

Gegentheil. Meine Reaction zeigt nämlich auf das Deutlichste, dass Chlorophyll entschieden durch Alkali, und zwar schon durch verdünntes angegriffen wird, denn es lässt sich sowohl an Blättern, die mit verdünntem Kaliumhydroxyd vollständig abgetödtet wurden, als auch an aus grünen Blättern gewonnenem gelösten Alkalichlorophyll zeigen, dass mit gesättigtem *KOH* die braune Farbe nicht mehr in Erscheinung tritt.

Von dem Zutreffen der Reaction bei dem Chlorophyll der Diatomeen und Phaeosporeen (Braunalgen) kann man sich ebenfalls leicht überzeugen, wenn man die braunen Diatomeen und die Braunalgen durch siedendes Wasser zuerst tödtet und hierdurch grün macht und dann erst der Probe unterwirft. Alkoholische Chlorophylllösungen von Florideen und Cyanophyceen geben, wie zu erwarten war, die Reaction auch, doch wird die mikrochemische Verwerthbarkeit derselben hier durch andere, gleichzeitig nebenher verlaufende Farbenreactionen, welche durch die Einwirkung<sup>1)</sup> der Kalilauge auf das Phycocerythrin bzw. auf das Phycocyan hervorgerufen werden, sehr in Frage gestellt.

Während meiner Untersuchungen ist mir kein anderer Körper untergekommen, der meine Chlorophyllprobe auch gezeigt hätte. Von den von mir wiederholt geprüften Körpern hebe ich nur hervor: den constanten Begleiter des Chlorophylls, das Xanthophyll (Carotin), den gelben Farbstoff herbstlich verfärbter Blätter, verschiedene Blütenfarbstoffe und den grünen Farbstoff der *Peziza aeruginosa*.

Prag, Pflanzenphysiolog. Institut der k. k. deutschen Universität.

#### 4. Hans Molisch: Die Krystallisation und der Nachweis des Xanthophylls (Carotins) im Blatte.

Mit Tafel II.

Eingegangen am 6. Januar 1896.

Durch Versuche von G. KRAUS<sup>2)</sup> ist zuerst gezeigt worden, dass das Chlorophyll in der Pflanze stets von einem gelben Farbstoffe, dem Xanthophyll, begleitet ist, und dass es leicht gelingt, die beiden in einer alkoholischen Chlorophylllösung vorhandenen und mit einander

1) Vergl. darüber H. MOLISCH, Das Phycocerythrin, seine Krystallisirbarkeit und chemische Natur. Bot. Zeitg. 1894, I, S. 180. — Ferner: H. MOLISCH, Das Phycocyan, ein krystallisirbarer Eiweisskörper. Ebenda 1895, I, S. 131.

2) G. KRAUS, Zur Kenntniss der Chlorophyllfarbstoffe. Stuttgart 1872, S. 88.

gemischten Farbstoffe mittelst Benzin zu trennen. Schüttelt man eine alkoholische Chlorophylllösung mit Benzin, so nimmt bekanntlich das sich oben ansammelnde Benzin vorzugsweise Chlorophyll auf, während der darunter befindliche Alkohol das Xanthophyll gelöst enthält. Später hat WIESNER<sup>1)</sup> gefunden, dass die oben beschriebene Entmischung nicht nur mit Benzin, sondern auch mit anderen Körpern, so z. B. mit trocknenden und nicht trocknenden fetten Oelen, wie Leinöl, Nussöl, Mohnöl, und ferner mit ätherischen Oelen, so durch Terpentinöl, Rosmarinöl oder Wintergrünöl, gelingt.

Da Chlorophyll und Xanthophyll chemisch von einander sehr differiren und auch in ihrer Löslichkeit nicht unerhebliche Unterschiede aufweisen, so war es mir von vornherein nicht ganz unwahrscheinlich, dass es möglich wäre, das Chlorophyll einem grünen Blatte zu entziehen, ohne gleichzeitig das Xanthophyll in Lösung überzuführen — mit anderen Worten, Xanthophyll im Blatte von Chlorophyll zu trennen.

Meine darauf gerichteten Versuche lehrten, dass eine solche Trennung nicht nur gelingt, sondern dass bei der von mir angewandten Methode das im Blatte verbleibende Xanthophyll sogar innerhalb der Zellen grösstentheils auskrystallisirt.

Mein Verfahren, welches ich von nun an kurz als „Kalimethode“ bezeichnen werde, ist sehr einfach und besteht im Folgenden:

Die frischen grünen Blätter oder kleine Stücke derselben werden in 40procentigen (Volum) Alkohol, welcher 20 pCt. (Gewicht) Kaliumhydroxyd gelöst enthält, gelegt und darin mehrere Tage, gewöhnlich so lange bei Abschluss von Licht belassen, bis alles Chlorophyll ausgezogen ist.

In einer derart zusammengesetzten alkoholischen Kalilauge erhält man die besten Resultate. Ich habe selbstverständlich auch noch anders concentrirte Kaliumhydroxydlösungen erprobt, um das Xanthophyll im Blatte zur Krystallisation zu bringen, so 1-, 3-, 5-, 10-, 15-, 25- und 33procentige in 40 pCt. Alkohol und habe gefunden, dass erhebliche Krystallisation erst in 15procentiger Lösung beginnt, dass sie in 20- bis 25procentiger Lösung am besten, in 33procentiger Concentration schon viel schwächer ausfällt, und dass in so hoch concentrirter Kalilauge die Gewebe schon zu stark angegriffen werden. In einer zweiten Versuchsreihe mit wechselndem Alkoholgehalt ergab sich, dass die Verwendung von 40procentigem (Volum) Alkohol die besten Dienste leistet.

