VII.

Der Chlorophyllfarbstoff.

Von

Dr. Adolph Hansen.

Nachdem man die physiologische Bedeutung des Chlorophylls erkannt hatte, gingen neben der Erforschung des Assimilationsprozesses her Untersuchungen über den Farbstoff des Chlorophylls, welche, bis in die letzten Jahre fortgesetzt, im Gegensatz zu den erfolgreichen physiologischen Untersuchungen zu keinem nennenswerthen Resultat geführt haben.

Das ist vollkommen begreiflich, wenn man die Methode betrachtet, mit welcher man die Lösung der Frage in Angriff nahm. Alle Versuche, welche gemacht worden sind, um zu einiger Kenntniß über den Chlorophyllfarbstoff zu gelangen, wurden ausschließlich mit dem alkoholischen Extrakt grüner Blätter mit der sogenannten Chlorophylllösung angestellt. Diese Flüssigkeit zum Studium der Eigenschaften des Chlorophyllfarbstoffes zu benutzen, kann durchaus nicht befriedigen, da sie wie bekannt eine höchst unreine Lösung des Farbstoffes darstellt. Das Studium beschränkte sich auf spektroskopische Untersuchung und Beobachtung von allerlei Farbenänderungen in dieser Lösung durch Reagentien, und daß solche Reaktionen, in einem Pflanzenextrakt von komplizirter und unbekannter Zusammensetzung angestellt, über die Eigenschaften eines Bestandtheiles, des Chlorophyllfarbstoffes, nichts aussagen können, liegt auf der Hand. Es liegt nicht in meiner Absicht, alle in dieser Art gemachten Versuche kritisch zu beleuchten, und übergehe ich dieselben deshalb. Leider hat diese umfangreiche Litteratur nicht nur keinen Nutzen, sondern vielmehr einen positiven Schaden angerichtet, denn sie verschuldete, daß die an exakte Methoden gewöhnten Chemiker, welche beim Studium eines Körpers zunächst denselben möglichst rein darzustellen suchen, durch derartige chemische Untersuchungen, wie sie die Litteratur über den Chlorophyllfarbstoff enthält, abgeschreckt wurden und mit dem Chlorophyllfarbstoff nichts zu schaffen haben wollten.

Im Jahre 1879 publicirte GAUTIER die Mittheilung in den Comptes rendus¹⁾, daß er den Chlorophyllfarbstoff rein dargestellt habe, und erregte damit wie begreiflich Aufsehen. Die Methode, welche GAUTIER angab, schien sehr einfach. Er behandelte ein alkoholisches Blätterextrakt, welches nebenbei bemerkt sehr unzuweckmäßig durch Zerquetschen von Spinatblättern oder Kresse mit einem Zusatz von Natriumkarbonat und Aufnehmen des Breies mit Alkohol hergestellt war, mit Thierkohle. Diese nimmt nach GAUTIER allen Farbstoff auf und läßt Verunreinigungen in der Lösung. Nachdem der Thierkohle durch Waschen mit Alkohol ein gelber Farbstoff wieder entzogen war, wurde nach GAUTIER'S Angabe durch Extraktion der Thierkohle mit Äther oder Petroläther eine dunkelgrüne Lösung erhalten, aus welcher der Chlorophyllfarbstoff auskrystallisirte. Ich habe kurz nach GAUTIER'S Publikation den Versuch gemacht, auf die angegebene Weise den Chlorophyllfarbstoff darzustellen, ohne jeden Erfolg. Wenn man nämlich den Farbstoff des alkoholischen Blätterextrakts mit Thierkohle aufgenommen hat, so läßt sich derselben durch Äther kein grüner Farbstoff wieder entziehen. Es entspricht dies auch der Erwartung und den Anforderungen, welche der Chemiker an eine gute Thierkohle stellt. Aber selbst wenn GAUTIER'S Versuch nach seiner Angabe verlief, so kann derselbe dennoch nie zur Darstellung des Chlorophyllfarbstoffes führen. Es ist nicht möglich, den grünen Farbstoff einem alkoholischen Blätterextrakt so einfach zu entziehen, da derselbe nicht bloß von einem beigeesellten gelben Pigment sondern vor Allem von Fett, an welches, wie es scheint, beide Farbstoffe fester gebunden sind, getrennt werden muß. Das Präparat, welches aus GAUTIER'S Methode resultirte, war nun auch kein Chlorophyllfarbstoff, sondern mit der von HOPPE-SEILER fast gleichzeitig dargestellten, von ihm Chlorophyllan genannten Substanz identisch.

Nachdem ich mich in der Zwischenzeit bestrebt habe, mich über den Gegenstand nach allen Seiten zu unterrichten, habe ich im verflossenen Jahre den Versuch, zum Chlorophyllfarbstoff zu gelangen, wieder aufgenommen. Durch Beschaffung eines passenden und sorgfältig vorbereiteten Pflanzenmaterials und durch Benutzung einer zweckmäßigen Methode gelang es, den grünen Farbstoff des Chlorophylls zu isoliren und seine wichtigsten Eigenschaften festzustellen. Im Folgenden theile ich meine Erfahrungen mit.

Das Pflanzenmaterial.

Eine der Ursachen, weshalb die Untersuchungen über den Chlorophyllfarbstoff bisher zu keinem erwünschten Resultat geführt haben, war die ungünstige Auswahl und mangelhafte Vorbereitung des Pflanzenmaterials. Ohne sorgfältige Überlegung der obwaltenden Verhältnisse wurden

1) GAUTIER, Sur la chlorophylle. Comptes rendus. 89. Bd. p. 864.

Blätter beliebiger Bäume und Sträucher zur Herstellung des alkoholischen Chlorophyllextraktes benutzt, wodurch man von vorn herein ein Ausgangsprodukt erhielt, welches notorisch mit einer Menge von Substanzen: Harzen, ätherischen Ölen, Gerbstoffen u. s. w. beladen war, deren Anwesenheit dem Zweck nur hinderlich sein konnte. Gewöhnlich übergießt man abgepflückte Blätter, ohne sie, wie man aus der Litteratur fast vermuthen möchte, selbst vom Staube zu reinigen, mit Alkohol, und im Handumdrehen war die sogenannte Chlorophylllösung fertig.

Ganz besonders habe ich es mir angelegen sein lassen, das Pflanzenmaterial mit aller Sorgfalt zu beschaffen und zu behandeln, denn selbstverständlich ist es die Basis der ganzen Untersuchung. Als Material eignen sich besonders die Gräser, weil ihnen schon Substanzen, welche man gern ungeht, wie Harze, Terpene, Gerbstoffe fehlen. Bekanntlich giebt es nach der Keimung ein Stadium, in welchem die junge Pflanze alle Reservestoffe aufgezehrt hat. Dies ist beim Weizen der Fall, wenn das vierte Blatt gebildet ist¹⁾. Die Pflanzen bestehen auf dieser Stufe fast nur aus Protoplasma, Chlorophyll und Zellstoff.

Ich habe ca. 6 qm Bodenfläche mit Weizen besät und die Pflanzen nach Bildung des vierten Blattes geerntet. Es ergab sich aber, daß es immerhin für die Ausbeute an Chlorophyllfarbstoff besser ist, die Pflanzen etwas älter werden zu lassen, als zu jung zu ernten. Ein wesentlicher Punkt ist die Vorbereitung des geernteten Materials vor der Extraktion mit Alkohol, welche im Auskochen der Pflanzen mit Wasser besteht. Es ist schon früher das vorherige Auskochen der Pflanzentheile vor der Herstellung der alkoholischen Chlorophylllösungen empfohlen, und mehrere Autoren haben diesen Rath befolgt, aber das Verfahren immer mehr als eine nützliche, die spätere Extraktion beschleunigende Vorbereitung, wie als Nothwendigkeit betrachtet. Das Auskochen des Blättermaterials ist aber deshalb nothwendig, weil dadurch eine große Menge löslicher Substanzen heseitigt wird, die der Reindarstellung des Chlorophyllfarbstoffes im Wege stehen. Es ist bekannt, daß man durch Auskochen von Pflanzentheilen mit Wasser immer ein gelbes oder bräunliches Dekokt erhält, welches eingedampft ein braunes Extrakt hinterläßt. Diese Extraktivstoffe werden durch Kochen mit Wasser aus dem Pflanzenmaterial auf einfache Weise entfernt. Das Erhitzen mit Wasser muß zur Erreichung dieses Zweckes geregelt werden und darf daher nicht ohne Überwachung geschehen. Ich habe die Grasblätter je nach der Menge $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ Stunden gelinde mit Wasser gekocht und erhielt eine bräunlichgelb gefärbte Brühe. Das Dekokt enthält nicht etwa einen wahren Farbstoff, der dem Chlorophyll angehörte, sondern ist eine dünne Extraktlösung, die beim Eindampfen ein braunes Extrakt von den gewöhnlichen Eigenschaften der Pflanzenextrakte liefert. Die gelbe Lösung wird nach

