

ursprünglichen Gefäßgruppe entsteht aus den Pericambium ein intercellularer Oelgang; dem entsprechend werden die Nebenwurzeln seitlich von den Gefäßplatten der Wurzel gebildet — sie entstehen lediglich aus dem Pericambium, werden aber längere Zeit von der mitwachsenden Schutzscheide umschlossen. Im Vegetationspunkt der Wurzeln kann ein centraler Pleromkörper, ein gemeinsames Meristem für Epidermis und Rinde, sowie ein besonderes Calyptrogen unterschieden werden.

Die Untersuchung reifer Keimlinge von *E. aquaticum* ergab das Vorhandensein zweier Kotyledonen.

17. A. Tschirch: Untersuchungen über das Chlorophyll.

(III.)

Eingegangen am 23. März 1883.

Es ist ein wesentliches Verdienst Pringsheim's auf die feineren Strukturverhältnisse der Chlorophyllkörner aufmerksam gemacht zu haben. Denn, wenschon Briosi¹⁾ einige Zeit früher bei den Chlorophyllkörnern verschiedener höherer Pflanzen, denen normal die Stärke im Chlorophyllkorn fehlt, die Struktur des Gerüstes beschrieben und gezeigt hatte, dass wir in den Chlorophyllkörnern dieser Pflanzen keine homogenen plasmatischen Gebilde, sondern sehr zart gebaute Schwammkörper vor uns haben, so war es doch Pringsheim, der das allgemeine Vorkommen der Schwammstruktur bei allen Chlorophyllkörpern hervorhob und seine Bedeutung für die Gaskondensationen in der Pflanze betonte²⁾. Bei meinen Studien über die Hypochlorin-

1) Botan. Zeit. 1873. p. 545. Auch Rosanoff (Hofmeister, die Lehre von der Pflanzenzelle p. 369) sah ähnliches bei den Chlorophyllkörnern von *Bryopsis*.

2) Ueber Lichtwirkung und Chlorophyllfunction in der Pflanze. Jahrb. f. wiss. Botan. XII p. 294 und 313. Taf. XIV u. XV. —

Ich habe diese Struktur auch an den grünen scheibenförmigen, noch nicht zu Chlorophyllkörnern gewordenen Plasmawolken in den äusseren Zellschichten ergründer Kartoffeln und den grünen die Stärkekömer umgebenden Plasmahüllen bei den nämlichen Objekten beobachtet. Dass auch das Plasma selbst keine homogene Substanz, sondern ein sehr fein organisirtes Gebilde ist, ist durch die neueren Untersuchungen, besonders von Strasburger, (Zellbildung und Zelltheilung — Studien über das Protoplasma, Jena 1876). Cohn, (Beiträge zur Biologie der Pflanzen.

reaction¹⁾) konnte ich mich auf das bestimmteste von der Richtigkeit der Beobachtungen Pringsheim's überzeugen, namentlich auch davon, dass eine öltartige Masse (das Lipochlor Pringsheim's) das Plasmagerüst durchtränkt. Es liegen, wie mir scheint, durchaus keine Gründe, weder optische noch chemische, vor, wie A. Meyer²⁾) will, anzunehmen, dass in das Plasmagerüst Körnchen eingelagert seien, die sich erst nach Zusatz der Reagentien verflüssigten. Das Rohchlorophyll (im Sinne Wiesner's³⁾) durchtränkt, in Oel gelöst, das völlig farblose Plasmagerüst, dessen Schwammstruktur sich nicht nur auf die oberflächlichen Schichten zu beschränken scheint, sondern die sich durch das ganze Korn, mit Ausnahme der äussersten Schicht, die ich als Hyaloplasmahaut des Kornes beschrieben habe⁴⁾, erstreckt. Diese Hyaloplasmahaut umgiebt als homogene Masse das ganze Korn, und dient demselben als Schutz gegen die Einwirkung schädlicher, in Plasma oder Zellsaft gelöster Agentien, die bei der hohen Empfindlichkeit des Chlorophylls sonst störende Zersetzungen mit Sicherheit hervorbringen würden. Dass wir es in der That mit einem Oele und zwar mit einem solchen, dessen Dispersionsvermögen ein sehr erhebliches sein muss, zu thun haben, geht aus der spektroskopischen Prüfung ganzer Blätter wie einzelner Chlorophyllkörner mit Sicherheit hervor. Bekanntlich zeigt das Spektrum dieser eine nicht unerhebliche Verschiebung aller Streifen gegen Roth. Wie Kunth⁵⁾) gezeigt hat, ist aber die Lage der Streifen auch vom Dispersionsvermögen des Lösungsmittels abhängig und zwar rücken alle Streifen um so weiter gegen Roth je grösser das Dispersionsvermögen des Lösungsmittels ist. Die Lage der Streifen ist beim Chlorophyll lebender Blätter etwa die gleiche wie die, welche man bei Lösungen von Chlorophyll in ätherischen Oelen beobachtet.⁶⁾

Bd. II, p. 101 u. fgd.) Schmitz, (Sitzungsberichte der niederrhein. Ges. Juli 1880.) Tangl, (Das Protoplasma der Erbse. I. u. II. Abhandlung in Sitzungsberichte der kais. Acad. der Wissensch. in Wien 1877 und 1878.) Frommann, (Beobachtungen über Struktur und Bewegungserscheinungen des Protoplasma der Pflanzenzelle, Jena 1880) und andere sicher festgestellt. Dass diese Struktur für die Gaskondensation auch hier von grösster Wichtigkeit ist, leuchtet von vornherein ein — sie erhält durch die von Reinke neuerdings erörterte Activirung des Sauerstoffs (botan. Zeit. 1883, No. 5 und 6) erneute Bedeutung. Man denkt dabei unwillkürlich an Platinschwamm und die Art wie dieser auf Gase zu wirken pflegt.