Um die Absorption von atmosphärischer Kohlensäure durch die

---

1) J. WIESNER, Bemerkungen über die angeblichen Bestandtheile des Chlorophylls. Flora 1874, S. 280.

alkoholische Kalilauge zu verhindern, wird die Procedur in verschliessbaren, mit gut eingeschliffenen Glasstopfen versehenen Präparatencylindern von verschiedener Grösse vorgenommen. Arbeitet man mit kleinen Blattstücken, so genügen Gläser von 100 bis 200  $cm^3$  Inhalt. Unter diesen Umständen wird oft schon nach einem Tage das Chlorophyll als Alkalichlorophyll dem Blatte völlig entzogen, das Xanthophyll hingegen bleibt im Blatte zurück. Das Blatt sieht dann wie ein etiolirtes aus, doch ist seine nunmehrige Färbung sicherlich nicht auf das Xanthophyll allein zurückzuführen, sondern auch noch auf andere, derzeit unbekannte gelbe Verbindungen, die erst durch die Einwirkung der Kalilauge in der Zelle entstehen.

Die Trennung der beiden Farbstoffe muss wohl eine nahezu vollständige sein, denn in einem unserer Methode unterworfenen Blatte ist keine Spur von Chlorophyll zu bemerken, und was das Xanthophyll anbelangt, so konnte ich bei Ausschüttelung der alkoholischen Alkalichlorophylllösung mittelst Benzin in diesem Xanthophyll nicht nachweisen.

So verhält sich die Sache bei den von mir untersuchten Blättern; bei sehr dünnen Objecten dagegen, z. B. bei Algenfäden oder einzelnen Algenzellen, gelingt die Sonderung der beiden Farbstoffe wohl nur theilweise, da man den gelben Farbstoff mitunter auch ausserhalb oder nur ausserhalb der Zellen auskrystallisiren sieht<sup>1)</sup>. In Blättern, selbst in den sehr zarten von *Elodea* (Fig. 8), *Selaginella* und verschiedenen Moosen ist die Entmischung sicherlich eine viel vollständigere als die Scheidung mittelst Benzin in der Eprouvette, da dieses, wie bekannt, ziemlich viel von dem gelben Farbstoff aufnimmt.

Bei grösseren Pflanzenobjecten empfiehlt es sich behufs vollständiger Extraction des grünen Farbstoffs die Flüssigkeit ein oder zweimal zu wechseln.

1) Bei Algen waren die Resultate auch insofern keine präzisen, als die Krystallisation bei ein und demselben Object bald eintrat, bald ausblieb. So z. B. bei *Spirogyra*. Von welchen Umständen dies abhängt, ob von der Menge der Stärke, die in der Zelle durch die Kalilauge verkleistert und der Krystallisation hinderlich wird, oder von anderen Ursachen, habe ich nicht näher verfolgt. Doch lässt sich auch bei *Spirogyra* und anderen Algen das Chlorophyll ganz wegschaffen, und dann giebt sich der zurückbleibende gelbe Farbstoff, wenn nicht gerade immer in Krystallen, so doch nach Behandlung mit concentrirter Schwefelsäure durch eine indigblaue Färbung zu erkennen. Interessant ist, dass bei *Oscillaria leptotricha* Kützing, sobald man einen kleinen, von Wasser mit Filtrirpapier befreiten Rasen dieser Alge mit einem Tropfen meiner Kalilauge oder Eisessig betupft, mit dem Deckglas bedeckt und dann langsam verdunsten lässt, schon nach einer Viertelstunde zahlreiche orangerothe Schuppen (Fig. 7) um die Fäden herumstehen, die dieselben Farbenreactionen wie die in Blättern gewonnenen Krystalle geben. In Eisessig nehmen die *Oscillaria*-Fäden, namentlich wenn viele auf einander liegen, eine deutlich violette Färbung an, weil durch die Essigsäure das Chlorophyll und der gelbe Farbstoff ausgezogen werden und dann nur das Phycocyan übrig bleibt.

Ist nun das Blatt von Chlorophyll vollständig befreit und mehrere Tage in der alkoholischen Kalilauge gelegen, so giebt man es, um das Kaliumhydroxyd auszuwaschen, auf mehrere Stunden in destillirtes, Wasser und legt dann Fragmente der Blätter zum Zwecke mikroskopischer Beobachtung und Anfertigung von Dauerpräparaten in reines Glycerin. Man findet dann nahezu in jeder früher Chlorophyll führenden Zelle das Xanthophyll auskrystallisirt vor. Während die Epidermis und die Gefässbündel frei von Farbstoffkrystallen sind, erscheint das Assimilationsparenchym mit diesen wie besäet (Siehe die Tafel).

Nach der angegebenen Methode wurden die grünen Laubblätter von etwa 100 verschiedenen phanerogamen Gattungen zu verschiedenen Jahreszeiten untersucht und das Xanthophyll hierbei in der Regel in Krystallform abgeschieden, selten in Form gelber Tröpfchen oder den Zellinhalt durchtränkend vorgefunden.