1. SACS, Keimungsgeschichten. Botan. Zeitung 1860.

dem Auskochen von den Pflanzen abgossen und die letzteren mit Wasser so lange ausgewaschen, bis das Waschwasser vollständig klar abläuft. Die gut ausgepreßten Blätter trocknet man schnell bei niedriger Temperatur und kann das Material direkt zur Bereitung alkoholischer Chlorophyllextrakte verwenden oder das trockene Material vor Licht geschützt für spätern Bedarf aufbewahren. So simpel diese Manipulationen sind, so dringend nöthig ist es, ihnen alle Sorgfalt zu widmen. Es liegt kein Grund vor, anzunehmen, daß durch Behandeln der Pflanzentheile mit Wasser von Siedetemperatur eine Veränderung des Chlorophyllfarbstoffes einträte. Die Pflanzentheile behalten ihre grüne Farbe und liefern nach dem Trocknen ein alkoholisches Extrakt von prächtig chlorophyllgrüner Farbe.

Daß weder durch das Kochen noch durch die später zu beschreibenden anderen Prozeduren der Chlorophyllfarbstoff zersetzt werde, geht ohne weiteres daraus hervor, daß das Produkt, welches ich schließlich erhalten habe und später beschreiben werde, ein Spektrum liefert, welches mit dem der lebenden Blätter übereinstimmt.

Auf die mitgetheilte Art gelangt man zu einem brauchbaren Material und dem entsprechend zu einer Chlorophylllösung, die sich von den bisher bereiteten schon durch eine ganz beträchtliche Reinheit unterscheidet. Durch Verwendung von getrocknetem Material ist man auch in den Stand gesetzt, thatsächlich eine alkoholische, mit Wasser nicht verdünnte Lösung des Farbstoffes herzustellen.

Die Extraktion und die Verseifungsmethode.

Es ist eine althergebrachte Praxis, den Chlorophyllfarbstoff mit Alkohol zu extrahiren. Auf diese Weise wurden von allen bisherigen Autoren Chlorophylllösungen hergestellt und Niemand hat daran Anstoß genommen. Neuerlich ist nun behauptet worden, daß schon durch die Alkoholextraktion der Farbstoff »oxydirt« werde, was völlig grundlos ist. Der Alkohol ist bekanntlich kein Oxydationsmittel, sondern oxydirt sich selbst schon durch den Sauerstoff der Luft. Außerdem aber spricht die Übereinstimmung des Spektrums lebender Blätter mit dem eines alkoholischen Blätterauszuges ebenfalls direkt gegen eine Veränderung bei der Extraktion.

Die Extraktion der Pflanzen mit 96^o/₁₀₀igem Alkohol wird in großen Kolben von 5—6 l Inhalt in einem dunkeln Raume vorgenommen, wie denn überhaupt alle Manipulationen mit dem grünen Farbstoff wegen seiner Lichtempfindlichkeit in einem verfinsterten Zimmer ausgeführt wurden. Ich habe gewöhnlich 45—20 l Chlorophyllextrakt aus ca. 450 g trockenem Material dargestellt und die Extraktion der großen Mengen Alkohols wegen bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommen. Der Chlorophyllfarbstoff ist in Alkohol nicht sehr leicht löslich, weshalb bei einer einmaligen Extraktion des Materials nur ein Theil des Farbstoffes aufgenommen wird. Wenn

die Intensität der grünen alkoholischen Lösung nicht mehr zunimmt, gießt man ab und extrahirt den Weizen mit einer weiteren Menge Alkohols, um nach einigen Tagen eine ebenso dunkelgrüne Lösung zu erhalten wie das erste Mal. Die aus trockenem Material hergestellten alkoholischen Extrakte sind vollkommen klar und werden in großen Porzellanschalen etwa auf $\frac{1}{8}$ des Volumens abgedampft. Die konzentrierte Lösung wird nun zunächst verseift.

KÜNE, dessen Untersuchungen gerade die verwickeltesten Gebiete der physiologischen Chemie aufgeklärt haben, hat in seiner Methode der Trennung der Farbstoffe einen Weg angegeben, dessen Verfolgung sich schon bei späteren Untersuchungen thierischer Farbstoffe sehr fruchtbar erwiesen hat ¹⁾. Diese Methode zur Darstellung des Chlorophyllfarbstoffes anzuwenden, schien mir nach einigen Erfahrungen an Blütenfarbstoffen angezeigt. Es gelang mir, durch Verseifung die an Fett gebundenen gelben Farbstoffe der Blüten abzuschneiden und krystallisirt zu erhalten. Einige vorläufige Versuche mit dem Chlorophyllfarbstoff deuteten auf das Vorhandensein eines ähnlichen gelben, an Fett gebundenen Farbstoffes neben dem grünen in der Chlorophylllösung. Um über diesen Punkt ins Reine zu kommen, unterwarf ich die Chlorophylllösung der Verseifung mit Natronlauge, allerdings wegen der früheren Angaben über die ungemaine Zersetzlichkeit des Chlorophyllfarbstoffes voraussetzend, daß eine Trennung der beiden Farbstoffe des Chlorophyllkorns nur unter Zersetzung des grünen möglich sein würde. Diese Besorgniß wurde indeß durch das günstige Resultat der KÜNE'schen Methode beseitigt.

Die Ausführung der Methode ist folgende. Die durch Eindampfen konzentrierten grünen Blätterauszüge werden mit Natronlauge in nicht zu großer Menge versetzt. Ein bestimmtes Mengenverhältniss läßt sich noch nicht angeben, da die Quantität des in der Lösung befindlichen Fettes nicht bekannt ist. Ich habe bei einem Zusatz von 40—50 cem Natronlauge (1 NaOH auf 5 Wasser) zu $2\frac{1}{2}$ l (aus 16—20 l eingedampfter) Chlorophylllösung ein günstiges Resultat erhalten. Wenn die alkoholische Farblösung siedet, gießt man tropfend unter Umrühren die Natronlauge zu. Unter stetem Sieden wird der Alkohol verjagt, dann Wasser zugefügt und weiter erhitzt. Nach dem Verdampfen des größten Theiles Wasser nochmals Alkohol zugeführt und die Verseifung beendet. Der Alkohol wird vertrieben und der mit Wasser verdünnte Seifenleim mit einem Ueberschuß von Chlornatrium versetzt, um die Seife auszusalzen. In körniger Form scheidet sich die schwarzgrüne Seife ab. Sie wird im Scheidetrichter zunächst mit Petroläther ausgezogen. Der Petroläther nimmt sofort eine rein dunkelgelbe Farbe an, indem er den gelben Farbstoff allein aufnimmt. Dieser muß vollständig extrahirt werden, was durch fraktionirte Extraktion beschleunigt wird. Ich

¹⁾ KÜNE, Beiträge zur Optochemie, Untersuchungen aus dem physiolog. Institute d. Univers. Heidelberg. Bd. IV, Heft 3 (1882).

habe gefunden, daß es sehr lange dauert und bedeutende Mengen Petroläther erfordert, ehe die letzten Spuren des gelben Farbstoffes entfernt sind. Es empfiehlt sich deshalb, nur so lange mit Petroläther auszuziehen, bis derselbe noch schwach gelblich gefärbt ist, wovon man sich durch Abfiltriren desselben überzeugen muß. Die letzten geringen Mengen des gelben Farbstoffes können dem grünen später entzogen werden, wenn man denselben in fester Form dargestellt hat.

Nachdem der gelbe Farbstoff der Seife durch Petroläther entzogen ist, wird dieselbe zunächst mit reinem Äther behandelt, der nur eine kleine Menge Farbstoff, dagegen besonders andere zu entfernende Substanzen aufnimmt.

