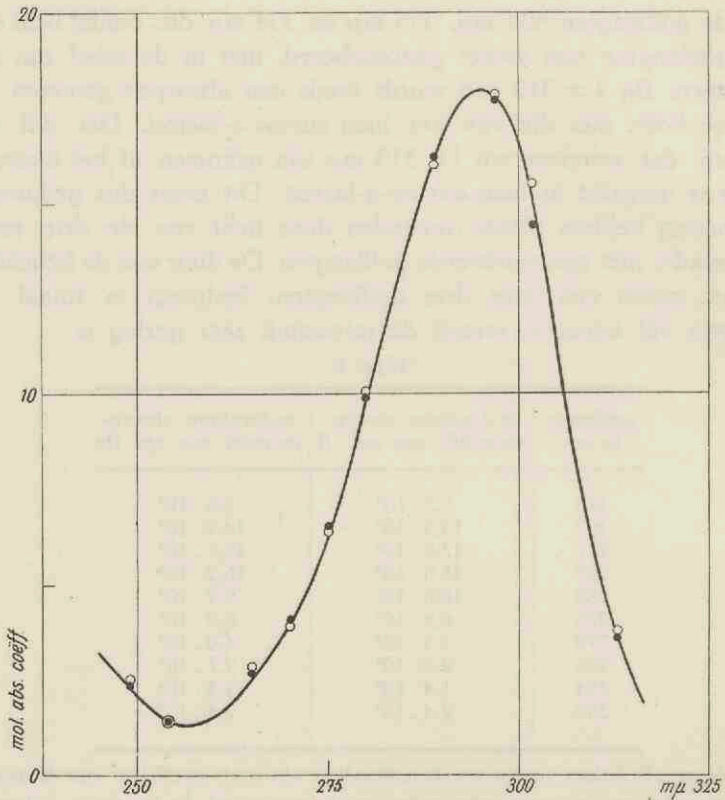


Fig. 2.

- Absorptie spectrum van auxine-a-lacton in alcohol (198,2 mg/l).
 —●—●— Absorptie spectrum van auxine-a-lacton in alcohol (204,4 mg/l),
 gemeten na aanzuren met azijnzuur tot $p_H = 4,1$.

Na de meting van een aangezuurde auxine-a-oplossing moest inderdaad dit absorptiespectrum van de aangezuurde auxine-a-lacton-oplossing worden verwacht, daar elk ander resultaat niet in overeenstemming zou zijn met de hypothese van katalyse door waterstof-ionen.

Het auxine, dat voor de proeven in dit hoofdstuk en in de volgende hoofdstukken werd gebruikt, werd door mej. Dr. H. Erxleben geïsoleerd, waarvoor ik hier mijn hartelijke dank betuig.

HOOFDSTUK III.

DE INVLOED VAN LICHT OP AUXINE-A-LACTON.

Naar aanleiding van de inactivering van het auxine-a-lacton bij het meten van het absorptiespectrum in het ultraviolette gebied, hebben wij getracht een nauwkeurig inzicht te krijgen in de invloed van licht op het auxine-a-lacton. Voor het bereiken van dit doel was het noodzakelijk, monochromatisch licht te gebruiken. Dit monochromatisch licht werd verkregen met behulp van een dubbel-monochromator volgens Pohl, zoals die gebruikt wordt voor het meten van absorptiespectra in het ultraviolette gebied ⁹⁾.

Om de invloed van licht van verschillende golflengten te kunnen vergelijken was het nodig, een maat te hebben waarin wij de intensiteit van licht van verschillende golflengten kunnen uitdrukken. Aangezien de gevoeligheid van de fotocel voor licht van diverse golflengten niet dezelfde is, was deze niet zonder meer voor ons doel te gebruiken. Deze gevoeligheid werd daarom voor de verschillende golflengten die wij gebruiken, in absolute maat bepaald. De gevolgde werkwijze en de resultaten zijn beschreven in hoofdstuk IV. Bij deze ijking wordt de gevoeligheid van de fotocel bepaald, uitgedrukt in het aantal schaaldelen dat de electrometer, bij een gevoeligheid van 10 schaaldelen per volt, per seconde doorloopt, als er in de fotocel een lichtstroom valt van één erg per seconde. Dit betekent dat wij van een lichtstroom van willekeurige golflengte en willekeurige intensiteit, het aantal ergs kunnen berekenen dat in de fotocel valt, wanneer wij de tijd bepalen gedurende welke de fotocel wordt belicht, benevens het aantal schaaldelen dat de snaar van de electrometer, tengevolge van die lichtstroom, per seconde doorloopt.

De werkwijze.

De invloed van het licht op het auxine-a-lacton werd bestudeerd aan verdunde oplossingen van dit lacton in alcohol. De concen-

⁹⁾ De dubbelmonochromator volgens Pohl is door C. Koningsberger in zijn dissertatie (Utrecht 1936) uitvoerig beschreven.

tratie van deze oplossing was ongeveer 200 mg per liter. Van het Hg-spectrum werd de invloed onderzocht van licht van de golflengten 334, 365, 405, 436, 494, 546 en 578 $m\mu$.

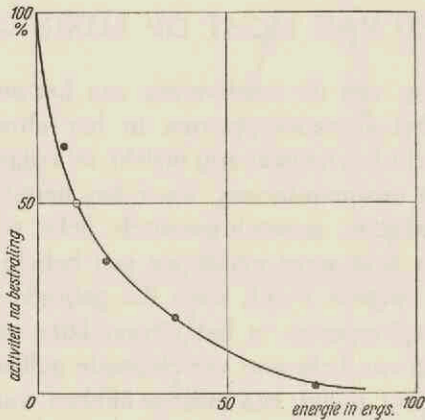


Fig. 3.

Verloop van de inactivering bij bestraling.

($\lambda = 365 m\mu$, vgl. tab. IV.)

● door meting gevonden.

○ door interpoleren gevonden.

Het verloop van één meting was als volgt. De intensiteit van de monochromatische lichtbundel werd gemeten, uitgedrukt in het aantal schaaldelen dat de snaar van de electrometer per seconde doorloopt. Daarna wordt $0,5 \text{ cm}^3$ van de auxine-a-lacton-oplossing in een kwartscuvet volgens Smakula¹⁰⁾ (dikte 1 mm), gedurende een bepaalde tijd in de monochromatische lichtstroom gebracht, zodanig dat de gehele lichtbundel in het cuvet valt. De volgende dag wordt door middel van de *Avena*-test het auxinegehalte bepaald. *)

Bekend zijn nu de toegevoerde energie, uitgedrukt in ergs, en de onder invloed van deze energie geïnactiveerde hoeveelheid auxine-a-lacton.

Voor verschillende golflengten van het kwikspectrum hebben

¹⁰⁾ Zie C. Koningsberger, dissertatie Utrecht 1936.

*) Gaarne danken wij hier den heer J. Zwaaneveld voor de zorgvuldige uitvoering der groeistofmetingen.

wij getracht die hoeveelheid energie te vinden, die van de gebruikte hoeveelheid auxine-a-lacton de helft inactieveert. Daar het uiterst moeilijk is om de energie zo te doseren, dat na de bestraling juist de helft van het auxine-a-lacton inactief geworden is hebben wij met elke golflengte enige metingen gedaan waarbij de belichtingstijd gevarieerd werd en uit deze metingen hebben we de energie die nodig is voor de „halve inactivering”, door grafisch interpoleren berekend.

In figuur 3 hebben wij een voorbeeld opgenomen van het grafisch interpoleren, en wel van metingen met licht van $365 \text{ m}\mu$ (vgl. tabel IV). Deze kromme geeft tevens een beeld van het afnemen van de physiologische activiteit bij toeneming van de toegevoerde lichtenergie.

Wij kunnen nu van monochromatisch licht voor verschillende golflengten de energie aangeven die nodig is om van $0,1 \text{ mg}$ auxine-a-lacton, opgelost in $0,5 \text{ cm}^3$ alcohol, de helft te inactiveren. Deze hoeveelheid energie, uitgedrukt in ergs, zullen wij beschouwen als maat voor het inactiverend vermogen van monochromatisch licht. Wanneer wij deze hoeveelheden energie uitzetten tegen de golflengte waarop zij betrekking hebben, ontstaat een kromme die inzicht geeft in de invloed van licht op auxine-a-lacton (fig. 4).

In de tabellen III, IV en V zijn de resultaten van deze metingen opgenomen.

TABEL III.

golflengte in $\text{m}\mu$	duur der bestraling *) in sec.	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
334	600	$11,4 \cdot 10^9$	0,4 %
334	300	$5,7 \cdot 10^9$	8,9 %
334	60	$1,14 \cdot 10^9$	27 %
334	10	$0,19 \cdot 10^9$	48 %

Overzicht van de metingen met licht van $334 \text{ m}\mu$; $0,19 \text{ erg}$ werd aangenomen als de energie nodig voor half inactiveren van het auxine-a-lacton, daar de nauwkeurigheid van de *Avena*-test ongeveer 10 % bedraagt.

*) De intensiteit van de lichtstroom is $\frac{1}{6}$ schaaldeel per seconde, uitgedrukt in het aantal schaaldelen dat de electrometer doorloopt, bij een gevoeligheid van 10 schaaldelen per volt.

TABEL IV.

golflengte in $m\mu$	duur der bestraling *) in sec.	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
365	1200	$72,48 \cdot 10^0$	2,6 %
365	600	$36,24 \cdot 10^0$	19,8 %
365	300	$18,12 \cdot 10^0$	35 %
365	120	$7,25 \cdot 10^0$	65 %
365		$10,5 \cdot 10^0$	50 %

Overzicht van de metingen met licht van $365 m\mu$; de waarde $10,5 \cdot 10^0$ erg werd gevonden door grafisch interpoleren (vgl. fig. 3).

TABEL V.

golflengte in $m\mu$	duur der bestraling *) in sec.	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
405	5400	$7,44 \cdot 10^2$	0,22 %
405	2700	$3,72 \cdot 10^2$	6,8 %
405	1800	$2,54 \cdot 10^2$	21 %
405	600	$0,85 \cdot 10^2$	49,5 %

Overzicht van de metingen met licht van $405 m\mu$; de waarde $0,85 \cdot 10^2$ erg werd aangenomen en als de energie nodig om van het auxine-a-lacton de helft te inactiveren.

*) De intensiteit van de lichtstroom is $\frac{1}{6}$ schaaldeel per seconde, uitgedrukt in het aantal schaaldelen dat de electrometer doorloopt, bij een gevoeligheid van 10 schaaldelen per volt.

Met licht van $313 m\mu$ werd slechts één meting uitgevoerd, waarbij bleek, dat $0,14 \cdot 10^0$ ergs reeds 80 % van het auxine-a-lacton hadden omgezet. Daar het meten van nog kleinere hoeveelheden energie slechts mogelijk zou zijn met een te geringe nauwkeurigheid, hebben wij niet getracht, voor licht van $313 m\mu$ de „half-inactiveringswaarde” te vinden. Daar evenwel de interpoleringskrommen (fig. 3) voor alle golflengten vrijwel de zelfde vorm hebben, kunnen wij wanneer wij een soortgelijke kromme tekenen voor $\lambda = 313 m\mu$, het benodigde aantal ergs ruw berekenen; dit wordt dan $\pm 0,04$. Van licht van $436 m\mu$ bleek een energie van $16,56 \cdot 10^2$ ergs niet voldoende om de activiteit van het auxine-a-lacton te verminderen. Evenzo waren van de golflengten 494, 546 en 578 $m\mu$ respectievelijk $7,2 \cdot 10^2$, $1,46 \cdot 10^4$ en $1,06 \cdot 10^4$ ergs

niet voldoende om een meetbaar gedeelte van het auxine-a-lacton te inactiveren. Zoals reeds is uiteengezet konden de metingen om redenen van experimentele aard, niet worden uitgestrekt tot golflengten kleiner dan $334 \text{ m}\mu$.

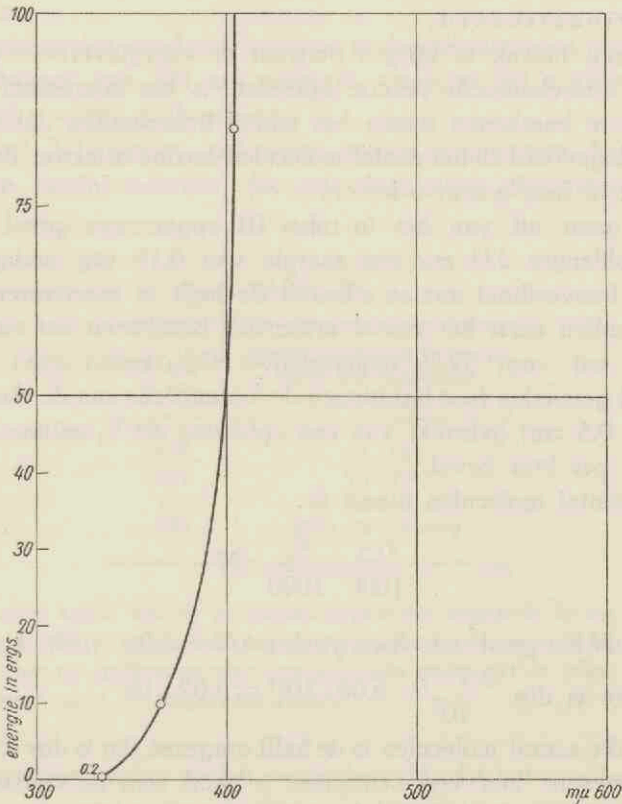


Fig. 4.

De invloed van licht op auxine-a-lacton.

Op de horizontale as is de golflengte afgezet. Op de verticale as is afgezet het aantal ergs dat nodig is om van $0,5 \text{ cm}^3$ van een oplossing van auxine-a-lacton (200 mg/l), de helft te inactiveren.

Uit figuur 4 blijkt dus dat licht met een golflengte groter dan $405 \text{ m}\mu$ geen inactiverende invloed op het auxine-a-lacton heeft. Bij $405 \text{ m}\mu$ blijkt dat een dergelijke invloed optreedt en aanzienlijk toeneemt met het kleiner worden van de golflengte. Bij golflengten

kleiner dan $313 \text{ m}\mu$ zijn geen metingen gedaan, zodat van dit gebied niets met zekerheid te zeggen valt. Gezien het verloop van de kromme lijkt het evenwel waarschijnlijk dat ook bij golflengten kleiner dan $313 \text{ m}\mu$ een belangrijk inactiverend effect aanwezig is.

