© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Vielleicht gelingt es bei weiteren Versuchen eine Kombination herzustellen, die zu dauerndem Wachstum befähigt ist, vielleicht ist das aber mit den angewandten Versuchspflanzen überhaupt nicht möglich, weil die durch die verschiedene Wachstumsintensität der beiden Komponenten entstehenden Spannungen in den Geweben eine fortschreitende Entwicklung verhindern.

Heidelberg, Oktober 1920.

---

47. J. Grüß: Über ein neues Holz- und Vanillinreagens.

I.

(Mit 1 Abbildung im Text.)

(Eingegangen am 9. November 1920.)

Die bekannten Ligninreaktionen lassen sich in verschiedene Gruppen einteilen: 1. Die Färbung der Holzzellwand wird durch Phenole oder Phenolderivate in Verbindung mit konzentrierter Salzsäure bewirkt. 2. Die Farbenreaktion geschieht durch aromatische Amine von mannigfacher Zusammensetzung. 3. Färbungen mittels Chlor, welches CROSS und BEVAN[1]) sowie MÄULE[2]) benutzen. 4. Hierzu kämen nun als 4. Gruppe gewisse Metallsalze, die von der Holzsubstanz gespeichert werden und dadurch eine Färbung bewirken. Beispielsweise lassen sich Silbersalze leicht einlagern. Bringt man einen Schnitt von pflanzlichem Gewebe, z. B. durch den Blattstiel von *Pteris aquilina*, in ammoniakalische Silberlösung, so erhält man eine ausgedehnte Schwärzung durch ausgeschiedenes Silber resp. Silberoxyd. Es werden nicht nur die Holzzellwände und das verholzte Epidermalgewebe, sondern auch viele Inhaltsstoffe und jugendliche Zellhäute verschiedener Art imprägniert. Die Färbung läßt sich besser beurteilen, wenn man das überschüssige Silber entfernt. Dies geschieht durch Auswaschen mit Wasser und verdünnter Salpetersäure, die dann auch noch fortgespült wird. Das zurückgehaltene Silbersalz verwandelt man in Silberchromat durch Zusatz von chromsaurem Kalium, wodurch die verholzten Zellwände tief gelb erscheinen; doch

1) CROSS und BEVAN, Zellulose, S. 115.

2) Ligninreaktion von MÄULE in ABDERHALDENS Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden, Bd. VI, S. 63.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

greift die Färbung häufig noch auf andere Gewebselemente über. Dieser Nachteil fällt resp. wird stark verringert, wenn man die Vanadinsäure als färbendes Mittel benutzt.

Vanadinsäure als Holzreagenz.

Im Handel kommen zwei Präparate Vanadinsäure vor, eine lösliche und eine unlösliche, welche der Formel Vd_2O_5 entspricht, aber in Wasser nicht unlöslich, sondern nur schwerlöslich ist. Die Verbindung ist ein gelbbraunes Pulver, die „lösliche Vanadinsäure" stellt schokoladenbraune Körner dar, die sich in Wasser etwas leichter lösen.

Direkt wird die Vanadinsäure aus wässeriger Lösung nur sehr langsam und schwierig von der verholzten Zellwand aufgenommen. Um die Einlagerung leichter vor sich gehen zu lassen, setzt man Phosphorsäure hinzu. Am einfachsten wird der Versuch folgendermaßen ausgeführt: Man bringt auf den Objektträger einen Tropfen verdünnter Phosphorsäure (1 : 4), gibt den Holzschnitt (Kiefer) hinein und streut darauf mit der Präpariernadel einige Körnchen Vanadinsäure („löslich" oder „unlöslich"), die dann durch Umrühren verteilt werden. Da das Präparat etwa 48 Stunden zu beobachten ist, wird es in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Man bemerkt, daß die auf dem Schnitt liegenden Körnchen zuerst verschwinden und dann allmählich diejenigen im Umkreise, wobei die Tracheidenwände gelbbraun mit einem Stich ins Rötliche gefärbt werden. Die Intensität der Färbung steigert sich in dem Maße, als die Vanadinsäurekörnchen schwinden. Es scheint somit kein Zweifel zu bestehen, daß die verholzte Zellwand Vanadinsäure speichert, und diese Färbung ist eine spezifische, denn nimmt man andere Testobjekte, z. B. Schnitte durch den Blattstiel von *Pteris aquilina*, so bleiben die nicht verholzten Gewebe und die Inhaltsstoffe ungefärbt.