So wie die grünen Laubblätter verhalten sich auch etiolirte. Ich habe etiolirte Keimlinge von *Lepidium sativum*, *Hordeum vulgare*, *Cannabis sativa*, *Balsamina hortensis*, *Pisum sativum* und *Abies excelsa* bei vollständigem Abschluss von Licht gezogen und meiner Methode unterworfen. Es konnten dann bei allen Pflanzen mit Ausnahme der Cotylen der Sonnenrose, wo es nur zur Bildung orangerother Tropfen kam, in den Keimblättern bzw. Primordialblättern reichlich Krystalle des gelben Farbstoffes (Etiolins) vorgefunden werden und zwar im Mesophyll, mitunter auch in und neben den Schliesszellen der Spaltöffnungen (Gerste). Fig. 4 und 5.

Wir wollen nun zuerst die physikalischen und dann die chemischen Eigenschaften der in den Zellen niedergeschlagenen Farbstoffkrystalle in Betracht ziehen.

#### Die physikalischen Eigenschaften.

Die Krystalle sind gelb-orange bis braun-orange. Ein und derselbe Krystall kann je nach der Lage bald hell-, bald dunkelorange erscheinen. Liegen z. B. die tafelartigen Krystalle auf der Fläche, so erscheinen sie hell, liegen sie auf der Kante, geht also das Licht durch eine dickere Schichte, so erscheinen sie dunkler orange.

Auffallend ist ihr Perlmutterglanz. Derselbe tritt besonders schön auf, wenn man auf das Präparat einen Lichtkegel wirft und bei schwacher Vergrößerung nur im auffallenden Lichte betrachtet.

Die Formen sind bei ein und demselben Blatte und auch bei Blättern verschiedener Pflanzenarten recht mannigfaltig. In demselben Gewebefragmente kann man beobachten: einzelne Nadeln oder unregelmässige stern- oder büschelartige Aggregate von solchen, Tafeln mit parallelen oder ausgezackten Rändern, säbel-, hobelspahnartige Krystalle, sowie verschieden geformte Schuppen.

Mein verehrter Herr College, der Mineraloge Prof. Dr. BECKE, hatte die Güte — ich spreche ihm dafür meinen herzlichsten Dank aus — verschiedene Präparate, die ich ihm übergab, krystallographisch zu untersuchen und schreibt mir darüber folgendes:

„Die einzelnen Präparate sollen gesondert kurz beschrieben werden, wobei jedoch hervorgehoben sei, dass die Ausbildung der Krystalle nirgends eine so vollkommene ist, dass Messungen von Auslöschungsschiefen möglich gewesen wären.

1. Blattstück von *Mimulus moschatus* Dougl. (Fig. 1). In den Zellen des Gewebestückes liegen sternförmig und rosettig gruppirte Blättchen. Die best ausgebildeten haben die Gestalt von rhombischen Tafeln mit einem Winkel von etwas über  $60^\circ$ ; Auslöschung parallel den Diagonalen; der längeren Diagonale entspricht die Achse kleinster Elasticität. Pleochroismus sehr auffallend: Schwingungen parallel der längeren Diagonale dunkelorange, parallel der kürzeren farblos. In der Seitenansicht zeigen die Blättchen gleichfalls gerade Auslöschung und die Achse kleinster Elasticität in der Längsrichtung. Der Pleochroismus ist hier minder auffallend.

Diese Beobachtungen lassen sich mit einiger Wahrscheinlichkeit folgendermassen deuten: Krystallsystem rhombisch, Form tafelförmig nach der Endfläche (001), seitlich begrenzt von einem Prisma von etwas über  $60^\circ$ . Ebene der optischen Achsen die Querfläche; die Verticalachse entspricht der grössten, die Querachse der kleinsten optischen Elasticitätsachse, die Längsachse der optischen Normale ( $c = a$ ,  $b = c$ ,  $a = b$ ). Pleochroismus  $c$  dunkelorange,  $b$  farblos,  $a$  orange. Absorption:  $c = a > b$ . Neben diesen Blättchen finden sich noch wenige schmale Tafeln, die den isolirten Xanthophyllkrystallen (s. folgende Seite) zu entsprechen scheinen, und schief auslöschende Nadeln.

2. Blattstück von *Polygonum tinctorium* L. In diesem Präparat, Fig. 2, haben die Krystallisationen die Form büschelförmig aggregirter Nadeln. Sehr selten treten rhombische Blättchen auf, die sich wie bei *Mimulus* verhalten. Die Nadeln zeigen je nach ihrer Lage gerade oder schiefe Auslöschung. Die Auslöschungsschiefe erreicht Maximalwerthe bis  $40^\circ$ . Die stark schief auslöschenden Nadeln zeigen keinen deutlichen Pleochroismus. Die gerade auslöschenden haben in der Längsrichtung die Achse kleinster Elasticität, und die dieser entsprechenden Schwingungen geben einen merklich tiefer orangegelben Ton als die Schwingungen in der Querrichtung. Aus diesen Beobachtungen kann man auf monoklines System schliessen.

3. Blattstück von *Mercurialis annua* L. (Fig. 3). Unsymmetrisch begrenzte Tafeln mit sehr auffallendem Pleochroismus (ähnlich wie bei *Mimulus*), der Achse kleinster Elasticität entspricht tief orangegelb, Schwingungen nach der Achse grösster Elasticität sind fast farblos.

In der Seitenansicht geben die Tafeln zum Theil gerade Auslöschung, die Achse kleinster Elasticität in der Längsrichtung; diese zeigen keinen deutlichen Pleochroismus. Andere Tafeln zeigen in der Seitenansicht schiefe Auslöschung und Pleochroismus wie auf der Tafelfläche selbst.