1) Untersuchungen über das Chlorophyll (I); das Hypochlorin. Sitzungsber. d. botan. Ver. d. Prov. Brandenburg XXIV, April 1882. — (II.) Beiträge zur Hypochlorinfrage. Abhandlungen des botanischen Vereins d. Prov. Brandenburg XXIV, 1882, p. 124.

2) Botan. Centralblatt. 1882, No. 48, p. 3 des Separatabdruckes.

3) Flora 1874, p. 290.

4) Sitzungsber. d. botan. Ver. d. Prov. Brand. April 1882.

5) Poggendorff's Annalen 1874. Jubelband p. 615.

6) Das wir es im Chlorophyllkorn mit einem Oele aus der Classe der ätherischen zu thun haben, geht schon aus der Leichtlöslichkeit desselben in kaltem Alkohol hervor. Briosi meint es sei fettes Oel.

Die Hyaloplasmahaut nun schützt das Chlorophyllkorn sowohl gegen die Einwirkung der Pflanzensäuren des Zellsaftes, als gegen die Alkalien des Plasmas. Ebenso wie wir im Zellsaft fast stets eine saure, so nehmen wir im Plasma bekanntlich mit derselben Regelmässigkeit eine alkalische Reaktion wahr. Dass die Einwirkung beider vom Chlorophyllkorn fern gehalten wird, geht mit Sicherheit aus dem vergleichend spektralanalytischen Studium von lebenden Blättern und Lösungen, die theils unzersetzt, theils durch Säuren und Alkalien verändert waren, hervor. Die Einwirkung jedes dieser Reagentien manifestirt sich im Spectrum so charakteristisch, dass man wohl nicht fehlschliessen dürfte, wenn man die Behauptung aufstellt, dass die Reaktion im Chlorophyllkorn im Allgemeinen eine neutrale sein muss.

Durch Pringsheim's Chlorophyllhypothese, sowie durch die neueren Arbeiten Engelmann's, welche die Coincidenz von Absorption und Assimilation so glänzend darthun, gewann die chemische Beschaffenheit des Chlorophyllfarbstoffes für den Physiologen eine nur sekundäre Bedeutung — besass gewissermassen rein chemisches, nicht physiologisches Interesse —, während die eigenartigen physikalischen Eigenschaften dieses Körpers, die seit Brewster's glänzender grundlegender Arbeit¹⁾ von den Physikern längst eingehend studirt waren, wieder mehr in den Vordergrund traten. Die Erwägung jedoch, dass der Chlorophyllfarbstoff, wenn bei der Assimilation nur seine absorbirenden Eigenschaften zur Geltung kämen, füglich am geeignetesten in Form eines Mantels das Chlorophyllkorn umgeben müsse — derselbe aber vielmehr das Balkengerüst der Körner durchtränkt und so der zu assimilirenden Kohlensäure die grösstmögliche Oberfläche darbietet — ein Umstand, der doch offenbar auch auf eine chemische Rolle des Chlorophyllfarbstoffes deutet — bewogen mich die chemische Bearbeitung des Chlorophylls, diesmal mit dem Spektralkular in der Hand, wieder aufzunehmen.

Nun giebt es freilich kein Gebiet der physiologischen Chemie auf dem eine grössere Anzahl von Forschern thätig gewesen wäre, allein trotz der grossen Menge von Arbeiten ist eine klare, einheitliche Vorstellung von dem Chlorophyll selbst, sowie von seinen Zersetzungsprodukten nicht gewonnen worden. Ich habe nun an der Hand eigener Experimentaluntersuchungen eine kritische Sichtung der Chlorophyllliteratur²⁾ versucht. Leider ist das Resultat nicht sehr erfreulich. Den

1) On the colours of natural bodies. Transactions of the Royal Society of Edinburgh. 1834. XII. p. 538.

Diese Arbeit enthält den Keim zu allen späteren, von denen besonders die Untersuchungen von Hagenbach, Gregor Kraus und Pringsheim hervorzuheben sind.

2) Eine solche kritische Sichtung hat vor einiger Zeit schon R. Sachsse, die Chemie und Physiologie der Farbstoffe, Kohlehydrate und Proteinsubstanzen, Leipzig

reinen unzersetzten Chlorophyllfarbstoff hat bislang Niemand in Händen gehabt.

Ich hoffe jedoch einen Weg angeben zu können, auf dem man zum Ziele kommen dürfte.

Zu den folgenden Untersuchungen bemerke ich noch, dass dieselben im verdunkelten Laboratorium meist bei einer Beleuchtung von 2 Argandbrennern¹⁾ angestellt wurden. Uebrigens ist das Chlorophyll wenn man es nur erst von den begleitenden Stoffen, die aus der Pflanze in die Lösung übergehen, befreit hat, relativ lichtbeständig, verträgt wenigstens diffuse Beleuchtung lange Zeit ohne Zersetzungen zu erleiden.