Nachdem dieses erste Ätherquantum abgossen, extrahirt man den grünen Farbstoff mit einer neuen Quantität Äther, dem einige Kubikcentimeter Alkohol zugefügt sind. Der Farbstoff wird von dieser Mischung leicht der Seife entzogen.

Auf diese Weise sind die beiden Farbstoffe, welche sich in Verbindung mit Fett in den Chlorophyllkörnern finden, von einander getrennt. Man hat den gelben Farbstoff in Petroläther gelöst, den grünen in ätherischer Lösung.

Es versteht sich von selbst, daß ich die acceptirte Methode der Kritik unterwarf. ¹⁾ Die höchst unexakten Versuche, welche bisher mit dem Chlorophyllfarbstoff angestellt wurden, haben die Meinung verbreitet, daß bei Behandlung desselben mit jedem Reagens eine tiefgreifende Zersetzung eintreten müsse. Begründet war diese Meinung durchaus nicht, denn es hatte Niemand in exakter Weise den Einfluß von Reagentien auf den grünen Farbstoff studiren können. Alle Schlüsse auf sein Verhalten gegen Säuren und Alkalien beziehen sich auf Versuche mit der unreinen sogenannten Chlorophylllösung, von der sich der reine Farbstoff ebenso verschieden verhält, wie jedes reine Präparat von einem unreinen. Das Verhalten des grünen Farbstoffes bei und nach der Verseifung läßt keinen Zweifel, daß er bei dieser Prozedur ganz intakt geblieben ist. Die Farbstofflösung behält bei der Verseifung ihre prächtig grüne Farbe und die blutrothe Fluoreszenz, und das Spektrum des ursprünglichen alkoholischen Weizenauszuges stimmt mit dem Spektrum des isolirten Farbstoffes überein, sodaß vor Allem die Thatsache vollkommen feststeht, daß durch die Verseifung keine Veränderung hervorgerufen wird.

Die beiden Farbstoffe können aus ihren Lösungen direkt in fester Form erhalten werden. Der gelbe Farbstoff krystallisirt in dunkelgelben Nadeln aus dem Petroläther oder kann nach dem Verdunsten desselben aus Alkohol krystallisirt werden ²⁾.

1) Was Tschirch über meine Methode berichtet, ist vollkommen unrichtig.

2) Durch Prof. SACS erfahre ich gesprächsweise, daß MILLARDET ebenfalls einen gelben Farbstoff, welcher krystallisirt, auf mikroskopischem Wege in Blättern nachgewiesen hat und darüber nächstens eine Publikation herausgeben wird.

Den grünen Farbstoff habe ich aus der ätherischen Lösung, welche die Extraktion der Seife ergab, folgendermaßen gewonnen. Die dunkelgrüne ätherische Lösung wird filtrirt, man läßt 24 Stunden absetzen und filtrirt nochmals. Durch Verdunsten des Äthers gewinnt man den Farbstoff in fester Form. Hatte man noch kleine Mengen gelben Farbstoffes zurückgelassen, so können diese jetzt durch Waschen mit Petroläther entzogen werden. Zu den gewöhnlichen Reaktionen läßt sich der so gewonnene Farbstoff ohne weiteres benutzen. Er ist aber für das weitere Studium noch zu reinigen. Der extrahirende Äther hat aus dem Seifenleim Wasser und in diesem gelöste Stoffe mit aufgenommen. Man reinigt den Farbstoff durch wiederholtes Aufnehmen mit alkoholhaltigem Äther, wobei Kochsalz und Seifenreste in flockiger Form zurückbleiben. So gereinigt krystallisirt der grüne Farbstoff aus der eingeengten ätherischen Lösung in Sphärokrystallen, welche bei gekreuzten Nikols das bekannte Kreuz mit überraschendem Glanze und großer Schönheit zeigen. Zuweilen krystallisirt der Chlorophyllfarbstoff in mehr drusigen Aggregaten. Die Krystallisation läßt sich auf dem Objektträger mit einigen Tropfen konzentrierter ätherischer Lösung demonstrieren. Beim Verdunsten des Äthers entstehen tausende von kleinen Sphärokrystallen. Haltbare Objekte lassen sich nicht gut herstellen, da der Farbstoff, welcher sehr löslich in Wasser ist, solches bei der Verdunstung des Äthers anzieht, wodurch, wenn auch die krystallinische Beschaffenheit noch erkennbar ist, die Schönheit der Objekte nach einiger Zeit verschwindet.

Um die Eigenschaften des Chlorophyllfarbstoffes zu studiren, habe ich mir für diese vorläufige Untersuchung nicht die Zeit nehmen können, auf schönere Krystallisationen zu warten, sondern den Farbstoff durch Verdunsten des Äthers in amorphem Zustande hergestellt.

Die Ausbeute an Farbstoff betrug ca. 6—8 g, was ich besonders hervorhebe, da die frühere Litteratur sich dadurch auszeichnet, daß immer nur von ungewogenen und in der That unwägbaren Mengen die Rede ist. Es findet sich überhaupt in der früheren Litteratur über den Chlorophyllfarbstoff häufig die Angabe, derselbe sei in den Pflanzen in so minimaler Menge enthalten, daß schon aus diesem Grunde seine Isolirung sehr erschwert sei. Ich habe aus 450 g trockener Weizenblätter ca. 3—4 g festen Farbstoff hergestellt, also nahezu 1%. Demnach ist es vollkommen unrichtig, daß die Menge des Chlorophyllfarbstoffes in den Pflanzen eine unendlich geringe sei.

Der Farbstoff enthielt noch eine Quantität Asche, welche aus der Darstellungsmethode resultirte. Dieselbe bestand vorwiegend aus Kochsalz, welches nur durch häufiges Umkrystallisiren zu entfernen ist. Für derartige mit Verlust verbundene Reinigungen war die Farbstoffmenge, welche ich besaß, doch noch zu klein, ich habe deshalb den Farbstoff nicht vollständig von der Asche befreit. Da die Aschenmenge sich aber allmählich

vermindern ließ, so wird es später voraussichtlich gelingen, denselben von anhängendem Kochsalz vollständig zu befreien.

Ich gehe jetzt dazu über, die bis dahin beobachteten Eigenschaften der beiden Farbstoffe nacheinander mitzutheilen.

Das Chlorophyllgrün.¹⁾

Das Chlorophyllgrün ist in festem Zustande undurchsichtig und erscheint daher von schwarzgrüner Farbe. Es ist ein vollständig fester Körper, der beim Loslösen von der Glaswand der Krystallisirschalen in spröden Schuppen abspringt.²⁾ Das Chlorophyllgrün besitzt einen eigenthümlichen schwachen angenehmen Geruch. Es schmilzt bei 229° unter theilweiser Zersetzung und verbrennt an der Luft erhitzt mit hell leuchtender Flamme. Das feste Chlorophyllgrün besitzt keine Fluoreszenz. Zur Feststellung dieser Thatsache habe ich Chlorophyllgrünlösung auf Glasplatten verdunsten lassen und durch einen Heliostaten beleuchtet. Es stellt sich sogleich heraus, daß nur der Chlorophyllgrünlösung die blutrothe Fluoreszenz zukommt. Wenn man nämlich die Glasplatte an einer Stelle mit Alkohol betropft, so tritt sofort die prachtvolle Fluoreszenz auf und die blutroth erscheinenden Tropfen der Lösung geben neben dem grünen festen Farbstoff die Überzeugung, daß das feste Chlorophyllgrün nicht fluoreszirt. Dagegen zeigt das krystallisirte Chlorophyllgrün unter dem Mikroskop bei eingesetztem Analyseur einen Farbenwechsel von grün in braunroth beim Drehen des Objectes, ist also dichroitisch.

