

Botanisches Centralblatt.

REFERIRENDES ORGAN

für das Gesamtgebiet der Botanik des In- und Auslandes

Herausgegeben unter Mitwirkung zahlreicher Gelehrten

von

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

in Cassel

in Marburg

Nr. 3.	Abonnement für das halbe Jahr (2 Bände) mit 14 M. durch alle Buchhandlungen und Postanstalten.	1900.
--------	---	-------

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

Wissenschaftliche Originalmittheilungen.*)

Das Chloroglobin.

Von

Dr. M. Tswett

in St. Petersburg.

Dank der Untersuchungen der letzten Decennien haben wir heute eine annähernde Vorstellung über die chemische Constitution des grünen und des gelben Farbstoffes der grünen Pflanzen. Das nähere Studium des von *Monterverde***) erhaltenen krystallisirten Chlorophyllfarbstoffes wird uns vielleicht in diesem merkwürdigen Producte das eigentliche unveränderte grüne Pigment, das heisst, die speciell mit der bekannten electiven Lichtabsorption betraute Atomgruppe zeigen.

Leider ist aus der chemischen Constitution und den chemischen Eigenschaften der bisher studirten Farbstoffe für die Aufklärung des photosynthetischen Processes nichts zu entnehmen.

Obgleich das Geheimniss der Photosynthese vielleicht in verwickelten physiologischen Constellationen liegt, ist es für die

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

**) *Monterverde*. Absorptionsspectrum des Chlorophylls. (Acta Horti Petropolitani. XIII. 1893. No. 9.)

experimentelle Forschung ein überhaupt gebotener Weg, aus den grünen Plastiden eine zusammengesetzte Farbstoffverbindung isoliren zu suchen, dessen physiko-chemische Eigenschaften eventuell einige Elemente für die Aufklärung des physiologischen Problems liefern.

Dieser Gedanke veranlasste mich, die Frage zu untersuchen, ob das Carotin und das Chlorophyll nicht chromophore Theilmolekel einer complicirteren, vielleicht eiweissartigen Substanz sind. Die Untersuchung dieser Frage kann auf verschiedene Weisen angegriffen werden. Man kann zuerst in den Farbstoffauszügen eine unbekannte Verbindung suchen, um nachher das reelle Vorhandensein derselben in der Zelle mikrochemisch zu prüfen. Dieses Verfahren bietet grosse Schwierigkeiten, und wenn Hansen und Etard in ihren Alkohol- oder Schwefelkohlenstoffauszügen eine Bindung des Chlorophylls mit Fettsäuren oder anderen aliphatischen Verbindungen festzustellen glaubten, so haben sie jedenfalls damit für die originellen Verhältnisse nichts bewiesen.

Umgekehrt aber kann man zuerst mikrochemisch und *in situ* die hypothetische Verbindung darzustellen suchen, um nachher dieselbe makrochemisch zu isoliren und zu studiren.

Nach diesem Verfahren und Dank einer neuen mikrochemischen Methode habe ich aus verschiedenen Pflanzen eine grüne Verbindung isolirt, die, ihren physiko-chemischen Eigenschaften nach, sich den Eiweissstoffen anzuschliessen scheint.

Ueber diese Substanz, die ich Chloroglobin zu nennen vorschlage, will ich hier in Kürze berichten, indem ich für weitere Details auf die später zu erscheinende vollständige Publication hinweise, in welcher auch eine ausführliche kritische Besprechung der betreffenden Chlorophylllitteratur sich finden wird.

A. Mikrochemische Untersuchung.

I. Die Verflüssigungs-Resorcin-Methode.

1. Wesen der Methode. Wie ich anderswo*) berichtet habe, besitzen die concentrirten Lösungen der Dioxybenzole (Resorcin, Pyrocatechin) die Eigenschaft, einige Proteinstoffe (Glutin, Casein, Hämoglobin) zu lösen und zu verflüssigen. Lösung und Verflüssigung, welche letztere auf einer Lösung des wässerigen Dioxybenzols in dem Proteinstoffe beruht, sind hier beide physikalische umkehrbare Processe.

