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

Band LXXVII. No. 3/4. XX. Jahrgang.

Botanisches Centralblatt.

REFERIRENDES ORGAN

für das Gesammtgebiet der Botanik des In- und Auslandes.

Herausgegeben unter Mitwirkung zahlreicher Gelehrten

von

Dr. Oscar Uhlworm und **Dr. F. G. Kohl**

in Cassel. in Marburg.

Nr. 3/4. | **Abonnement für das halbe Jahr (2 Bände) mit 14 M. durch alle Buchhandlungen und Postanstalten.** | 1899.

Die Herren Mitarbeiter werden dringend ersucht, die Manuscripte immer nur auf *einer* Seite zu beschreiben und für *jedes* Referat besondere Blätter benutzen zu wollen. Die Redaction.

Wissenschaftliche Originalmittheilungen.*)

Zur Reindarstellung des Chlorophylls.

Von

Dr. G. Bode.

Dem grünen Bestandtheile des Chlorophyllkörpers haften eine ganze Reihe von Beimengungen an, die theils mit ihm in organischer Verbindung vereinigt sind, theils aber bei der Extraction desselben durch das Lösungsmittel dem Zellinhalte entzogen werden. Besonders unliebsam machen sich eine Anzahl Fett- und Cholesterin-artiger Körper und vor allem ein oder mehrere gelbe Farbstoffe, als Carotin bezw. Xanthophyll bezeichnet, störend bemerkbar. Und dies um so mehr, da ihre Lösungsverhältnisse und ihre Fällbarkeit in den meisten Fällen eine gleiche oder doch nahestehende ist.

Kraus**) versuchte eine Trennung des Chlorophylls von den gelben Farbstoffen durch Ausschütteln eines alkoholischen Chlorophyllextractes mit Benzin, welches das Chlorophyll aufnimmt, während die Carotine — wie ich die gelben Farbstoffe der Kürze

*) Für den Inhalt der Originalartikel sind die Herren Verfasser allein verantwortlich. Red.

**) Zur Kenntniss der Chlorophyllfarbstoffe und ihrer Verwandten. Stuttgart 1872.

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

wegen nenne, ohne mich zur Auffassung bekennen zu wollen, dass dieselben identisch mit dem Carotin, wie es aus *Daucus Carota* erhalten wird, sei — im Alkohol verbleiben.

Ich habe schon früher darauf hingewiesen*), dass die Methode nicht zu einer vollkommenen Trennung führt, komme aber um so lieber noch einmal auf den Gegenstand zu sprechen, da mir erst kürzlich der Vorwurf gemacht wurde**), dass ich mich zur Reindarstellung meines Chlorophyllans der Kraus'schen Methode nicht bedient habe. Wie wenig einwandfrei diese ist, mögen folgende Versuche zeigen.

Zu Demonstrationszwecken hatte ich kürzlich eine Chlorophylllösung herzustellen, was in der üblichen Weise durch Auskochen grüner Pflanzentheile mittels Alkohol geschah. Die Lösung sollte für einige Tage ihre schön grüne Farbe behalten, und da ich fürchten musste, dass das Mitte October geschnittene Gras einen Auszug liefern würde, dessen Farbe sehr bald in das bekannte Braungrün des Chlorophyllans umschlagen würde, so gab ich eine kleine Menge 3procentiger Kalilauge zu, auf 750 ccm etwa 2 ccm. Der Zweck wurde hierdurch vollständig erreicht, noch heute nach 20 Tagen ist die Lösung unverändert, während bei einer wenige Tage später hergestellten Lösung, ohne Zusatz von Kalilauge, schon am fünften Tage eine deutliche Verfärbung zu bemerken war.

Ein Theil der mit Kalilauge versetzten Chlorophylllösung wurde nun zwecks Trennung in den gelben und grünen Farbstoff mit Benzin des Handels — aus den bei 80°—120° siedenden Antheilen des Petroleums bestehend — zu gleichem Volumen überschichtet. Wider Erwarten erhielt ich eine grüne alkoholische Lösung, während die gelben Antheile in das Benzin gingen. Eine zur Controlle hergestellte Lösung, die durch Ausziehen mittels Alkohol, nach vorherigem Kochen des Grases mit Wasser ohne Zusatz von Kalilauge erhalten war, zeigte ein umgekehrtes Verhalten, der Bezinantheil nahm den grünen Farbstoff auf, während der Alkohol intensiv gelb gefärbt war.