1) In der Folge werde ich mich dieses kurzen Namens für den grünen Chlorophyllfarbstoff bedienen. Es ist in der Namengebung beim Chlorophyll einige Verwirrung eingerissen. Chlorophyll wurden nach den grundlegenden anatomischen Untersuchungen von MoNT (Verm. Schriften p. 349 und Botan. Zeitung 1853) und Sachs (Flora 1862 und 1863) die durch ihren grünen Farbstoff gefärbten Protoplasmakörner in assimilirenden Zellen genannt. Diese Bezeichnung war der aus dem physiologischen Verhalten erkannten Zusammengehörigkeit des Protoplasmakornes und des Farbstoffes angemessen. Wenn neuere Autoren z. B. Wiesner, Sachsse u. a. angefangen haben, den grünen Farbstoff allein als »Chlorophyll« zu bezeichnen, so ist das ebenso unberechtig, als wenn Jemand plötzlich den Blutfarbstoff als Blut bezeichnen wollte. Durch solche Willkürlichkeiten müssen die größten Verwirrungen entstehen. Wenn in physiologischen Handbüchern von der Stärkebildung im Chlorophyll geredet, in chemischen Abhandlungen der isolirte Farbstoff »Chlorophyll« genannt wird, so muß ein Leser dieser letzteren unabwendbar zu der falschen Ansicht gelangen, die Stärke entstehe aus dem Chlorophyllfarbstoff. Aus diesem Grunde scheint es mir zweckmäßig, wenn auch philologisch vielleicht etwas freisinnig, wenn man für den Farbstoff den bequemen Namen Chlorophyllgrün annimmt, während das Organ der Kohlensäurezeretzung den alten Namen Chlorophyll behält. Ein Zweifel, ob das Chlorophyllkorn oder der von diesem getrennte Farbstoff gemeint sei, ist dann nicht mehr möglich.

2) Diese Eigenschaften unterscheiden das Chlorophyllgrün von »schwarzgrünen Tropfen, die bisher zum Krystallisiren nicht zu bringen waren«, welche Tschmach erhalten hat und für reinen Chlorophyllfarbstoff ausgiebt.

Löslichkeit des Chlorophyllgrüns.

Ganz besonders überrascht wurde ich durch die Eigenschaft des Chlorophyllgrüns, sich mit Leichtigkeit in Wasser mit schön chlorophyllgrüner Farbe zu lösen. Die wässrige Lösung besitzt die starke blutrothe Fluoreszenz, welche schon lange als dem Chlorophyllfarbstoff eigenthümlich bekannt ist. Mit allen bisherigen Angaben, welche über den Chlorophyllfarbstoff gemacht worden sind, und mit den Vorstellungen, welche man sich über seine Eigenschaften gebildet, steht diese Löslichkeit in Wasser in solchem Contrast, daß sie gewiß verdient, besonders hervorgehoben zu werden. Bekanntlich läßt sich der Chlorophyllfarbstoff aus Blättern nicht durch Wasser extrahiren und zwar deshalb nicht, weil derselbe, wie ich aus meinen Untersuchungen schließen muß, im lebendigen Chlorophyll an Fett gebunden vorkommt. Dennoch rechtfertigt diese Thatsache noch gar nicht die allgemeine Annahme, daß auch der isolirte Farbstoff in Wasser unlöslich sei. Eine gründlichere Beschäftigung mit dem gewöhnlichen alkoholischen Blätterextrakt hätte sogar schon auf die Löslichkeit des reinen Farbstoffs in Wasser aufmerksam machen können. Wenn man die alkoholische sogenannte Chlorophylllösung mit Wasser verdünnt, so entsteht eine hellgrüne, etwas opalisirende Flüssigkeit, die aber doch noch eine durchsichtige Lösung ist. Das deutet schon auf eine Löslichkeit des grünen Farbstoffes in Wasser hin, denn wäre dieser in Wasser vollständig unlöslich, so würde eine deutliche Fällung eintreten. Die Opaleszenz entsteht bei diesem Versuch durch die Fällung des gelösten Fettes, mit dem auch zugleich der gelbe, in Wasser unlösliche Farbstoff ausgefällt wird. Die Erscheinung, welche beim Verdünnen einer gewöhnlichen Chlorophylllösung mit Wasser eintritt, ist also eine Emulsionsbildung, und nicht, wie man aus dem Farbenwechsel und namentlich aus dem Verschwinden der Fluoreszenz geschlossen hat, eine Zersetzung des Chlorophyllfarbstoffes durch Wasser. Dies wird durch das Verhalten des reinen, vom Fett getrennten Chlorophyllgrüns bestätigt, dessen alkoholische Lösung man beliebig mit Wasser verdünnen kann, ohne daß eine Opaleszenz eintritt.

Dampft man eine gewöhnliche Chlorophylllösung ein, so erhält man einen dunkelgrünen fettigen Rückstand, — unreinen Chlorophyllfarbstoff. Behandelt man diesen mit Wasser, so löst dasselbe eine beträchtliche Menge des unreinen Farbstoffes auf. Man erhält aber nach dem Filtriren keine klare grüne wässrige Lösung, sondern eine trübe Flüssigkeit, was eben wieder dadurch bedingt ist, daß das Chlorophyllgrün noch mit dem Fett verbunden ist. Keiner dieser Versuche deutet also auf eine vollständige Unlöslichkeit des Chlorophyllgrüns in Wasser, vielmehr auf das Gegentheil, es hat aber Niemand diese Frage bisher aufgeworfen, sondern, gewöhnt nur mit dem alkoholischen Blätterextrakt zu arbeiten, setzte man die Unlöslichkeit des Chlorophyllgrüns in Wasser einfach voraus.

Das reine Chlorophyllgrün bildet nun mit Wasser eine vollständig klare, schön grüne Lösung, deren Reaktion neutral ist. Durch verschiedene Reagentien wird das Chlorophyllgrün aus der wässerigen Lösung gefällt und mögen diese Fällungen zur Charakterisirung des Stoffes dienen. Das Chlorophyllgrün ist fällbar durch Alaun und Kupfersulfat (nach ca. 12 Stunden), fällbar durch neutrales essigsäures Blei und Eisenchlorid. Durch Sublimat, Gerbsäure und Kochsalz wird es unvollständig gefällt.

Außer in Wasser löst sich Chlorophyllgrün in vielen anderen Lösungsmitteln, wie vorauszusehen, besonders in solchen Medien, durch die auch der Farbstoff unmittelbar aus den Blättern extrahirt wird. Der völlig trockene Farbstoff löst sich schwer in reinem Äther und absolutem Alkohol, dagegen leichter in beiden in feuchtem Zustande. Ziemlich leicht löst er sich in alkoholhaltigem Äther und wasserhaltigem Alkohol, sowie in Chloroform. Es sind also auch hier Unterschiede im Verhalten zwischen reinem und unreinem Farbstoff vorhanden, ein weiterer Beweis, daß alle Versuche mit letzterem zu keinem Resultat führen können. Mit einer der genannten Lösungen kann man sich übrigens überzeugen, daß eine vollständige Trennung vom Fett durch die Verseifung stattgefunden hat, da auf Papier weder ein vorübergehender noch bleibender Fettfleck entsteht. Bemerkenswerth ist, daß einer wässerigen Lösung des Chlorophyllgrüns der Farbstoff durch Schütteln mit Äther nicht entzogen werden kann. Alle Lösungen des Chlorophyllgrüns in den eben genannten flüchtigen Medien besitzen Fluoreszenz, die ätherische und Chloroformlösung mehr eine braunrothe, die alkoholische die prächtig blutrothe, welche man schon an gewöhnlichen Blätterextrakten beobachtet. Die alkoholische Lösung des Chlorophyllgrüns ist dichroitisch. In der Wärme löst sich reines Chlorophyllgrün in fetten Ölen (Olivenöl) und dies Verhalten stimmt ja überein mit dem Verhalten grüner Pflanzentheile gegen fette Öle. Wie bekannt, wird das dunkelgrün gefärbte Oleum Hyoseyami, Ol. Chamomillae u. s. w. der Apotheken durch einfaches Erwärmen der betreffenden Pflanzen mit fettem Öle hergestellt. Schwer löslich ist das Chlorophyllgrün in Essigäther, unlöslich in Petroläther und Schwefelkohlenstoff.

Das Verhalten des Chlorophyllgrüns gegen die aufgeführten Lösungsmittel muß unbedingt das Interesse auf sich ziehen. Aus dem einerseits bemerkbaren, aber mit Berücksichtigung der jeweiligen Verhältnisse selbstverständlichen verschiedenen Verhalten des reinen Chlorophyllgrüns gegenüber dem unreinen Chlorophyllfarbstoffe der bisherigen Litteratur, sowie aus der andererseits unverkennbaren Ähnlichkeit geht eben unzweifelhaft hervor, daß die Substanz, welche ich in Händen habe, reines Chlorophyllgrün ist.