Het auxine-a-lacton wordt dus door zichtbaar licht niet geïnactiveerd.

Om een indruk te krijgen omtrent de energieverhoudingen die bij deze foto-chemische reactie optreden, is het interessant de verhouding te berekenen tussen het aantal lichtquanten dat door ons wordt toegevoerd en het aantal moleculen auxine-a-lacton dat wordt omgezet in lumi-auxine-a-lacton.

Wij gaan uit van het in tabel III opgenomen geval, waarbij voor golflengte $334 \text{ m}\mu$ een energie van $0,19 \text{ erg}$ nodig is om van de hoeveelheid auxine-a-lacton de helft te inactiveren.

Wij zullen eerst het aantal moleculen berekenen dat omgezet is, waarbij wij voor 52% gemakshalve 50% zullen lezen, daar de hierdoor gemaakte fout ligt binnen de foutengrens van de *Avena*-test.

Er is $0,5 \text{ cm}^3$ gebruikt van een oplossing die $\frac{2}{3}$ millimol auxine-a-lacton per liter bevat.

Het aantal moleculen hierin is:

$$\frac{0,5}{1000} \cdot \frac{2}{3} \cdot N$$

hierin is N het getal van Avogadro ($N = 6,06 \cdot 10^{23}$). Het aantal moleculen is dus $\frac{0,5 \cdot \frac{2}{3}}{10^6} \cdot 6,06 \cdot 10^{23} = 2,02 \cdot 10^{17}$.

Van dit aantal moleculen is de helft omgezet, dat is dus $1,01 \cdot 10^{17}$.

De energie van een lichtquant is gelijk aan de constante van Planck (h), vermenigvuldigd met de frequentie (ν).

$$h = 6,55 \cdot 10^{-27}$$

$$\nu_{334} = 9 \cdot 10^{14}$$

De energie van één lichtquant van $334 \text{ m}\mu$ is $6,55 \cdot 10^{-27} \cdot 9 \cdot 10^{14} = 6,55 \cdot 9 \cdot 10^{-13} \text{ ergs}$.

Eén erg komt dus overeen met $\frac{1}{9 \cdot 6,55} \cdot 10^{13}$ quanten van $334 \text{ m}\mu$.

$0,19 \text{ erg}$ komt overeen met $\frac{0,19}{9 \cdot 6,55} \cdot 10^{13}$ van deze lichtquanten.

Door $\frac{0,19}{9 \cdot 6,55} \cdot 10^{18}$ quanten van $334 \text{ m}\mu$ worden dus $1,01 \cdot 10^{17}$ moleculen omgezet.

Door één quant worden omgezet $\frac{1,01 \cdot 9 \cdot 6,55 \cdot 10^{17}}{0,19 \cdot 10^{18}} = 3,1 \cdot 10^6$ moleculen.

Er worden dus rond drie millioen moleculen auxine-a-lacton door één lichtquant van $334 \text{ m}\mu$ omgezet, wanneer wij aannemen, dat al het licht wordt geabsorbeerd.

In tabel VI vinden wij voor enkele golflengten het aantal moleculen auxine-a-lacton dat per ingevallen lichtquant wordt omgezet.

TABEL VI.

golflengte in $\text{m}\mu$	aantal moleculen geïnacti- veerd per ingevallen lichtquant
334	$3,1 \cdot 10^6$
365	$5,2 \cdot 10^4$
405	$5,8 \cdot 10^3$
436	geen inactivering

In de eerste kolom zijn de golflengten opgenomen uitgedrukt in $\text{m}\mu$, terwijl in de tweede kolom is opgenomen het aantal moleculen auxine-a-lacton dat door één quant van die golflengten wordt omgezet (één quant niet te lezen als geabsorbeerd quant, maar als toegevoerd quant).

Bij deze berekening wordt verondersteld, dat het invallende licht geheel wordt geabsorbeerd. Daarmee komen we echter aan een zeer belangrijk punt.

Zoals vroeger reeds vermeld, absorbeert auxine-a ultraviolet licht niet in die mate, dat de absorptie met behulp van de foto-electrische methode van Pohl kan worden gemeten (vgl. tabel I). Bij de vorming van auxine-a-lacton ontstaan geen nieuwe chromofore groepen; theoretisch is dus ook geen verandering van de absorptie, vergeleken met auxine-a, te verwachten. Wij mogen dus mede op grond van empirische beschouwingen van Smakula en Dimroth aannemen dat auxine-a-lacton evenals auxine-a niet absorbeert in het door

ons onderzochte ultraviolette gebied¹¹⁾. Gezien de geringe hoeveelheid licht, welke nodig is voor de inactivering, zal het althans met de door ons gebruikte methode, niet mogelijk zijn de absorptie van auxine-a-lacton te bepalen, daar wij altijd het spectrum van lumi-auxine-a-lacton zullen vinden. Ook bij de tegenwoordige stand van de experimentele techniek lijkt het bijna onmogelijk om een methode te vinden, waarmee door het gebruiken van minimale hoeveelheden licht de absorptie van auxine-a-lacton in het ultraviolet zou kunnen worden gemeten, zonder dat gelijktijdig ook een gedeeltelijke inactivering optreedt.

Aangezien auxine-a-lacton volgens het inzicht dat wij in zijn structuur hebben, bij de betrokken golflengten nauwelijks licht kan absorberen, schijnt het dat de gevonden feiten in strijd zijn met de in de physica algemeen aanvaarde theorie, volgens welke slechts de geabsorbeerde energie foto-chemische omzettingen kan veroorzaken. Uiteraard kunnen wij in dit stadium van het onderzoek nog geen definitieve verklaring geven, maar we zien toch een mogelijkheid, door welke het raadsel zou kunnen worden opgelost. In het eerste hoofdstuk werd vermeld, dat auxine-a-lacton ook in gekristalliseerde toestand in de loop van enkele maanden in lumi-auxine-a-lacton wordt omgezet. De inactivering is dus zonder bestraling door ultraviolet licht een zeer langzaam verlopend proces. Wij mogen echter veronderstellen, dat reeds vanaf de afscheiding van het gekristalliseerde auxine-a-lacton de inactivering begint en dit zal vooral in oplossing het geval zijn. Om redenen van experimentele aard moesten wij vaak gebruik maken van kristallisaten, welke enkele dagen of zelfs enkele weken oud waren; we moeten dus vaststellen, dat alle door ons gebruikte oplossingen een, zij het minimale hoeveelheid lumi-auxine-a-lacton hebben bevat. Het lijkt daarom niet onmogelijk, dat lumi-auxine-a-lacton het werkzame licht absorbeert en als sensibilisator voor de inactivering van niet omgezet auxine-a-lacton fungeert. Nu weten wij echter, dat lumi-auxine-a-lacton licht met golflengten groter dan 330 m μ niet absorbeert, terwijl de inactivering — weliswaar „langzaam” — ook in het gebied van 330—405 m μ plaats heeft. In dit verband mogen wij wijzen op de in hoofdstuk V

¹¹⁾ A. Smakula, Z. Angew. Chem. 47, 657 (1934); K. Dimroth, Z. Angew. Chem. 52, 545 (1939).

beschreven proeven (vgl. ook fig. 10). Uit deze experimenten blijkt, dat door opensplitsen van de lactonring van lumi-auxine-a-lacton een sterk chromofoor systeem ontstaat. De tot nu toe niet geïsoleerde reactieproducten absorberen tot iets boven 400 m μ . Hoewel het mechanisme van de overgang van auxine-a-lacton in het lumi-derivaat in chemisch opzicht niet nader bekend is, is het op grond van deze experimenten niet buitengesloten, dat deze omzetting via sterk absorberende tussenproducten verloopt. Daar onze oplossingen in dit gebied ten hoogste 1 % absorptie vertonen, kan de concentratie van deze tussenproducten dienovereenkomstig slechts gering zijn. In elk geval zien wij echter de mogelijkheid, dat uit auxine-a-lacton zelf „sensibilisatoren” voor de foto-chemische omzetting gevormd kunnen worden. Deze hypothese is zeker aantrekkelijker dan te moeten veronderstellen, dat ook in de zuiverste preparaten een verontreiniging van volkomen onbekende aard aanwezig zou zijn.

Uit bovenstaande beschouwing blijkt duidelijk dat het niet mogelijk is om de quantenopbrengst, dat is het aantal moleculen dat per geabsorbeerd quant wordt omgezet, te berekenen. In elk geval kan worden geconstateerd dat deze opbrengst nog aanzienlijk groter is dan het bedrag dat wij hebben berekend voor het totaal aantal quanten. De grote lichtgevoeligheid van het auxine-a-lacton is oorzaak dat het uiterst moeilijk zal zijn om deze foto-chemische reactie verder na te gaan. De *Avena*-test die ons enerzijds de mogelijkheid bood om de reactie quantitatief te onderzoeken, werkt niet voldoende snel om b.v. een eventueel voortschrijden van de reactie na afloop van de belichting te constateren. Dit toch zou onderzocht moeten worden in verband met de waarschijnlijkheid, dat wij hier met een kettingreactie te doen hebben.

HOOFDSTUK IV.

HET IJKEN VAN DE FOTOCCEL.

Bij de aanvang van dit gedeelte van het proefschrift maak ik gaarne van de geboden gelegenheid gebruik, om mijn bijzondere dank te betuigen aan Prof. Ornstein, voor het welwillend in bruikleen afstaan van de apparatuur en het materiaal van het Physisch Laboratorium te Utrecht, nodig voor het ijken van de fotocel. Mede breng ik hartelijke dank aan den heer K. J. Keller van het Physisch Laboratorium voor de aangename wijze van samenwerken bij het uitvoeren van de in dit hoofdstuk beschreven metingen.

Wij hebben voor deze ijking gebruik gemaakt van de dubbel-monochromator volgens Pohl, zoals die is beschreven door C. Koningsberger, een kwartsspectrograaf en een geijkte bandlamp, die gevoed wordt door een accumulatorenbatterij.

Wij zullen beginnen met het principe van de ijking te bespreken.

De monochromator wordt zodanig ingesteld, dat licht van slechts één golflengte op een wit vlakje een homogene lichtvlek doet ontstaan. Wij vervangen nu het witte vlakje door een diafragma, waarvan de afmetingen nauwkeurig bekend zijn; dit diafragma wordt geplaatst in een homogeen gedeelte van de lichtstroom. Na het diafragma te hebben gepasseerd, bereikt het licht de fotocel en veroorzaakt daar een electronenstroom, die een snaar-electrometer oplaadt. Het aantal schaaldelen, dat de snaar per tijdseenheid doorloopt, is evenredig met de hoeveelheid energie, die in de fotocel valt.

Bij een bepaalde gevoeligheid van de electrometer wordt nu de intensiteit van de invallende lichtstroom gemeten in het aantal schaaldelen dat de snaar van de electrometer per seconde aflegt.

Teneinde nu de intensiteit in een absolute maat uit te drukken, hebben wij de objectieve of physische helderheid van het witte

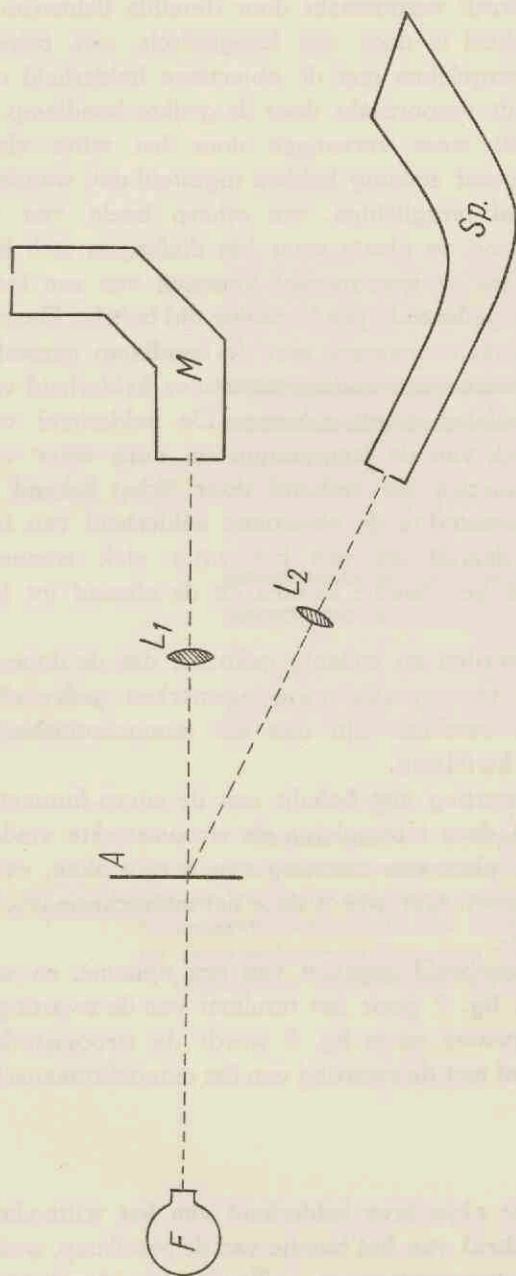


Fig. 5.

Schematische opstelling voor het ijkken van de fotocel.

M = de dubbelmonochromator volgens Pohl.

F = de fotocel.

Sp = de spectrograaf.

A = het witte vlakje.

L₁ en L₂ zijn kwartslenzen.

vlakje gemeten, die wordt veroorzaakt door dezelfde lichtstroom. Deze objectieve helderheid is door ons fotografisch, met behulp van een spectrograaf, vergeleken met de objectieve helderheid die op het witte vlak wordt veroorzaakt door de geijkte bandlamp.

Het diafragma wordt weer vervangen door het witte vlak, waarna wij de spectrograaf zodanig hebben ingesteld dat, wanneer we door de spectrograaf teruglichten, een scherp beeld van de spleet wordt gevormd op de plaats waar het diafragma zich bevond. Daarna hebben we de spectrograaf voorzien van een fotografische plaat en deze gedurende een bepaalde tijd belicht. Daarna zijn op dezelfde plaat enkele opnamen met de bandlamp gemaakt, waarbij voor iedere opname een andere objectieve helderheid van het bandje van de bandlamp wordt gekozen. De helderheid van het bandje is afhankelijk van de temperatuur en deze weer van de stroomsterkte. Aangezien dit verband door ijking bekend is, kunnen wij uit de stroomsterkte de objectieve helderheid van het bandje berekenen, en daaruit die van het witte vlak wanneer wij het oppervlak van het bandje kennen en de afstand tot het witte vlak.