Diese Beobachtungen lassen sich nur schwer mit den bei *Mimulus* erkannten rhombischen Formen in Einklang bringen und weisen auf das monokline oder trikline System.

4. Etiolirtes Blatt von Weizen (Fig. 4). Schmale Tafeln und Nadeln von meist gerader Auslöschung. Die Längsrichtung entspricht der Achse grösster Elasticität. Der Pleochroismus ist ähnlich dem der anderen Krystalle: der Achse kleinerer Elasticität entspricht der dunklere Farbenton.

5. Die isolirten Krystalle<sup>1)</sup> von Xanthophyll (Fig. 6) haben die Gestalt sehr schmaler und langer Tafeln. Nach ihren optischen Eigenschaften gehören sie dem rhombischen Krystallsystem an.

Auf der Tafelfläche liegend zeigen sie gerade Auslöschung, die Achse kleinster Elasticität liegt parallel der Längsrichtung, die Doppelbrechung ist energisch, der grössere Brechungsexponent, Schwingungen nach der Längsrichtung der Tafeln entsprechend, ist beträchtlich höher als der Brechungsexponent des umgebenden Mediums (Glycerin); der Brechungsexponent für Schwingungen in der Querrichtung ist fast gleich dem des umgebenden Mediums und nur wenig höher. Die auf der Tafelfläche liegenden Krystalle zeigen einen schönen Pleochroismus. Schwingungen nach der Längsrichtung erscheinen rein und tief gelb, Schwingungen nach der Querrichtung blasser mit röthlich-orange gefärbtem Tone. Im convergenten Licht untersucht zeigen die Krystalle wegen ihrer ausserordentlichen Dünne nur undeutliche Erscheinungen, welche aber beweisen, dass die optische Normale oder die Mittellinie des stumpfen Achsenwinkels senkrecht zur Tafelfläche orientirt ist.

Eine deutliche Ausbildung der Endigung der Krystalle wurde nicht beobachtet. Häufig kommen schiefe Endigungen vor, oft erscheinen

---

1) Ich habe gefunden, dass man leicht sehr grosse und ziemlich gut ausgebildete Krystalle gelben Blattfarbstoffes erhält, wenn man beispielsweise die Blätter von *Viola odorata* siedet, in absolutem Alkohol bei gewöhnlicher Temperatur das Chlorophyll und Xanthophyll extrahirt, filtrirt und dann bis zum Verschwinden der rothen Fluorescenz mit Wasser versetzt. Nach einigen Stunden ruhigen Stehens wimmelt es in dem Extract von schönen gelben Farbstoffkrystallen, die in höchst auffallender Weise durch ihr Aufblitzen und ihren eigenthümlichen Glanz schon dem freien Auge ihre Gegenwart verrathen. Durch Filtriren und Waschen kann man sich leicht relativ grosse Mengen solcher orangegelber Krystalle von Xanthophyll (Carotin) in ziemlicher Reinheit verschaffen. Derartige Krystalle benutzte Prof. BECKE zur krystallographischen Untersuchung.

die Tafeln einerseits schief, andererseits gerade abgestumpft. Viele Exemplare endigen in schwach divergirende Büschel.

Auf die schmale Kante gestellte Tafeln zeigen eine tiefere Färbung, offenbar wegen der dickeren Schichte, die das Licht zu durchlaufen hat. Auch diese Krystalle zeigen gerade Auslöschung und die Achse kleinster Elasticität in der Längsrichtung. Der Pleochroismus ist hier weniger auffallend, aber auch hier entspricht Schwingungen in der Querrichtung die minder tiefe Färbung. Ein so auffallender Unterschied im Brechungsexponenten wird hier nicht beobachtet: die Krystalle erscheinen in beiden Stellungen, d. i. für Schwingungen in der Längs- und Querrichtung merklich stärker lichtbrechend als ihre Umgebung.

Die vorhandenen Beobachtungen lassen sich folgendermassen krystallographisch deuten: Krystallsystem rhombisch; Form schmal tafelförmig nach der Querfläche (100), gestreckt nach der Verticalachse ( $c$ ). Ebene der optischen Achse parallel (100),  $c = c$ ,  $b = a$ ,  $a = b$ ; Pleochroismus:  $c$  rein und tief gelb,  $b$  etwas blasser, röthlichgelb,  $a$  blass roth-orange; Absorption  $c > b > a$ .

Die Krystallisationen in den Gewebestücken zeigen auf Grund ihrer krystallographischen Eigenschaften zwar eine unverkennbare Verwandtschaft mit dem Präparat der isolirten Krystalle, jedoch treten Unterschiede sowohl gegen diese, als der verschiedenen Krystallisationen unter einander auf, welche die Identität aller dieser Krystalle nicht wahrscheinlich machen.“ Ich komme auf diese wichtige Schlussfolgerung Prof. BECKE's noch weiter unten zu sprechen und fahre vorläufig in der Schilderung der physikalischen Eigenschaften der Krystalle in den Geweben fort.