Das Cytoplasma der lebenden Pflanzenzelle löst sich momentan in concentrirter Resorcinlösung; die Chlorophyllkörper ballen sich zu grossen hyalinen, halbflüssigen Massen zusammen, nachdem sich aus ihnen kleine grüne Tröpfchen abgesondert haben, welche allmählich zu grösseren Massen confluiren. Wird durch Zusatz von etwas Ammoniak die Resorcinlösung schwach alkalisch ge-

*) Comptes rendus. CXXIX. No. 13. 25. September 1899. Eine ausführlichere Mittheilung soll im Bulletin de la Soc. chim. de Paris erscheinen.

macht, so verläuft die Reaction noch besser. Chloroplasten werden dann auch gelöst und der ganze Farbstoff der Zelle, das Chloroglobin, fliesst zu einer oder einigen prächtigen grossen Kugeln zusammen. Man sieht jetzt in dem Zelllumen nur die herrlichen durchscheinenden Chloroglobintropfen und das etwas verschwommene Bild des Zellkerns.

Wird nun mit Wasser oder Glycerin schnell gewaschen, so wird das ungefärbte Plasma niedergeschlagen, das Chloroglobin verliert seinen flüssigen Aggregatzustand und die grünen Tropfen werden zu mehr oder minder dunklen Klumpen.

2. Präparirung des Chloroglobins. Aus zahlreichen Versuchen und Erwägungen hat sich das folgende generelle Verfahren ergeben, das Chloroglobin in der Zelle zu isoliren und dasselbe für eine weitere Untersuchung vorzubereiten. Die dünnen und kleinen Schnitte des Gewebes werden in eine Lösung gebracht, die 120 Gewichtstheile des reinen Dioxybenzols für 100 Theile destillirten Wassers enthält und durch Zusatz von einigen Ammoncarbonatkrystallen extemporan alkalisch gemacht wird. Nach 2—5 Minuten werden die Schnitte in ein grosses Volumen Wasser geworfen und weiter 24 Stunden in fliessendem Wasser gewaschen.

Dauerpräparate kann man in Glycerin herstellen. Schönere Präparate erhält man, wenn zum Auswaschen des Resorcins nicht Wasser, sondern Glycerin verwendet wird.

3. Physiko-chemische Eigenschaften des Chloroglobins. Die vollständige Serie der diesbezüglichen Experimente ist an *Vallisneria*-Blättern ausgeführt worden.

Verhalten gegen einige Quellungsmittel. Concentrirte Resorcinlösungen verflüssigen das Chloroglobin. Concentrirte Chloralhydratlösung bringt es ebenfalls zur Verflüssigung, löst und zersetzt aber sehr schnell. Neutrale Resorcinlösung bewirkt nach einigen Stunden eine bemerkenswerthe Zersetzung: es werden reichlich Carotinkrystalle und kleine grüne Körnchen ausgeschieden. Es ergibt sich daraus eine sehr praktische und elegante Methode, das Vorhandensein des Carotins in grünen Zellen mikrochemisch zu demonstrieren.

Natriumsalicylat in 50% Lösung führt ein starkes Aufquellen der Chloroglobinklumpen mit sich.

Verhalten gegen Salzlösungen. Lösungen von NaCl und $MgSO_4$ bleiben selbst nach einigen Tagen ohne Wirkung auf das Chloroglobin.

K_2HPO_4 10% bewirkt ein schwaches Aufquellen. Chloroglobin quillt auch in K_2CO_3 10% auf, es erfährt aber zugleich eine Zersetzung, denn der in dieser Salzlösung gequollene Farbstoff reagirt nicht mehr mit Resorcin.

Verhalten gegen Alkalien und Säuren. Verdünnte KOH-Lösungen rufen eine mit Zersetzung verbundene starke Quellung des Chloroglobins hervor.

Mehrständiges Verweilen in $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Lösung (aqua calcis) beeinträchtigt aber die Quellbarkeit des Chloroglobins in Resorcinlösung nicht.

Schwache Säurelösungen (HCl , $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) bewirken zuerst eine Quellung und es löst sich etwas aus der Substanz. Es bleibt endlich ein granulöses, tief braun-grünes Residuum (Chlorophyllan). Starke Essigsäure löst vollständig, und man kann unter Umständen, nach dem Auswaschen der Säure, Chlorophyllankrystalle erhalten.