De stroomsterkten worden nu zodanig gekozen, dat de door de bandlamp op de plaat veroorzaakte zwartingsmerken gedeeltelijk sterker en gedeeltelijk zwakker zijn dan het monochromatische zwartingsmerk van de kwiklamp.

Na meten van de zwarting met behulp van de micro-fotometer van Moll, kunnen wij door interpoleren de stroomsterkte vinden die op de fotografische plaat een zwarting zou veroorzaken, even groot als die welke veroorzaakt wordt door het monochromatische licht van de kwiklamp.

In figuur 6 is een voorbeeld gegeven van een opname, en wel die voor $\lambda = 2699 \text{ \AA}$, fig. 7 geeft het resultaat van de zwartingsmeting van dezelfde opname en in fig. 8 wordt de stroomsterkte bepaald die overeenkomt met de zwarting van het monochromatische zwartingsmerk.

Stellen wij nu:

Ω_m = monochromatische objectieve helderheid van het witte vlak;
 Ω_b = objectieve helderheid van het bandje van de bandlamp, welke men bij gegeven temperatuur en golfengte kan berekenen;

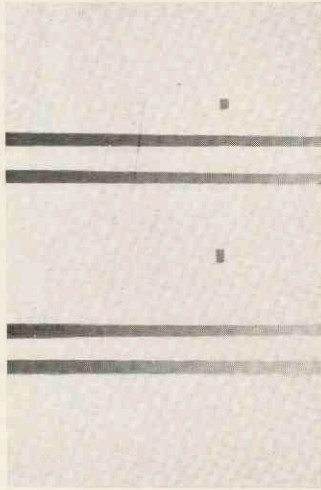


Fig. 6.

Ijkplaat voor $\lambda = 2699 \text{ \AA}$

De vier lijnen zijn de continue zwartingsmerken van de bandlamp, van boven naar beneden bij stroomsterkten van resp. 16, 15,6, 15 en 14 Ampère. De beide andere zwartingsmerken zijn de monochromatische van de kwiklamp (2699 \AA).

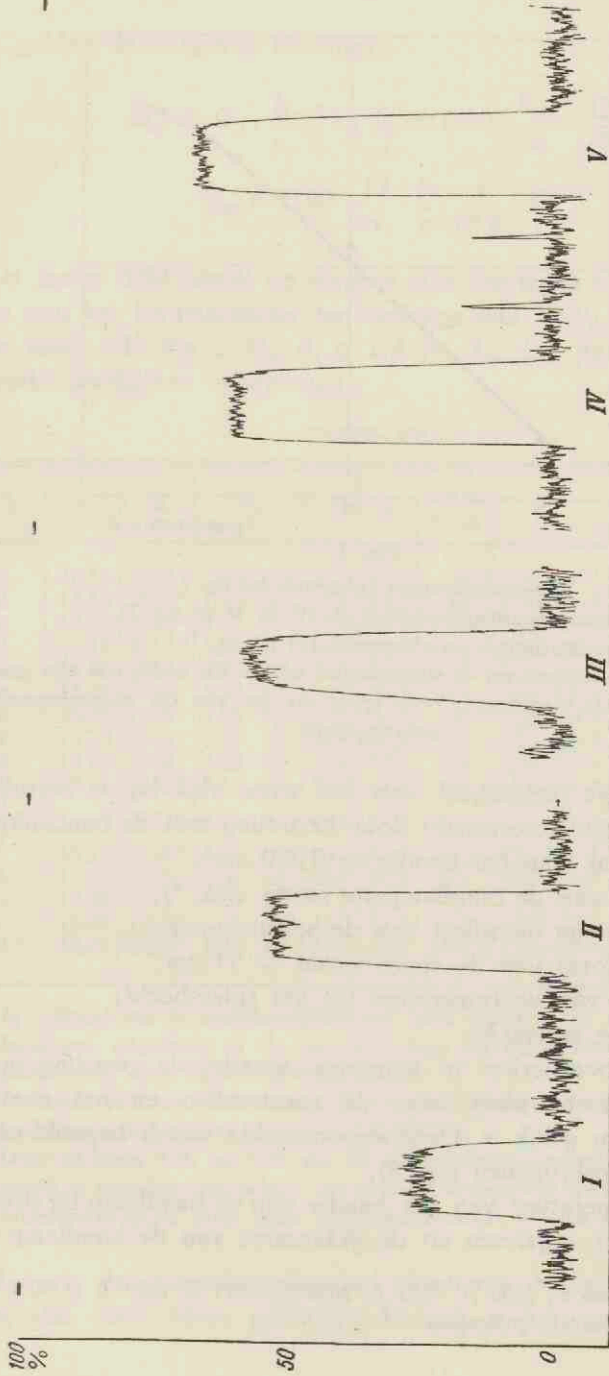


Fig. 7.

Fotometercurve van de ijkplaat voor 2669 Å (fig. 6).

I, II, IV en V zijn de zwartingsmerken van de bandlamp, III is het monochromatische zwartingsmerk van de kwiklamp.

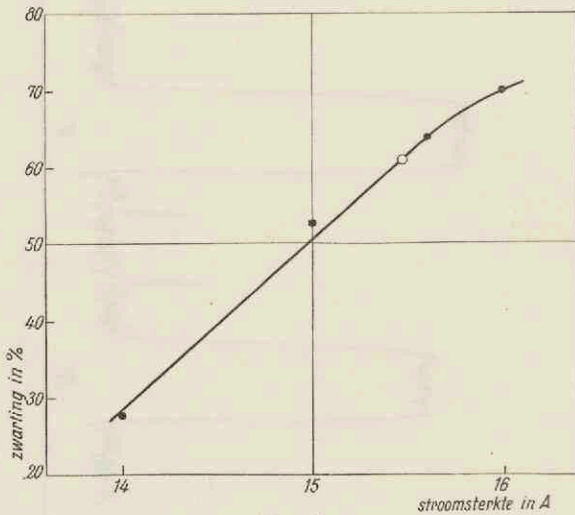


Fig. 8.

Zwartingskromme behorende bij fig. 7.

● Continue zwartingsmerken (I, II, IV en V uit fig. 7).

○ Monochromatisch zwartingsmerk (III uit fig. 7).

Uit deze kromme kunnen wij de stroomsterkte aflezen die nodig zou zijn geweest om een zwarting te veroorzaken even groot als die van het monochromatische zwartingsmerk.

Ω_c = objectieve helderheid van het witte vlak bij de betrokken golflengte, veroorzaakt door bestraling met de bandlamp;

O = oppervlak van het bandje = $0,260 \text{ cm}^2$;

d = afstand van de bandlamp tot witte vlak; *)

b = breedte van de spleet van de spectrograaf;

r = collimatoras van de spectrograaf = 51 cm ;

s = afstand van de cameralens tot het spleetbeeld;

δ = dispersie in $\text{cm}/\text{\AA}$;

i = die stroomsterkte in ampère's, waarbij de zwarting op de fotografische plaat voor de spectraallijn en het continue spectrum gelijk is. Deze stroomsterkte wordt bepaald uit de zwartingskrommen (fig. 8);

T = de temperatuur van het bandje van de bandlamp bij stroomsterkte i , afgelezen uit de ijk-kromme van de bandlamp;

*) $d = 0,050 \text{ cm}$ bij 2536 \AA , 2652 \AA , 2699 \AA , 2753 \AA , 2804 \AA en 3020 \AA en $0,030 \text{ cm}$ bij de andere golflengten.

dan gelden de volgende formules:

$$\Omega_m = \Omega_c \cdot \frac{b \cdot s}{r \cdot \delta} \text{ en } \Omega_c = 0,90 \cdot \frac{\Omega_b}{\pi} \cdot \frac{O}{d^2}$$

$$\Omega_m = 0,90 \cdot \frac{O}{\pi} \cdot \frac{b}{r} \cdot \frac{s}{d^2 \delta} \cdot \Omega_b$$

De factor 0,90 treedt op wegens reflecties tegen vóór- en achterzijde van het kwartsvenster ten bedrage van 10 0/0.

In tabel VII zijn i , Ω_b , d , s , $1/\delta$ en Ω_m bij de verschillende gemeten kwiklijnen opgenomen:

TABEL VII.

$\lambda^*)$	i	T	Ω_b	d	s	$1/\delta$ in Å/cm	Ω_m
2536	16,16	2840°	$1,25 \cdot 10^1$	17,0	51,9	81,5	$1,33 \cdot 10^{-2}$
2652	15,54	2759°	$1,33 \cdot 10^1$	17,5	53,2	89	$1,50 \cdot 10^{-2}$
2699	15,48	2752°	$1,57 \cdot 10^1$	17,3	53,8	93	$1,92 \cdot 10^{-2}$
2753	15,17	2712°	$1,58 \cdot 10^1$	16,5	54,3	98	$2,25 \cdot 10^{-2}$
2804	16,20	2845°	$5,23 \cdot 10^1$	20,2	54,8	103	$5,28 \cdot 10^{-2}$
2894	15,75	2786°	$5,30 \cdot 10^1$	20,0	55,3	115	$3,69 \cdot 10^{-2}$
2970	15,21	2716°	$4,65 \cdot 10^1$	19,2	56,2	126	$3,91 \cdot 10^{-2}$
3022	15,29	2726°	$6,35 \cdot 10^1$	24,7	56,5	135	$5,79 \cdot 10^{-2}$
3132	14,96	2684°	$7,45 \cdot 10^1$	20,4	57,0	154	$6,89 \cdot 10^{-2}$
3341	14,56	2635°	$1,13 \cdot 10^2$	29,0	58,0	194	$6,61 \cdot 10^{-2}$
365 ₅ ⁰ **)	15,34	2733°	$4,91 \cdot 10^2$	45,5	59,3	262	$1,61 \cdot 10^{-1}$
4047	15,33	2732°	$1,18 \cdot 10^3$	46,0	60,8	363	$5,39 \cdot 10^{-1}$
4078	11,80	2290°	$1,06 \cdot 10^2$	46,0	60,9	371	$4,95 \cdot 10^{-2}$
4358	15,20	2715°	$1,88 \cdot 10^3$	51,5	61,5	447	$8,64 \cdot 10^{-1}$
5461	12,41	2368°	$1,69 \cdot 10^3$	48,0	62,2	835	$1,67 \cdot 10^0$
5780	12,15	2335°	$1,96 \cdot 10^3$	48,5	62,3	1005	$2,29 \cdot 10^0$

*) In verband met de nauwkeurigheid van deze ijking is de golflengte in dit hoofdstuk uitgedrukt in Å, in tegenstelling met het andere gedeelte van dit proefschrift, waar hij is uitgedrukt in $m\mu$.

***) De lijnen 3650 en 3655 konden niet afzonderlijk worden gemeten daar de zwartingsmerken elkaar bijna geheel bedekten.

****) Daar de lijnen 4047 en 4078 met de dubbelmonochromator van Pohl niet geheel te scheiden zijn, hebben wij de monochromatische objectieve helderheden samengeteld en de beide lijnen bij de berekeningen als één lijn beschouwd.

Nu wij de monochromatische objectieve helderheid van het witte vlak voor iedere golflengte kennen, is het gemakkelijk om

de energiestroom te berekenen, die in de fotocel valt; deze is Ω_m maal de oppervlakte van het diafragma $= 0,123 \cdot \Omega_m$.

Wij kennen bovendien het aantal schaaldelen dat de snaar van de electrometer per seconde aflegt bij de gebruikte gevoeligheid van 10 schaaldelen per volt.

Het quotient van deze twee grootheden is dan voor elke golflengte de gevoeligheid van de fotocel, uitgedrukt in het aantal schaaldelen per seconde, bij een lichtstroom van 1 erg per seconde.

In onderstaande tabel hebben wij voor iedere golflengte opgenomen, de energiestroom in ergs per seconde, het aantal schaaldelen per seconde en de gevoeligheid.

TABEL VIII.

λ	energiestroom in erg/sec.	aantal schaaldelen per sec.	gevoeligheid in schaaldelen per sec. per erg per sec. *)
2536	$1,64 \cdot 10^{-3}$	$1,22 \cdot 10^{-2}$	$7,45 \cdot 10^0$
2652	$1,85 \cdot 10^{-3}$	$1,13 \cdot 10^{-2}$	$6,10 \cdot 10^0$
2699	$2,36 \cdot 10^{-3}$	$1,33 \cdot 10^{-2}$	$5,65 \cdot 10^0$
2753	$2,76 \cdot 10^{-3}$	$1,28 \cdot 10^{-2}$	$4,64 \cdot 10^0$
2804	$6,48 \cdot 10^{-3}$	$2,44 \cdot 10^{-2}$	$0,376 \cdot 10^1$
2894	$4,54 \cdot 10^{-3}$	$2,94 \cdot 10^{-2}$	$0,649 \cdot 10^1$
2970	$4,80 \cdot 10^{-3}$	$5,55 \cdot 10^{-2}$	$1,16 \cdot 10^1$
3022	$7,11 \cdot 10^{-3}$	$1,11 \cdot 10^{-1}$	$1,56 \cdot 10^1$
3132	$8,46 \cdot 10^{-3}$	$9,90 \cdot 10^{-2}$	$1,17 \cdot 10^1$
3341	$8,12 \cdot 10^{-3}$	$7,15 \cdot 10^{-2}$	$8,80 \cdot 10^0$
3652	$1,98 \cdot 10^{-2}$	$5,46 \cdot 10^{-2}$	$2,76 \cdot 10^0$
4050	$7,24 \cdot 10^{-2}$	$8,76 \cdot 10^{-2}$	$1,21 \cdot 10^0$
4358	$1,06 \cdot 10^{-1}$	$7,70 \cdot 10^{-2}$	$7,26 \cdot 10^{-1}$
5461	$2,05 \cdot 10^{-1}$	$1,68 \cdot 10^{-1}$	$8,20 \cdot 10^{-2}$
5780	$2,82 \cdot 10^{-1}$	$8,0 \cdot 10^{-3}$	$2,84 \cdot 10^{-2}$

*) Bij een gevoeligheid van de electrometer van 10 schaaldelen per volt.

In fig. 9 hebben wij op de horizontale as de golflengte en op de verticale as de gevoeligheid uitgezet.