In zwei kleinen Mittheilungen, die ich im Laufe des vorigen Jahres publizirte²⁾ habe ich den Nachweis zu führen gesucht, dass das Hypochlorin Pringsheim's³⁾ identisch sei mit dem Chlorophyllan Hoppe-Seylers.⁴⁾ Die Untersuchungen, deren Resultate mittlerweile von A. Meyer⁵⁾, der sich unabhängig von mir zu gleicher Zeit mit der gleichen Frage beschäftigte, bestätigt worden sind, liessen freilich noch die Frage offen, ob nicht dem α -Hypochlorin, wie ich den gefärbten Körper zum Unterschiede von seiner (hypothetischen) Grundlage nannte, wie Pringsheim will, eine farblose Substanz zu Grunde liege. Ich sprach mich damals dahin aus, dass es sehr wahrscheinlich sei, dass man es beim Chlorophyllan mit einem chemischen Individuum und nicht mit einem Gemenge zu thun habe und führte eine ganze Reihe von Argumenten dafür an⁶⁾, die diese Ansicht zu stützen geeignet waren. Neuere Untersuchungen über den gleichen Gegenstand lassen mir keinen Zweifel darüber, dass das Chlorophyllan ein chemisches Individuum ist.

Ich werde daher im folgenden die Worte Hypochlorin und Chlorophyllan als identisch mit einander gebrauchen, und dies, wie ich glaube, mit um so grösserem Rechte, als mir auch die von Pringsheim angeführten mikrochemischen Gründe nicht stichhaltig zu sein scheinen.

Das Chlorophyllan, von Hoppe-Seyler eingehend untersucht, ist als ein durch Säurewirkung auf den Chlorophyllfarbstoff ent-

1877 vorgenommen — die folgende Auseinandersetzung wird ergeben, wo wir übereinstimmen und wo ich andere Ansichten vertrete. Auch in G. Kraus, (Zur Kenntn. d. Chlorophyllfarbst. u. ihrer Verwandten, Stuttgart 1872) findet sich die Literatur, besonders die physikalische, eingehend berücksichtigt.

1) Ein Argandbrenner mit 32 Oeffnungen ist = 15 Normalkerzen (von 75 g Gewicht und 78 g Materialverbrauch pro Stunde). Doch waren die Flammen meistens stark herabgedreht.

2) Untersuch. über das Chlorophyll (I. und II.).

3) Ueber das Hypochlorin und die Bedingungen seiner Entstehung in d. Pflanze. Monatsber. d. Acad. d. Wissensch. in Berlin. November 1879.

4) Zeitschr. f. physiol. Chemie 3, p 346.

5) Botan. Zeit. 1882, p. 533.

6) a. a. O. p. 133.

standenes Oxydationsprodukt aufzufassen, denn, wenschon es Hoppe-Seyler ohne jeden Zusatz einer Säure enthielt, so sind doch im Zellsaft der Pflanzen selbst zur Bildung des Chlorophyllans völlig ausreichende Mengen von Pflanzensäuren gelöst enthalten, und steht, wie ich durch Titration der Säuren feststellte, die Ausbeute an Chlorophyllan, sowie die Schnelligkeit mit der der Chlorophyllfarbstoff umgewandelt wird, im direkten Verhältnisse zu dem Gehalte des Zellsaftes an Pflanzensäuren. Hieraus erklärt sich die verschiedenen hohe Ausbeute an Chlorophyllan, die Hoppe-Seyler aus verschiedenen Pflanzen erhielt. Der Moment, wo die ausgiebigste Chlorophyllanbildung eintritt, ist übrigens der, wo der Rückstand der eingedampften alcoholischen Tinctur mit Wasser gewaschen wird, hier wirken die Pflanzensäuren in conc. Lösung auf den Farbstoff ein. Dass alle Säuren, sowohl die Mineralsäuren (HCl , $\text{H}^2 \text{SO}^4$), als die organischen (Pikrinsäure) und die Pflanzensäuren (Weinsäure) die Hypochlorinbildung hervorrufen, ist bereits von Pringsheim (a. a. O.) und Frank¹⁾ angegeben worden. Ich kann hinzufügen, dass auch Kohlensäure ausreicht, sowohl in den Pflanzen selbst (Elodea) die charakteristischen Hypochlorinbildungen, als auch in den Lösungen die Anzeichen der Chlorophyllanbildung hervorzurufen — allerdings erst nach längerer Einwirkung. In schwach alkalischen Lösungen unterbleibt die Hypochlorinbildung absolut.

Zur Darstellung des Chlorophyllans (Hypochlorins) kann man entweder den von Hoppe-Seyler eingeschlagenen Weg — Eindunsten der aus (mit Aether gewaschenen) Grasblättern gewonnenen alcoholischen Chlorophylltinctur, behandeln des Rückstandes mit Wasser, auflösen in Aether und kristallisiren lassen, benutzen, oder die von mir befolgte Methode einschlagen, die mit Aether gewaschenen Blätter mit verdünnter Salzsäure behandeln, waschen, mit siedendem Alkohol ausziehen und den erkalteten, filtrirten Auszug auf sein halbes Volumen einengen, wobei sich beim Erkalten reichlich Hypochlorin abscheidet oder schliesslich, die von A. Meyer aufgefundene sehr grosse Löslichkeit der Chlorophyllans in heissem Eisessig benutzend, die Blätter direkt mit diesem behandeln, filtriren, eindunsten, mit Alkohol aufnehmen, und kristallisiren lassen.

Man kann die Blätter übrigens vor dem Ausziehen längere Zeit kochen, ohne dass sich die Menge des Hypochlorins verringert. Ich habe mich durch eine grosse Anzahl von Versuchen überzeugt, dass die dem Hypochlorin von Pringsheim zugeschriebene Flüchtigkeit mit Wasserdämpfen²⁾ demselben nicht zukommt. Dass in gekochten Pflanzentheilen die Hypochlorin-Reaktion nicht in derselben Weise eintritt wie in ungekochten, liegt in der Zerstörung des Plasmagerüstes und einer

1) Sitzungsber. d. bot. Ver. d. Prov. Brandenb. Febr. 1882.