Verhalten des Chlorophyllgrüns gegen stärkere Reagentien.

Das Verhalten des Chlorophyllgrüns zu energisch wirkenden Reagentien ist ganz besonders dazu angethan, die herrschende Meinung zu ändern, daß der Chlorophyllfarbstoff eine ganz eminent zersetzliche Substanz sei. Diese Ansicht, durch die Angaben der bisherigen Litteratur verbreitet, hat leider dazu beigetragen, auch ernstere Forscher von der Anwendung einer exakten chemischen Methode zur Darstellung des Chlorophyllgrüns abzuhalten.

Ich war einigermaßen überrascht, daß sich das Chlorophyllgrün mit prächtig grüner Farbe in konzentrierter Schwefelsäure löst, die erst nach längerer Zeit braun wird, ein Beweis, daß eine momentane tiefgreifende Zersetzung nicht eintritt. Ebenso entsteht durch Salzsäure eine spangrüne, beständige Lösung, ein Umwandlungsprodukt des Chlorophyllgrüns. (Dasselbe geht nicht in Äther über.) In Essigsäure löst sich das Chlorophyllgrün schwer, aber mit ähnlicher Farbe wie in Salzsäure, doch zeichnet sich die essigsäure Lösung durch starke Fluoreszenz aus.

Die gewöhnliche unreine Chlorophylllösung der Autoren verhält sich, wie bekannt, gegen Säuren ganz anders. Durch verschiedene Säuren wird das gewöhnliche Chlorophyllextrakt mißfarbig und nimmt einen olivenfarbigen Ton an. Daraus schlossen die Autoren auf die Bildung eines braunen Umwandlungsproduktes des Chlorophyllgrüns, welches man mit dem Namen »Chlorophyllan« belegte und welches mit dem von HOPPE-SEILER auf andere Weise dargestellten Chlorophyllan identisch sein sollte. Ich habe schon früher Zweifel über die Berechtigung dieser Ansichten ausgesprochen und unterstütze diese Zweifel nun durch die mitgetheilten Thatsachen. Wenn durch Salzsäure ein braunes Umwandlungsprodukt, das »Chlorophyllan« entstände, so müßte sich dasselbe natürlich viel besser und reiner als aus der gewöhnlichen Chlorophylllösung aus dem reinen Chlorophyllgrün darstellen lassen, wie gesagt, entsteht aber durch Behandlung von reinem Chlorophyllgrün mit Salzsäure eine rein spangrüne Lösung, ein Beweis, daß das unbekannte Produkt, welches die Autoren aus ihrer unreinen Chlorophylllösung durch Säuren erhielten, kein Umwandlungsprodukt des Chlorophyllfarbstoffes, sondern ein Gemenge unbekannter Zersetzungsprodukte ist, welches sich aus dem komplizirten alkoholischen Pflanzenextrakt durch Säureeinwirkung bildet.

Übrigens muß, mit Berücksichtigung meiner Untersuchungen über das Chlorophyllgrün auch das HOPPE-SEILER'sche Chlorophyllan als eine sehr zweifelhafte Substanz erscheinen.

HOPPE-SEILER stellte sein Chlorophyllan in folgender Weise dar. 1) Grasblätter wurden ohne weitere Vorbereitung 3—4 mal mit Äther extrahirt,

1) HOPPE-SEILER, Über das Chlorophyll der Pflanzen. Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. III, 1879, p. 339.

um die Spuren von Wachs, welches die Blätter überzieht, zu entfernen. Die Blätter wurden dann mit absolutem Alkohol ausgezogen, das Extrakt abgedampft und nach Waschen mit kaltem Wasser in Äther gelöst. Diese ätherische Lösung, welche von einem direkt aus Grasblättern dargestellten ätherischen Chlorophyllextrakt nicht sehr verschieden sein dürfte, stellte HOPPE-SEILER in lose bedecktem Glase zur Verdunstung hin. Er erhielt nach Verdampfung des größten Theiles Äther körnige Krystalle, die im durchfallenden Lichte braun, im auffallenden dunkelgrün gefärbt waren. Sie wurden dann durch Umkrystallisiren noch gereinigt. Wenn HOPPE-SEILER diese »Chlorophyllan« genannte Substanz in sehr nahe Beziehung zum grünen Farbstoff der Pflanzen setzt, so kann ich dem auf Grund meiner Untersuchungen nur insoweit beistimmen, als wohl auch Umwandlungsprodukte des Chlorophyllgrüns in demselben vorhanden sind. Auf die von HOPPE-SEILER angegebene Weise lassen sich aber weder das Chlorophyllgrün selbst, noch auch Umwandlungsprodukte desselben in irgend einer kontrollirbaren Form darstellen. Vielmehr wird man stets vorwiegend Gemenge unbekannter Substanzen erhalten. Wenn nun gar der Versuch gemacht ist, erst ein alkoholisches Chlorophyllextrakt mit Salzsäure zu zersetzen, um aus dem braunen Produkt, welches entsteht, reines Chlorophyllgrün darzustellen, so muß dieser Weg ebenso absouderlich wie ziellos erscheinen, was sich auch schon bestätigt hat.

Noch einige andere Reaktionen des Chlorophyllgrüns sind außer den genannten hier anzuschließen.

Salpersäure löst dasselbe mit hellrother Farbe, die Lösung wird nach einiger Zeit vollständig entfärbt. Das rothe Oxydationsprodukt lässt sich aber gleich nach seiner Bildung mit Äther ausschütteln und bildet in diesem eine chamoisfarbige, roth fluoreszirende Lösung.

Durch naszirenden Wasserstoff wird die Chlorophyllgrünlösung vollständig entfärbt. Schwefelwasserstoff führt eine Zersetzung herbei, ohne daß eine völlige Entfärbung eintritt.

Gegen alkalische Reagentien verhält sich das Chlorophyllgrün verschieden. Es löst sich schwer in Natronlauge, bildet dagegen in Ammoniak eine schön dunkelgrüne beständige Lösung mit sehr starker Fluoreszenz.

Freies Chlor entfärbt kleine Quantitäten wässriger Chlorophyllgrünlösung momentan. Beim Einleiten von Chlor in eine größere Menge gelösten Farbstoffes wird die grüne Lösung mißfarbig, bräunlich, gelb und endlich farblos. Dabei ist ein gelblichweißer Niederschlag entstanden, welcher nach dem Abfiltriren und Auswaschen als eine gelbbraune harzige Substanz erscheint, die in Wasser und Alkohol unlöslich ist, sich aber mit bräunlichgelber Farbe in Äther löst. Nach dem Verdunsten des Äthers resultirt ein amorpher, durchsichtiger, braungelber Körper, welcher chlorhaltig ist.

Das Chlorophyllgrün reduziert sehr stark alkalische Silberlösung unter Bildung eines deutlichen Silberspiegels. Daß diese Reaktion nicht durch

heigemengte Kohlehydrate hervorgerufen wird, deren Gegenwart übrigens von vorn herein nicht annehmbar ist, wird durch das Ausbleiben der KNAPP'schen Reaktion bewiesen.

Lichtempfindlichkeit des Chlorophyllgrüns.

Bekanntlich wird eine gewöhnliche alkoholische Chlorophylllösung, einige Zeit dem Lichte ausgesetzt, mißfarbig und nach dem Verschwinden der grünen Farbe resultirt eine schmutzig braune Flüssigkeit, die nun keine weiteren Farbenänderungen erleidet. Diese Flüssigkeit wird in der Litteratur »modifizirtes Chlorophyll« genannt und auch über dieses modifizierte Chlorophyll sind lange Abhandlungen publizirt worden, welche zur Kenntniß des Chlorophyllfarbstoffes nichts beigetragen haben. Derartige Entfärbungsexperimente mit der unreinen Farbstofflösung haben ja auch keinen besonderen Sinn. Man weiß ja nicht einmal, ob die Entfärbung einer unreinen Chlorophylllösung am Lichte eine bloße Lichtwirkung ist. Bekanntlich wird die gewöhnliche Chlorophylllösung durch Säuren mißfarbig. Da nun durch Ranzigwerden der Fette, die sich in der gewöhnlichen Chlorophylllösung befinden, Säuren frei werden, so wird ein alkoholisches Blätterextrakt auch ohne Lichteinfluß alterirt werden, wovon man sich überzeugen kann, wenn man einen alkoholischen Blätterauszug etwa ein Jahr lang im Finstern aufbewahrt. Er hat dann seine schön grüne Farbe zum Theil eingebüßt. Es wurden auch vielfach darüber Versuche angestellt, ob bei der Entfärbung oder besser gesagt Verfärbung der unreinen Chlorophylllösung am Licht der Sauerstoff der Luft eine Rolle spiele. Ich habe einen solchen Versuch nochmals angestellt. Ein mit alkoholischem Blätterextrakt gefüllter Kolben, dessen Hals in eine Spitze ausgezogen, wurde nach längerem Sieden der Lösung zugeschmolzen und neben einem offenen Kölbchen mit Chlorophylltinktur, welche häufig mit Luft geschüttelt wurde, ans Licht gestellt. Es war keine nennenswerthe Differenz in der Zeit bis zur Verfärbung beider Lösungen wahrzunehmen. Im übrigen können Versuche, die mit der unreinen Chlorophylllösung über die Lichtempfindlichkeit des Chlorophyllgrüns angestellt werden, ebenso wenig zu einem klaren Urtheil führen als in Bezug auf andere Eigenschaften.

