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

Über das Färben mit Hämatoxylin.

Von

Paul Mayer
in Neapel.

Trotz der vielen Vorschriften, welche zur Anfertigung guter Hämatoxylinlösungen existiren und meist allerdings den Charakter von Magistralformeln an sich tragen, scheint über die chemischen Vorgänge beim Färben mit Hämatoxylin bisher nichts Genaueres bekannt geworden zu sein. Die mir zugänglichen Lehrbücher der mikroskopischen Technik enthalten wenigstens keine Angaben darüber, obwohl sie dem Hämatoxylin Raum genug widmen: so Fol, Garbini, Lee, Rawitz, Böhm & Oppel, Whitman. Und der Einzige, welcher die Chemie hierbei etwas berücksichtigt hat, nämlich Gierke[1], bringt, wie auch beim Carmin, fast nur Irrthümer vor. Dagegen findet man häufig die Bemerkung, die frisch bereiteten Lösungen seien zum Färben nicht tauglich, sie müssten erst »reifen«, und man könne dies beschleunigen, indem man Licht und Luft hinzutreten lasse. Was das Licht dabei thun soll, ist mir nicht klar geworden, mit der Luft hat es aber seine Richtigkeit, denn es handelt sich bei der

[1] Hans Gierke, Färberei zu mikroskopischen Zwecken. in: Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 und 2. Bd. 1885. Er sagt auf pag. 14 und 15 des 2. Bandes vom Hämatoxylin: »Die Einwirkung des Lichtes färbt die Lösungen roth, starke alkoholische Lösungen werden dunkelbraun. . . . . Die Alkalien, Ammoniak und Alaun machen aus der gelblichen oder rothen Farbe ein schönes intensives Blau oder Violettblau.« Ferner: »aus ihm lässt sich noch ein gefärbter Körper Hämatein, und zwar in seiner Ammoniakverbindung abscheiden. Da er aber für uns kein weiteres Interesse hat, auch noch ziemlich unbekannt ist, so gehe ich nicht weiter auf ihn ein.« Über die Ansichten von Sanfelice s. unten pag. 178 Anm. 1.

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

»Reifung« lediglich um eine Oxydation[1]. Will man sich also ein »reifes« Hämatoxylin in kurzer Zeit herstellen, so braucht man es nur in geeigneter Weise zu oxydiren. Dies habe ich anfänglich durch Kochen einer frischen Lösung des Hämatoxylins in Alkohol mit Krystallen von übermangansaurem Kali bewirkt, bin aber dann zum bequemeren und einfacheren Wasserstoffhyperoxyd übergegangen und habe erst zu guter Letzt entdeckt, dass das Oxydationsproduct unter dem Namen Hämateïn nicht nur den Chemikern längst wohl bekannt, sondern auch in den Preislisten der chemischen Handlungen aufgeführt ist. Ich kann also nur dazu rathen, das Hämatoxylin überhaupt aus der Reihe der Farbstoffe zu streichen und an seiner Stelle das Hämateïn als den wirklich färbenden Stoff in die mikroskopische Technik einzuführen.

Dem ganz neuen Werke von Nietzki[2] entnehme ich folgende Angaben von Interesse für unser Thema. »Obwohl das Hämatoxylin an und für sich kaum den Farbstoffen zuzuzählen ist, bildet es doch den einzig für die Färberei wichtigen Bestandtheil dieses Holzes [des Blauholzes], weil es durch Oxydation leicht in das stark gefärbte Hämateïn übergeht.« Jenes krystallisirt mit $3H_2O$ in Säulen oder mit $1H_2O$ in rhombischen Krystallen. »In Alkalien löst es sich mit Purpurfarbe. Die Lösung färbt sich unter Bildung von Hämateïn schnell blauviolett, später braun.« Das Hämateïn »entsteht bei vorsichtiger Behandlung des Hämatoxylins mit Salpetersäure, sowie durch Einwirkung des Luftsauerstoffs auf die alkalische Lösung desselben«. Es bildet »dunkelgrüne metallglänzende im durchfallenden Lichte rothe Massen, welche sich zu einem violetten Pulver zerreiben lassen, oder kleine rothe Krystalle. In heißem Wasser löst