Löslichkeit. Die Krystalle lösen sich in Aether, absol. Alkohol, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Eisessig und concentrirtem Chloralhydrat. Legt man kleine Gewebefragmente, denen man vorher das Wasser mittelst Filtrirpapier unter sanftem Druck entzogen hat, in einen Tropfen Aether, Chloroform oder Schwefelkohlenstoff, und drückt man mit dem Deckglas mehrmals auf das Blattstück, um das Lösungsmittel in die Zellen einzupressen, so kann man beobachten, wie die Krystalle in Aether zu gelben, in Chloroform und in Schwefelkohlenstoff zu tief orangerothern Tropfen zerfliessen. In Alkohol, Eisessig und Chloralhydrat erfolgt die Auflösung der Krystalle bei gewöhnlicher Temperatur sehr langsam, bei erhöhter jedoch sehr rasch. In verdünnten Säuren und Alkalien konnte ich eine Auflösung nicht beobachten. In Wasser und Glycerin bleiben die Krystalle ungelöst.

#### Die chemischen Eigenschaften.

Mit unverdünnter Schwefelsäure werden die Krystalle prachtvoll indigoblau. Da, wo der Farbstoff nur in Form gelber Tropfen vorliegt oder den Zellinhalt durchtränkt, giebt er sich ebenfalls mit concentrirter

Schwefelsäure durch eine tiefblaue Farbe zu erkennen. Fügt man dann Wasser hinzu, so verlieren sie rasch ihre blaue Farbe und verfärben sich.

Trockene schwefelige Säure färbt gleichfalls indigoblau; auch in concentrirter Salpetersäure nehmen sie sofort diese Farbe an, allein die blaue Farbe verschwindet alsbald, um einer gelblichen Platz zu machen.

Mit Bromwasser und Bromdampf werden die Krystalle rasch vorübergehend blau und schliesslich farblos.

Ich habe ferner eine neue Reaction an Xanthophyllkrystallen beobachtet. Diese besteht darin, dass sie mit concentrirter Salzsäure, welche etwas Phenol beigemischt enthält, nach kurzer Zeit tief blau werden. Mit concentrirter Salzsäure allein tritt entweder nach einiger Zeit eine schmutzig braune oder eine schmutzig blaue Färbung ein, allein diese lässt immer auf sich relativ sehr lange warten und ist auch nie so deutlich, wie die durch Salzsäure und Phenol hervorgerufene. Dieselben Dienste wie Phenol leistet, wie ich gefunden habe, auch Thymol.

In Jodchloralhydrat (5 Th. Chloralh., 2 Th. Wasser und Jod im Ueberschuss) nehmen die Krystalle eine dunkel schmutzig grüne Farbe an.

Schliesslich sei bemerkt, dass alle angeführten Farbenreactionen am besten gelingen, wenn man den im Wasser ausgewaschenen und vom KOH befreiten Gewebestücken das Wasser durch Filtrirpapier oder im Exsiccator vor der Reaction möglichst entzieht. —

Die neueren Arbeiten über den gelben Farbstoff der grünen Blätter, namentlich die ausgezeichneten Untersuchungen ARNAUD's<sup>1)</sup> und ferner die von IMMENDORF<sup>2)</sup> convergiren mehr oder weniger in dem Bestreben, den gelben Farbstoff der Blätter, das Xanthophyll mit dem Carotin, dem gelben Farbstoff der cultivirten Rübe (*Daucus Carota*) zu identificiren. Auch MARCHLEWSKI, dem wir ein gutes vor Kurzem erschienenes Buch<sup>3)</sup> über das Chlorophyll verdanken, neigt sich, indem er die Eigenschaften des Carotins und Xanthophylls vergleicht und die ausserordentliche Aehnlichkeit beider Körper constatirt, dieser Auffassung zu. Desgleichen hält A. HANSEN<sup>4)</sup> ARNAUD's Ansicht gleich-

1) M. ARNAUD, Recherches sur les matières colorantes des feuilles; identité de la matière rouge orangé avec la carotine. Comptes rendus. T. C. (1885) p. 751. Ferner T. CIL., p. 1119 u. p. 1319.

2) H. IMMENDORF, Das Carotin im Pflanzenkörper etc. Landwirthschaftl. Jahrbücher, Bd. 18 (1889), S. 597.

3) L. MARCHLEWSKI, Die Chemie des Chlorophylls. 1895. S. 72.

4) A. HANSEN, Arbeiten des Würzburger Institutes. III. Bd. S. 432. Vergl. ferner: COURCHET, Recherches sur les chromoleucites. Annales des sciences natur. s. VII, t. VII, p. 366, und die ausführliche einschlägige Literaturzusammenstellung bei H. RITTER v. SCHRÖTTER, Ein neues Vorkommen von Carotin. Botan. Centralbl. 1895, Bd. LXI, S. 33.

falls für durchaus berechtigt. Die ausserordentliche Neigung des Carotins, zu krystallisiren, macht es begreiflich, dass man schon vor längerer Zeit in Chlorophyllextracten gelbe, rothgelbe und orangerothe krystallinische Ausscheidungen bemerkt und beschrieben hat. Wir besitzen darüber Beobachtungen von HARTSEN<sup>1)</sup>, BOUGAREL<sup>2)</sup> und BORODIN<sup>3)</sup>. Die von diesen Autoren beobachteten Krystalle unterscheiden sich namentlich in der Farbe. Sie treten bald in rother oder rothgelber, bald in goldgelber oder strohgelber Farbe auf, krystallisiren rhombisch, zeigen prachtvolle Polarisationserscheinungen und blauen Glanz. BORODIN hebt neben den Farbenunterschieden noch graduell verschiedenes Verhalten gegenüber Schwefelsäure, Eisessig, Alkohol und Benzin hervor. Hingegen kann sich TSCHIRCH<sup>4)</sup> nicht dazu verstehen, die angeführten Unterscheidungsmerkmale als genügend zu erachten, da sich überall Uebergänge zwischen den Krystallen vorfinden. In ähnlicher Weise spricht sich neuestens auch MARCHLEWSKI<sup>5)</sup> aus. Er hält die aufgefundenen Unterschiede nicht für genügend, „um die verschiedenen Körper (Xanthophyll, Erythrophyll, Chrysophyll) als nicht identische Individuen anzusehen, um so mehr, als TSCHIRCH beispielsweise bei der Wiederholung der verschiedenen Angaben anderer Autoren stets das gleichzeitige Auftreten von reingelben und rothgelben Krystallen constatirte. Die Unterschiede scheinen nicht auf chemischen Ursachen zu beruhen, sondern rein physikalischer Natur zu sein.“