Nach meinen früheren Erfahrungen konnte ich nicht annehmen, dass die geringe Menge zugesetzter Kalilauge schon im Stande sei, eine zersetzende Wirkung auf den Lecithincomplex des Chlorophyllkörpers auszuüben und damit das Chlorophyll in ein Kaliumsalz überzuführen, da entweder, selbst bei grösserer Concentration, eine längere Einwirkung oder eine solche in der Wärme erfolgen musste. Ausserdem aber war noch ein Theil der an und für sich schon sehr geringen Menge zugesetzten Alkalis zur Neutralisation der Säuren des Zellsaftes verbraucht worden. Gerade die — nur durch eine Säureeinwirkung

*) Untersuchungen über das Chlorophyll. Cassel 1898.

**) Marchlewski, Zur Chemie des Chlorophylls. (Journ. für prakt. Chemie. Bd. LVII. p. 330.)

Vergl. auch Bode: Erwiderung auf die Abhandlung des Herrn Marchlewski „Zur Chemie des Chlorophylls". (l. c. Bd. LVII. p. 488.)

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

hervorgerufene — Chlorophyllanbildung in der Controlllösung, zu deren Herstellung zudem noch das Gras durch das vorherige Abkochen mit Wasser eines Theiles seiner Säure beraubt war, deutet auf das Sicherste darauf hin, dass in dem vorliegenden Pflanzenmaterial nicht ein neutraler Zellsaft, sondern nur ein saurer vorhanden war, zu dessen Neutralisation die Hauptmenge des Alkalis verbraucht war, so dass der verbleibende Rest nicht im Stande war, ein Kaliumsalz des Chlorophylls zu liefern. Desshalb genügten aber auch wenige Tropfen einer verdünnten Essigsäure, die dem mit Kalilauge versetzten alkoholischen Chlorophyllauszug zugegeben wurden, um nach dem Ueberschichten mit Benzin und Schütteln das Chlorophyll in den Benzintheil zu bringen. Dass in diesem Falle noch keine saure Reaction eingetreten war, geht daraus hervor, dass selbst nach mehrtägigem Stehen von einer Chlorophyllanbildung nichts zu bemerken war.

Wenn auch diese Erwägungen keinen vollgültigen Beweis für die Angreifbarkeit des Lecithincomplexes, bezw. seiner Beständigkeit, gegenüber so ausserordentlich geringen Mengen von Aetzkali geben wollen, so war doch in dem Verhalten des Chlorophylls diesem gegenüber ein werthvolles Mittel in die Hand gegeben, um festzustellen, in wie weit eine Trennung des grünen Farbstoffes von seinen gelben Begleitern durch Ausschütteln seiner alkoholischen Lösung durch Benzin thatsächlich stattfindet. Ich verfuhr folgendermassen:

50 ccm eines concentrirten Chlorophyllauszuges, der aus Grasblättern nach vorherigem Auskochen mit Wasser und Auspressen durch Extraction mit Alkohol von 96% erhalten war, wurde mit einem gleichen Volumen Benzin überschüttet und kräftig geschüttelt. Nachdem sich beide Theile vollkommen getrennt hatten, was in ganz kurzer Zeit geschehen war, wurde der nun intensiv goldgelb gefärbte Alkoholtheil abgezogen und dann durch ein gleiches Volumen Alkohol ersetzt, der mit fünf Tropfen einer dreiprocentigen Kalilauge versetzt war. Nach wiederholtem Schütteln und längerem Stehen war sämmtliches Chlorophyll von dem Alkohol aufgenommen worden und das überstehende Benzin war jetzt rein gelb gefärbt.

Eine Bestimmung des Gehaltes des vorher erhaltenen gelben Alkohol- und des nun erhaltenen Benzinantheiles durch Wägung war schon deshalb unausführbar, weil die Lösung neben dem gelben Farbstoff noch eine Reihe anderer Substanzen enthalten musste. Ich beschränkte mich daher nur auf eine Beobachtung beider Lösungen bei gleicher Schichtendicke, die eine entschieden stärkere Concentration für den gelben Alkoholantheil ergab.