2) a. a. O. p. 309.

Desorganisation der Chlorophyllkörner überhaupt. Wenn man unter geeigneten Bedingungen arbeitet (z. B. Alkohol zusetzt), so tritt die Reaktion übrigens trotzdem stets ein, nur in etwas anderer Form.

Alle oben angegebenen Methoden geben reichlich Chlorophyllan. Dasselbe besitzt in den ersten Crystallisationen, die noch durch andere Stoffe verunreinigt sind, die von Pringsheim beschriebenen eigenartigen peitschenartigen Formen oder bildet Tropfen mit Crystallaggregaten oder korkzieherartige Fäden. Lässt man die Lösungen langsam erkalten, so erhält man die mannichfachsten Formen. Birnförmige Körper, sehr lange vielfach wie Pilzhypphen durcheinander und umeinander gewickelte Fäden, wellig gebogene Nadeln, flache Tafeln oder knochenförmige Bildungen wechseln mit einander, doch zeigt eine Kristallisation meist nur eine der genannten Formen. Erst beim Umkristallisiren treten dann die Nadelbüschel oder sphärischen Aggregate um einen Punkt gestellter Nadeln auf. Aus sehr lange an einem ruhigen Orte ganz langsam der Verdunstung überlassener Graschlorophylllösung habe ich nach einigen Monaten grosse schöne Aggregate von rechtwinkligen Tafeln erhalten, die dem quadratischen Systeme anzugehören schienen. Diese sowohl wie die Rohhypochlorinkristallisationen besitzen im durchfallenden Lichte einen olivengrünen bis braungrünen Farbenton, im auffallenden Lichte sind sie sammetschwarz.

In Folge ihrer tiefen Färbung zeigen sie bei gewöhnlichem Tageslicht keine Polarisationserscheinungen, wohl aber im direkten Sonnenlicht ein herrliches Farbenspiel.

Sie lösen sich in kaltem 96 procentigen Alkohol langsam, leichter in heissem, sehr leicht in Aether und Benzin. Die stark fluorescirende Lösung giebt ein sehr charakteristisches Spektrum.¹⁾ Bei mittlerer Schichtendicke liegen die Bänder:

Band	I	zwischen $\lambda = 67^2$)	und 64,	sehr dunkel.
„	II	„	$\lambda = 59$	„ 61, gegen D auffallend matter.
„	III	„	$\lambda = 56,5$	„ 55,5, matt.
„	IV a	„	$\lambda = 54$	„ 53 dunkel.
„	IV b	„	$\lambda = 51,3$	„ 44,3.
„	V	(continuirliche Endabsorption)	von $\lambda = 46$	an bis zum Ende.

Die Scala der Helligkeit der Bänder ist vom dunkelsten beginnend:

1) Ich benutze zu meinen Untersuchungen ein Browning'sches Spectralocular von Zeiss mit justirbarer, für die verschiedenen Schweiten einstellbarer, Angström'scher Scala, die die Wellenlängen direkt abzulesen gestattet. Die D-linie ward stets auf $\lambda = 58,85$ eingestellt. Als Lichtquelle diente ein Argandbrenner von oben angegebener Lichtstärke.

2) Die Angaben sind in Hunderttausendstel Millimetern gemacht.

I, V, IV, IVb, II, III. Der positive Streifen¹⁾ liegt zwischen $\lambda = 58$ und 57.

Band IVb ist für die Körper der Chlorophyllangruppe charakteristisch. Es fehlt dem normalen Chlorophyllspectrum. Die Eigenthümlichkeiten des Chlorophyllanspectrums, die dieses von dem normalen Chlorophyllspectrum unterscheiden, sind folgende: Band I ist beim Chlorophyllan etwas schmaler als in normalen Chlorophylllösungen, Band II liegt beim Chlorophyll mehr gegen Roth (etwa von $\lambda = 62$ bis 60), ebenso Band III, Band IVb ist beim Chlorophyllan neu hinzugetreten, die Endabsorption ist continuirlich ohne Bänder, die mittleren Streifen II u. IV sind dunkler und breiter als in Chlorophylllösungen. Diese Umstände bedingen die gelbgrüne Farbe der Chlorophyllanlösungen. Besonders in den Benzinlösungen treten die Streifen scharf hervor. Streifen III, in alkoholischer Lösung kaum sichtbar, wird hier sehr deutlich.

Untersuchungen die ich, um mich über die Art des Fluoreszenzlichtes zu orientiren, nach der von Hagenbach²⁾ befolgten Methode anstellte, zeigten, dass auch Chlorophyllanlösungen fast reines Roth emittiren; das Spectrum des Fluoreszenzlichtes beschränkt sich auf einen Streifen im Roth der

beim Chlorophyll zwischen $\lambda = 62$ und $\lambda = 68$

„ Chlorophyllan „ $\lambda = 64$ „ $\lambda = 68$ liegt

also bei letzteren schmaler ist. Auch das Absorptionsband I ist ja beim Chlorophyllan schmaler geworden. Auch hier besteht der helle Streifen aus zwei durch eine Region geringerer Helligkeit getrennten Partien, von denen die nach dem brechbareren Ende des Spectrums zu liegende etwas weniger lichtstark ist als die andere. Das Lichtminimum liegt bei Chlorophyllanlösungen um $\lambda = 65$. Dass das Fluoreszenzspektrum auch hier beim Chlorophyllan mit dem Absorptionsspektrum coincidirt, hat Hoppe-Seyler bereits erwiesen.