Nebenbei beobachten wir, daß die überschüssig zugesetzten Vanadinsäurekörnchen mit der Phosphorsäure zu einer chemischen Verbindung zusammentreten, zu Vanadylphosphat $VdOPO_4$, einem Salz, das in kleinen gelbgrünen, viereckigen Plättchen leicht auskristallisiert.

Die Verfärbung verläuft langsam. Schneller erfolgt sie, wenn man die Holzschnitte in der Vanadylphosphatlösung aufkocht. Eine weitere Reaktion kann man beobachten, wenn man den Versuch in größerem Maßstabe — makroskopisch — ausführt: Einige Gramm Vanadinsäure werden mit der 20fachen Menge Wasser erhitzt und unter allmählichem Zusatz von Phosphorsäure in

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Lösung gebracht. In die gelbe Flüssigkeit trägt man Holzspäne ein. Diese färben sich, wenn man sie längere Zeit stehen läßt, rotbraun, während die Lösung blau wird. Die Erscheinung ist ein Zeichen dafür, daß die Einlagerung mit einer Reduktion der Vanadinverbindung verbunden ist.

Entfernt man aus dem Holz das Holzgummi, so wird die Färbung intensiver, und der Vorgang tritt viel leichter ein.

Die Einlagerung von Vanadinsäure in die Ligninsubstanz verhindert nicht, daß diese sich noch rot färbt bei Zusatz von Phloroglucin und Salzsäure; nur ist der Farbenton kein reines Rot mehr, und diese Verfärbung erfolgt auch sehr viel langsamer. Setzt man zu den mit Vanadylphosphat rötlichgelbbraun gefärbten Holzschnitten Ammoniak, so werden diese völlig entfärbt. Chromsäure verstärkt die Färbung.

Der Vorgang der Speicherung von Vanadinsäure in einer Lösung von Vanadylphosphat beruht darauf, daß dieses Salz leicht dissoziiert: Man erhitzt Vanadinsäure mit verdünnter Phosphorsäure bis zur Lösung; es setzen sich dann beim Erkalten die gelbgrünen Krystalle ab. Wenn man diese zur Entfernung der überschüssigen Phosphorsäure mit Wasser ausschüttelt und unter Wasser liegen läßt, so lösen sie sich langsam mit gelbbrauner Farbe von gleicher Tönung, wie sie in der Färbung der Holzschnitte erscheint.

Ohne überschüssige Phosphorsäure hat dieses Vanadylsalz nur ein sehr geringes Färbungsvermögen.

Vanadinsäure als Reagenz auf Vanillin.

Wenn man „lösliche Vanadinsäure“ mit Wasser und Vanillin im Reagenzglas erhitzt und die Lösung heiß filtriert, so scheiden sich schöne nadelförmige, rotbraune Kristalle ab, die sich zu Sternchen oder ährenförmigen Büscheln vereinigen. Man kann auch die „unlösliche“ Vanadinsäure mit Phosphorsäure in Lösung bringen und dann Vanillin zusetzen. Tritt hierbei die Reaktion nicht sogleich ein, so fügt man etwas Wasser hinzu: alsbald fällt in der gelben Flüssigkeit ein rotbrauner Niederschlag aus, während die Lösung grün bis blaugrün wird. Der Vorgang läßt sich mikrochemisch verwenden:

Man bringt auf den Objektträger einen Tropfen von Vanadylphosphatlösung und setzt einen Vanillinkristall hinzu. Zunächst werden die Flächen rauh infolge von Substanzlösung, es werden darauf die kleinen dreiseitigen Ecken der den großen Kristall zusammensetzenden Einzelkriställchen sichtbar. Kurz darauf

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

erscheinen vereinzelt in der Flüssigkeit und noch mehr auf dem Vanillinkristall die zierlichen, kleinen, rotbraunen Nädelchen, die sich zu Sternchen und Büscheln vereinigen, und bedecken ihn allseitig und so dicht, daß er wie eine Seeraupe (Aphrodite) aussieht. Schließlich ist die Kristallsubstanz verschwunden und durch ein Haufwerk der neugebildeten Nädelchen ersetzt.