---

[1] Wenn (nach einem Referate von Edinger in: Zeit. Wiss. Mikr. 2. Bd. 1885. pag. 400) C. Weigert hervorhebt, das »Reifen« beruhe auf der Überführung des Hämatoxylins in eine dunklere Substanz durch das Ammoniak der Luft, und man könne durch Zusatz eines Alkalis momentan die Tinctionsfähigkeit herstellen, welche sonst nur dem »abgelagerten« H. zukomme, so ist dies nur bedingungsweise richtig. Vgl. darüber, was ich aus Nietzki abdrucke. — Ähnliches scheint Flemming zu glauben, wie ich aus folgender Notiz schließe, auf die ich nachträglich durch Zufall gestoßen bin: ». . . . bekanntlich sind die Hämatoxylinlösungen äußerst veränderlich, je nach der Menge Hämateïn, das sie durch Ammoniakaufnahme aus der Luft bilden, und vielleicht noch aus anderen, nicht näher bekannten Ursachen.« (Über das E. Hermann'sche Kernfärbungsverfahren. in: Arch. Mikr. Anat. 19. Bd. 1881. pag. 328).

[2] R. Nietzki, Chemie der organischen Farbstoffe. Berlin, Springer 1889. 256 pgg. Citate auf pag. 215—217.

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

es sich schwierig mit gelbbrauner Farbe, eben so in Alkohol und Äther. Von Alkalien wird es mit blauvioletter Farbe aufgenommen«.

Im Handel habe ich bisher reines Hämateïn nur bei J. R. Geigy & Co. in Basel gefunden; es ist ein braunrothes Pulver. Was De Haën in List vor Hannover als Hämateinum purum anzeigt, entspricht in der Farbe der Angabe von Nietzki, enthält aber einen in Alkohol unlöslichen schwarzen Körper, ist also nicht ganz rein. Die Verbindung Hämateïn-Ammoniak, im Handel auch als Hämateïnum crystallisatum bekannt, löst sich vergleichsweise leicht in Alkohol oder Wasser, und zwar mit tieferer Farbe als das Hämateïn. Der chemischen Formel zufolge sollte es ungefähr 9 % Ammoniak enthalten. Ganz rein scheint es bisher nicht käuflich zu sein, wohl aber habe ich es ohne besondere Mühe selber rein hergestellt[1]. Als Kriterium der Reinheit gilt mir hierbei sowohl für das H. als auch für sein Ammoniaksalz die völlige Löslichkeit in Alkohol und destillirtem Wasser sowie das Klarbleiben der Lösung bei Zusatz von Essigsäure; natürlich darf auch beim Verbrennen keine anorganische Asche übrig bleiben[2].

Aus Hämateïn oder H.-Ammoniak bereite ich nun eine dem bekannten Böhmer'schen Hämatoxylin entsprechende Lösung, die ich Hämateïn-Alaunlösung, kürzer **Hämalaun** nennen will, in der Art, dass ich

> 1 Gramm des Farbstoffes in 50 ccm Alkohol von 90 % durch Erwärmen löse und zu einer Lösung von 50 Gramm Alaun in 1 Liter dest. Wassers gieße.

Nach dem Erkalten und Absetzenlassen kann man filtriren, aber

[1] Man löse 1 g Hämatoxylin unter Erwärmen in 20 ccm destillirten Wassers, filtrire eventuell, setze 1 ccm kaustisches Ammoniak (spec. Gew. 0,875) hinzu und bringe die purpurne Flüssigkeit in eine Schale, die so geräumig sein muss, dass der Boden höchstens $^1/_2$ cm hoch bedeckt wird. Man lasse an einem staubfreien Orte bei gewöhnlicher Temperatur abdunsten. Die Ausbeute an trockenem Hämateïn-Ammoniak beträgt etwa eben so viel wie das angewandte Hämatoxylin. Beschleunigt man den Process durch Anwendung künstlicher Wärme, so bilden sich nebenbei leicht Stoffe, die in Alkohol unlöslich sind. Man benutze übrigens, so lange das Präparat noch nicht trocken geworden, zum Umrühren und Loskratzen nur Spatel aus Glas, Porzellan oder Platin.

[2] Alles dies würde auch für Hämatoxylin zutreffen, und ich weiß in der That nicht, wie man das Vorhandensein desselben oder von Zwischenstufen zwischen ihm und dem Hämateïn in letzterem bequem auf anderem Wege feststellen kann als durch die Probe auf die Färbekraft. Dass aber wirklich Differenzen in dieser vorkommen, zeigt die folgende Anmerkung, und vielleicht sind sie wie angedeutet zu erklären.