Die Lösungen des Chlorophyllans sind sehr beständig. Im diffusen Tageslicht können sie sehr lange unverändert aufbewahrt werden. Ein Cylinder, der eine verdünnte alkoholische Lösung enthielt und der wochenlang am Fenster hing, zeigte noch die charakteristischen Streifen. Dieselben verblassen schliesslich immer mehr. Am längsten bleibt Band I erhalten, dasselbe, das noch in ganz verdünnten

1) Reinke, Beitrag zur Kenntniss des Phylloxanthins. Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Bot. X. p. 404.

Da das lichte Band im Roth (zwischen a. und B.) erst bei dicken Schichten deutlich sichtbar wird und sich sogar noch verbreitert, wenn man die Schicht erhöht, so hat wohl Reinke Recht, wenn er dies Licht für Fluoreszenzlicht erklärt.

2) Untersuchungen über die optischen Eigenschaften des Blattgrüns. Poggen-dorf's Annalen Bd. 141. p. 256.

Lösungen sichtbar ist.¹⁾ Schliesslich wird die Lösung farblos und fluoreszirt nicht mehr.²⁾

Dass das Chlorophyllan mit dem Hypochlorin identisch ist, habe ich bereits Eingang erwähnt, es ist aber auch identisch mit dem von Gautier³⁾ beschriebenen kristallisirten Chlorophyll. Ich habe mich davon überzeugt, dass man auf dem von dem genannten Forscher eingeschlagenen Wege niemals unzersetztes Chlorophyll erhält. Abgesehen davon, dass man von Spinat, den Gautier vornehmlich verwendete, überhaupt nie unzersetzte Chlorophylllösungen darstellen kann, ist auch die Methode — Aufnehmen des Chlorophylls durch Thierkohle — besonders geeignet, das Chlorophyll schnell und vollständig in Chlorophyllan überzuführen. Ebenso hatte Rogalski⁴⁾, der sein Chlorophyll wie Gautier darstellte, nur das Chlorophyllan in Händen. Seine Angaben beziehen sich auf dieses, nicht auf Chlorophyll. Eine spektroskopische Prüfung der analysirten Produkte hätte den genannten Forschern sofort gezeigt, dass hier schon erhebliche Veränderungen mit dem Farbstoff vorgegangen waren.

Nicht jedoch war es das Chlorophyllan, sondern wohl die demselben nahestehende Chlorophyllansäure (Hoppe-Seyler⁵⁾), welche diejenigen Forscher untersucht haben, die, von dem Grundsatz ausgehend, dass Chlorophyll durch conc. Salzsäure nicht verändert werde, die eingedampften Chlorophyllauszüge mit dieser behandelten, die erhaltene tief blaugrüne Lösung eindampften und den Rückstand analysirten. So verfahren bekanntlich Mulder⁶⁾, Berzelius⁷⁾, Pfundler⁸⁾, Harting⁹⁾ u. A. Auf diesen Körper komme ich weiter unten zurück.

Dass das Chlorophyllan identisch ist mit dem Niederschlage, den Filhol¹⁰⁾ mittelst Salzsäure in Chlorophylllösungen erhielt und den er bei Dicotylen als kristallinisch, bei Monocotylen als amorph angiebt, der jedoch in beiden Fällen kristallinisch zu erhalten ist und ein vom Chlorophyll durchaus abweichendes spektroskopisches — nicht, wie

1) Chautard fand (Botan. Zeit 1874, p. 110), dass er beim Chlorophyll noch in einer Lösung sichtbar sei, die nur $\frac{1}{10000}$ dieses Stoffes enthalte, doch giebt der genannte Forscher nicht an wie er den Gehalt bestimmte.

2) Ich bemerke hier alsbald, dass alle Fluorescenzbeobachtungen in der Weise angestellt wurden, dass mit einer Linse ein Lichtkegel durch die Flüssigkeit nahe der Oberfläche gesandt wurde.

3) Sur la chlorophylle, Compt. rend. 89, (1879) 2, p. 862.

4) Analyse de chlorophylle, Compt. rend. 90, 2. 1880. p. 881. (Auch in „Rôle de la chlorophyll dans l'assimilation, Inauguraldissertation. Krakau 1879).

5) Zeitschr. f. phys. Chemie V. p. 75.

6) Jahresber. f. Chemie. 24. Bd. p. 502.

7) Gmelin's Handb. d. Chemie. IV. Aufl. 4. Bd.

8) Annal. d. Chemie und Pharmacie 115, p. 37.

9) Poggend. Ann. 96 (1855) p. 547.

10) Botan. Zeit 1875. p. 45.

Filhol, meint, ein mit diesem identisches — Verhalten zeigt, habe ich schon in meiner ersten Mittheilung (a. a. O.) angegeben, besagter Niederschlag verhält sich völlig wie Chlorophyllan. Gleichermassen habe ich schon erwähnt, dass Stokes „modifizirtes Chlorophyll“¹⁾, ebenso wie das Säurechlorophyll und das s. g. verfärbte durch partielle Chlorophyllanbildung in den Chlorophylllösungen entsteht.