Aus meinen Versuchen über die Lichtempfindlichkeit des Chlorophyllgrüns geht hervor, daß es selbst bei diesem zu keinem klaren Einblick in die Verhältnisse führt, wenn man ausschließlich die Lichtempfindlichkeit einer alkoholischen Lösung studirt. Das Chlorophyllgrün ist zwar ganz allgemein gegen Licht sehr empfindlich, verhält sich in verschiedenen Lösungsmitteln aber ganz verschieden am Licht.

Ich habe die Versuche in der Weise angestellt, daß dünnwandige Glasfläschchen mit ebenen Wänden von gleicher Größe, mit Lösungen von annähernd gleicher, durch die Intensität der Farbe geschätzter Konzentration

dem Licht ausgesetzt wurden. Als Lösungsmittel für das Chlorophyllgrün wurden angewendet.

Wasser,
Alkohol,
Äther,
Chloroform.

Sehr empfindlich ist das Chlorophyllgrün in wässriger Lösung. Es genügt diffuses Tageslicht, z. B. die dämmerige Beleuchtung eines winterlichen Schneehimmels, um schon nach einer Stunde das Verbleichen der Chlorophyllgrünlösung herbeizuführen. In 4—5 Stunden ist die wässrige Lösung entfärbt.

Die Chloroformlösung ist ebenfalls sehr empfindlich gegen schwaches Licht; im Sonnenlicht wird sie nach 5—6 Stunden entfärbt.

Die ätherische Lösung ist beständiger und wird bei schwacher Beleuchtung erst nach Wochen entfärbt. Am haltbarsten ist die alkoholische Lösung, die noch länger gegen die Lichtwirkung sich erhält.

Bei diesen Bleichversuchen am Licht entstehen aus den Lösungen des reinen Chlorophyllgrüns keine mißfarbigen braunen Endprodukte, wie dies bei der gewöhnlichen unreinen Chlorophylllösung der Fall ist, sondern die Lösungen des Chlorophyllgrüns werden im Licht vollständig farblos.

Analysen.

Das Chlorophyllgrün enthält außer Kohlenstoff, Wasserstoff und Sauerstoff auch Stickstoff, ist dagegen ein schwefelfreier Körper. Außer Eisen enthält es keine Aschenbestandtheile¹⁾.

Die Elementaranalysen lieferten folgende Zahlen:

I.

0,2459 g Substanz (10,76% Asche)

gaben bei der Verbrennung:

0,4775 g CO_2 = 60,03% C

und 0,1969 g H_2O = 9,49% H

Stickstoffbestimmung.

0,2948 g Substanz im Kohlensäurestrom mit Kupferoxyd verbrannt gaben:

10,8 ccn N = 0,04336 g N = 4,58% N .

¹⁾ Die Asche, welche ich erhielt, war, wie schon erwähnt, aus der Darstellung tafengeblieben und bestand aus bei der Einäscherung entstandenem kohlensauren Natron und Kochsalz.

II.

0,2647 g Substanz (10,76% Asche) gaben bei der Verbrennung:

$$0,5885 \text{ g CO}_2 = 60,63\% \text{ C}$$

$$0,2205 \text{ g H}_2\text{O} = 9,25\% \text{ H}$$

Stickstoffbestimmung.

0,1911 g Substanz gaben bei der Verbrennung:

$$7,7 \text{ ccm N} = 0,009509 \text{ g N} = 4,96\% \text{ N.}$$

Gefunden

	I	II
C	60,03%	60,63%
H	9,49%	9,25%
O	45,14%	44,40%
N	4,58%	4,96%
Asche	10,76%	10,76%
	100,00	100,00

Berechnet für aschenfreie Substanz.

	I	II
C	67,26%	67,94%
H	10,63%	10,36%
O	16,97%	16,12%
N	5,12%	5,55%
	99,98	99,97

Da die Substanz Alkali enthält, so entsteht durch die Bildung von Carbonat bei der Verbrennung ein Fehler in der Kohlenstoffbestimmung. Betrachtet man die gesammte Asche als reines wasserfreies Natriumcarbonat, so würde sich für den Kohlenstoff ein Verlust von 1% ergeben, welches zu der gefundenen Menge zu addiren wäre.

Ich betrachte diese Analysen trotz aller darauf verwendeten Sorgfalt nur als vorläufige und würde die Publikation von Analysen noch verschoben haben, wenn nicht der Druck dieses Heftes, in dem ich diese Arbeit noch zu publiziren wünschte, mich veranlaßt hätte, diese Notizen mit zu veröffentlichen. Selbst wenn ich also die analytischen Resultate, wie vorauszusehen, später etwas ändern müsste, so erhält man wenigstens vorläufig eine ungefähre Vorstellung von der Zusammensetzung des Chlorophyllgrüns. Eine Formel kann selbstverständlich noch nicht aufgestellt werden. Dazu fehlen auch noch quantitative Bestimmungen des Eisens im Chlorophyllgrün. In Übereinstimmung mit den physiologischen Thatsachen über die Nothwendigkeit des Eisens für das Ergrünen der Pflanzen ist die sehr geringe Eisenmenge, welche ich bei der Einäscherung gefunden habe, wohl als dem Chlorophyllgrün angehörig zu betrachten, da alle bei der Verseifung verwendeten Reagentien absolut eisenfrei waren. In der sauren Lösung der aus Chloro-

phyllgrün dargestellten Asche entstand durch Rhodankalium immer eine Rothfärbung, die allerdings nur eine schwache zu nennen war.

Es schien mir angezeigt, die früheren Analysen von MULDER und PFAUNDLER mit den meinigen zu vergleichen. Diese hatten zwar kein Chlorophyllgrün analysirt, sondern das von BERZELIUS¹⁾ dargestellte »Chlorophyll«. BERZELIUS hatte den Rückstand eines alkoholischen Blätterauszuges in konzentrirter Salzsäure gelöst und nach nochmaligem Lösen in Kalilauge mit Essigsäure wieder ausgefällt. Nach dem Trocknen erhielt BERZELIUS ein grasgrünes bei 200° noch nicht schmelzendes Pulver, unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, Äther, flüchtigen und fetten Ölen, konzentrirter Schwefelsäure und Salzsäure. Selbstverständlich konnte das nicht der reine Farbstoff sein, ist aber immerhin eine Substanz, die zum Chlorophyllgrün in Beziehung steht, weshalb ich bei dem Mangel an analytischen Daten MULDER's und PFAUNDLER's Angaben mit anführe:

	MULDER ²⁾	PFAUNDLER ²⁾
C	53,51%	60,85%
H	4,83%	6,35%
N	6,68%	—
O	32,99%	32,80%

PFAUNDLER hat keinen Stickstoff gefunden, was im Gegensatz zu MULDER's Angaben nicht erklärlich ist. Die hohen Zahlen für den Sauerstoff des Produktes sind auffallend. Die Asche, die das Präparat nach PFAUNDLER's Angabe enthielt, war eisenhaltig. MULDER stellte nach seiner Analyse für das BERZELIUS'sche Chlorophyll die Formel $C_9 H_9 NO_4$ auf.

Das Chlorophyllgelb.