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

bei Verwendung von reinem Material[1] ist dies überflüssig, wenn man nur immer vorsichtig abgießt oder noch besser das gewünschte Quantum mit einer Pipette aus der Mitte der Flasche schöpft. Das Hämalaun färbt gleich von Anfang an so gut wie später und überhaupt so gut wie die BÖHMER'sche Lösung es vermag. Schnitte durch den Darmcanal von Rochen (conservirt in Sublimat + Chromsäure) haben sich durch bloßes Übergießen mit Hämalaun und sofortiges Abspülen mit Wasser, also in unglaublich kurzer Zeit tief und, wie zu erwarten stand, auch ganz distinct gefärbt. Natürlich kann man das Hämalaun, welches, nach obiger Vorschrift gemacht, eine dunkle Flüssigkeit etwa vom Farbenton des GRENACHER'schen Boraxcarmins darstellt, auch verdünnen oder von vorn herein dünner bereiten, ohne Zweifel auch mit anderen Proportionen der beiden festen Stoffe anfertigen — es scheint darauf innerhalb gewisser Grenzen ebenso wenig Etwas anzukommen wie bei dem BÖHMER'schen Liquor, der ja auch nicht constant zusammengesetzt ist[2]. Was ich hervorheben möchte, ist aber dies: das Hämalaun ist sofort zur Verwendung bereit und braucht nicht erst Tage lang zu stehen. Wie lange es sich hält, darüber fehlen mir die Erfahrungen; wahrscheinlich werden in ihm, wie selbst in concentrirten Lösungen von Alaun, Pilze auftreten, aber dies kann man durch einen Thymolkrystall verhüten[3]. Übrigens wird auch

---

[1] Eigentlich sollte man vom H.-Ammoniak 10 % mehr nehmen als vom Hämateïn; aber der Unterschied in der Färbekraft ist zu gering, um für die Praxis von Bedeutung zu werden. Dagegen musste ich vom H. cryst. DE HAËN etwa die doppelte Menge (also 2‰) anwenden, um dieselben Resultate zu erzielen wie mit meinem H.-Ammoniak; auch das MERCK'sche Präparat färbt merklich schwächer als das meinige. Das H. purum DE HAËN giebt, trotzdem auf dem Filter ein beträchtlicher Rückstand bleibt, doch ein kräftiges Hämalaun; man muss es aber sehr fein zerreiben, da es sich sonst zu langsam löst. Einstweilen empfehle ich also in erster Linie das H. von GEIGY oder das H.-Ammoniak, welches man sich nach obiger Vorschrift selbst bereitet.

[2] Mit destillirtem Wasser habe ich es bis auf das 20fache verdünnt, so dass $^1/_{20000}$ Hämateïn darin vorhanden war! Und doch färbte diese Lösung, wenn auch langsam, prachtvoll; so z. B. waren in 1 Stunde die Tentakel einer *Tubularia* durchgefärbt, und zwar merkwürdigerweise das Entoderm sehr viel stärker (und das Ectoderm schwächer) als in dem concentrirten Hämalaun. Brunnenwasser (oder Leitungswasser mit viel Kalk) darf aber hierzu nicht benutzt werden, und im Allgemeinen ziehe ich Verdünnungen mit schwacher Alaunlösung vor.

[3] Der Zersetzung durch das Ammoniak der Luft und das Alkali des Glases unterliegt es freilich eben so viel wie jegliches wässerige Alaunhämatoxylin. Es bildet sich ein Bodensatz, aber die Flüssigkeit färbt genau so gut wie

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

durch Zusatz einiger Tropfen einer alkoholischen Lösung des Hämateïns zu einer Alaunlösung von beliebiger Stärke ein sofort verwendbares Hämalaun leicht erhalten.

Im Gebrauch verhält sich das Hämalaun wie die BÖHMER'sche Flüssigkeit. Schnitte mögen je nach Absicht mit destillirtem oder gewöhnlichem Wasser abgespült werden, bei Durchfärbung größerer Stücke empfiehlt sich hingegen sorgfältiges Auswaschen mit schwacher (etwa 1 %iger) Alaunlösung, falls man absolute Kernfärbung haben will. Das Hämalaun färbt vorzüglich durch, selbst recht ansehnliche Stücke, freilich kostet das mitunter 24 Stunden und eben so viele nimmt das Auswaschen in Anspruch.