Dass das Chlorophyllan ein Oxydationsprodukt des Chlorophyllfarbstoffes ist, ist dadurch zu erweisen, dass man es mit Hilfe von naszierendem Wasserstoff in Chlorophyll zurückführen kann, behandelt man nämlich die dunkelbraungrünen Lösungen des Chlorophyllans in Benzin mittelst Natrium, so erhält man nach einiger Zeit einen prachtvollen grünen Niederschlag, während die überstehende Flüssigkeit goldgelb wird. Dieser rein grüne Niederschlag ist nun freilich kein reines Chlorophyll, wohl aber die Natriumverbindung der dem Chlorophyll sehr nahestehenden Chlorophyllsäure (Chlorinnatrium C. Kraus²⁾), deren Salze man, wie ich später zeigen werde, direkt aus dem Chlorophyll darstellen kann. Leider ist dieser herrlich smaragdgrüne Niederschlag, selbst unter Benzin aufbewahrt, nicht beständig, nach einem halben Jahre war er olivengrün geworden. Dieser Farbenwechsel tritt sofort ein, wenn man den Niederschlag in Alkohol oder Wasser löst. Man erhält dann eine olivengrüne Flüssigkeit, die alle Kriterien des Natriumsalzes der Chlorophyllsäure besitzt.

Verwendet man statt des Natriums Zinkstaub, so geht die Reduktion des Chlorophyllans noch glatter und prägnanter vor sich. Kocht man nämlich eine alkoholische Chlorophyllanlösung mit diesem Körper, so springt fast plötzlich die braune Farbe in das prächtigste Smaragdgrün um. Die spektroskopische Prüfung scheint keinen Zweifel darüber zu lassen, dass das Chlorophyll regenerirt ist. Auch chemisch verhält sich diese grüne Lösung wie eine Chlorophylllösung, doch ist die Fluoreszenz mehr karmin als blutroth. Streifen IV b fehlt, III ist wieder breiter, II und IV heller geworden, auch lassen sich in der Endabsorption wieder Bänder unterscheiden.

Dass wir es bei der Chlorophyllanbildung mit einem Oxydationsprocesse zu thun haben, ist übrigens auch dadurch erwiesen, dass, wie Church³⁾ fand, modifizirtes Chlorophyll durch Zinkstaub wieder rein grün wird. Auch die Versuche von Gerland⁴⁾, Jodin⁵⁾, N. I. C. Müller⁶⁾ und Anderer, die sich mit den Bedingungen, unter denen „Verfärbung“

1) Poggendorf's Annal. d. Physik, Ergänzungsband IV, (1854.) p. 218.

2) Flora 1875, p. 157.

3) Chem. News. 38, p. 168.

4) Ueber die Einwirkung des Lichtes auf das Chlorophyll. Poggendorf's Annalen 143. (1871.) p. 585.

5) Comptes rendus 59. p. 857.

6) Pringsheim's Jahrb. f. wissenschaft. Bot. VII, p. 200.

eintritt, beschäftigten, sprechen dafür. Denn, da ich gezeigt habe, dass modifizirtes und verfärbtes Chlorophyll durch Chlorophyllanbildung entstehen, welche Substanz bei dem verfärbten Chlorophyll durch Licht allmählich sich entfärbt, so gilt alles was von diesen Lösungen angegeben wurde, mutatis mutandis auch von den Chlorophyllanlösungen.

Schon oben habe ich erwähnt, dass diese Oxydation des Chlorophylls nur in saurer Lösung vor sich geht. Man könnte dabei daran denken, dass wir es beim Chlorophyll mit einer salzartigen Verbindung zu thun haben¹⁾, die durch eine sehr schwache, schon durch Kohlensäure abspaltbare und sehr leicht alsdann weiter zu Chlorophyllan oxydirbare, rein grüne Säure und eine hypothetische Base gebildet werde — eine Vorstellung, für die sich zwar schon jetzt eine Anzahl Gründe anführen liessen, die jedoch noch der weiteren Begründung bedarf. Jedenfalls besitzt das Chlorophyllan als solches die Eigenschaften einer Säure nicht, kann jedoch leicht sowohl in das grüne Natriumsalz der Chlorophyllinsäure²⁾, wie der braungrüne der Chlorophyllansäure³⁾, in das erstere nach vorherheriger Reduktion durch naszirenden Wasserstoff, übergeführt werden.

In conc. Schwefelsäure löst sich das Chlorophyllan mit schön blau-grüner Farbe. Conc. Salzsäure löst selbst im Kochen nicht alles. Es findet dabei eine Spaltung statt. Es entsteht ein blaues in conc. Salzsäure lösliches Chlorproduct⁴⁾ und ein in dieser unlöslicher, aber in Alcohol löslicher brauner Körper. Die schön blaue Lösung besitzt bei mittlerer Dicke der Schicht folgendes Spectrum:

Band I von $\lambda = 63$ bis 67 sehr dunkel und scharf,
„ II „ $\lambda = 59,5$ „ 61,5 matt, durch einen Schatten mit
I verbunden,
„ III von $\lambda = 56$ bis 58 dunkler,
„ IV „ $\lambda = 52$ „ 54 das matteste,

bisweilen sieht man wohl auch einen Schatten um $\lambda = 50$.⁵⁾ Die Helligkeitsskala der Bänder ist, vom dunkelsten beginnend, I, III, II, IV. Die zwei positiven Streifen liegen zwischen $\lambda = 51$ und 52

1) Es ist übrigens nicht das erste Mal, dass eine solche Vermuthung ausgesprochen wird. Timiriaseff (Petersburger Naturforschervers. 1874) hält das Chlorophyll für das Ammoniaksalz des Chlorophyllins, doch hat er seine Vermuthung nicht weiter begründet. Ebenso ist Liebermann's Versuch (Sitzungsber. d. Wiener Acad. Bd. 72. p. 599.) das Chlorophyll als eine salzartige Verbindung der Chlorophyllsäure und eines basischen, durch Oxydations- und Reduktionsmittel die verschiedenen Blumenfarbstoffe liefernden Phyllochromogens zu erweisen, nichts mehr als eine Hypothese, die durch die beigebrachten Argumente nicht sehr wahrscheinlich gemacht ist.