Der gelbe Farbstoff, welcher sich aus der Seife durch Petroläther ausziehen läßt, macht nur einen geringen Prozentsatz des Chlorophyllgrünes aus. Man täuscht sich anfangs bei der Darstellung über seine Quantität, da er eine ungemeine färbende Kraft besitzt. Die dunkelgelben Lösungen enthalten aber nur sehr wenig Substanz. Die Menge des gelben Farbstoffes mag ca 4% des grünen betragen, was übrigens nur eine Schätzung ist.

Aus Petroläther krystallisirt das Chlorophyllgelb in dunkelgelben Nadeln. Es ist löslich in Alkohol, Äther, Chloroform und Petroläther. Die Lösungen des Chlorophyllgelbes zeigen keine Fluoreszenz. Neuere Angaben über die Fluoreszenz der gelben Pflanzenfarbstoffe beruhen auf Irrthümern. Konzentrirte Lösungen des Chlorophyllgelbes sind madeirafarbig, verdünnte

1) BERZELIUS, Untersuchung des Blattgrünes. Annalen d. Pharmacie XXVIII (1838) p. 296.

2) MULDER, Annalen Ch. u. Pharm. 52, 424. PFAUNDLER, Annalen Ch. u. Pharm. 115, 39.

rein gelb. In Wasser ist das Chlorophyllgelb unlöslich und wird durch Wasser aus alkoholischer Lösung gefällt. Das Chlorophyllgelb zeigt die Reaktionen der Lipochrome¹⁾ und schießt sich in seinem ganzen Verhalten den namentlich bei den Thieren untersuchten Lipochromen an. Mit konzentrierter Schwefelsäure wird das Chlorophyllgelb blau, ebenso mit Salpetersäure, doch ist die Schwefelsäurefärbung reiner. Jod-Jodkalium färbt das Chlorophyllgelb grünblau. Die Reaktionen sind mit dem festen Farbstoff anzustellen, indem man eine Lösung in einer weißen Porzellanschale verdunstet und den Farbstoff mit den Reagentien betupft.

Mehrere Versuche mit der gewöhnlichen Chlorophylllösung hatten schon früher auf das Vorhandensein eines gelben Farbstoffes in derselben gedeutet. Darauf hin wurde von mehreren Autoren die sehr unklar ausgesprochene Idee geäußert, der grüne Chlorophyllfarbstoff bestehe aus einem blauen und einem gelben Farbstoff, welche zusammen grün gäben.

FREMY²⁾ suchte zuerst diese Zusammensetzung des grünen Chlorophyllfarbstoffes aus einem blauen und einem gelben zu beweisen. Sein Versuch war folgender: Er vermischte eine ätherische Chlorophylllösung mit Salzsäure. Es bildeten sich zwei Schichten, eine untere salzsaure blaugefärbte und darüber die gelbgefärbte Ätherschicht. FREMY nannte den blauen Farbstoff Phyllocyanin, den gelben Phylloxanthin.

Dieser FREMY'sche Versuch ist nun gar keine Spaltung des Chlorophyllgrüns in einen blauen und gelben Bestandtheil, sondern nur eine unvollkommene Trennung des in der gewöhnlichen Chlorophylllösung vorhandenen Chlorophyllgrüns vom Chlorophyllgelb, wobei, da Salzsäure in Anwendung kommt, das Chlorophyllgrün sich in das oben erwähnte blaue Salzsäureprodukt umwandelt. Daß durch die FREMY'sche Reaktion das Chlorophyllgrün selbst nicht in zwei Farbstoffe zerlegt wird, geht daraus hervor, daß diese Reaktion mit reinem Chlorophyllgrün nicht mehr gelingt. Versetzt man eine ätherische Lösung von reinem Chlorophyllgrün mit Salzsäure, so entsteht eine blaue untere Schicht, auf der aber nun eine farblose Ätherschicht oben aufschwimmt, da eben der gelbe Farbstoff nicht mehr gegenwärtig ist. FREMY hat seine Ansicht, daß der Chlorophyllfarbstoff aus zwei Farbstoffen bestehe, später auch wieder aufgegeben.

KRAUS³⁾ erhielt aber diese Ansicht aufrecht und wollte auf andere Weise das Chlorophyllgrün in einen blaugrünen und einen gelben Bestandtheil zerlegt haben. Er vermischte eine gewöhnliche, mit wässerigem Alkohol hergestellte Chlorophylllösung mit Benzol und erhielt ebenfalls zwei

1) KRUKENBERG, Zur Kenntniß der Verbreitung der Lipochrome im Thierreiche. Vergleichend-physiologische Untersuchungen. II. Reihe. 3. Abtheilung. 1882.

2) FREMY, Recherches sur la matière colorante verte des feuilles. Comptes rendus 50 (1860) p. 405 und 61, (1862) p. 480.

3) G. KRAUS, Zur Kenntniß der Chlorophyllfarbstoffe und ihrer Verwandten. Stuttgart 1872.

Schichten, eine untere alkoholische gelbe und eine obere blaugrüne Benzol-lösung. KRAUS bezeichnet die blaugrüne Lösung als Cyanophyll, die gelbe als Xanthophyll. Auch KRAUS' Versuch ist nun keine Zerlegung eines grünen Farbstoffes in zwei Komponenten, sondern ebenfalls eine unvollständige Trennung des Chlorophyllgrüns vom Chlorophyllgelb. Was KRAUS Cyanophyll nennt, ist nichts weiter als eine gewöhnliche Chlorophylllösung, der ein Theil des gelben Farbstoffes entzogen worden ist. Denn man kann aus dem »Cyanophyll« von neuem durch wässerigen Alkohol eine gelbe Schicht erhalten. Demnach ist das Spektrum, welches KRAUS' von seinem »Cyanophyll« giebt, nichts anderes als das Spektrum eines gewöhnlichen Blätterextraktes.

Das Thatsächliche ist in FREMY'S und KRAUS' Experimenten vollkommen richtig, nur die Deutung, welche die Autoren den Versuchen gaben, zu verlassen. Die Auffassung ist heute so zu ändern, daß der Chlorophyllfarbstoff des lebenden Blattes nicht aus einem blauen und gelben Pigment zusammengesetzt ist, sondern daß zwei Farbstoffe, Chlorophyllgrün und Chlorophyllgelb, nebeneinander präexistiren, wahrscheinlich als Fettverbindungen, welche beide beim Extrahiren von Blättern mit Alkohol in diesen übergehen.

Läßt man die Deutung, welche FREMY⁷ und KRAUS ihren Versuchen gaben, außer Acht, so können beide Experimente recht wohl zur einfachen Demonstration des Vorhandenseins zweier Farbstoffe in einer gewöhnlichen Chlorophylllösung benutzt werden, wenn sie auch niemals als vollständige Trennungsmethoden dienen können. Ich habe gefunden, daß sich bei dem KRAUS'schen Versuche statt des Benzols viel besser Petroläther anwenden läßt. Man versetzt mit absolutem Alkohol hergestelltes Chlorophyllextrakt mit $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{2}$ Volumen Wasser und fügt dem Gemisch das gleiche Volumen Petroläther zu. Nach dem Schütteln trennt sich die obere grüne Schicht leicht von der unteren gelben.

Spektroskopische Beobachtungen.

Mit dem Absorptionsspektrum der gewöhnlichen alkoholischen Chlorophylllösung, welches von BREWSTER entdeckt wurde, haben sich zahlreiche Beobachter seitdem beschäftigt. Da aber auf die Herstellung der Lösungen wenig Sorgfalt verwendet wurde, so stimmten die mannigfachen Angaben über das Spektrum nicht überein. Erst durch HAGENBACH'S⁴⁾ und KRAUS' Bemühungen wurde das Spektrum des alkoholischen Blätterauszuges festgestellt. Es enthält nach diesen Autoren 7 Absorptionsbänder, von denen 4 in der rothen, 3 in der blauen Spektralhälfte gelegen sind. Vom rothen Ende ausgehend sind die Absorptionen als Band I bis VII bezeichnet worden.

4) HAGENBACH, Untersuchungen über die optischen Eigenschaften des Blattgrüns. POGGENDORFF'S Annalen 21 (1870) p. 245. — KRAUS l. c.

Was KRAUS als Band VII aufführt, ist aber nur die Endabsorption, welche man nicht als Band zu bezeichnen pflegt, so daß aus KRAUS' Beobachtungen sich eigentlich nur 6 Absorptionsbänder ergeben.