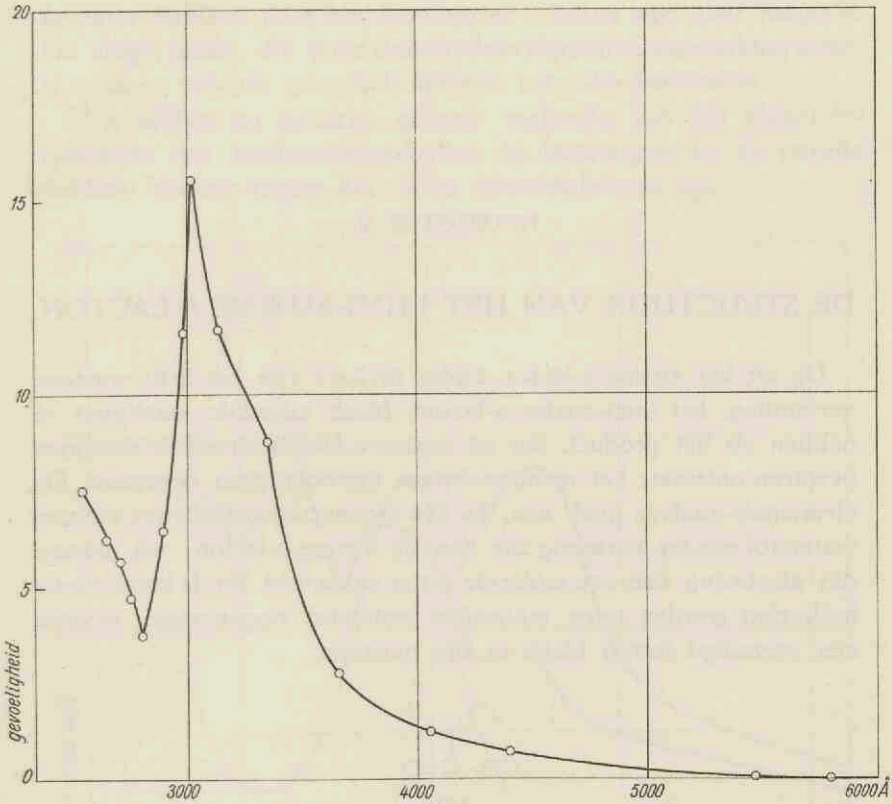


Fig. 9.

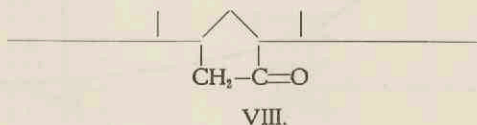
Gevoeligheidskromme van fotocel en electrometer.

De gevoeligheid is als functie van de golflengte opgegeven in het aantal schaaldelen, dat de electrometer, bij een gevoeligheid van 10 schaaldelen per volt, doorloopt, als er in de fotocel een lichtstroom valt van één erg per seconde.

HOOFDSTUK V.

DE STRUCTUUR VAN HET LUMI-AUXINE-A-LACTON.

De uit het auxine-a-lacton onder invloed van het licht ontstane verbinding, het lumi-auxine-a-lacton, bleek hetzelfde smeltpunt te hebben als het product, dat uit auxine-a-lacton bij enkele maanden bewaren ontstaat; het mengsmeltpunt vertoont geen depressie. De elementair-analyse geeft aan, dat één atoom zuurstof en twee atomen waterstof minder aanwezig zijn dan bij auxine-a-lacton; wij moeten dus afsplitsing van een molecule water aannemen. Bij de katalytische hydrering werden twee moleculen waterstof opgenomen, waarna een verzadigd lacton bleek te zijn ontstaan.



De oxydatieve afbraak met behulp van ozon leverde een keton (VIII), dat identiek was met het product, dat vroeger door oxydatie van dihydro-auxine-a was verkregen. Verder bleek uit een bepaling van het aantal actieve waterstofatomen volgens Zerewitinoff, dat één waterstofatoom actief was, hetwelk dan alleen in een hydroxylgroep aanwezig kan zijn. Het ontstaan van het ringketon VIII bij de ozonafbraak wees erop, dat één der dubbele bindingen een semi-cyclische positie inneemt, terwijl de andere in de lactonring aanwezig moet zijn. Deze tweede dubbele binding kon niet tussen de koolstofatomen α en β liggen, omdat, indien aan die koolstofatomen waterafplitsing had plaats gevonden, naar analogie van de vorming van auxine-b uit auxine-a, een enol- of keto-verbinding zou ontstaan. De hydroxylgroep moet een alcoholisch

karakter hebben, daar het lumi-auxine- α -lacton niet zuur reageert. De enige plaats, die voor deze hydroxylgroep in aanmerking komt, is volgens vroeger genoemde auteurs het α -koolstofatoom.

Wij hebben nu getracht, gebruik makende van het absorptiespectrum van lumi-auxine- α -lacton, te bevestigen dat de tweede dubbele binding tussen het β - en γ -koolstofatoom ligt.

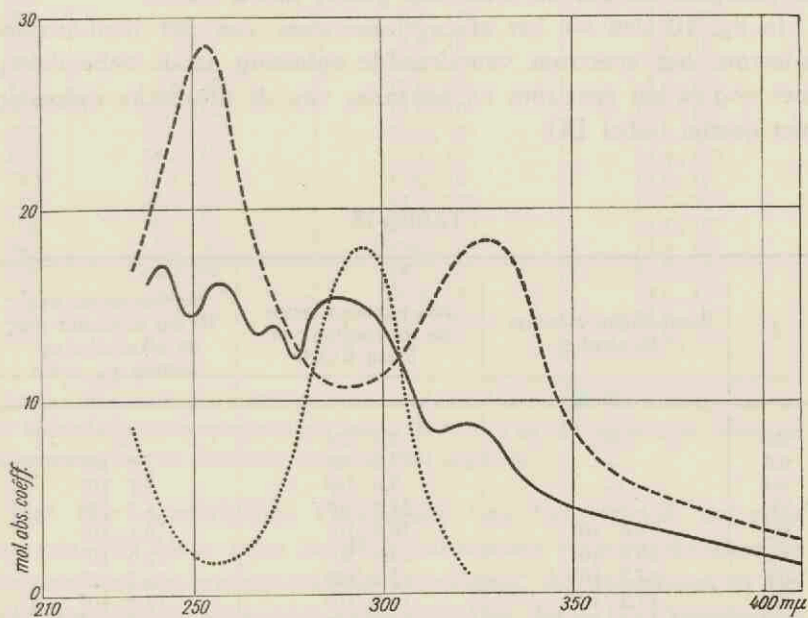


Fig. 10.

..... lumi-auxine- α -lacton in alcohol.

--- dezelfde oplossing na toevoegen van 5 mg kaliumhydroxyde.

— na aanzuren met azijnzuur van de alkalische oplossing tot $p_H = 4,8$.

In de eerste plaats hebben wij geprobeerd, de lactonring open te splitsen, om dan van het zuur of zijn zout een absorptiespectrum te meten. De lactonring bleek gemakkelijk door kaliumhydroxyde te worden opengesplitst. In een Smakula-cuvet werd aan $0,5 \text{ cm}^3$ van een alcoholische oplossing van lumi-auxine- α -lacton, die 200 mg per liter bevatte, 5 mg kaliumhydroxyde p.a. toegevoegd. De oplossing werd intensief geel, welke verkleuring na ongeveer een minuut veranderde in zeer zwak bruin. Na ongeveer een half uur

werd de absorptie van de oplossing gemeten. Het spectrum bleek een grondige verandering te hebben ondergaan. Er waren nu twee maxima ontstaan, waarvan één bij 325 $m\mu$ en het andere bij 255 $m\mu$.

Na afloop van de meting werd aan de oplossing in het cuvet 10 mg ijszijn p.a. toegevoegd, waarna de $p_H = 4,8$ was. Het absorptiespectrum gaf nu weer een geheel nieuw beeld.

In fig. 10 zien wij het absorptiespectrum van het lumi-auxine-a-lacton, het spectrum van dezelfde oplossing na de behandeling met loog en het spectrum na aanzuren van de alkalische oplossing met ijszijn (tabel IX).

TABEL IX.

λ	lumi-auxine-a-lacton in alcohol	lumi-auxine-a-lacton na toevoeging van 5 mg KOH	na toevoegen van 10 mg azijnzuur aan de alkalische op- lossing $p_H = 4,8$
436	—	$2,4 \cdot 10^3$	—
405	—	$2,9 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$
365	—	$5,6 \cdot 10^3$	$4,7 \cdot 10^3$
334	—	$18,2 \cdot 10^3$	$6,7 \cdot 10^3$
313	$3,6 \cdot 10^3$	$16,9 \cdot 10^3$	$9,1 \cdot 10^3$
302	$15,3 \cdot 10^3$	$13,5 \cdot 10^3$	$15,5 \cdot 10^3$
297	$17,7 \cdot 10^3$	$12,1 \cdot 10^3$	$16,3 \cdot 10^3$
289	$17,2 \cdot 10^3$	$11,1 \cdot 10^3$	$17,2 \cdot 10^3$
280	$11,3 \cdot 10^3$	$11,8 \cdot 10^3$	$15,0 \cdot 10^3$
275	$7,3 \cdot 10^3$	$13,5 \cdot 10^3$	$13,5 \cdot 10^3$
270	$4,6 \cdot 10^3$	$16,9 \cdot 10^3$	$13,1 \cdot 10^3$
265	$3,3 \cdot 10^3$	$19,4 \cdot 10^3$	$14,7 \cdot 10^3$
254	$2,2 \cdot 10^3$	$31,8 \cdot 10^3$	$15,5 \cdot 10^3$
248	$3,4 \cdot 10^3$	$27,6 \cdot 10^3$	$15,0 \cdot 10^3$
240	$5,9 \cdot 10^3$	$22,2 \cdot 10^3$	$13,5 \cdot 10^3$

Moleculaire absorptie-coëfficiënt van lumi-auxine-a-lacton (2e kolom), van het met kaliumhydroxyde opengesplitste lacton (3e kolom) en van het product verkregen na aanzuren van de alkalische oplossing met azijnzuur.

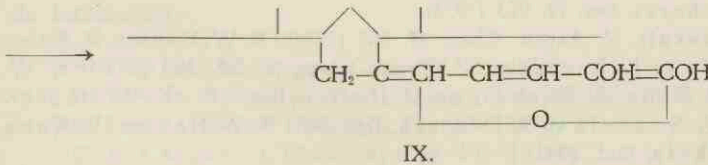
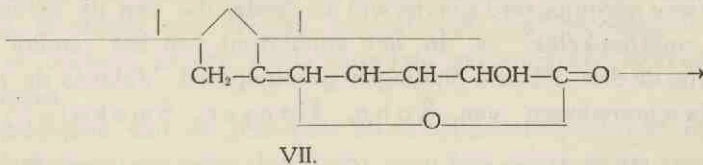
Een dergelijke behandeling, waarbij evenwel 18 mg kaliumhydroxyde en 40 mg ijszijn werd toegevoegd tot $p_H = 3,4$, gaf vrijwel dezelfde absorptiespectra te zien (tabel X).

TABEL X.

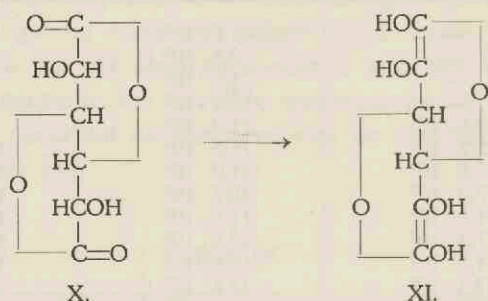
λ	lumi-auxine-a-lacton in alcohol	lumi-auxine-a-lacton na toevoeging van 18 mg KOH	na toevoegen van 40 mg azijnzuur aan de alkalische op- lossing $p_H = 3,4$
436	—	$1,7 \cdot 10^3$	—
405	—	$2,8 \cdot 10^3$	$1,7 \cdot 10^3$
365	—	$5,6 \cdot 10^3$	$3,7 \cdot 10^3$
334	—	$17,2 \cdot 10^3$	$6,5 \cdot 10^3$
313	$3,6 \cdot 10^3$	$11,0 \cdot 10^3$	$8,5 \cdot 10^3$
302	$15,2 \cdot 10^3$	$15,6 \cdot 10^3$	$13,0 \cdot 10^3$
297	$17,6 \cdot 10^3$	$11,0 \cdot 10^3$	$14,6 \cdot 10^3$
289	$17,0 \cdot 10^3$	$10,7 \cdot 10^3$	$15,4 \cdot 10^3$
280	$11,1 \cdot 10^3$	$11,6 \cdot 10^3$	$13,8 \cdot 10^3$
275	$7,3 \cdot 10^3$	$13,5 \cdot 10^3$	$12,7 \cdot 10^3$
270	$4,7 \cdot 10^3$	$16,8 \cdot 10^3$	$13,8 \cdot 10^3$
265	$3,3 \cdot 10^3$	$18,6 \cdot 10^3$	$13,8 \cdot 10^3$
254	$2,2 \cdot 10^3$	$28,1 \cdot 10^3$	$15,8 \cdot 10^3$
248	$3,6 \cdot 10^3$	$26,2 \cdot 10^3$	$14,6 \cdot 10^3$
240	$6,2 \cdot 10^3$	$21,0 \cdot 10^3$	$16,8 \cdot 10^3$
238	—	$19,3 \cdot 10^3$	$16,3 \cdot 10^3$

Moleculaire absorptie-coëfficiënt van lumi-auxine-a-lacton (2e kolom), van het met kaliumhydroxyde opengesplitste lacton (3e kolom) en van het product, verkregen na aanzuren van de alkalische oplossing met azijnzuur.

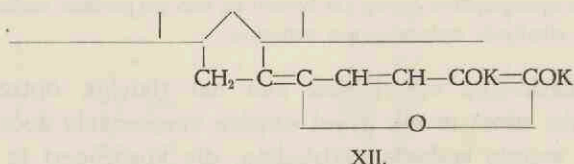
Het zeer opmerkelijke verschijnsel van het tijdelijk optreden van een gele kleur moet in elk geval worden veroorzaakt door het ontstaan van een weinig stabiele verbinding, die absorbeert in het zichtbare gebied. Wij kunnen ons voorstellen, dat de C=O groep van de lactonring geëmoliseerd wordt onder invloed van kaliumhydroxyde. Wij krijgen dus in eerste instantie de volgende reactie:



Een soortgelijk „endiol” (XI) wordt door Haworth¹²⁾ aangenomen bij de inwerking van kaliumhydroxyde op het dilacton van mannosuikerzuur (X). Dit dilacton reageert namelijk met kaliumhydroxyde zonder dat één der lactonringen wordt opengesplitst, terwijl eveneens een gele kleur optreedt.