Endlich sei darauf hingewiesen, dass nach einer Mittheilung TSCHIRCH's<sup>6)</sup> FRANK das Auftreten von rothen Krystallnadeln innerhalb der Zellen an und zwischen den Chlorophyllkörnern beobachtete, wenn er ganze Blätter in sehr verdünnte Säuren einlegte und diese sodann nach dem Auswaschen längere Zeit im Wasser liegen liess. Es erscheinen dann besonders in der Nähe der Spaltöffnungen „schön rothgelbe Nadeln neben gelbrothen schmierigen ölartigen Massen.“ TSCHIRCH spricht sich über die Natur dieser Krystalle nicht bestimmt aus, sondern stellt bloss fest, dass ihr Auftreten an die Gegenwart von Chlorophyll geknüpft ist und lässt es dahingestellt, ob sie ein Derivat des Chlorophylls oder der gelben Farbstoffe des Chlorophyllkorns oder einen normalen Begleiter des Chlorophylls darstellen.

1) F. A. HARTSEN, Chem. Centralblatt, 1872, 525 und 1875, 613. Ueber das Chrysophyll. Arch. Pharm. 107, 136.

2) BOUGAREL, Sur une matière colorante rouge accompagnant la chlorophylle. Bull. de la soc. chim. de Paris. 27, p. 442.

3) J. BORODIN, Ueber krystallinische Nebenpigmente des Chlorophylls. Mélanges biologiques tirés du bull. de l'académie imp. des sciences de St. Pétersbourg. T. XI, p. 485, janvier 1883.

4) A. TSCHIRCH, Untersuchungen über das Chlorophyll. Berlin 1884. S. 92.

5) L. MARCHLEWSKI, Die Chemie des Chlorophylls. Hamburg-Leipzig 1895. S. 71.

6) A. TSCHIRCH, l. c. 92.

Ich habe die Krystalle FRANK's, indem ich *Elodea*-Blätter in der angegebenen Weise behandelte, gleichfalls erhalten, habe dieselben geprüft und kann nur sagen, dass sie, abgesehen von der stark in's Rothe spielenden Färbung, in ihren wesentlichen Eigenschaften — soweit sich dies unterm Mikroskop feststellen lässt — mit den durch die Kalimethode erhaltenen übereinstimmen.

Als was sind nun die nach der Kalimethode im Blatte in so erstaunlicher Zahl niedergeschlagenen Krystalle anzusprechen? Sind sie Xanthophyll oder Carotin, und sind beide identisch? Oder liegen mehrere dem Carotin sehr nahe verwandte gelbe Farbstoffe vor?

Wie der aufmerksame Leser bereits bemerkt haben dürfte, sprechen viele meiner mikroskopischen Beobachtungen sehr zu Gunsten ARNAUD's, denn meine Krystalle ähneln Carotinkrystallen in auffallender Weise: Farbe, Glanz, Pleochroismus, Löslichkeit und die eigenartigen Farbenreactionen mit Schwefelsäure, Salpetersäure, Salzsäure und Phenol oder Thymol, mit Brom, Jod, alles deutet auf Carotin.

Wenn sich die Ansicht ARNAUD's und IMMENDORF's von der Identität des Xanthophylls mit Carotin bewahrheiten und durch weitere makrochemische Untersuchungen sich herausstellen sollte, dass wirklich nur ein einziger und zwar ein mit Carotin identischer gelber Farbstoff den Chlorophyllfarbstoff begleitet, dann könnte man meine Farbstoffkrystalle ohne Weiteres als Carotin ansprechen.

Bei dem gegenwärtigen Stand der Sachlage aber möchte ich, da doch die makrochemischen Untersuchungen noch gering an Zahl sind dies vorläufig noch nicht thun, besonders mit Rücksicht auf die krystallographischen Unterschiede, die doch die Farbstoffkrystalle gegen einander aufweisen. Ich erinnere nur daran, dass die Krystallgestalt in ein und demselben Blattstück variirt, dass die Krystalle von *Mimulus*<sup>1)</sup> nach BECKE dem rhombischen, die von *Polygonum* dem monoklinen und die von *Mercurialis* wahrscheinlich dem mono- oder triklinen System angehören, Unterschiede, die nicht gerade für die Identität aller dieser Krystalle sprechen. Gewissheit in dieser Frage können nur genaue Analysen und weitere Studien über den Farbstoff bringen, nicht aber mikrochemische Beobachtungen.