Hierdurch schien auf den ersten Blick eine grössere Aufnahmefähigkeit des Alkohols für den gelben Farbstoff documentirt zu sein. Doch herrschten jetzt nicht mehr die gleichen Verhältnisse wie zu Beginn des Versuches. Angenommen der gelbe Farbstoff besässe eine gleiche Löslichkeit in Alkohol und Benzin, und es ist dies, wie wir sehen werden, thatsächlich der Fall, so

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

wäre von diesem beim ersten Ausschütteln eine gleiche Menge gelben Farbstoffes gelöst worden, wie vom Alkohol. Jetzt wurde dieser durch neuen — alkalischen — Alkohol ersetzt, der wiederum die Hälfte des vom Benzin aufgenommenen Carotins aus diesem auszog, zugleich mit dem Chlorophyll. Dadurch ist es aber auch erklärlich, dass der Benzinantheil eine weniger intensive Färbung zeigte, als der zuerst erhaltene — neutrale — Alkohol. Dass auch der alkalische Alkohol Carotin absorbirt hatte, liess sich wieder daran erkennen, dass nach dem Ansäuern mit Essigsäure und dem Uebergehen des Chlorophylls in das Benzin ein gelb gefärbter Alkohol resultirte.

Es war jetzt noch festzustellen, ob die einmal vom neutralen Alkohol und dann vom Benzin aufgenommenen gelben Farbstoffe identisch seien. Bei Mangel sonst guter Unterscheidungsmerkmale blieb nur eine Untersuchung mittels des Spectralapparates übrig. Um in einem gleichen Lösungsmittel zu beobachten, wurde die Benzinlösung vorerst im Wasserbade zur Trockene gebracht und dann der Rückstand mit Alkohol aufgenommen. Beide Lösungen zeigten in entsprechender Verdünnung je drei Streifen im blauen Theile des Spectrums.

Ihre Lage war:

$\lambda = 492\ \mu$ bis $\lambda = 470\ \mu$
$\lambda = 460$ „ „ $\lambda = 445$ „
$\lambda = 437$ „ „ $\lambda = 424$ „

Es kann somit kaum ein Zweifel an der Identität der in beiden Fällen erhaltenen gelben Farbstoffe herrschen. Nach allem aber war der gelbe Farbstoff in beiden Medien gleich gut löslich und vertheilte sich gleichmässig in beiden. Aber deshalb gerade führte ein einfaches Ausschütteln der alkoholischen Chlorophylllösung mit Benzin nicht zu einer Trennung der beiden Componenten.

Es wäre ja immerhin noch die Möglichkeit vorhanden, durch wiederholtes Waschen mittels Alkohols das vom Benzin aufgenommene Chlorophyll von seinem gelben Begleiter zu befreien. Doch stellen sich hier zwei Schwierigkeiten in den Weg, die jedenfalls die Reinigung einer grösseren Menge Chlorophylls illusorisch machen. Einmal die Thatsache, dass von dem Alkohol etwa $^1/_5$—$^1/_6$ seines Volums an Benzin gelöst wird, damit aber auch ein Theil des in diesem vorhandenen Chlorophylls, dann aber die Beobachtung, dass beim Schütteln des grünen Benzinantheils mit Alkohol sich dieser grün färbt, und zwar, je öfter man den Alkohol durch neuen ersetzt, um so mehr grün. Wenn der nach dem ersten Schütteln resultirende Alkohol nur äusserst geringe Spuren von Chlorophyll enthält, so glaube ich das durch die Annahme erklären zu können, dass durch die in einem alkoholischen Extract in den meisten Fällen vorhandenen Pflanzensäuren die Löslichkeit des Chlorophylls in Alkohol beeinträchtigt wird. Je öfter aber der Alkohol ersetzt wird, um so schwächer wird die Acidität und um so grösser die Löslichkeit in Alkohol.

Damit kommen wir aber zu dem Schlusse, dass eine, wenn auch geringe, saure Reaction des Alkohols das

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

Lösungsvermögen desselben für Chlorophyll gegenüber Benzin herabsetzt, eine alkalische Reaction aber ein umgekehrtes Verhältniss zeitigt.

Ich habe mich bei meinen Versuchen stets des Benzins bedient, eines Destillationsproductes des Rohpetroleums, während die Angabe von Kraus sich auf Benzol bezieht, also einen ganz anderen Körper, der mit dem Benzin nichts gemein hat, als die Aehnlichkeit des Namens. Kraus sagt auf Seite 109 der citirten Abhandlung: „Endlich habe ich in letzter Zeit noch eine merkwürdige Erfahrung gemacht, die zeigt, dass unter Umständen dieselben Trennungs- bezw. Lösungsmittel sich verschieden verhalten. Ich habe zur Trennung des blaugrünen Farbstoffs aus dem Weingeist das gewöhnliche Benzol, Benzin der Apotheken, verwendet; als ich versuchte, mit chemisch reinem Benzol aus dem hiesigen chemischen Laboratorium die Trennung zu bewirken, gelang sie, trotz mehrfacher Versuche, durchaus nicht: es trat eine einfache Mischung des Benzols mit dem Alkohol ein.“ Es wäre überflüssig, auf diesen ebenso durchsichtigen als leicht erklärlichen Irrthum hinzuweisen, wenn nicht einige Lehrbücher der Botanik, selbst in ihren neuesten Auflagen, die Verwechslung von Benzin mit dem mit Alkohol in nahezu allen Verhältnissen mischbaren Benzol aufgenommen hätten.