Het „endiol” (IX), waarvan beide hydroxylgroepen een zuur karakter hebben, vormt dan met de overmaat loog een zout. Wij krijgen dus de verbinding:



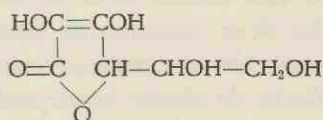
Wanneer het chromofore systeem van deze verbinding vergeleken wordt met dat van lumi-auxine-a-lacton, dan valt op dat in het lumi-auxine-a-lacton van de drie aanwezige dubbele bindingen er twee geconjugeerd zijn, terwijl de derde, die van de carbonylgroep, „onafhankelijk” is. In het kaliumzout van het „endiol” evenwel zijn de drie dubbele bindingen geconjugeerd. Volgens de empirische beschouwingen van Kuhn, Hauser, Smakula¹³⁾ en van

¹²⁾ W. N. Haworth, *J. Soc. Chem. Ind. (Chem. and Ind.)* 52, 482 (1933); K. Rehorst, *Ber.* 71, 923 (1938).

¹³⁾ A. Smakula, *Z. Angew. Chem.* 47, 657 (1934); K. W. Hauser, R. Kuhn, A. Smakula en K. Kreuchen, *Z. Physik. Chem. (B)* 29, 363 (1935); K. W. Hauser, R. Kuhn, A. Smakula en M. Hoffer, *Ibid.* 371; K. W. Hauser, R. Kuhn, A. Smakula en A. Deutsch, *Ibid.* 378; K. W. Hauser, R. Kuhn en A. Smakula, *Ibid.* 384.

Dimroth¹⁴⁾ wordt het maximum van een absorptiespectrum door verlengen van een geconjugeerd systeem met één dubbele binding, 25 à 30 m μ naar de kant van de lange golflengten verschoven.

Maar behalve het verlengen van het geconjugeerde systeem is er nog een oorzaak, die een verschuiving van het absorptiemaximum naar de kant van de lange golflengten tot gevolg heeft. Dit is namelijk de zoutvorming, die bij enolische of phenolische hydroxyl-groepen steeds een bathochroom effect heeft. Zo is de absorptiekromme van natriumphenolaat vergeleken bij die van phenol 23 m μ naar de kant van de lange golflengten verschoven¹⁵⁾. Bij o-oxybiphenyl bedraagt de verschuiving tengevolge van zoutvorming 42 m μ ¹⁶⁾. Ook bij ascorbinezuur (XIII) treedt dit verschijnsel op; voor p_H \ll 3,0 ligt het maximum bij 242 m μ , voor p_H = 5,5–11,5 bij 264 m μ en voor p_H \gg 12,5 bij 298 m μ ¹⁷⁾. Deze maxima komen resp. op rekening van het ongedissociëerde zuur, het eenwaardige ion en het tweewaardige ion.



XIII.

Het is dus zeer wel mogelijk dat tengevolge van deze omzetting met kaliumhydroxyde een zout ontstaat dat in het zichtbare gebied absorbeert. Het ontstaan van het „endiol” (IX) is onder de gegeven omstandigheden bovendien niet onwaarschijnlijk te achten, omdat, wanneer in een molecule meerdere dubbele bindingen aanwezig zijn, er steeds een neiging bestaat om een geconjugeerd systeem te vormen, of een reeds aanwezig geconjugeerd systeem uit te breiden.

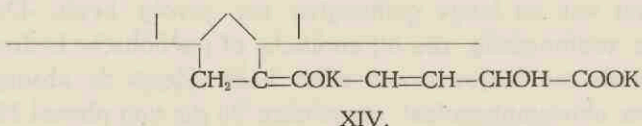
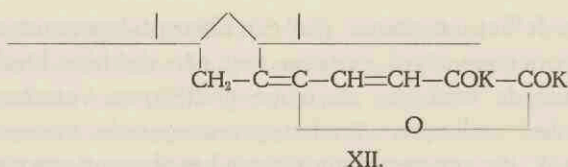
Het verdwijnen van de gele kleur bij de behandeling met kaliumhydroxyde kunnen wij zien als gevolg van het opensplitsen van de lactonring.

¹⁴⁾ K. Dimroth, Z. Angew. Chem. 52, 545 (1939).

¹⁵⁾ H. Ley en R. Dreinhöfer, Z. wiss. Phot. 29, 140 (1930).

¹⁶⁾ H. Ley, Z. Physik. Chem. (A) 94, 422 (1920).

¹⁷⁾ G. E. Carpéni, J. Chim. Phys. 35, 193 (1938).

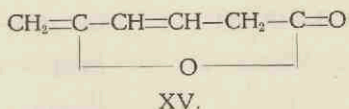


Bij dit opensplitsen van de lactonring ontstaat dan het kaliumzout van een onverzadigd enol-oxyzuur (XIV).

Indien in het lumi-auxine-a-lacton de hydroxylgroep op de γ -plaats zou staan en de dubbele binding in α,β -positie, dan is dit verschijnsel niet of tenminste zeer veel moeilijker te verklaren, daar dan enolisering aan de lactonring niet mogelijk is.

De absorptie die wij vinden na aanzuren van de alkalische oplossing met azijnzuur is niet zonder meer te begrijpen. Men zou kunnen verwachten dat door aanzuren de reeks van omzettingen terugloopt, zodat wederom het absorptiespectrum van lumi-auxine-a-lacton verschijnt. Zoals de derde absorptiekromme van figuur 10 toont, is dit echter niet het geval. Wij vinden een absorptie, welke schijnbaar ontstaat door superpositie van de spectra van XIV en lumi-auxine-a-lacton. Daar wij echter moeten veronderstellen dat na aanzuren niet meer het zout maar het vrije zuur aanwezig is, kunnen wij de absorptie niet op deze wijze verklaren. In elk geval blijkt, dat de formule met een dubbele binding tussen de α - en β -koolstofatomen ons in staat stelt, de reacties tenminste bij benadering te beschrijven.

Naast het bestuderen van de absorptiespectra van het lumi-auxine-a-lacton en de daaruit verkregen producten, hebben wij getracht door synthese een verbinding te verkrijgen, die hetzelfde chromofore systeem bevat als in het lumi-auxine-a-lacton wordt aangenomen. Er moest dus een verbinding worden bereid met een δ -enol-lactonring, die nog een tweede dubbele binding bevat, geconjugeerd t.o.v. de eerste. De eenvoudigste stof die aan deze eisen voldoet is:

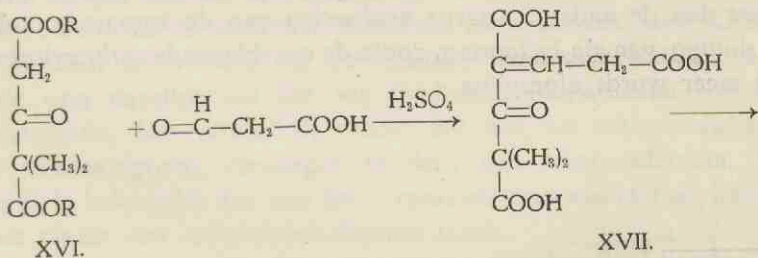


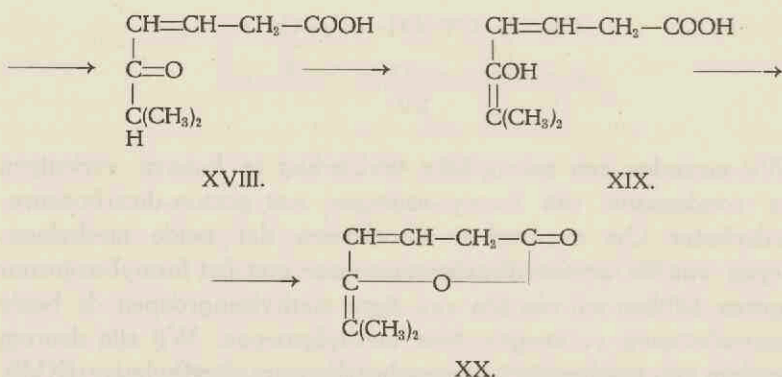
Wij meenden een soortgelijke verbinding te kunnen verkrijgen door condensatie van formyl-azijnzuur met aceton-dicarbonzurediaethylester. Om evenwel te voorkomen dat beide methyleengroepen van de aceton-dicarbonzure-ester met het formyl-azijnzuur reageren, hebben wij van één van deze methyleengroepen de beide waterstofatomen vervangen door methylgroepen. Wij zijn daarom uitgegaan van *aa*-dimethyl-aceton-dicarbonzurediaethylester (XVI).

Daar het formyl-azijnzuur een zeer weinig stabiele verbinding is, hebben wij eerst geprobeerd de natriumverbinding van de formyl-azijnzureauethylester voor de condensatie te gebruiken. Onder verschillende omstandigheden werd getracht, deze natriumverbinding met *aa*-dimethyl-aceton-dicarbonzurediaethylester te condenseren. Met geen der door ons beproefde methoden kon het gewenste resultaat worden bereikt.

Wij hebben daarna geprobeerd op een andere manier het probleem op te lossen, en wel analoog aan de synthese van v. Pechmann. Deze auteur beschreef in 1884 reacties, waarbij gebruik wordt gemaakt van appelzuur, dat door inwerking van geconcentreerd zwavelzuur ontleedt in formyl-azijnzuur, koolmonoxyde en water. Dit formyl-azijnzuur is uit de aard der zaak als β -aldehydocarbonzuren zeer onbestendig en ontleedt snel; het kan echter toch de gewenste reacties geven, zoals het voorbeeld van de cumarine-synthese van v. Pechmann aantoonde.

Wij hadden ons het volgende reactie-schema voorgesteld:





De condensatie had evenwel een enigszins ander verloop. *aa*-Dimethyl-aceton-dicarbonzure-diaethylester en appelzuur werden met een overmaat geconcentreerd zwavelzuur snel verhit, tot het schuimen ophield. Uit het reactieproduct kon een vaste stof worden afgezonderd, die na kristalliseren uit aethylacetaat smolt bij 208° en identiek bleek te zijn met cumalinezuur, dat ook door v. Pechmann¹⁸⁾ was verkregen uit appelzuur en zwavelzuur.

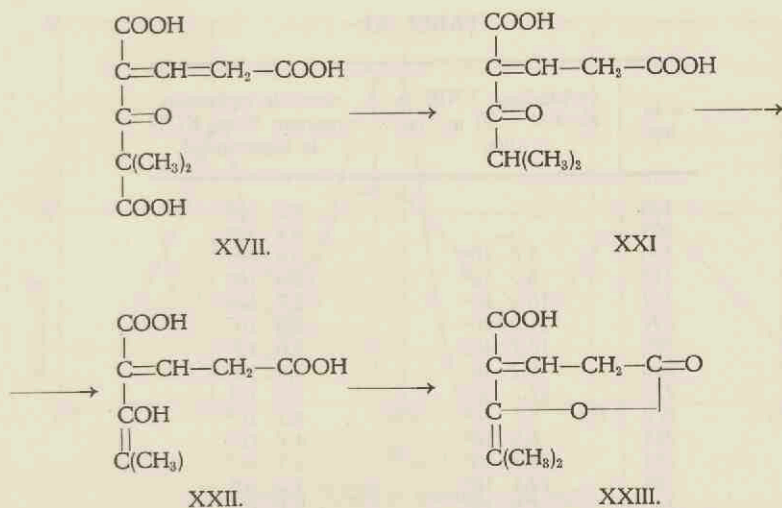
Bij een volgende poging hebben wij inplaats van het snelle verhitten, enkele uren verwarmd op een waterbad. Nu verkregen wij een vaste stof, die na kristalliseren uit aethylacetaat smolt bij $153-154^\circ$ *).

De analyse kwam overeen met de brutoformule $(\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_4)_n$, terwijl wij $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{O}_2$ hadden verwacht. Het verschil van één koolstofatoom en twee zuurstofatomen wijst er op, dat één der carboxylgroepen van XVII niet is afgesplitst.

Wij kunnen ons voorstellen, dat van de verbinding XVII de carboxylgroep naast de twee methylgroepen sneller wordt afgesplitst dan de andere, waarna enolisering van de ketogroep volgt en sluiting van de lactonring, zodat de overblijvende carboxylgroep niet meer wordt afgesplitst.

¹⁸⁾ H. v. Pechmann, Ber. 17, 929 (1884); Ann. 264, 261 (1891).

*) De smeltpunten die in dit proefschrift zijn opgegeven zijn niet gecorrigeerd.



De zuur reagerende stof werd getitreerd met 0,01 n natronloog. Voor XXIII is het equivalentgewicht 182, terwijl wij in goede overeenstemming daarmee een waarde van ongeveer 190 vonden.

Na koken met overmaat natronloog in stikstof-atmosfeer en terugtitreren met zoutzuur, bleek de stof zich te gedragen als een tweebasisch zuur (aequivalentgewicht: berekend 91, gevonden 83 en 86).

Koken met loog veroorzaakt dus opensplitsen van de lactonring, waarbij het natriumzout van XXII ontstaat. Uit een microproefje in een smeltpuntsbuisje bleek, dat bij verhitten in vacuüm boven het smeltpunt koolzuur wordt afgesplitst, hetwelk kon worden aangetoond met barytwater.

Wij mogen dus uit de eigenschappen en de wijze van ontstaan concluderen, dat de structuur inderdaad overeenkomt met XXIII. Dit product is evenwel als „modelstof” minder bruikbaar, wel is de ring dezelfde als die we in lumi-auxine- α -lacton hebben aangenomen, het verschil is echter dat aan het α -koolstofatoom een hydroxylgroep vervangen is door een waterstofatoom, en vooral is belangrijk dat aan het γ -koolstofatoom een carboxylgroep in de plaats van een waterstofatoom staat.

Het resultaat van de absorptiemetingen is opgenomen in tabel XI en fig. 11.

TABEL XI.