Wie sich in den anderen mehr oder minder complicirten Gemischen, welche als DELAFIELD'sches, RENAUT'sches, EHRLICH'sches etc. Hämatoxylin bekannt sind, der Ersatz des Farbstoffes durch das Hämateïn gestalten wird, namentlich in welchem Verhältnisse er zu geschehen hat, habe ich nicht untersucht. Das DELAFIELD'sche, welches LEE so rühmt, verdankt seine Güte in erster Linie wohl seiner Concentration — $^2/_3$ gesättigte Lösung von Alaun; das BÖHMER'sche nur $^1/_{300}$ — ist aber erst nach wenigstens 2 Monaten reif.

So einfach die Herstellung des Hämalauns ist, so viel Schwierigkeiten hat mir die Untersuchung des einzigen wirklich alkoholischen Hämatoxylins, nämlich der KLEINENBERG'schen Lösung, und ihr Ersatz durch eine Mischung, in welcher Hämateïn vorkommt, bereitet. Das Hämalaun und eben so die BÖHMER'sche Lösung färben so distinct die Kerne wie es nur das Alauncarmin thut, und das mag auf den ersten Blick als das Verdienst des Alauns erscheinen. Leider ist dieser nicht in Alkohol[1] löslich oder doch nur in so schwachem, dass eine wirkliche alkoholische Tinctur nicht damit bereitet werden kann. Nun habe ich freilich schon vor langer Zeit bei Besprechung

---

zuvor. Will man dies übrigens umgehen, so füge man nach dem Vorgange von P. EHRLICH Eisessig (2 % oder von gewöhnlicher Essigsäure 4 %) hinzu. Die Flüssigkeit (saures Hämalaun) wird zwar bedeutend heller, färbt aber die Kerne womöglich noch präciser als es Hämalaun thut. Es empfiehlt sich dann das Auswaschen mit gewöhnlichem Wasser, um die Säure zu entfernen und einen blauvioletten Farbenton zu erhalten.

Es bedarf kaum der Erwähnung, dass sich Hämalaun mit Alauncarmin oder Lösungen von Säurefuchsin etc. mischen und zu Doppelfärbungen verwenden lässt; einstweilen scheint es mir aber, als erreiche man durch die allerdings weniger bequeme Behandlung der Objecte mit 2 getrennten Farblösungen nach einander bessere Tinctionen.

[1] In Methylalkohol zwar etwas mehr, aber auch nicht in genügendem Grade. Vgl. hierüber auch unten pag. 183 Anm. 1.

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

der KLEINENBERG'schen Lösung[1] darauf aufmerksam gemacht, dass in ihr das wirksame Thonerdesalz nicht der Alaun, sondern das Chloraluminium sei; aber erst durch genauere Analyse bin ich allen ihren Eigenthümlichkeiten auf die Spur gekommen und kann nun in der That eine einfachere Vorschrift geben.

Anfänglich hat KLEINENBERG in einer concentrirten Lösung von Chlorcalcium in 70 %igem Alkohol Alaun bis zur Sättigung auflösen und ferner eine gesättigte Lösung von Alaun in 70 %igem Alkohol herstellen lassen; beide Flüssigkeiten waren dann im Verhältnis von 1 : 8 zu mischen, und zum Schluss wurde das zuvor in Alkohol gelöste Hämatoxylin hinzugefügt. In dieser Form ist die Vorschrift nicht nur ganz unbestimmt, sondern auch theilweise kaum erfüllbar. Denn der 70 %ige Alkohol löst bei gewöhnlicher Temperatur so gut wie gar keinen Alaun[2], also darf man diese »gesättigte Lösung« einfach durch gewöhnlichen Spiritus ersetzen, und dies hat KLEINENBERG später auch selbst gethan[3]. Wenn nun beim Auflösen von Chlorcalcium in Alkohol dieser seine Stärke beibehielte, so würde sich auch in ihm kein Alaun auflösen (resp. zu Chloraluminium umsetzen); da aber jenes etwa 50 % Krystallwasser enthält, so wird er allmählich schwächer, löst in Folge davon mehr Chlorcalcium, und so kann man es bis zu einer dicklichen Flüssigkeit bringen, welche auf 100 ccm