Verhalten gegen Eau de Javel. In der officinellen Natriumhypochloritlösung erfahren die Chloroglobinklumpen eine starke unregelmässige Quellung, mit gleichzeitiger Entfärbung; zugleich wird das Plasma schnell gelöst.

Verhalten gegen Fixierungsmittel. Osmiumtetroxyd, Flemming'sche Mischung, Pikrinsäure, Platinchlorid, Phosphormolybdänsäure, Ferrocyankalium und Essigsäure, Tannin, Formaldehyd, alle Reactive, welche auf die Proteinstoffe fixierend wirken, fixiren auch das Chloroglobin. Nach kurzer oder längerer (Formol) Einwirkung dieser Reagentien verlieren die Farbstoffklumpen ihre Quellbarkeit in Resorcinlösung und ihre weiter zu besprechende Löslichkeit in starkem Alkohol. Gleicherweise wirkt längeres Aufkochen im Wasser.

Verhalten gegen Tinktionsmittel. Wie die Proteinstoffe speichert auch das Chloroglobin begierig einige Farbstoffe: Methylenblau, Cyanin, Jodgrün, Fuchsin, Chrysoidin, doch Eosin sehr wenig. Diese Speicherung ist besonders an den mit Eau de Javel entfärbten Präparaten in elegantester Weise zu demonstrieren. Alkanin wird gar nicht condensirt.

Verhalten gegen einige zum Nachweis der Proteinstoffe benutzte Reagentien. Nach Entfärbung in Eau de Javel und gründlichem Auswaschen mit Wasser lieferten die Chloroglobinklumpen keine unzweideutige Eiweissreaction mit Salpetersäure, Schwefelsäure und Zucker, CuSO_4 und KOH und Millon'schem Reagenz. Dagegen färbten sich dieselben schön gelb in Jodwasser oder Jodjodkaliumlösung. Das Ausbleiben der anderen gedachten Eiweissreactionen könnte wohl auf einer durch Eau de Javel bewirkten chemischen Modification beruhen.

Verhalten gegen einige Lösungsmittel. Chloroglobin ist in Wasser absolut unlöslich, es löst sich dagegen vollständig in starkem Alkohol. In schwachen Alkohollösungen (30—40%) wird etwas von der Substanz gelöst und es bleibt ein tiefer gefärbtes, in Resorcinlösung unquellbares, in starkem Alkohol lösliches Residuum. Zugleich bilden sich schöne Carotinkrystalle aus.

Werden die mit Wasser durchtränkten, Chloroglobinklumpen enthaltenden Schnitte in Benzol, Aether, Schwefelkohlenstoff oder Chloroform gebracht, so bildet sich merkwürdiger Weise in der Zelle eine entsprechende Lösung des Chloroglobins. Der Farbstoff verbreitet sich aber nicht in der umgebenden Flüssigkeit. Werden

aber die genannten Lösungsmittel mit etwas ($1/20$) absolutem Alkohol versetzt, so wird das Chloroglobin aus dem Gewebe schnell aufgelöst.

Chloroglobin löst sich auch in Phenylamin (Anilin), wird aber in demselben schnell zersetzt.

II. Die Controllmethoden.

1. Die Chloralhydrat-Methode. Wie ich es an anderem schon citirten Orte berichtet, haben wässrige Chloralhydratlösungen auf die Proteinstoffe eine ganz analoge Wirkung wie die Resorcinlösungen. Und dementsprechend findet in der lebenden Zelle, wenn dieselbe in eine concentrirte Chloralhydratlösung gestellt wird, die Isolirung eines flüssigen Farbstoffes statt, dessen Reactionen es als identisch mit durch Resorcin erhaltenes Chloroglobin kennzeichnen. Da aber Chloralhydrat zugleich eine sehr starke chemisch zersetzende Wirkung ausübt, so ist die Anwendung dieser Methode mit grossen Schwierigkeiten verbunden.