λ in $m\mu$	verbinding XXIII in alcohol, 190 mg per liter	dezelfde oplossing waaraan 30 mg KOH is toegevoegd
405	—	$2,0 \cdot 10^3$
365	—	$9,4 \cdot 10^3$
334	$1,6 \cdot 10^3$	$3,8 \cdot 10^3$
313	$8,2 \cdot 10^3$	$2,6 \cdot 10^3$
302	$10,3 \cdot 10^3$	$2,7 \cdot 10^3$
297	$11,2 \cdot 10^3$	$2,8 \cdot 10^3$
289	$10,1 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^3$
280	$9,2 \cdot 10^3$	$3,4 \cdot 10^3$
275	$7,2 \cdot 10^3$	$3,8 \cdot 10^3$
270	$6,6 \cdot 10^3$	$4,2 \cdot 10^3$
265	$6,9 \cdot 10^3$	$4,7 \cdot 10^3$
254	$13,8 \cdot 10^3$	$5,3 \cdot 10^3$
248	$12,1 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^3$
240	$8,4 \cdot 10^3$	$5,1 \cdot 10^3$
238	$8,0 \cdot 10^3$	$5,0 \cdot 10^3$
234	$6,9 \cdot 10^3$	—

Absorptie-coëfficiënten van verbinding XXIII in alcohol (2e kolom) en van de met overmaat kaliumhydroxyde behandelde oplossing (3e kolom).

Na de meting werd aan de oplossing 30 mg KOH toegevoegd, waarna wij nogmaals de absorptie van de oplossing hebben gemeten; het resultaat is eveneens opgenomen in tabel XI en fig. 11.

Wij zien in fig. 11, dat de „modelstof” behalve een maximum bij 250 $m\mu$ inderdaad ook een maximum heeft bij 295 $m\mu$, dit laatste analoog aan het lumi-auxine-a-lacton, evenwel minder hoog en breder.

Het maximum bij 250 $m\mu$ is vermoedelijk mede door de carboxyl-groep veroorzaakt. Het absorptiespectrum van de met loog behandelde verbinding XXIII, vertoont evenwel weinig overeenkomst met het spectrum dat wij verkrijgen na een soortgelijke behandeling van lumi-auxine-a-lacton.

Een mogelijk niet onbelangrijk structuurverschil tussen de modelstof en het lumi-auxine-a-lacton is, dat de semi-cyclische dubbele binding in het lumi-auxine-a-lacton semi-cyclisch ten opzichte van twee ringen is, in de „modelstof” daarentegen slechts semi-cyclisch ten opzichte van één ring.

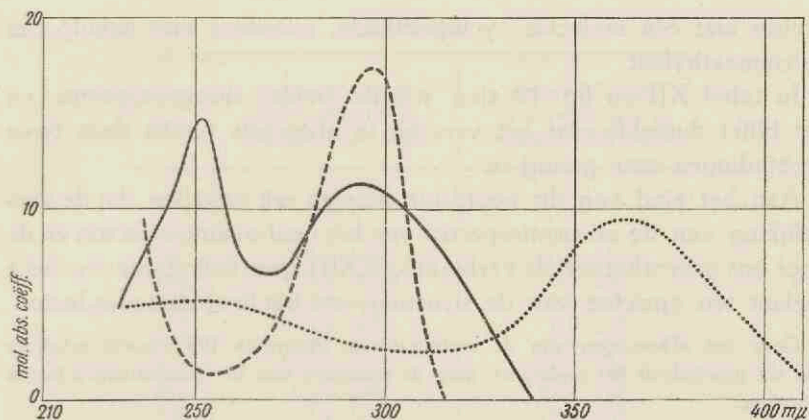
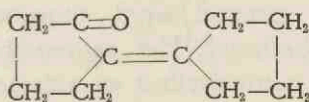


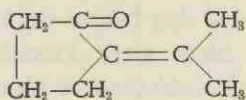
Fig. 11.

- Verbinding XXIII in alcohol (190 mg/l).
 Dezelfde oplossing na toevoegen 30 mg kaliumhydroxyde.
 --- Lumi-auxine-a-lacton in alcohol.

Om een indruk te krijgen van de invloed van de tweede ring op de absorptie, hebben wij de absorptiespectra vergeleken van cyclopentylideen-cyclopentanon (XXIV) en isopropylideen-cyclopentanon (XXV).



XXIV.



XXV.

Deze twee stoffen werden bereid volgens Wallach¹⁹⁾; het cyclopentylideen-cyclopentanon door condensatie van twee moleculen cyclopentanon, met behulp van natriumaethylaat en het isopropylideen-cyclopentanon door condensatie van één molecule

¹⁹⁾ O. Wallach, Ber. 29, 2955 (1896); Ann. 389, 169 (1912); Ann. 394, 362 (1912).

aceton met één molecule cyclopentanon, eveneens met behulp van natriumaethylaat.

In tabel XII en fig. 12 zien wij de beide absorptiespectra en het blijkt duidelijk, dat het verschil in absorptie tussen deze twee verbindingen zeer gering is.

Aan het eind van dit hoofdstuk moeten wij vaststellen, dat de vergelijking van de absorptiespectra van het lumi-auxine-a-lacton en de door ons gesynthetiseerde verbinding XXIII, geen definitieve conclusie toelaat ten opzichte van de structuur van het lumi-auxine-a-lacton.

Door het afkondigen van de mobilisatie in Augustus 1939 moest schrijver van dit proefschrift het onderzoek naar de structuur van het lumi-auxine-a-lacton afbreken.

EXPERIMENTEEL GEDEELTE BEHORENDE BIJ HOOFDSTUK V.

Condensatie van α -dimethyl-aceton-dicarbonzure diaethylester met formyl-azijnzuur. *)

11 g dimethyl-aceton-dicarbonzure diaethylester en 7 g appelzuur werden met 20,5 cm³ geconcentreerd zwavelzuur gedurende twee uren op een waterbad verwarmd, waarna de gasontwikkeling was opgehouden. Het mengsel werd uitgegoten in ijswater en daarna met aether geëxtraheerd. Het aetherische extract leverde na drogen met gegloeid natriumsulfaat en afdampen van de aether een dikke bruine stroop. Om de kristallisatie te bevorderen werd afwisselend één uur afgekoeld tot 0° en één uur verwarmd tot kamertemperatuur. Na een halve dag begon de kristallisatie, terwijl er na twee à drie dagen niets meer kristalliseerde. Daar de vloeistof te visceus was om de kristallen te filtreren, werd één cm³ alcohol toegevoegd. Op het filter bleef een bruine vaste stof achter, die na twee maal kristalliseren uit aethylacetaat lichtgeel gekleurd was, smeltpunt 152—154°. Daarna werd nog tweemaal gekristalliseerd uit een mengsel van één deel aceton en negen delen hexaan. Het smeltpunt was 154°, de opbrengst 120 mg.

*) Deze tot nu toe niet beschreven condensatie werd in het Org. chem. Laboratorium te Utrecht het eerst uitgevoerd door den heer J. Boldingh.

TABEL XII.

λ in $m\mu$	cyclopentylideen-cyclopentanon in alcohol, 87,8 mg/l	iso-propylideen-cyclopentanon in alcohol, 73,8 mg/l
313	—	—
302	—	—
297	$0,9 \cdot 10^3$	$0,8 \cdot 10^3$
289	$0,2 \cdot 10^3$	$0,3 \cdot 10^3$
280	$3,4 \cdot 10^3$	$1,8 \cdot 10^3$
275	$10,8 \cdot 10^3$	$6,9 \cdot 10^3$
270	$18,1 \cdot 10^3$	$11,8 \cdot 10^3$
265	$24,3 \cdot 10^3$	$16,0 \cdot 10^3$
254	$23,6 \cdot 10^3$	$23,0 \cdot 10^3$
248	$17,4 \cdot 10^3$	$17,1 \cdot 10^3$
240	$12,8 \cdot 10^3$	$12,6 \cdot 10^3$

Absorptie-coëfficiënten van cyclopentylideen-cyclopentanon en van iso-propylideen-cyclopentanon.

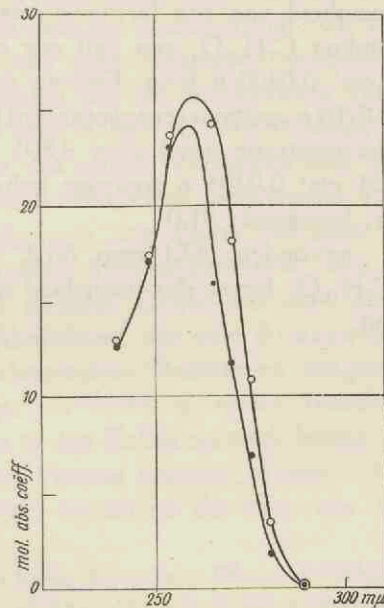


Fig. 12.

- Absorptiespectrum van cyclopentylideen-cyclopentanon.
 —●—●— Absorptiespectrum van iso-propylideen-cyclopentanon.

CH-analyse (uitgevoerd door den heer P. J. Hubers te Amsterdam).

De stof werd in vacuum boven fosforpentoxyde gedroogd.
3,720 mg stof: 8,05 mg CO₂; 1,82 mg H₂O.

C₉H₁₀O₄ (182,1) berekend: C 59,30 0/0; H 5,53 0/0.
gevonden: C 59,02 0/0; H 5,48 0/0.

Titraties.

a. 4,405 mg van de verbinding C₉H₁₀O₄ werd opgelost in 4 cm³ heet water en getitreerd met 1,987 cm³ 0,0116 n loog (indicator phenolphtaleïne). Bij een tweede titratie werd 3,693 mg opgelost in 4 cm³ 50 proc. methanol, die eerst met loog was geneutraliseerd op phenolphtaleïne. De oplossing reageerde na toevoeging van 1,670 cm³ 0,0116 n loog neutraal.

Aequivalentgewicht; berekend: 182,1

gevonden: 191,1 resp. 190,6.

b. Om de aanwezigheid van een lactonring te bewijzen werd 6,891 mg der verbinding C₉H₁₀O₄ een half uur onder stikstof gekookt met 2,430 cm³ 0,0400 n loog. Daarna werd de overmaat loog met 0,606 cm³ 0,0204 n zoutzuur teruggetitreerd (phenolphtaleïne).

Bij een tweede lactontitratie werd voor 4,891 mg en 2,016 cm³ 0,0400 n loog, 1,331 cm³ 0,0204 n zoutzuur gebruikt.

Aequivalentgewicht; berekend: 91,0

gevonden: 83,1 resp. 86,2.

De verbinding C₉H₁₀O₄ bevat dus inderdaad naast de carboxyl-groep een lactonring.

HOOFDSTUK VI.

DE INVLOED VAN CAROTINOÏDEN OP DE FOTO-INACTIVERING VAN HET AUXINE-A-LACTON

Zoals algemeen bekend is, nemen planten-organen bij eenzijdige belichting een bepaalde stand in ten opzichte van de richting van het licht, hetgeen ieder aan zijn kamerplanten kan waarnemen. Het spreekt vanzelf, dat dit opvallende verschijnsel, de fototropie, door de botanici veelvuldig werd bestudeerd. Wij kunnen uiteraard in dit proefschrift de uitgebreide plantenfysiologische literatuur van dit gebied niet uitvoerig bespreken en moeten vooral ten opzichte van de oudere publicaties naar de leerboeken verwijzen, in de eerste plaats naar de samenvatting van F. A. F. C. Went²⁰⁾. In verband met ons eigen onderzoek moeten we echter speciaal de aandacht vestigen op het pionierswerk van Blaauw, waarbij de volgende zin van F. A. F. C. Went moge worden aangehaald:

„Als Blaauw aus seinen Versuchen den Schluss zog, das eine bestimmte Reaktion von einer bestimmten Lichtmenge ausgelöst wird, unabhängig von der Frage, ob diese Menge durch lange Beleuchtung mit einer kleinen Intensität oder durch kurzwährende Beleuchtung mit starkem Lichte zustande kommt, hat er dabei gleich auf die Ähnlichkeit mit dem Bunsen-Roscoeschen Gesetz bei den photo-chemischen Reaktionen hingewiesen, und sich die Frage vorgelegt, ob nicht in erster Instanz die Veränderung, welche das Licht in den Zellen zustande bringt, auf einem derartigen photo-chemischen Prozess beruhen würde.“²¹⁾

In het jaar 1915 verscheen de voor ons eveneens belangrijke

²⁰⁾ S. Kostytschew, Lehrb. der Pflanzenphysiologie, 2. Band, J. Springer, Berlin, 1931. Vgl. ook Benecke — Jost, Pflanzenphysiologie Band II, 4. Auflage, S. Fischer, Jena 1923.

²¹⁾ S. Kostytschew, Lehrb. der Pflanzenphysiologie, 2. Band, J. Springer, Berlin, 1931, blz. 346.

publicatie van Blaauw ²²⁾ over de door hem ontdekte „licht-groei-reactie”. Onder „licht-groei-reactie” verstaat men het verschijnsel, dat een bij benadering gelijkmatige groei bij belichting ongelijkmatig wordt. Bij *Phycomyces* noemt Blaauw die reactie positief, omdat eerst een bevordering te zien is, bij *Helianthus* negatief, omdat eerst een remming tot stand komt. Ook bij *Avena* werd een licht-groei-reactie geconstateerd en vooral door Sierp ²³⁾ uitvoerig bestudeerd. Blaauw veronderstelde, dat ook de fototropische krommingen door de „licht-groei-reactie” verklaard zouden kunnen worden, omdat de licht- en de schaduwzijde van een eenzijdig belichte plant verschillende hoeveelheden licht verkrijgen.

Toen men in deze tijd naging, of licht van verschillende golflengte gelijke fototropische werking heeft, werden zeer tegenstrijdige resultaten verkregen. Zoals Blaauw aantoonde, zijn deze veroorzaakt door bestralingen met zeer verschillende intensiteiten. Het is noodzakelijk, de intensiteit voor elke golflengte nauwkeurig te bepalen, waarmee V. J. Koningsberger ²⁴⁾ in het jaar 1922 bij zijn proeven een begin heeft gemaakt. Bij een in later tijd uitgevoerd onderzoek van du Buy en Nuernbergk ²⁵⁾ werd de intensiteit van elke golflengte met behulp van een thermoziil volgens Moll nauwkeurig bepaald. De drempelwaarde voor de prikkeling (Reizschwelle) werd daarbij als volgt gevonden:

TABEL XIII.

golflengte in m μ	kleur van het licht	drempelwaarde voor de prikkeling
405	violet	0,67 erg/cm ² sec.
436	blauw	0,22 " "
546	groen	30000 " "
578	geel	geen krommingen

Toen met de ontdekking van auxine een nieuwe periode in de plantenphysiologie begon, kwam de vraag naar voren, of de groei stof

²²⁾ A. H. Blaauw, Z. f. Bot. 7, 465 (1915).