---

[1] PAUL MAYER, Über die in der Zoologischen Station zu Neapel gebräuchlichen Methoden zur mikroskopischen Untersuchung, in: Mitth. Z. Stat. Neapel 2. Bd. 1880. pag. 1 ff. Es heißt hier pag. 13: »Beim Zusammenbringen von Alaun und Chlorcalcium bildet sich übrigens ein Niederschlag von Gips; man würde also wahrscheinlich von vorn herein statt des Alauns bequemer Chloraluminium verwenden.« Damals habe ich die Sache nicht weiter verfolgt, weil mir das letztgenannte Salz nicht zur Hand war. Inzwischen hat aber DIPPEL, ohne indessen meiner zu gedenken, in seinem Handbuche der Mikroskopie (2. Aufl. 1. Bd. pag. 719—720) nicht nur die gleiche Ansicht ausgesprochen, sondern auch selber 2 Vorschriften gegeben: eine »gesättigte alkoholische Chloraluminiumlösung verdünne ich mit 6—8 Raumtheilen 70 %igem Alkohol und setze tropfenweise eine alkoholische Hämatoxylinlösung zu, bis intensiv blauviolette Färbung eintritt. Auch mit einer Mischung aus alkoholischer Alaun- und Hämatoxylinlösung, welche ich beim Gebrauche mit 50—70 %igem Alkohol oder auch Wasser verdünne, habe ich gute Resultate von Kernfärbung erzielt«. Wie es übrigens um diese beiden Lösungen bestellt ist, werden wir unten sehen.

[2] Selbst kochender Alkohol von 70 % löst noch lange nicht 1/2 %, und es fällt beim Erkalten so gut wie Alles wieder aus (nur ein Theil der Schwefelsäure bleibt gelöst). Alkohol von 40 % dagegen löst heiß wenigstens 3 %, kalt noch nicht 1/3 %. Wenn DIPPEL also von alkoholischer Alaunlösung redet, so kann der Spiritus nur schwach gewesen sein.

[3] Sullo sviluppo del *Lumbricus trapezoides*. Napoli 1878. pag. 6.

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

Alkohol sogar 70 g Chlorcalcium enthält. Giebt man nun Alaun hinzu, so entsteht ein Niederschlag von Gips, und von diesem bedeckt führen, auch wenn man oft umschüttelt, bei der Consistenz der Lösung die Alaunkrystalle ruhig ihr Dasein weiter, ohne sich viel um das Chlorcalcium zu kümmern. Man sieht also, was es mit der »gesättigten Lösung« von Alaun auch in diesem Falle auf sich hat: die Flüssigkeit enthält nur Spuren von Chloraluminium. Nimmt man dagegen dieselben Operationen in der Wärme vor, so löst sich nicht nur viel mehr von beiden Salzen[1] und setzt sich zugleich um, so dass man viel mehr Chloraluminium bekommt, sondern die Flüssigkeit wird auch stark sauer. Dies hängt so zusammen: heißer Alkohol löst zwar auch nicht viel Alaun, aber er zerlegt zugleich den ungelösten allmählich in freie Schwefelsäure und basisches Salz. Durch längeres Kochen kann man in Folge dessen den Alkohol immer saurer machen; natürlich tritt aber in unserem Falle an Stelle der Schwefelsäure, welche sofort auf das Chlorcalcium einwirkt, Salzsäure. In der That gelingt es mitunter wider Willen eine so saure Lösung zu erzielen, dass sie für die Färbung mit Hämatoxylin nicht gut zu verwenden ist.

Mit freundlicher Unterstützung des Herrn Dr. C. v. Wistinghausen, der in Messina bei Kleinenberg selber die Lösung öfter gemacht hatte, habe ich eine Berechnung der Mengen der hierbei in Betracht kommenden Substanzen vorgenommen und ermittelt, dass eine gute Kleinenberg'sche Lösung enthält

etwa 8 % Chlorcalcium, etwas 1 ½ ‰ (also sehr wenig) Chloraluminium, etwas Chlorkalium oder Chlorammonium (je nach der Art des verwendeten Alauns), eine geringe Menge freier Salzsäure, keine freie Schwefelsäure —

alles Dies in einem Alkohol, der etwa 60—65 % stark ist. Bei der Bereitung wurde indessen so verfahren, dass Chlorcalcium und Alaun mit Alkohol gekocht und eben so Alaun allein heiß in Alkohol gelöst wurde[2]. Der meiste Alaun blieb dabei ungelöst, schmolz aber in seinem Krystallwasser.