Um das Spektrum des Chlorophyllgrüns und Chlorophyllgelbs festzustellen, habe ich einen großen Spektralapparat benutzt, da es beim Arbeiten mit größeren Mengen Lösung unzweckmäßig erscheint, sich des für ganz andere Zwecke bestimmten Mikrospektralapparates zu bedienen, der nach KRAUS' Vorgänge von den Botanikern mit Vorliebe für die spektroskopische Untersuchung des Chlorophyllextrakts gebraucht wurde. Als Lichtquelle ist das Sonnenlicht nicht zu umgehen, da man bei gewöhnlichem Lampenlicht z. B. die Bänder des Chlorophyllgelbs nicht sehen kann. Das Sonnenlicht wurde durch einen Heliostaten auf den Collimator des Spektralapparates gelenkt. Zur Aufnahme der Lösungen diente ein HERMANN'Sches Hämoskop, welches in den Stand setzt, in schneller und beliebiger Folge Schichten von verschiedener Dicke zu beobachten.

Das Spektrum des Chlorophyllgrüns.¹⁾

Das Chlorophyllgrün besitzt nur Absorptionsbänder in der rothen Hälfte des Spektrums und zwar vier. Diese Bänder stimmen überein mit den Bändern I—IV der gewöhnlichen Chlorophylllösung und sind nur etwas gegen das blaue Ende des Spektrums hin verschoben. Dies erklärt sich durch die Trennung der Farbstoffe von Medien mit anderen Dispersionsverhältnissen. Bekanntlich zeigt schon das alkoholische Blätterextrakt eine solche Verschiebung der Bänder im Gegensatz zum Spektrum des lebenden Blattes.

Das Spektrum des Chlorophyllgelbs.

Dasselbe besitzt nur drei Bänder in der blauen Spektralhälfte, abgesehen von der Endabsorption dagegen keine Absorptionen im Roth. Demnach schließt sich also das Chlorophyllgelb auch in seinem Spektralverhalten den Lipochromen an, für welche, wie bekannt, zwei oder drei Bänder in der blauen Spektralregion charakteristisch sind. Mit dem Spektrum des Chlorophyllgelbs stimmt dasjenige des gelben Farbstoffes etiolirter Blätter, das Etiolin, vollkommen überein, auch dieses besitzt die nämlichen drei Bänder (ohne die Endabsorption). Alle Angaben, nach denen das Etiolin auch in der rothen Hälfte des Spektrums Absorptionsbänder haben und mit dem Chlorophyllspektrum übereinstimmen sollte, sind unrichtig. Damit werden denn die früheren richtigen Angaben über das Etiolinspektrum von KRAUS, welche durch jene neueren angeblichen Entdeckungen berichtigt werden sollten, wieder in ihr Recht eingesetzt.

¹⁾ Die Spektrogramme, welche wegen Herausgabe des vorliegenden Hefes leider nicht mehr diesen Publikationen beigegeben werden konnten, werde ich später veröffentlichen.

Aus den spektroskopischen Beobachtungen des Chlorophyllgrüns und Chlorophyllgelbs erklärt sich nun erst das Zustandekommen des Spektrums der gewöhnlichen alkoholischen Blätterauszüge. Da in dieser Lösung Chlorophyllgrün und Chlorophyllgelb nebeneinander vertreten sind, so ist das Spektrum der gewöhnlichen Chlorophylllösung eine Kombination zweier Absorptionsspektren. Demnach finden sich in demselben die vier Bänder des Chlorophyllgrüns und die drei Bänder des Chlorophyllgelbs. KRAUS hat für die gewöhnliche Chlorophylltinktur, wie schon bemerkt, nur 6 Bänder angegeben, was aber erklärlich ist, da das dritte Lipochromband wegen der starken Endabsorption in der gewöhnlichen Chlorophylllösung nicht sichtbar ist, sondern erst an dem isolirten gelben Farbstoff hervortritt.

Das Spektrum der Lösungen von Chlorophyllgrün in konzentrirter Schwefelsäure und Salzsäure ist von dem Spektrum unveränderten Chlorophyllgrüns nicht so sehr verschieden, wie man erwarten möchte. Das erste dunkle Band behält seine Lage, während die andern Bänder Verschiebungen zeigen. Eine ähnliche Abweichung zeigt das Spektrum der salpetersauren Lösung. Die Spektren der Säureprodukte zeigen eine größere Übereinstimmung mit dem Spektrum der gewöhnlichen Chlorophylllösung, wie mit reinem Chlorophyllgrün.

So bestätigen es denn auch die spektroskopischen Beobachtungen, daß man es im Chlorophyllgrün mit dem isolirten Chlorophyllfarbstoff und nicht, wie voreiliger Weise schon behauptet worden ist, mit Zersetzungsprodukten desselben zu thun habe. Alle Thatsachen sind so schlagend, daß ich mich auf die von ganz unkompetenter Seite gemachten Einwände nicht einlassen kann.

Ich habe bei der Mittheilung meiner Resultate, welche ich hiermit abschließe, sehr wenig Gelegenheit gehabt, etwas von der umfangreichen Litteratur über den Chlorophyllfarbstoff zu erwähnen. Es liegt das ja in der Natur der Sache. Die bisherige Litteratur über diesen Gegenstand beschäftigte sich ausschließlich mit einer ganz unreinen Chlorophylllösung und ist nun, nachdem man das Chlorophyllgrün isoliren kann, veraltet, was durchaus kein Bedauern hervorrufen kann, wenn man genöthigt gewesen ist, sich mit dieser Litteratur eingehender zu beschäftigen. Es wäre ja wunderbar, wenn nicht trotzdem einige wenige Arbeiten aus dem Wust herauszuheben wären, welche ein bleibendes Interesse beanspruchen. So bleibt selbstverständlich BREWSTER's grundlegende Untersuchung über die optischen Eigenschaften des grünen Blattauszuges von hohem Werthe.¹⁾ Mit Recht bemerkt HAGENBACH, daß BREWSTER's Arbeit den Keim aller spätern optischen Untersuchungen enthält, denn, wie bekannt, hatte derselbe schon alle wichtigen optischen

1) BREWSTER: On the colours of natural bodies. Transactions of the R. Society of Edinburgh 4834, T. XII, p.538.

Eigenschaften der Chlorophylllösung, ihre Fluoreszenz, ihren Dichroismus, ihr Absorptionsspektrum bis auf ein paar von der Neuzeit gefundene Bänder entdeckt. Was die endliche Feststellung des Spektrums der Chlorophylllösungen anbetrifft, so ist auf HAGENBACH'S und KRAUS' Abhandlungen hinzuweisen, und in der letztern findet sich auch eine kritische Zusammenstellung der früheren Litteratur, auf die ich um so lieber verweise, als neuere Zusammenfassungen doch nur aus KRAUS' Buch geschöpft haben.

Was nun die sogleich nach meiner ganz kurzen vorläufigen Mittheilung (Sitzungsber. d. phys.-med. Ges. Würzburg 1883) von TSCHIRCH gleich in duplo (Berichte der deutschen botan. Ges. B. I, Heft 11 u. d. deutschen chem. Ges. 1883, N. 46) publizirten ganz unbegründeten Einwendungen gegen meine Resultate anbetrifft, so will ich von den gegen mich gerichteten kritischen Bemerkungen hier absehen und nur den ersten Satz aus einer der Publikationen von TSCHIRCH hervorheben. Derselbe lautet: »Die bisher angewendeten Methoden, den grünen Farbstoff der Blätter, das Chlorophyll, rein darzustellen, führten, wie die spektroskopische Prüfung der erhaltenen Produkte lehrt, nicht zum Ziel.«

Da TSCHIRCH noch niemals reines Chlorophyllgrün in Händen hatte, so enthält sein Anfangssatz nichts als eine *petitio principii*. Die »schwarzgrünen nicht krystallisirenden Tropfen«, welche TSCHIRCH untersuchte, besaßen nach seinen eigenen Angaben (l. c.) alle Eigenschaften der gewöhnlichen Chlorophyllsauce.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Arbeiten des Botanischen Instituts in Würzburg](#)

Jahr/Year: 1888

Band/Volume: [3](#)

Autor(en)/Author(s): Hansen Adolf [Adolph]

Artikel/Article: [Der Chlorophyllfarbstoff 123-143](#)