2. Die Säure-Methode. Bekanntlich entquellen den Chloroplasten unter Einfluss der Säuren kleine grünlich-braun gefärbte Tröpfchen, aus welchen sich später die sogenannten Hypochlorinkrystalle bilden.

Die Winzigkeit dieser Tröpfchen lässt ein näheres mikrochemisches Studium derselben nicht zu; ihr Verhalten gegen Resorcinlösung kennzeichnet sie aber als theilweise zersetztes Chloroglobin. Daraus ergibt sich, dass Pringsheim's Hypochlorin-gebilde gar nicht mit Chlorophyllan identisch sind.

3. Die Alkohol-Wasser-Methode. Wie zuerst Pringsheim beobachtet hatte, bilden sich auf den Chloroplasten unter Einfluss kochenden Wassers kleine grüne Emergenzen. Dieselben sind in Resorcin- und Chloralhydratlösungen quellbar und stellen augenscheinlich Chloroglobin vor.

Viel besser aber als durch Wasser kann man das Chloroglobin durch kochenden oder nur warmen 40—50 % Alkohol isoliren. Nach einigen Minuten wird der ganze Farbstoff in zuweilen grossen Tropfen erhalten, deren Verhalten gegen Resorcin, Chloralhydrat, Eau de Javel u. s. w. sie unzweideutig als Chloroglobin kennzeichnet. Ein längeres Aufkochen bewirkt eine Zersetzung und die Chloroglobintropfen werden zu dunkleren, in Resorcin und Eau de Javel unquellbaren Kugeln.

4. Die Benzol-Methode. Der Chemiker Etard*) hatte beobachtet, dass, wenn man über einem unter Deckglas gebrachten dünnen, frischen Blattschnitt einen Strom von Schwefelkohlenstoff unterhält, die Chloroplasten sich entfärben.

Diese seltsame Beobachtung ist ganz richtig. In der That, bringt man einen frischen, von Wasser durchdrängten Schnitt unter Schwefelkohlenstoff, oder auch unter Benzol, Aether, Chloroform, so scheidet sich der Farbstoff ziemlich schnell aus

*) Etard. Comptes rendus. CXIV. 1892. p. 231.

den Chloroplasten aus und verbreitet sich diffus in dem Zelllumen, ohne indess in die umgebende Flüssigkeit heraus zu diffundiren. Bringt man jetzt den Schnitt in reines Wasser, so ballt sich allmählich der Farbstoff in Klumpen zusammen. Dieselben weisen die Reactionen des Chloroglobins auf. Man kann nun constatiren, dass die Chloroplasten völlig entfärbt sind.

Ein wichtiger Nachtheil dieses Verfahrens gegenüber der Resorein-Methode liegt in der hier sehr begünstigten chemischen Einwirkung des sauren Zellsaftes auf das Chloroglobin.

B. Makrochemische Untersuchung.

Da wir das in der Zelle isolirte Chloroglobin als in Alkohol löslich gefunden haben, so muss dieser Farbstoff sich in gewöhnlichem Chlorophyllextract finden. Thatsächlich giebt das Residuum einer alkoholischen Tinktur die verschiedenen oben angeführten Reactionen: Verflüssigung in Resorein mit Chloralhydrat, Quellung in Natriumsalicylat und in Eau de Javel u. s. w. In der Kraus'schen Entmischung, welche übrigens, nach Monteverde,*) eine chemische Modification des Chlorophylls voraussetzt, bleibt ein quellungsfähiger gelblicher Körper in der Alkoholschicht, während das „Kyanophyll“ sich gegen Resoreinlösung indifferent verhält. Aus der Monteverde'schen Methode, krystallisirtes Chlorophyll zu erhalten, ist ferner zu schliessen, dass Chlorophyll in keiner festen Bindung im Chloroglobin enthalten sein kann; vielmehr ist eine analoge Bindung zu vermuthen, wie diejenige, welche, nach den Experimenten Bertin-Sans's und Moitessier's**) zwischen Hämatin und Eiweissstoff in Hämoglobin stattfindet.

Die Bindung des Carotins dagegen ist eine festere.

Es gilt jetzt, eine Methode zu finden, Chloroglobin makrochemisch im Grossen und möglichst rein darzustellen, um es auf seine Elementarzusammensetzung und chemische Constitution hin näher zu untersuchen.