²³⁾ H. Sierp, Z. f. Bot. 13, 113 (1921).

²⁴⁾ V. J. Koningsberger, Rec. trav. bot. néerl. 19, 1 (1922).

²⁵⁾ S. Kostytschew, Lehrb. der Pflanzenphysiologie, 2. Band, J. Springer Berlin 1931, blz. 353.

door het licht een verandering ondergaat. F. W. Went²⁶⁾ kwam op grond van zijn proeven tot de conclusie, dat de groeistof ten opzichte van licht van elke intensiteit en samenstelling volkomen stabiel is. Verder concludeert hij o.a. het volgende:

1. „... dass die Lichtwachstumsreaktion nach Spitzenbelichtung eine Folge ist von einer vom Licht induzierten Verringerung der aus der Spitze hinausdiffundierende Wuchsstoffmenge.“
2. „Einseitig einfallendes Licht lenkt den sonst allseitig aus der Spitze kommenden Wuchsstoffstrom derweise ab, dass die Lichtflanke sehr wenig und die Schattenflanke einen Überschuss des Wuchsstoffes empfängt, welche Wuchsstoffdifferenz vollständig genügt um die phototropischen Krümmungen zu erklären.“

In 1933 verscheen eveneens uit het Botanisch Laboratorium te Utrecht een proefschrift van J. v. Overbeek²⁷⁾. Deze auteur heeft bij hypocotylen van *Raphanus* gevonden, dat positieve fototropische krommingen niet slechts door de ongelijke verdeling van de groeistof (Went-effect) tot stand komen, maar dat daarbij ook de grotere gevoeligheid van de schaduwzijde tegenover auxine een rol speelt. Beide effecten werken samen. Drie jaar later²⁸⁾ vergeleek dezelfde auteur de invloed van auxine-a en hetero-auxine bij *Avena-coleoptielen* met belichting en onder uitsluiting van licht. In het laatste geval vond hij normale activiteiten, terwijl bij belichting bleek, dat de invloed van auxine-a sterk verminderde en die van hetero-auxine constant bleef. Van Overbeek concludeerde tot een „oxydatieve inactivering“ van auxine-a en wel op grond van een peroxydase-test.

Toen C. Koningsberger²⁹⁾ bij zijn onderzoek over de auto-inactivering van de auxinen het merkwaardige feit ontdekte, dat auxine-a-lacton in tegenstelling tot auxine-a zelf, door ultraviolet licht geïnactiveerd wordt, leek dit alleen in chemisch opzicht van belang te zijn. Conclusies over een eventuele physiologische betekenis werden eerst niet getrokken, omdat men van mening was, dat in

²⁶⁾ Diss. Utrecht, 1927.

²⁷⁾ J. v. Overbeek, Rec. trav. bot. néerl. 30, 537 (1933).

²⁸⁾ J. v. Overbeek, Proc. Nat. Acad. of Sc. 22, 187 en 421 (1936).

²⁹⁾ Diss. Utrecht, 1936.

de plant slechts auxine-a zelf voorkomt. In het najaar van 1936 heeft dan echter Kögl³⁰⁾ de hypothese uitgesproken, dat auxine-a waarschijnlijk ook in de plantencel in evenwicht is met zijn lacton en dat dienovereenkomstig het groeistofdeficit in de lichtzijde — tenminste gedeeltelijk — door de vorming van lumi-auxine-a-lacton ontstaat. Inderdaad konden V. J. Koningsberger en B. Verkaaik³¹⁾ in het jaar 1938 aantonen, dat geen fototropische kromming optreedt indien als groeistof slechts hetero-auxine aanwezig is; na toedienen evenwel van auxine-a bleek de fototropische gevoeligheid te zijn hersteld. Zij concluderen dat in de planten het auxine-a inderdaad kan worden omgezet in auxine-a-lacton, waarvan de inactivering voor een belangrijk deel de oorzaak zou kunnen zijn van de fototropie.

Ofschoon het dus om verschillende redenen zeer aannemelijk is, dat aan de door ons bestudeerde foto-chemische reactie een physiologische betekenis toekomt, mocht niet uit het oog worden verloren, dat de vorming van lumi-auxine-a-lacton in vitro slechts door licht met een golflengte kleiner dan 405 m μ veroorzaakt wordt. Aan de andere kant toont tabel XIII, dat ook licht van veel langere golflengte de groei beïnvloedt. De veronderstelling lag voor de hand, dat de gevoeligheid bij de langere golflengte wordt veroorzaakt door in de plantencel aanwezige sensibilisatoren. Ook over de aard van deze sensibilisatoren hadden genoemde auteurs reeds een aanknopingspunt. In 1936 hebben n.l. Wald en du Buy³²⁾ in een extract van *Avena-coleoptielen* colorimetrisch carotine aangetoond. Zij namen aan, dat de gevoeligheid van de planten ten opzichte van licht gebonden is aan de aanwezigheid van deze kleurstof. Een jaar later verschenen belangrijke publicaties van Bünning³³⁾ over de invloed van licht op de sporangiëndragers van *Pilobolus*. Hij kon uit deze schimmel β -carotine isoleren en merkte bovendien op, dat het golflengtegebied, waarbinnen de planten het meest gevoelig zijn voor licht, overeenkomt met dat waarin β -carotine een maximale absorptie vertoont.

³⁰⁾ Voordracht aan de Technische Hogeschool te München, op 5 December 1936.

³¹⁾ V. J. Koningsberger en B. Verkaaik, Rec. trav. bot. néerl. 35, 1 (1938).

³²⁾ G. Wald en H. G. du Buy, Science 84, 247 (1936).

³³⁾ E. Bünning, Planta 26, 719 en 27, 148 en 583 (1937).

Schrijver van dit proefschrift had de taak te onderzoeken, of de foto-inactivering van auxine-a-lacton inderdaad door carotinoïden wordt beïnvloed. Uit historische overwegingen (Bünning) werd begonnen met het onderzoek over de invloed van β -carotine.

De werkwijze was geheel dezelfde als in hoofdstuk III. Wij gebruikten oplossingen van dezelfde concentratie, waaraan evenwel een half uur voor de meting, ongeveer 25 γ van het carotinoïde was toegevoegd.

TABEL XIV.

golflengte in $m\mu$	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
365	$36,24 \cdot 10^{\circ}$	6,25 %
365	$7,25 \cdot 10^{\circ}$	30 "
365	$1,81 \cdot 10^{\circ}$	62 "
365	$3,0 \cdot 10^{\circ}$	50 " *)

TABEL XV.

golflengte in $m\mu$	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
405	$82,8 \cdot 10^{\circ}$	9,5 %
405	$16,6 \cdot 10^{\circ}$	19 "
405	$4,1 \cdot 10^{\circ}$	30 "
405	$1,4 \cdot 10^{\circ}$	46 "
405	$1,2 \cdot 10^{\circ}$	50 " *)

TABEL XVI.

golflengte in $m\mu$	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
436	$6,9 \cdot 10^{\circ}$	4,2 %
436	$1,15 \cdot 10^{\circ}$	26,5 "
436	$0,46 \cdot 10^{\circ}$	53 "
436	$0,5 \cdot 10^{\circ}$	50 " *)

*) Deze waarde werd gevonden door grafisch interpoleren.

TABEL XVII.

golflengte in $m\mu$	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
494	$30,1 \cdot 10^0$	1,1 0/0
494	$6,0 \cdot 10^0$	18,3 „
494	$1,0 \cdot 10^0$	63 „
494	$1,5 \cdot 10^0$	50 „ *)

TABEL XVIII.

golflengte in $m\mu$	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
546	$6,09 \cdot 10^2$	2,6 0/0
546	$1,22 \cdot 10^2$	16,6 „
546	$0,20 \cdot 10^2$	55 „
546	$0,25 \cdot 10^2$	50 „ *)

TABEL XIX.

golflengte in $m\mu$	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
578	$13,2 \cdot 10^2$	0 0/0
578	$4,4 \cdot 10^2$	21 „
578	$0,88 \cdot 10^2$	78 „
578	$2,0 \cdot 10^2$	50 „ *)

*) Deze waarde werd gevonden door grafisch interpoleren.

Wanneer wij nu voor iedere golflengte het aantal ergs, dat nodig is om de helft van het auxine-a-lacton te inactiveren, uitzetten tegen die golflengte, verkrijgen wij een kromme, die, vergeleken met de kromme van figuur 3, een beeld van de invloed van β -carotine op de foto-inactivering van auxine-a-lacton geeft. In figuur 13 hebben we beide krommen opgenomen.

Uit figuur 13 blijkt inderdaad, dat de invloed van het β -carotine aanzienlijk is. De optimale werking van het β -carotine ligt bij golflengte 436 $m\mu$.

Gezien de resultaten, welke R. Kuhn⁸⁴⁾ en zijn medewerkers bij de bevruchtungsstoffen van algen ten opzichte van de specificiteit van zekere carotinoïden hebben gevonden, leek het mogelijk, dat

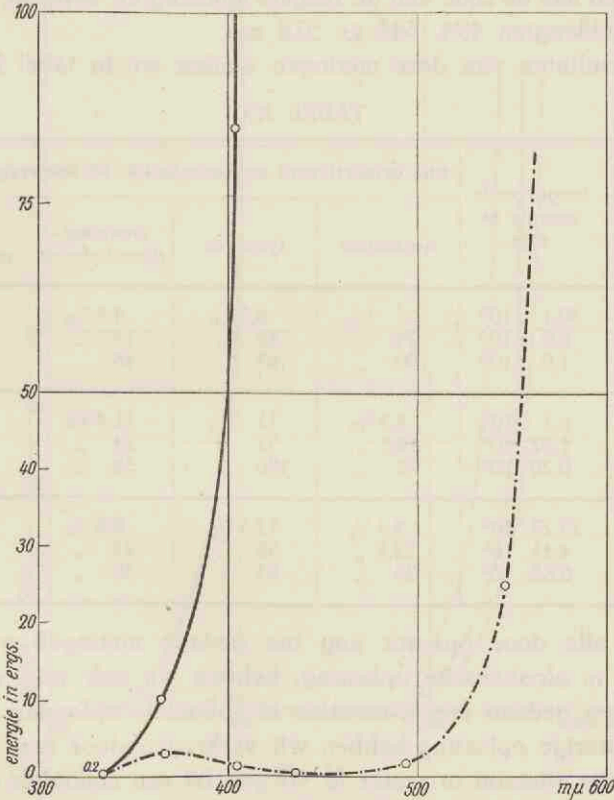


Fig. 13.

— De invloed van licht op auxine-a-lacton (vgl. fig. 4).
 - - - De invloed van licht op auxine-a-lacton bij aanwezigheid van β -carotine.
 Op de verticale as is het aantal ergs afgezet dat nodig is om van 0,5 cm³ van een oplossing van auxine-a-lacton (200 mg/l) de helft te inactiveren.

ook bij de sensibiliserende werking in de plantencel de verschillende kleurstoffen zich van elkaar zouden onderscheiden.

Wij hebben, om deze vraag te kunnen beantwoorden, onze metingen voortgezet met enkele andere stoffen, behorende tot de

⁸⁴⁾ R. Kuhn, F. Moewus en G. Wendt, Ber. 72, 1702 (1939).

groep der carotinoïden, namelijk met α -carotine, lycopine, crocetine-dimethylester en bixine-methylester *).

Van deze carotinoïden hebben wij evenwel slechts de grens van de invloed aan de zijde van de langere golflengten bepaald, namelijk bij de golflengten 494, 546 en 578 $m\mu$.

De resultaten van deze metingen vinden wij in tabel XX.

TABEL XX.

golf- lengte in $m\mu$	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton bij aanwezigheid van:			
		α -carotine	lycopine	crocetine- dimethylester	bixine- methylester
494	$30,1 \cdot 10^0$	5 %	8,5 %	4,8 %	
494	$6,0 \cdot 10^0$	24 "	45 "	12 "	22 %
494	$1,0 \cdot 10^0$	100 "	63 "	48 "	35 "
546	$6,1 \cdot 10^2$	4,3 %	11 %	11,4 %	
546	$1,22 \cdot 10^2$	19,1 "	52 "	24 "	38 %
546	$0,20 \cdot 10^2$	78 "	100 "	58 "	81 "
578	$13,23 \cdot 10^2$	9,3 %	12,5 %	8,8 %	11,8 %
578	$4,41 \cdot 10^2$	23,5 "	38 "	23 "	21 "
578	$0,88 \cdot 10^3$	38 "	83 "	30 "	43 "

Daar alle door ons tot nog toe gedane metingen waren uitgevoerd in alcoholische oplossing, hebben wij ook nog een serie bepalingen gedaan met α -carotine in colloïdale oplossing in water. Deze waterige oplossing hebben wij verkregen door een oplossing van auxine-a-lacton in water te voegen bij een colloïdale oplossing van α -carotine in water. De colloïdale α -carotine-oplossing werd bereid volgens Karrer en Strauss³⁵⁾. Het α -carotine hebben wij opgelost in een 50 proc. mengsel van aceton en water. De aceton werd voorzichtig bij verminderde druk in een vacuumexsiccator verdampt, waarna een colloïdale oplossing in water overbleef. Bij de oplossing wordt nu zoveel van de waterige auxine-a-lacton-oplossing gevoegd, dat de concentratie van auxine-a-lacton overeenkomt met die van de door ons gebruikte alcoholische oplossingen.

*) Voor het welwillend ter beschikking stellen van deze carotinoïden danken wij Prof. Dr. R. Kuhn.

³⁵⁾ P. Karrer en W. Strauss, Helv. Chim. Acta 21, 1624 (1938).

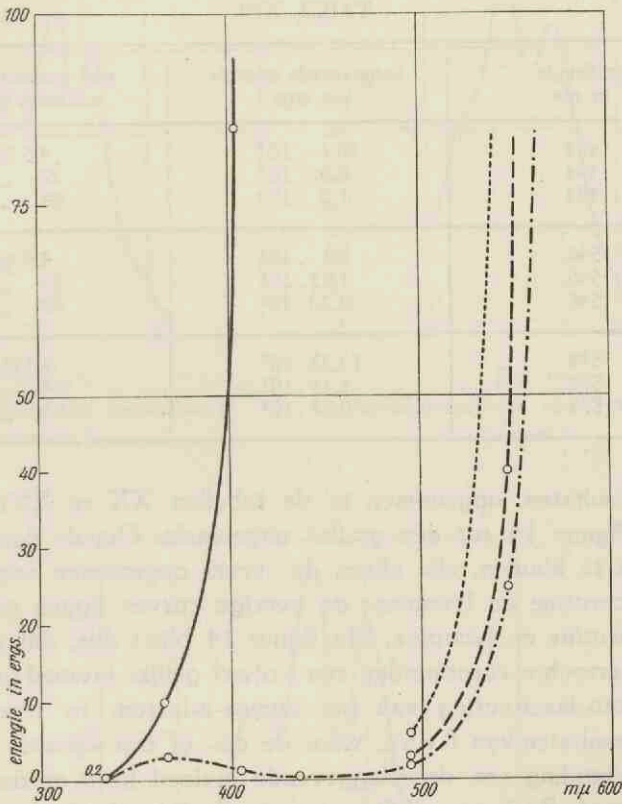


Fig. 14.