Noch weniger ist die Möglichkeit vorhanden, durch die Benzin-Alkoholtrennung die übrigen stetigen Begleiter des Chlorophylls Phytosterin und Fette zu entfernen. Ich habe mich hier mit Erfolg der Eigenschaft des Chlorophylls, mit Barytsalzen unlösliche Niederschläge zu geben, bedient, um zu dem gewünschten Erfolge zu kommen. Das Verfahren war folgendes:

Grössere Mengen im Mai geschnittenen Grases wurden mit Wasser gekocht und ausgepresst. Ein Theil des Pressrückstandes wurde mit Alkohol in der Wärme extrahirt, die weitaus grössere Menge aber mit einer fünfprocentigen wässerigen Kalilauge behandelt. Beide intensiv grün gefärbte Auszüge wurden dann mit Lösungen von Barytsalzen versetzt. Es kamen zur Verwendung Baryumnitrat, Baryumchlorid und Barythydrat, alle mit gleichem Erfolge. Die Fällung geschah in der Siedehitze und ich trug Sorge, dass die Flüssigkeit während der Operation nicht aus dem Kochen kam, wodurch ein flockiger, sich leicht absetzender Niederschlag erhalten wird, der leichter zu behandeln ist als eine in der Kälte erhaltene schmierige Fällung.

Wie sich später herausstellte, war ein Unterschied in dem Barytniederschlag aus alkoholischer und alkalischer Lösung nicht festzustellen, und ich bediente mich im Weiteren stets aus Billigkeitsrücksichten der Behandlung mit wässeriger Kalilauge. Man glaubte bisher, dass durch eine Einwirkung von Kalilauge auch bei niederer Temperatur und normalem Druck ein Abbau des Chlorophylls hervorgerufen werde. Gegen diese Annahme habe ich meine Gründe schon früher vorgebracht und verweise auf die bereits p. 81 citirte Abhandlung, betone hier nur noch einmal, dass sich der ganze Bau der Chlorophyllderivate auf gewisse

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

spektroskopische Unterschiede aufthürmt, die aber nicht im Stande sind, den Beweis für eine Umlagerung innerhalb des uns noch unbekannten Farbstoffmoleküles zu liefern.

Der erhaltene Barytniederschlag ist unlöslich in Wasser, Alkohol und Aether — ich corrigire damit eine frühere irrige Annahme: meine Angabe, dass das Barytsalz des Chlorophylls in Aether löslich sei, die, wie ich mich überzeugt habe, dadurch entstanden war, dass ich ohne vorheriges Waschen mit Wasser den Rückstand, zu einem allerdings ganz anderen Zweck, mit Alkohol entwässerte. Welche Faktoren die Löslichkeit des Chlorophyllbaryums bewirkt hatten, war mir vorläufig nicht möglich festzustellen. (l. c. p. 81).