Etwas anders erfolgt die Kristallisation, wenn man in die Höhlung des ausgehöhlten Objektträgers verdünnte Phosphorsäure (1 : 5), einige Körnchen „unlösliche" Vanadinsäure und ein paar Vanillinkristalle zusammenbringt. Auf diesen und um sie herum erscheinen anfangs vereinzelt, dann in größerer Menge mehr und

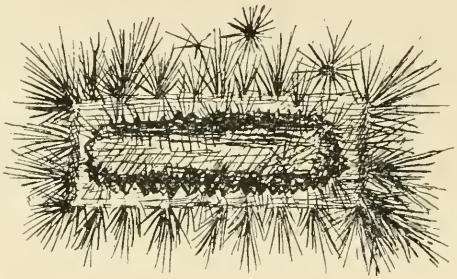

Abb. 1.
Vanillinkristall in Vanadylphosphatlösung in Vanillaninnädelchen zerfallend.

mehr rotbraune, sich schön ausbildende Sphärite und Doppelsphärite, während die Vanillinkristalle durch Substanzlösung zusammensinken.

Die überschüssig zugesetzten Vanadinsäurekörnchen vereinigen sich mit der Phosphorsäure zu Vanadylphosphat, das allmählich in kleinen viereckigen, gelbgrünen Täfelchen auskristallisiert. Die rötlichbraunen, dichroitischen Kristallnädelchen enthalten je nach der Reinigung mehr oder weniger Spuren von Phosphorsäure, sie sind identisch mit denen, die aus löslicher Vanadinsäure — also ohne Phosphorsäure — hergestellt werden. Daraus geht hervor, daß die Säure bei dem Vorgang nur katalytisch in Wirksamkeit tritt. Man kann daher die Phosphorsäure auch durch Schwefelsäure ersetzen, um die gleiche Erscheinung hervorzurufen. Dies gilt auch für die Holzfärbung. Dagegen verläuft der Prozeß mit Salzsäure als Lösungsmittel andersartig. Nach Zusatz von Vanillin fällt ein körniger, rotbrauner Niederschlag, der in Alkohol löslich ist. Aus einer solchen Lösung erhält man beim Abdunsten sehr

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

kleine, rötlichbraune, körnige, aber nicht nadelförmige Kristalle. Die mit Vanadylphosphat aus Vanillin erhaltenen nadelförmigen Kristalle seien als Vanillanin bezeichnet.

Charakteristisch für die Vanillaninkristalle ist ihre Löslichkeit in Rubidiumlauge, aus der sie unzersetzt wieder in ihrer eigenartigen Form von Sternchen und Ähren auskristallisieren. In Kali- oder Natronlauge und Ammoniak findet gleichfalls glatte Lösung statt, die dunkelgelb ist. Aus dem Probetropfen unter dem Mikroskop kristallisiert das Vanillanin nicht mehr intakt wie aus Rubidiumlauge aus, sondern die Lösung ist mit einer Zersetzung verbunden. Als Produkte derselben erscheinen ein feinkörniger Niederschlag, der braun bis schieferblau wird, und korallenartig zusammenhängende Kristalldrusen von fächerförmigem bis sternförmigem Aussehen; ebenso aus Ammoniak braune, kleinkörnige Kristallaggregate.

Bringt man Vanillanin mit Salzsäure und Phloroglucin zusammen, so wird die Substanz rotbraun und beim Erhitzen bis zum Sieden kaffeebraun, während die Lösung dunkelgelb wird. Daraus kristallisieren gelbe Plättchen, die sich zu Drusen vereinigen. Aus diesem Verhalten geht hervor, daß das Vanillin durch die Vanadinsäure ganz sicher aufgespalten wurde.

Nach der Erscheinung, wie sie das mikroskopische Bild ergab, vermutete ich, daß das Vanadylradikal durch die Aldehydgruppe des Vanillins gebunden wird, oder daß die Vanadinsäure sich unter Wasseraustritt mit dem Vanillinmolekül vereinigt. Dies traf jedoch nicht zu.

Die Aschenanalyse des Vanillanins ergab nur eine Spur von Vanadinsäure: 0,398 g der Substanz in Sauerstoff verbrannt lieferte 0,0015 g Vanadinsäure. Daß diese nicht in das Vanillinmolekül eintritt, zeigt sich noch an den Reaktionsmengen:

0,182 g	Vd_2O_5 +	0,912 g	Vanillin	geben	= 0,217 g	Vanillanin
0,182 g	„ +	$\frac{1}{2}\cdot$0,912 g	„	„	= 0,158 g	„
0,912 g	„ +	0,912 g	„	„	= 0,43 g	„

Außer dem in Wasser schwerlöslichen Vanillanin entsteht noch eine grün gefärbte leichtlösliche Verbindung. Die einfache Additionsgleichung würde daher nicht dem Vorgange entsprechen.