Wenn ich dennoch für alle nach der Kalimethode gewonnenen gelben oder orangerothern Krystalle des Blattes das Wort Carotin gebrauche, so meine ich damit nicht ein chemisches Individuum, sondern eine Gruppe sehr nah verwandter Stoffe, die dem Farbstoff der gelben Rübe, dem Carotin, ungewein nahestehen<sup>2)</sup>. So gefasst, kann man — wie dies auch in dieser kleinen Arbeit geschieht — das Wort Carotin

1) Siehe diese Abhandlung S. 22.

2) In diesem weiteren Sinne gebraucht bereits auch A. ZIMMERMANN das Wort Carotin. Botan. Mikrotechnik S. 99.

auch für Xanthophyll, Chrysophyll, Etiolin, Phycoxanthin und ähnliche Farbstoffe verwenden, also im Sinne eines Gruppenbegriffs, analog wie das Wort Zucker oder Eiweiss.

Schliesslich muss ich noch auf einen Einwand, der mir gemacht werden könnte, zu sprechen kommen, auf den nämlich, dass möglicher Weise die mit der Kalimethode im Blatte gewonnenen Krystalle gar keine Xanthophyll(Carotin)-Krystalle sind, sondern Krystalle eines Cholesterins, welche nur in Folge von anhaftendem Xanthophyll gelb-orange gefärbt erscheinen. Dieser Einwand ist um so mehr einer Prüfung werth, weil bereits REINKE<sup>1)</sup> zu zeigen versuchte, dass HANSEN's krystallisirtes Chlorophyllgelb nichts anderes sei, als durch Chlorophyllgelb (Xanthophyll) verunreinigtes Cholesterin. Und ferner, weil TSCHIRCH<sup>2)</sup> diese Meinung REINKE's theilt und bei seinen Versuchen, Xanthophyll zur Krystallisation zu bringen, aus der ätherischen Lösung desselben zuerst gelbe Nadeln erhielt, die sich als mit Xanthophyll verunreinigtes Phytosterin entpuppten und durch wiederholtes Umkrystallisiren farblos erhalten wurden. Erst das von Phytosterin befreite Xanthophyll krystallisirte im Eisschrank in kleinen, derben, oft zu mehreren vereinigten Nadeln heraus von eigenthümlichem Metallglanz.

Dass nun meine Krystalle nicht etwa gelb gefärbtes Cholesterin darstellen, sondern den Farbstoff selbst, dafür spricht schon ihr eigenartiger Perlmutterglanz, ihr Pleochroismus und der Umstand, dass alle Krystalle gleich intensiv gefärbt erscheinen. Würden an und für sich farblose Krystalle das Xanthophyll erst nachträglich speichern, so müsste man doch Uebergänge von ungefärbten bis zu stark gefärbten Krystallen bemerken. Davon habe ich nie etwas bemerkt.

Meine Krystalle können aber aus Cholesterin auch deshalb nicht bestehen, weil sie nicht die charakteristische blutrothe Färbung mit Schwefelsäure geben. Entfärbt man nämlich die Krystalle, indem man kleine krystallführende Gewebestücke für 1—3 Minuten in Bromwasser einlegt, wäscht man dann aus und behandelt die nunmehr farblosen Krystalle mit concentrirter Schwefelsäure, so tritt keine Färbung ein, nicht eine Spur einer blutrothen Färbung ist zu sehen, während Cholesterinkrystalle selbst nach Tage langem Liegen in Bromwasser die Reaction prompt geben. Daraus ziehe ich den Schluss, dass hier nicht mit Carotin verunreinigtes Cholesterin, sondern dass nur krystallisirtes Carotin (Xanthophyll) vorliegt.

Prag, Pflanzenphysiolog. Institut der k. k. deutschen Universität.

1) J. REINKE, Zur Frage der Krystallisirbarkeit des Xanthophylls. Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. III (1883), S. LVI.

2) A. TSCHIRCH, Ueber das Xanthophyll. Tagebl. der Naturforschervers. z. Wien 1894, Abth. f. physiol. u. medicin. Chemie, S. 383.

### Erklärung der Abbildungen.

Vergößerung bei allen Figuren ca. 250.

Fig. 1. *Mimulus moschatus* Dougl. Blattstück. Die auf der Epidermis liegenden Mesophyllzellen enthalten nadel- und plättchenförmige Krystalle von Carotin (Xanthophyll).

Der Krystall *x* rechts unten stark vergrößert. Bezüglich der Buchstabenklärung vergl. den Text S. 22.

- „ 2. *Polygonum tinctorium* L. Blattstück. Epidermis mit darauf liegendem Mesophyll. Das letztere mit vielen Carotin(Xanthophyll)-Krystallen in Form von büschelartig aggregirten Nadeln.
- „ 3. *Mercurialis annua* L. Blattstück. Wellig contourirte Epidermiszellen, darauf Mesophyllzellen mit Carotin(Xanthophyll)-Krystallen.
- „ 4. *Triticum vulgare*. Etiolirtes Blattstück. Die Mesophyllzellen mit tafelförmigen Carotin(Etiolin)-Krystallen.
- „ 5. *Hordeum vulgare*. Etiolirtes Blattstück. Die Mesophyllzellen mit Etiolin-(Carotin)-Krystallen. In den Spaltöffnungen gleichfalls Krystalle.
- „ 6. Isolirte Krystalle von Carotin (Xanthophyll) aus den Blättern von *Viola odorata*. Sie erscheinen tafelförmig und hellorange *a*, wenn man sie von der Fläche betrachtet, hingegen linienförmig und braunorange *b*, wenn man sie von der Kante sieht.
- „ 7. Carotin-Schuppen und Nadeln aus *Oscillaria leptotricha* Kützing nach Behandlung mit Eisessig.
- „ 8. *Elod.* *a*-Blatt mit verschieden geformten Carotin(Xanthophyll)-Krystallen.