---

[1] Chlorcalcium zerfließt heiß in seinem Krystallwasser, mithin kann man schier unglaubliche Mengen davon »lösen«, in 100 ccm Alkohol bis zu 340 g.

[2] Vgl. hierzu auch die Ausführungen Wistinghausen's in seiner Arbeit über *Nereis* (oben pag. 49). — Eine andere, ebenfalls gute Lösung der Salze hatte vor der Verdünnung mit Alkohol und dem Zusatze des Hämatoxylins Herr Dr. E. Cohen die Freundlichkeit zu analysiren. Die Umrechnung ergab dann einen Gehalt der definitiven Lösung von 8/7 ‰ Chloraluminium und 8½ % Chlorcalcium (die 1½ ‰ Chlorkalium vernachlässige ich), was also gut genug zur

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

Man wird mir nach dem Gesagten wohl Recht geben, wenn ich behaupte: die KLEINENBERG'sche Vorschrift ist nicht bestimmt genug[1] gefasst und kann daher nicht immer gleich gute Resultate liefern. Die Praxis hat dies reichlich bestätigt. Wenn es sich nun um die Ersetzung derselben durch eine einfachere handelt, so muss zuvor noch die Frage beantwortet werden: welche Bewandtnis hat es mit den großen Mengen Chlorcalcium in ihr? KLEINENBERG selber hat es nur desswegen zugesetzt, um zwischen dem Alkohol in den Geweben und der Lösung einen kräftigen Diffusionsstrom zu erzeugen (MAYER, l. c. pag. 14 Anm. 1). Nun lässt sich zwar mit Hämateïn und Chloraluminium allein auch eine leidliche Färbung erzielen, aber sie wird unvergleichlich besser, wenn Chlorcalcium dabei ist. Das ist jedoch keineswegs eine Eigenthümlichkeit dieses Salzes, sondern jedes andere Salz, falls es nur genügend in Alkohol löslich ist und nicht Umsetzungen mit der Lösung bewirkt, verhält sich eben so. Als Probeobject haben mir dabei Schnitte von Darm und Pankreas eines Selachiers gedient; es ergab sich, dass die einfache Farblösung (Hämateïn und Chloraluminium in den noch zu erörternden Mengen) stets die Kerne zwar etwas stärker als das Plasma, aber viel schwächer als den Schleim aus den Becherzellen färbte, während

---

Formel im Texte passt. Dabei habe ich allerdings vorausgesetzt, dass im Chlorcalcium 6 Moleküle Krystallwasser enthalten seien; da es aber an der Luft begierig Wasser anzieht, so gaben mir die Herren Dr. E. HERTER und E. COHEN den Rath, in die Vorschrift nicht das Chlorcalcium selbst, sondern eine wässerige Lösung desselben von bestimmtem specifischen Gewichte aufzunehmen. Indessen hat dies für uns Zoologen doch wieder andere Unbequemlichkeiten im Gefolge, und da es sich ja bei allen unseren Färbmethoden nicht um die Genauigkeit handelt, welche der Chemiker mit Recht für sich beansprucht, so möchte ich es bei dem festen Salze bewenden lassen, wie es die Handlungen als »reines krystallisirtes Chlorcalcium« führen.

Leider war bei der Anfertigung der so eben besprochenen KLEINENBERG-schen Lösung versäumt worden, die Menge des Hämatoxylins zu bestimmen. Ich habe dies nachträglich gethan, indem ich 10 ccm langsam abdunsten ließ und aus dem Rückstande die Salze mit Wasser + etwas Essigsäure wegschaffte. Es blieben 0,4 g schöner Nadeln von Hämatoxylin übrig, mithin sind wenigstens 4 % davon genommen worden. Nach der Intensität der Färbung zu schließen, ist aber nur ein verschwindender Theil bereits zu Hämateïn oxydirt, der Rest wird dies Schicksal wohl nie erleiden und einstweilen nur dazu beitragen, die Flüssigkeit etwas dicklicher zu machen.