- De invloed van licht op auxine-a-lacton (fig. 4).
 - · - · - De invloed van licht op auxine-a-lacton bij aanwezigheid van β -carotine (fig. 13).
 - - - - De invloed van licht op auxine-a-lacton bij aanwezigheid van α -carotine (in water).
 De invloed van licht op auxine-a-lacton bij aanwezigheid van lycopine.
- Op de verticale as is het aantal ergs afgezet dat nodig is om van $0,5 \text{ cm}^3$ van een oplossing van auxine-a-lacton (200 mg/l) de helft te inactiveren.

De resultaten van deze metingen zijn opgenomen in tabel XXI.

TABEL XXI.

golflengte in $m\mu$	toegevoerde energie in ergs	niet geïnactiveerd auxine-a-lacton
494	$30,1 \cdot 10^0$	4,5 %
494	$6,0 \cdot 10^0$	22 "
494	$1,0 \cdot 10^0$	88 "
546	$6,1 \cdot 10^2$	4,9 %
546	$1,22 \cdot 10^2$	23 "
546	$0,20 \cdot 10^2$	69 "
578	$13,23 \cdot 10^2$	9,3 %
578	$4,41 \cdot 10^2$	34 "
578	$0,88 \cdot 10^2$	68 "

De resultaten, opgenomen in de tabellen XX en XXI hebben wij in figuur 14 tot een grafiek uitgewerkt. Om de figuur overzichtelijk te houden, zijn alleen de curves opgenomen van β -carotine, α -carotine en lycopine; de overige curves liggen tussen die van α -carotine en lycopine. Uit figuur 14 blijkt dus, dat alle door ons onderzochte carotinoïden een vrijwel gelijke invloed uitoefenen op de foto-inactivering van het auxine-a-lacton, in tegenstelling met de resultaten van Kuhn, waar de cis- of trans-positie van een dubbele binding een doorslaggevende invloed heeft op de werking van de stof. Bij het sensibiliseren van onze foto-chemische reactie is evenwel van specificiteit geen sprake, zoals blijkt uit fig. 14. Bij het vermogen om deze reactie te sensibiliseren moet dus een gemeenschappelijke eigenschap van deze carotinoïden een rol spelen en als zodanig ligt het absorptiespectrum voor de hand, temeer omdat wij hier juist met een foto-chemische reactie te doen hebben. Deze carotinoïden (vgl. form. XXVI—XXX) hebben inderdaad absorptiespectra, die sterk met elkaar overeenkomen (vgl. fig. 15, 16 en 17).

In fig. 15, 16 en 17 hebben wij de absorptiespectra opgenomen van β -carotine, α -carotine en lycopine. Uit deze figuren blijkt ten duidelijkste, dat inderdaad het gebied, waarin de verschillende carotinoïden hun invloed op de inactivering uitoefenen, overeenkomt met dat, waarin zij maximale absorptie vertonen.



Fig. 15.
Absorptiespectrum van α -carotene in
hexaan. *)

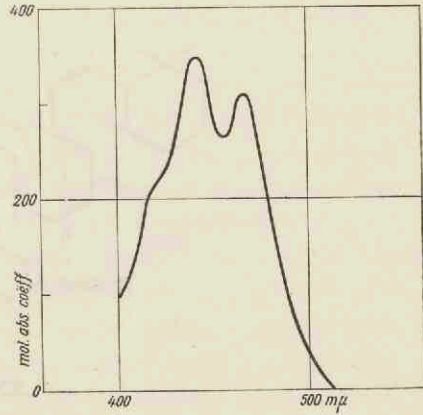


Fig. 16.
Absorptiespectrum van β -carotene in
hexaan. *)

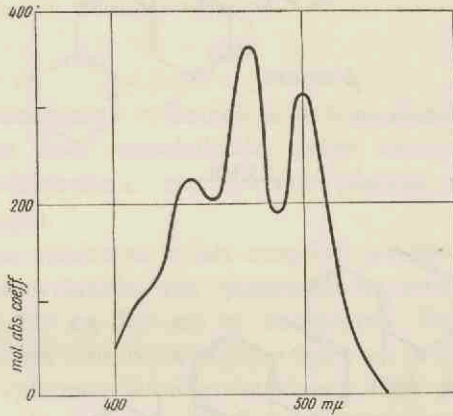
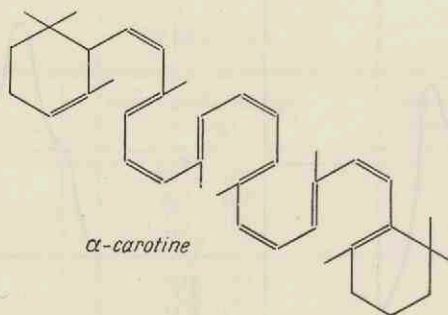
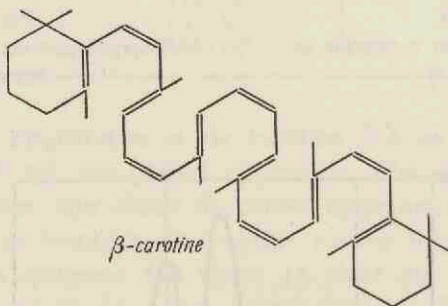


Fig. 17.
Absorptiespectrum van lycopene in hexaan. *)

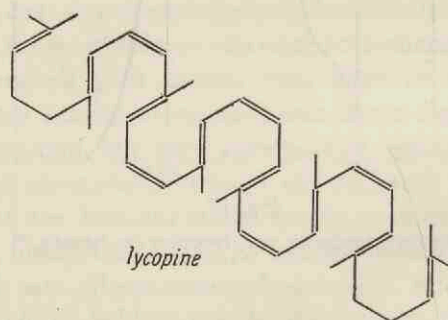
*) Dit absorptiespectrum is ontleend aan A. Smakula, Z. Angew. Chem. 47, 657 (1934).

 *α -carotene*

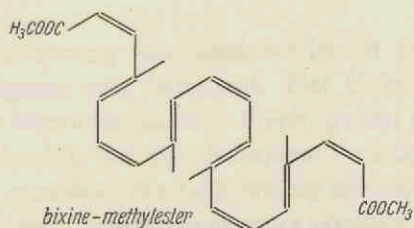
XXVI.

 *β -carotene*

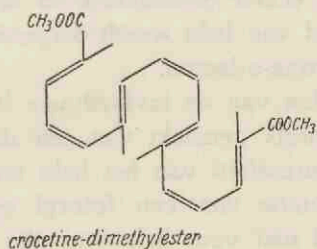
XXVII.

*lycopene*

XXVIII.



XXIX.



XXX.

Onze resultaten zijn nu volkomen in overeenstemming te brengen met die welke door verschillende, reeds door ons genoemde botanische onderzoekers, met levende planten en plantendelen werden verkregen.

Volgens onze resultaten is het mogelijk, auxine-a in zwak zuur milieu, bij aanwezigheid van carotinoïden, door licht van golflengten tussen 400 en 500 $m\mu$ te inactiveren. De resultaten van v. Overbeek en van Koningsberger en Verkaarik kunnen hiermede dus volkomen worden verklaard. Ook de waarnemingen van Wald en du Buy en van Bünning zijn met onze resultaten in overeenstemming.

INHOUD.

	BLADZ.
HOOFDSTUK I.	
Historisch overzicht	9
HOOFDSTUK II.	
De invloed van waterstof-ionen op het bereiken van het even- wicht van auxine-a met zijn lacton	16
HOOFDSTUK III.	
De invloed van licht op auxine-a-lacton	21
HOOFDSTUK IV.	
Het ijken van de fotocel	30
HOOFDSTUK V.	
De structuur van het lumi-auxine-a lacton	38
HOOFDSTUK VI.	
De invloed van carotinoïden op de foto-inactivering van het auxine-a-lacton	53
Samenvatting	66

INDEX

1	Introduction
2	Chapter I
3	Chapter II
4	Chapter III
5	Chapter IV
6	Chapter V
7	Chapter VI
8	Chapter VII
9	Chapter VIII
10	Chapter IX
11	Chapter X
12	Chapter XI
13	Chapter XII
14	Chapter XIII
15	Chapter XIV
16	Chapter XV
17	Chapter XVI
18	Chapter XVII
19	Chapter XVIII
20	Chapter XIX
21	Chapter XX
22	Chapter XXI
23	Chapter XXII
24	Chapter XXIII
25	Chapter XXIV
26	Chapter XXV
27	Chapter XXVI
28	Chapter XXVII
29	Chapter XXVIII
30	Chapter XXIX
31	Chapter XXX
32	Chapter XXXI
33	Chapter XXXII
34	Chapter XXXIII
35	Chapter XXXIV
36	Chapter XXXV
37	Chapter XXXVI
38	Chapter XXXVII
39	Chapter XXXVIII
40	Chapter XXXIX
41	Chapter XL
42	Chapter XLI
43	Chapter XLII
44	Chapter XLIII
45	Chapter XLIV
46	Chapter XLV
47	Chapter XLVI
48	Chapter XLVII
49	Chapter XLVIII
50	Chapter XLIX
51	Chapter L
52	Chapter LI
53	Chapter LII
54	Chapter LIII
55	Chapter LIV
56	Chapter LV
57	Chapter LVI
58	Chapter LVII
59	Chapter LVIII
60	Chapter LIX
61	Chapter LX
62	Chapter LXI
63	Chapter LXII
64	Chapter LXIII
65	Chapter LXIV
66	Chapter LXV
67	Chapter LXVI
68	Chapter LXVII
69	Chapter LXVIII
70	Chapter LXIX
71	Chapter LXX
72	Chapter LXXI
73	Chapter LXXII
74	Chapter LXXIII
75	Chapter LXXIV
76	Chapter LXXV
77	Chapter LXXVI
78	Chapter LXXVII
79	Chapter LXXVIII
80	Chapter LXXIX
81	Chapter LXXX
82	Chapter LXXXI
83	Chapter LXXXII
84	Chapter LXXXIII
85	Chapter LXXXIV
86	Chapter LXXXV
87	Chapter LXXXVI
88	Chapter LXXXVII
89	Chapter LXXXVIII
90	Chapter LXXXIX
91	Chapter LXXXX
92	Chapter LXXXXI
93	Chapter LXXXXII
94	Chapter LXXXXIII
95	Chapter LXXXXIV
96	Chapter LXXXXV
97	Chapter LXXXXVI
98	Chapter LXXXXVII
99	Chapter LXXXXVIII
100	Chapter LXXXXIX
101	Chapter LXXXXX

STELLINGEN.

I.

Het is waarschijnlijk dat de inactivering van auxine-a-lacton onder invloed van licht, een physiologische betekenis heeft.

II.

De door Metcalf opgestelde theorie ter verklaring van de osmotische verschijnselen leidt tot onjuiste consequenties.

W. V. Metcalf, *Kolloid Z.* **90**, 11 (1940).

III.

Het is waarschijnlijk dat de door Voss gevonden groeistof-antagonist identiek is met de eveneens door hem aangetoonde inactieve scutellum-groeistof.

H. Voss, *Planta* **30**, 252 (1939).

IV.

De betrouwbaarheid van röntgenografisch bepaalde atoomafstanden wordt overschat.

W. H. Zachariasen, *Z. Krist.* **89**, 442 (1934).

J. M. Robertson en I. Woodward, *J. Chem. Soc.* **1936**, 1817.

R. Brill, C. Hermann en Cl. Peters, *Naturwissenschaften* **27**, 677 (1939).

V.

Takei en medewerkers hebben niet bewezen dat het natuurlijke hexeen-(3)-ol-(1) de trans-configuratie bezit.

S. Takei, M. Ōno en K. Sinosaki, *Ber.* **73**, 950 (1940).

79
VI.

Het stabiliserend effect van kaliumcyamide t.o.v. oplossingen van ascorbinezuur berust niet direct op het verhinderen van een ontleding; het moet worden beschouwd als een belemmering van de oxydatie.

H. Mohler en H. Lohr, *Helv. Chim. Acta* **21**, 485 (1938).

G. E. Carpéni, *Helv. Chim. Acta* **21**, 1031 (1938).

VII.

De verklaring van Clemo en Ramage voor het optreden van de isomeren norlupinaan A en B is onjuist.

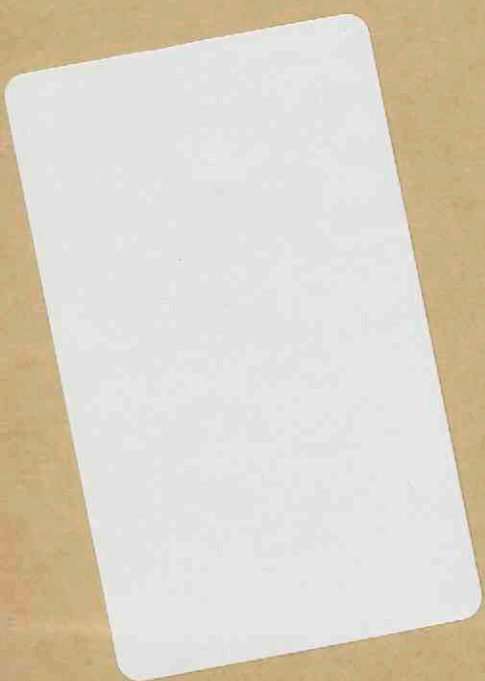
G. R. Clemo en G. R. Ramage, *J. Chem. Soc.* **1931**, 437.

V. Prelog en R. Seiwerth, *Ber.* **72**, 1638 (1939).

VIII.

Bij het vermelden van absorptie-coëfficiënten is het gewenst dat de wijze waarop zij zijn berekend, wordt aangegeven.





U
1