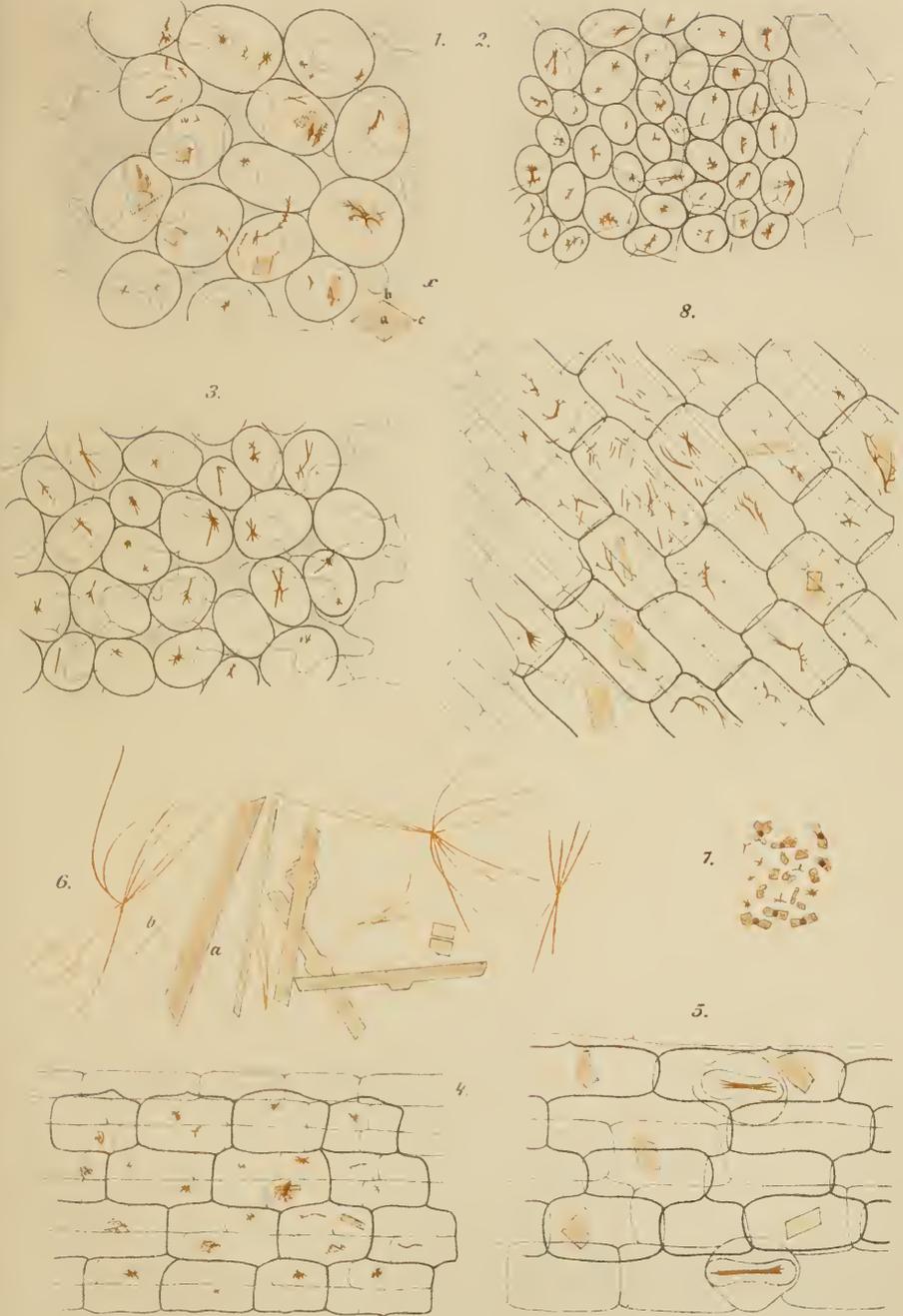
Die in den Fig. 1—6 und in Fig. 8 dargestellten Gewebe waren sämmtlich der „Kalimethode“ unterworfen worden.

## 5. F. Czapek: Ueber die sauren Eigenschaften der Wurzelabscheidungen.

(Vorläufige Mittheilung).

Eingegangen am 16. Januar 1896.

Die Meinung der meisten Physiologen und Agriculturchemiker geht dahin, dass die höheren Pflanzen den Gewinn an Mineralstoffen, welchen sie aus ungelösten Bodenbestandtheilen ziehen, nicht allein der seitens der Wurzeln producirten Kohlensäure verdanken, welche die Lösung verschiedener Mineralsalze unterstützt, sondern dass ausserdem eine Ausscheidung nicht flüchtiger Säure durch die Pflanzenwurzeln stattfindet, welcher eine wesentliche Bedeutung bezüglich der Aufschliessung unlöslicher Verbindungen des Bodens zukommt. Die be-



# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft](#)

Jahr/Year: 1896

Band/Volume: [14](#)

Autor(en)/Author(s): Molisch Hans

Artikel/Article: [Die Krystallisation und der Nachweis des Xanthophylls \(Carotins\) im Blatte. 18-29](#)