[1] Dies gilt auch vom Hämatoxylin, das in beliebiger Menge zugesetzt werden soll. Häufig nimmt man davon zu viel, und dann bilden sich auf den Objecten metallglänzende Niederschläge, verhindern das Eindringen der Lösung in die Tiefe und müssen mit saurem Alkohol entfernt werden. Vgl. auch die vorige Anmerkung.

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

bei Gegenwart von 10—20 % von Chlormagnesium, salpetersaurem Ammoniak, Chlorlithium oder Chlorcalcium ganz präcise Kernfärbung eintrat[1]. Ähnlich verhielten sich Kochsalz und Chlorammonium: nur kommt es hier leicht vor, dass bei Übertragung der Schnitte in stärkeren Alkohol sich Krystalle ausscheiden, was bei den erstgenannten Salzen, da sie alle zerfließlich sind, nicht der Fall ist[2]; auch war die Färbung nicht ganz so präcis, wahrscheinlich weil sich nicht viel von den beiden Salzen in 70 %igem Alkohol löst.

[1] Man hat es also ganz in der Gewalt, ob man den Schleim färben will oder nicht. Ich betone dies gegenüber der neuesten Auslassung Hoyer's, der in einer sehr ausführlichen, eigens dem »Mucin« gewidmeten Studie (Über den Nachweis des Mucins in Geweben mittels der Färbemethode. in: Arch. Mikr. Anat. 36. Bd. 1890. pag. 310—374) dies nicht erkannt hat und auch andere schwere Irrthümer zu Tage fördert. Er setzt nämlich das verschiedene Verhalten des Hämatoxylins gegen Mucin auf Rechnung der »Reifezustände« der Lösung, da überreife Lösungen den Schleim nicht mehr färben (pag. 365). Ferner behauptet er, die »so mannigfach variirten Carminlösungen« verhielten sich wie die sauren Theerfarben, d. h. sie tingirten den Schleim entweder gar nicht oder nur ganz schwach; und doch ist leider mit einer sonst sehr schönen Lösung von Carmin + Chloraluminium in Alkohol das Gegentheil der Fall! Und wenn er pag. 360 im »Mucin« ein Gemenge von 2 Substanzen erblicken möchte, von denen die eine, da sie mit basischen Theerfarben sich stark färbe, vielleicht die Rolle einer Säure spiele, so ist darauf hinzuweisen, dass gerade im Grenacher'schen Boraxcarmin, also einer alkalisch reagirenden Flüssigkeit, der Schleim sich nicht färbt, im sauer reagirenden Hämatein + Chloraluminium aber wohl. Die chemische Basis in der Hoyer'schen Abhandlung scheint mir, trotzdem diese es nach beliebten Mustern nicht an Formeln fehlen lässt, genau so sicher zu sein, wie bei dem sogenannten neutralen carminsauren Ammoniak, das Hoyer erfunden hat (Biol. Centralbl. 2. Bd. 1882. pag. 18).

Auch F. Sanfelice hat sich neuerdings mit Hämatoxylin beschäftigt (Dell' uso della ematossilina per riconoscere la reazione alcalina o acida dei tessuti. Napoli 1889. 3 pgg., abgedruckt in: Zeit. Wiss. Mikr. 6. Bd. 1890. pag. 299—301) und will es sogar zur Unterscheidung der alkalischen oder sauren Beschaffenheit der Gewebe benutzen. Da er es aber fertig bringt, die Böhmer'sche Lösung, weil sie Alaun enthalte, alkalisch zu nennen (»il colorito azzurro . . . . è dovuto all' allume, che la rende alcalina«), so brauche ich wohl nicht näher darauf einzugehen und will nur noch bemerken, dass er auch die Schleimpfröpfe alkalisch sein lässt (. . . . »prendono una bella tinta azzurra, ciò che dimostra la loro reazione alcalina«). Die von ihm empfohlene Lösung (1 g Hämatoxylin, 0,3 g Alaun, 30 g absol. Alkohol, 90 g Wasser) ist übrigens im Wesentlichen eine Böhmer'sche, nur mit etwas mehr Alkohol, und sie färbt auch dem entsprechend gut, wenn sie erst »reif« geworden.