Setzt man einer gewöhnlichen Chloroglobintinktur Wasser zu, so wird der Farbstoff als ein äusserst feiner, in Suspension bleibender Niederschlag erhalten. Da derselbe in Resoreinlösung verflüssigt wird, so stellt er Chloroglobin vor. Um jetzt das niedergeschlagene Chloroglobin zu sammeln, filtrire ich die auf 20 Alkoholgrade verdünnte Tinktur auf einer porösen Thonzelle (Müncke's Bakterienfilter). Wird die Filtration unter mässigem Druck ausgeführt, so bleibt der ganze Farbstoff auf dem Filter. Hieraus ergibt sich ohne Weiteres eine praktische Methode, möglichst reine und unveränderte Substanz zu erhalten.

*) Monteverde. Absorptionsspectrum des Chlorophylls. (Loc. cit.)

**) Bertin-Sans et Moitessier. Comptes rendus. CXIV. 1892. p. 923.

Cf. Struve, Erdmann's Zeitschrift für prakt. Chemie. 1884.

Folgerungen.

Aus allem oben kürzlich Mitgetheilten ergibt sich, dass im lebenden Protoplasma das Chlorophyll und das Carotin als Theilmolekel einer complicirteren Verbindung fungiren. In dieser Verbindung, in diesem Chloroglobin sind die beiden Pigmente einer näher zu bestimmenden, farblosen Substanz associirt, welche ich, zum Andenken Pringsheim's, Hypochlorin*) zu nennen vorschlage.

Das nähere makrochemische Studium wird die chemische Natur des Chloroglobins präcisiren; schon jetzt ist aber die physiologisch wichtige Thatsache festgestellt, dass dieser Farbstoff mehrere physiko-chemische Eigenschaften der Albuminoide zeigt (Quellungsvermögen, Speicherungsvermögen für Farbstoffe u. s. w.).

Etwas seltsam ist die Löslichkeit des Chloroglobins in starkem Alkohol, Benzol, Aether u. s. w. Dieselbe könnte wohl den chromophoren Atomgruppen verdankt werden. Uebrigens kennt man in Chloroform und Aether lösliche Hämoglobine.**). In starkem Alkohol sind Gliadin, Mucedin und auch, nach Kruch,***) die Eiweissphäroiden der *Phytolacca*-Blätter löslich.

Zum Schluss scheint es mir nicht uninteressant, hier daran zu erinnern, dass die an der Photosynthese beteiligten blauen und rothen Algenfarbstoffe nach Molisch Eiweissstoffe sind.

Der Einfluss der Vegetationsbedingungen auf die Länge der wachsenden Zone.

Von

Professor Dr. Alexandru P. Popovici

in Jassy (Rumänien).

(Schluss.)

B) Niedrige Temperatur.

Die Wurzeln von *Vicia Faba*, *Cucurbita Pepo* und *Phaseolus multiflorus* wurden markirt und einer Temperatur, die etwas über dem Temperaturminimum der Keimung lag, ausgesetzt. Für *Vicia Faba* beträgt das Minimum nach Fr. Haberlandt†) 4,8° C, für *Cucurbita Pepo* nach Haberlandt††) 15,6° C und 18,6° C, nach

*) Als Hypochlorin sind, ja selbst von Pringsheim, verschiedene Producte bezeichnet worden. Streng genommen dachte sich aber Pringsheim das Hypochlorin als eine hypothetische, farblose, harzartige Grundlage des Chlorophylls.

**) Beilstein. Organische Chemie.

***) Kruch. Annuario del R. Istituto Botanico di Roma. Vol. VII. Fasc. 1.

†) Haberlandt, Landwirthschaftliche Versuchsstation. Bd. XVII. p. 104. cit. bei Kirchner in Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. III. 1883. p. 336.

††) l. c. p. 104.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Botanisches Centralblatt](#)

Jahr/Year: 1900

Band/Volume: [81](#)

Autor(en)/Author(s): Tswett (Zwet) Michail Semjonowitsch

Artikel/Article: [Das Chloroglobin. 81-87](#)