In ammoniakalischer Lösung geht die Vanillaninreaktion nicht vor sich: Löst man Vanillin in Ammoniak und setzt eine Lösung von Vanadylphosphat hinzu, so tritt keine Farbenveränderung ein. Läßt man von dieser Flüssigkeit einen Tropfen auf dem Objektträger abdunsten, so bleiben kleine, teilweise ineinanderfließende

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Tröpfchen zurück. Wird dagegen dieselbe Lösung mit Phosphorsäure übersättigt, so erscheinen sofort die Vanillaninnädelchen.

Das Vanadylphosphat besitzt eine große Reaktionsfähigkeit. Die lösliche Vanadinsäure gibt, in Natronlauge gelöst, mit den verschiedensten Zuckerlösungen gelbbraune oder rotbraune Färbungen, und aus diesen Flüssigkeiten kann man die kristallisierbaren Umsatzprodukte erhalten.

Um zu ermitteln, in welcher Weise die Holzfärbung durch Vanadinsäure verläuft, habe ich zunächst beachten müssen, wie dieser Körper auf die aromatischen Alkohole und Aldehyde einwirkt. Mit diesen entstehen meist kristallisierbare Verbindungen, z. B. gibt lösliche Vanadinsäure mit Salzsäure und Orcin einen körnig-rotbraunen Niederschlag, während die Flüssigkeit blau wird. Kristallisierbare Verbindungen werden mit Benzaldehyd, Protocatechnaldehyd u. a. erhalten.

Als Beispiel für die Reaktionsfähigkeit des Vanadylphosphats $VOPO_4$ führe ich seine Einwirkung auf Coniferin an, zumal dieser Körper mit der Ligninsubstanz große Ähnlichkeit aufzuweisen hat. Erwärmt man Coniferin mit einer Lösung von Vanadylphosphat, zu der man ein wenig Salzsäure gesetzt hat, so fällt ein grobkörnig-krstallinischer, gelbrötlichbrauner Niederschlag aus. Die Färbung wird dunkler — etwa kaffeebraun — beim Erwärmen mit phosphoriger Säure. Der Coniferylvanadin-Niederschlag ist unlöslich in Rubidiumlauge. Mit Phloroglucin und Salzsäure erhalten diese kleinkörnigen Krystallaggregate nur etwa einen roten Schein. Demnach scheint es sich um eine Verbindung zu handeln, die dem Vanillanin entsprechend zusammengesetzt ist.

Diese Resultate führen uns zu der Frage: In welcher Weise verläuft die Reaktion von Vanadylphosphat auf die Holzsubstanz, nämlich auf Lignin? Um dies zu ermitteln, mußte ich zur Darstellung dieses Körpers schreiten.

Der erste, der aus Holz eine chemische Verbindung abspaltete, die mit Phloroglucin und Salzsäure eine rote Färbung ergab, war Czapek[1]). Den von ihm „Hadromal“ genannten Körper erhielt er durch Behandeln des Holzes mit Zinnchlorür; er ist, wie aus den Angaben des Autors hervorgeht, ein aromatischer Aldehyd.

Weiter wurde von Czapek gezeigt, daß holzbewohnende Pilze durch ein „Hadromase“ genanntes Ferment diesen Ligninaldehyd abzuspalten vermögen, wie man den Körper vom chemischen Standpunkt aus bezeichnen kann.

1) F. Czapek, Über die sogenannten Ligninreaktionen des Holzes. Zeitschr. für physiol. Chemie, Bd. XXVII.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Von dieser Tatsache ausgehend, habe ich die „Ligninsubstanz" auf einem anderen Wege erhalten. Der äußere Anlaß dazu lag darin, daß während der Kriegszeit Zinnpräparate im Handel nicht zu beschaffen waren.

Wenn es gelang, die fermentative Reaktion durch die hydrolytische Wirksamkeit der Salzsäure zu ersetzen, so konnte das aus der Holzsubstanz abzuspaltende Produkt kein Aldehyd sein, sondern nur ein Alkohol oder eine Ketonverbindung. Dies traf auch in der Tat zu.

Da ferner, wie zu erwarten war, die Substanz als eine aromatische Verbindung in Wasser unlöslich sein konnte, mußte die Hydrolyse in Alkohol durchgeführt werden.

Das Verfahren war demgemäß folgendes:

Holzspäne von Kiefernholz wurden gereinigt mit heißem Wasser, mit Alkohol und Äther und blieben dann zur Entfernung des Gummis 36 Stunden in 5prozentiger Natronlauge stehen; diese wurde dann mit Wasser, verdünnter Essigsäure und wieder mit heißem Wasser ausgewaschen. Die Holzmasse wurde mit dem gleichen Gewicht halbkonzentrierter Salzsäure angefeuchtet, wobei man die Substanz im Mörser durchzustampfen hat. Dann gibt man etwa das 10fache Gewicht an absolutem Alkohol hinzu und erhitzt das Gemenge im Kolben mit aufgesetztem Rückflußkühler 5—6 Stunden auf dem Wasserbade. Die abgenommene und abgepreßte Lösung wird filtriert und bis auf $^1/_3$ des Volums abdestilliert.