2) Siehe oben p. 145.

3) Zeitschr. f. phys. Chemie V, p. 75.

4) Vergl. auch Wiesner, botan. Centralblatt. 1882. No. 20.

5) Siehe Sachsse, a. a. O. p. 51.

und zwischen $\lambda = 54$ und 56 . Setzt man zu der Lösung Alkohol, so verschieben sich die Streifen etwas und ändern ihre relative Helligkeit. Das Spectrum zeigt dann folgende Streifen:

Band	I	von $\lambda = 62$	bis $66,5$	sehr dunkel,
„	II	„ $\lambda = 60,5$	„ $58,5$	dunkel,
„	III	„ $\lambda = 55$	„ 57	jetzt das hellste,
„	IV	„ $\lambda = 51$	„ 54	in der Mitte am dunkelsten, gegen die Ränder abschattirt;

bisweilen ein Schatten bei $\lambda = 50$.

Man kann die Veränderungen also dahin zusammenfassen, dass Band I—III gegen das stärker brechbare Ende des Spectrums verschoben, Band IV nach der gleichen Seite verbreitert ist.

Die Helligkeitsskala ist jetzt vom dunkelsten beginnend I, II, IV, III.

Mit diesem letzteren Spectrum stimmt dasjenige des Phyllocyanins von Fremy¹⁾ überein. Das erstere zeigt sowohl die durch Behandeln des Chlorophyllans mit conc. Salzsäure, wie die durch Behandeln der Chlorophyllextracte mit der gleichen Säure erhaltene Lösung, als ein durch Kochen von frischen Blättern mit conc. Salzsäure zu erhaltender Auszug. Es ist klar, dass wir es hier in allen Fällen mit dem von Fremy als einen Chlorophyllbestandtheil beschriebenen, durch Salzsäureeinwirkung darstellbaren Phyllocyanin der Autoren zu thun haben. Dieses blaue Phyllocyanin ist in seiner Lösung in conc. Salzsäure auch gegen Licht sehr beständig, zersetzt sich jedoch mit Alkalien leicht und bildet mit diesen gelbgrüne Salze, die wahrscheinlich der Chlorophyllansäure Hoppe-Seyler's (Phyllocyaninsäure Fremy's) angehören. Die Lösung wird dann sofort gelbgrün und zeigt wieder den Streifen zwischen b und F sehr dunkel und scharf. Dampft man die blaue etwas röthlich schimmernde, deutlich roth fluoreszirende Lösung ab, so erhält man einen braungrünen Rückstand, der sich in verdünnten Alkalien leicht zu einer olivengrünen Flüssigkeit löst und mit Alkohol aufgenommen das Chlorophyllanspectrum zeigt. Es ist dies die Phyllocyaninsäure Fremy's,²⁾ die ihrem ganzen Verhalten nach mit der Chlorophyllansäure Hoppe-Seylers identisch zu sein scheint.

Das Spectrum der alkoholischen Lösung dieses Körpers ist sowohl, was die Lage der Streifen als die relativen Intensitätsverhältnisse derselben und ihr successives Verschwinden beim Verdünnen der Lösung betrifft genau übereinstimmend mit dem des Chlorophyllans und

1) Recherches sur la matière colorante verte des feuilles Comptes rendus 50 (1860.) p. 405.

Fremy erhielt diesen Körper durch Zusatz von Salzsäure-Aether zur alkoholischen Chlorophyll-Tinktur.

2) Comptes rend. 61, 2. (1865.) p. 191.

doch erweist das Verhalten zu Kalilauge, dass wir es mit einem durchaus damit verschiedenen Körper zu thun haben. Während Chlorophyllan erst durch längeres Kochen mit Kalilauge in dieser löslich wird, löst sich dieser Körper leicht und vollständig darin, lässt sich durch Säuren aus diesen Lösungen unverändert in Aether abscheiden, aus welcher ätherischen Lösung durch damit geschüttelte Kalilauge die ursprüngliche Kalisalzlösung regenerirt werden kann.

Das gleiche spektroskopische Verhalten zweier notorisch verschiedener Körper zeigt wie vorsichtig man bei der Hinzuziehung der Spectralanalyse zu chemischen Untersuchungen sein muss. Hoppe-Seyler hat darauf aufmerksam gemacht,¹⁾ dass sich Aenderungen in der Molekularstruktur eines Körpers wohl vollziehen können, ohne dass sie sich spektralanalytisch bemerkbar machen. Denn, da „Lichtemissionen und Absorptionen nicht vom ganzen Moleküle, sondern von den Atomen und Atomgruppen bewirkt“ werden, so kann „die Bewegung derselben unter gleichen Verhältnissen dieselbe bleiben, wenn an andere Atome oder Atomgruppen Anfügung oder Abspaltung von Atomgruppen geschieht“ (a. a. O. p. 340). In der vorliegenden Arbeit über den Chlorophyllfarbstoff habe ich zwar stets das Spectroscop in der Hand gehabt und bin Schritt für Schritt den chemischen Aenderungen mit dem Spectroscope kontrollirend gefolgt, habe jedoch die Identität zweier Körper erst dann für wahrscheinlich erachtet, wenn ausser spektroskopischen auch rein chemische Gründe dafür sprachen. Infolge des geringen Krystallisationsvermögens und der Schwierigkeit der Reindarstellung aller dieser Körper ist, namentlich da ich grosse Mengen nicht verarbeiten konnte, die Elementaranalyse, das beste Mittel der Identificirung, bisher anzuwenden mir unmöglich gewesen.