Zur Entfernung aller das Chlorophyll begleitenden Substanzen ist ein gründliches Waschen mit Wasser durch Dekantiren nöthig. Je mehr die alkalische Reaction abnimmt, um so leichter erfolgt das Absetzen der Fällung. Wird vom Wasser nichts mehr aufgenommen, so erfolgt eine erschöpfende Behandlung mit siedendem Alkohol, der eine solche mit Aether folgt. Alkohol und Aether nehmen Phytosterine und die gelben Farbstoffe auf, wohingegen die Fettsäuren noch als Barytseifen anhaften. Eine Abscheidung durch verdünnte Säuren muss von vornherein als unzweckmässig erscheinen, da durch dieselben sowohl Fette wie Farbstoffe isolirt werden und dann nur schwer zu trennen sind. Es sei denn, man verwendet concentrirte Salz- oder Schwefelsäure, in denen sich das Chlorophyll löst, während sich die Fettsäuren abscheiden. Mir kam es überhaupt darauf an, das Chlorophyll ohne Säure aus dem Barytsalz zu isoliren. Ein andauerndes Kochen mit einer Kaliumcarbonatlösung löste nicht die geringste Spur Farbstoff. Aber es wurden hierdurch die Fettsäuren entfernt. Um ganz sicher ein Freisein von diesen annehmen zu können, ist es nöthig, mit zehnprocentiger Pottaschelösung wiederholt stundenlang zu kochen. Nun wurde der Niederschlag entweder mit einer Kaliumsulfatlösung erwärmt und nach Abfiltriren des Baryumsulfats zur Trockne gebracht, oder aber der Barytniederschlag wurde in ein siedendes Gemisch von Pottaschelösung und Kalilauge eingetragen. Nach dem Lösen, Abkühlen und Abfiltriren des Baryumcarbonatniederschlages wurde Kohlensäure bis zur Sättigung eingeleitet und dann wie oben bei gelinder Wärme zur Trockne gebracht. Dem auf die eine oder andere Weise erhaltenen Rückstand wurde dann durch absoluten Alkohol, in dem sowohl Kaliumsulfat als auch Kaliumcarbonat unlöslich sind, der Farbstoff entzogen.

Die erhaltene alkoholische Lösung unterschied sich in Nichts, auch nicht in ihrem spektroskopischen Verhalten, von einer alkoholischen Lösung des Kaliumsalzes des Chlorophylls (Alkachlorophyll der Autoren), dessen Eigenschaften schon genugsam beschrieben wurden. Zur Trockne gebracht, konnte selbst in einer grösseren Menge Substanz durch Behandeln mit Salpetersäure nicht eine Spur von Fetten mehr nachgewiesen werden.

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

Ich glaube damit einen Weg gezeigt zu haben, auf dem man — ohne irgend welche Säurewirkung — zu einem reinen Chlorophyll bezw. Kaliumsalz des Chlorophylls, frei von den nur schwer trennbaren Fettsäuren, Phytosterinen und den gelben Farbstoffen gelangen kann.

Innsbruck, Botanisches Institut, November 1898.

Carex orthostachys C. A. Meyer und ihr Verwandtschaftskreis.

Von
G. Kükenthal
in Grub bei Coburg.

(Schluss statt Fortsetzung.)

4.

Dieser Grundtypus ist heute verschwunden. Es lässt sich nicht mehr feststellen, welcher von den jetzigen Formen er am nächsten gestanden hat. Dass aber diese Formen alle auf einen gemeinsamen Stamm zurückgehen, ist unschwer zu erkennen. Alle besitzen einen kräftigen Halm, welcher am Grunde mit blutfarbenen blattlosen Scheiden bekleidet ist. Die Scheiden lösen sich fast immer in starke rothbraune Netzfasern auf. Von den Bracteen ist die unterste stets scheidig und überragt den Halm in der Regel, die ♀ Aehrchen sind cylindrisch, aufrecht gestielt, ihre Deckschuppen laufen in eine rauhe Sägespitze aus. Die Schläuche sind länger als die Schuppen, von ziemlich derber Consistenz, eiförmig- oder länglich-conisch, erhaben vielnervig, in einen langen tief zweispaltigen Schnabel vorgezogen.

Innerhalb dieses gemeinsamen Rahmens heben sich nun aber wieder gewisse Untergruppen scharf von einander ab, zwar nicht ohne Uebergänge, aber doch jede von ausgeprägter Eigenart und zum Theil auch geographisch gegen einander abgegrenzt, so dass es unmöglich scheint, sie als blosse Anpassungen einer und derselben Art an verschiedene Existenzbedingungen aufzufassen. Man wird am besten thun, sie als sogenannte „kleine Arten" zu unterscheiden.

5.

Zunächst müssen alle europäischen Formen zu einer Art vereinigt werden, deren Charakteristica die sehr kräftigen stumpfkantigen, an der Basis stark verdickten und mit sehr grossen blattlosen Scheiden umgebenen Halme, zahlreiche einander ± genäherte Aehrchen, von welcher die ♀ dichtblütig und verhältnissmässig dick sind, und besonders die langen borstenförmigen spreizenden Zähne des Schlauchschnabels bilden. Diese Art wird wie sämmtliche des *orthostachys*-Kreises ihre Heimath in Sibirien gehabt haben, von wo ich Exemplare von Wiluisk und vom Onon-

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Botanisches Centralblatt

Jahr/Year: 1899

Band/Volume: 77

Autor(en)/Author(s): Bode G.

Artikel/Article: Zur Reindarstellung des Chlorophylls. 81-87