Die erhaltene braune alkoholische Lösung wurde zur Reinigung fraktioniert gefällt. Man setzt 1—1½ Volum Wasser hinzu und filtriert den braunen ausfallenden Niederschlag ab. Das Filtrat wird darauf mit großem Wasserüberschuß zusammengebracht, und es wird dadurch eine zweite, viel heller aussehende Fällung erhalten. Dieses Verfahren hat man fortzusetzen, bis der Niederschlag rein weiß ausfällt. Auf dem Filter gesammelt, wird derselbe halb trocken fortgesetzt, mit Äther, worin er fast unlöslich ist, übergossen und im Vakuum völlig getrocknet.

Die so gewonnene Substanz stellt ein weißliches, schwach gefärbtes, kristallinisches Pulver dar.

Die Eigenschaften sind folgende:

Der Schmelzpunkt liegt bei 160°, wobei keine Zersetzung eintrat.

0,3646 g Substanz mit $CaCO_3$ verbrannt lieferte 0,0015 g AgCl oder = 0,00037 g Cl. Dieser kleine Betrag kann nur als Verunreinigung gelten, denn die geringste molekulare Menge würde sich auf 0,023 g Cl belaufen.

© Biodiversity Heritage Library, http://www.biodiversitylibrary.org/; www.zobodat.at

Die Elementaranalyse ergab folgende Werte: 0,2757 g Substanz = 0,6064 g CO_2 und 0,263 g H_2O. Daraus ergibt sich die Formel $C_{26}H_{46}O_{10}$.

Merkwürdigerweise stimmt der C-Gehalt dieser Formel mit dem von LINDSEY und TOLLENS[1]) aufgefundenen überein. Diese beiden Forscher erhielten durch Bleiessigfällung aus Holzsulfitlösung ein Produkt, welches als Sulfonsäure der Ligninsubstanz gelten kann; sie schreiben ihm die Formel $C_{26}H_{30}SO_{12}$ zu.

---

48. Günther Schmid: Über die vermeintliche Einzelligkeit der Spirulinen.

(Eingegangen am 12. September 1920)

Nach den herrschenden Vorstellungen sind die korkzieherartig gewundenen Fäden der Gattung *Spirulina* Turp. einzellige Gebilde und daran keine Zweifel geknüpft. Eine sichere Entscheidung darüber wäre aber für die systematische Stellung der Spirulinen sehr wesentlich. Auch für die hin und wieder auftauchende Frage nach den weiteren verwandtschaftlichen Beziehungen dieser blaugrünen Organismen, etwa zu den Spirillen und anderen, wäre sie von einigem Wert. Als ich kürzlich eine typische *Spirulina* zu Gesicht bekam, widmete ich dieser Angelegenheit meine Aufmerksamkeit.

Die *Spirulina* entstammte einem warmen Fabrikteich in Düsseldorf, wo sie zwischen verschiedenen Oscillarien vorkommt. Die Zellbreite beträgt $\pm$ 2,2 μ, das heißt, sie schwankt innerhalb nicht meßbarer Weite um dieses Größenmaß. Die regelmäßigen Schraubenwindungen sind $\pm$ 4,5 μ breit; der Abstand zwischen zwei entsprechenden Schraubenbögen mißt 5,9 bis 6 μ. Die Fäden sind mikroskopisch hell blaugrün gefärbt. Sie führen in weiten Abständen verhältnismäßig große kugelige Gebilde, die vielleicht als Vakuolen anzusehen sind, und haben daneben feine Granula. Die Fäden sind lebhaft beweglich, sie rotieren entgegen der Uhrzeigerbewegung (genau so wie *Arthrospira Jenneri* (Kütz.) Stizenb. laut Abbildung bei KOLKWITZ), so daß auf Agargallerte (siehe SCHMID) sich bei einer Massenbewegung wahrscheinlich ein links-

1) J. B. LINDSEY u. B. TOLLENS. Annal. d. Chem., Bd. 267.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft

Jahr/Year: 1920

Band/Volume: 38

Autor(en)/Author(s): Grüss(Grüß) J.

Artikel/Article: Über ein neues Holz- und Vanillinreagens 361-368