Wie schon erwähnt, lässt sich das blaue Chlorproduct, das Phyllocyanin, unzersetzt aus der salzsauren Lösung nicht abscheiden. Alle Forscher, welche glaubten, es vor sich zu haben, wenn sie die blaue Lösung eindampften, hätten schon durch die spektroskopische Prüfung des in Alcohol aufgenommenen Rückstandes — derselbe ist unlöslich in Wasser — gesehen, dass der in salzsaurer Lösung blaue Körper nicht mehr vorlag.

Allein nicht nur durch Eindampfen kann die Phyllocyaninsäure aus der blauen Phyllocyaninlösung abgeschieden werden, auch durch Verdünnen mit grossen Mengen Wasser scheidet sie sich in braunen Flocken ab, die sich wie der durch Eindampfen erhaltene Rückstand verhalten. Das Kalisalz (Phyllocyansaures Kali Fremy) zeigt in alkalischer Lösung die mittleren Streifen des Spectrums nur sehr matt, III gar nicht, eine Erscheinung, die für die alkalischen Lö-

1) Zeitschr. f. phys. Chemie 3, p. 340. Vgl. auch den Aufsatz „Ueber die Lichterzeugung durch Bewegung der Atome“ in Poggendorf's Annalen 147, (1872.) p. 101.

sungen der meisten Chlorophyllderivate charakteristisch zu sein scheint. Streifen IVb ist dagegen sehr stark entwickelt. Er ist, wie ich schon hervorhob, für alle Säureprodukte des Chlorophylls wie seiner in der nächsten Mittheilung zu beschreibenden Derivate mit einer einzigen, sogleich zu beschreibenden Ausnahme charakteristisch. Dies alles zeigt, dass das Phyllocyaninsaure Kali ein vom Chlorophyll sehr abweichendes optisches Verhalten besitzt. Fremy, der bekanntlich glaubt, dass Chlorophyll ein Gemenge aus Xanthophyll und Phyllocyaninsäurem Kali sei,¹⁾ meint, sein Verhalten sei mit dem des Chlorophylls identisch.

Das einzige mir bisher bekannte Säureprodukt des Chlorophylls, das den charakteristischen Streifen IVb nicht besitzt, ist das Phylloxanthin Fremy's.²⁾ Die Fremy'sche Reaction, die für die französischen Forscher noch jetzt den Ausgang bildet³⁾, deren Interpretation durch dieselben jedoch ebensowenig haltbar erscheint, wie die, welche ihr einige deutsche Forscher (Sachsse⁴⁾ und Micheli⁵⁾⁾ gaben, wird verständlich, wenn man sich der oben erwähnten Spaltung des Chlorophyllans in einem in conc. Salzsäure löslichen und einen in dieser unlöslichen Körper erinnert.⁶⁾ Der in Salzsäure unlösliche Körper löst sich mit gelbbrauner Farbe leicht in Alcohol und Aether⁷⁾ und zeigt in seinem Spektrum den Streifen zwischen b und F nicht, sondern von $\lambda = 50$ an kontinuierliche Endabsorption. Nun entsteht bei Einwirkung verdünnter Salzsäure auf Chlorophyll sicher in erster Linie Chlorophyllan: die Lösung wird olivenbraun; setzt man zu dieser Lösung nun conc Salzsäure und Aether, so bewirkt die erstere die erwähnte Spaltung des Chlorophyllans in die in Salzsäure mit blauer Farbe lösliche Chlorophyllan resp. Phyllocyaninsäure und den zweiten in Salzsäure unlöslichen aber in Aether löslichen Körper (Phylloxanthin Fremy), dem der Streifen zwischen b und F fehlt.⁸⁾ Dass dieser zweiten Reaction immer Chlorophyllanbildung vorausgeht, kann man, wenn man die Reaction successive verfolgt, leicht constatiren. Uebrigens ist ja aus schwach angesäuerten Chlorophylllösungen das Chlorophyllan direkt darstellbar.

Dass die bei der Reaction entstehenden Produkte nicht Chlorophyllbestandtheile sein können, ergibt sich hieraus von selbst.

(Fortsetzung im nächsten Heft.)

1) Comptes rend. 84, 2. (1877.) p 987.

2) Vgl. auch Sachsse a. a. O. p. 51.

3) Vergl. Gautier, Compt. rend. 89. (1879.) p. 864.

4) a. a. O. p. 43.

5) Botan. Zeit. 1867, p. 340. Auch Archives des sciences de la bibliothèque universelle de Genève 1867.

6) Vgl. oben pag. 146.

7) Ich bin mit dem Studium dieses Körpers beschäftigt.

8) Bei der Fremy'schen Reaction ist das Phylloxanthin (in ätherischer Lösung) durch die das Chlorophyll begleitenden, in conc. HCl unlöslichen, gelben Farbstoffe verunreinigt.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

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

Jahr/Year: 1883

Band/Volume: [1](#)

Autor(en)/Author(s): Tschirch Alexander

Artikel/Article: [Untersuchungen über das Chlorophyll. 137-149](#)