[2] In der Meinung, diese Wirkung der Salze beruhe auf der Vergrößerung des specifischen Gewichtes, habe ich dem Alkohol Glycerin oder Zucker hinzugefügt, aber der Erfolg blieb aus. Jedoch gilt obiger Satz von den Salzen nur für alkoholische, nicht auch für wässerige Lösungen; denn nicht nur lässt sich Hämalaun ungestraft mit Wasser sogar auf $^1/_{20}$ verdünnen, sondern ich habe

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

Bemerkenswerth ist beim Zusatz des Farbstoffes (Hämateïn + Thonerdesalz in Alkohol) zur Salzlösung, dass er sofort von Rothviolett in Blauviolett übergeht und nach einiger Zeit in feinen Partikeln ausfällt. Dies geschieht auch, wenn der Alkohol Glycerin oder Zucker enthält, so dass es eine Regel zu sein scheint, dass bei Gegenwart anderer Substanzen der Farbstoff nicht gelöst bleibt, falls die Lösung nicht angesäuert ist[1]. Letzteres ist bei der KLEINENBERG'schen Flüssigkeit der Fall, aber man kann auch statt der Salzsäure in ihr Salpeter- oder Essigsäure nehmen. Immer handelt es sich dabei nur um geringe Zusätze.

Was endlich das Verhältnis der beiden Componenten des Farbstoffes angeht, so ergeben mir zahlreiche Versuche Folgendes. Viel Thonerdesalz (Chloraluminium oder salpetersaure Thonerde) und wenig Hämateïn liefert Flüssigkeiten von schön blauvioletter Farbe, die zwar gut eindringen und bei der nöthigen Concentration auch tief, jedoch stark diffus färben[2]. Man muss dann sauer ausziehen, um

---

auch beim directen Vergleiche von analogen wässerigen Farblösungen ohne und mit Chlorcalcium gefunden, dass in beiden Fällen der Schleim ungefärbt bleibt. Wird andererseits Hämalaun mit Alkohol verdünnt, so färbt sich der Schleim stets intensiv mit.

[1] Es findet also statt, was der Chemiker »Aussalzen« nennt. Ganz eigenthümlich verhalten sich die essigsauren Salze, in so fern schon geringe Mengen von ihnen selbst bei Gegenwart von freier Essigsäure den Farbstoff blau ausfällen. Das sonst beliebte Mittel, eine blaue Färbung hervorzubringen, besteht bekanntlich aus schwachem Ammoniak, aber man kann sich statt dessen des jedenfalls unschädlicheren essigsauren Natrons oder Kalis bedienen, und zwar am einfachsten einer $^1/_2$ bis 1%igen Lösung in absolutem Alkohol. Denn auch das Ammoniak wirkt nicht etwa durch Abstumpfung der Säure bläuend, sondern indem es die Thonerde ausfällt, welche das Hämateïn mit sich reißt. Hämateïn allein mit Ammoniak wird ja nicht blau, sondern purpurn. Das doppelt kohlensaure Natron, wie es WISTINGHAUSEN (oben pag. 49) empfiehlt, ist übrigens recht brauchbar.

[2] Dies halte ich auch DIPPEL gegenüber (vgl. oben pag. 175) aufrecht. Die Kerne sind freilich immer noch dunkler gefärbt als das Plasma, und in so fern kann DIPPEL von Kernfärbung reden. — Aus genanntem Grunde darf man denn auch nicht statt irgend eines der oben erwähnten Salze einfach Chloraluminium (etwa 10 %) anwenden; denn die Färbung ist zwar ganz präcis, aber ungemein schwach, da beim Auswaschen in neutralem Alkohol ungefähr alle Farbe an diesen wieder abgegeben wird. — Löst man in 100 ccm Alkohol (von 70 %) je 4 g Hämatoxylin und Chloraluminium, so ist die Flüssigkeit bekanntlich anfangs ganz hell; später wird sie intensiv blauviolett und färbt dann diffus; erst nach weiteren Wochen oder gar Monaten wird sie, offenbar in Folge der fortschreitenden Oxydation des Hämatoxylins, rothviolett und färbt dann unglaublich stark; setzt man nun Chlorcalcium und Säure in der richtigen Menge zu, so erhält man gute Färbungen.

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

gute Kernfärbung zu erhalten. und darum zuvor stark überfärben. Andererseits ist auch ein Überschuss an Hämateïn schädlich, weil sich, wie schon oben angegeben, ein metallglänzender Niederschlag auf der Oberfläche des Objectes bildet und das Eindringen in das Innere erschwert[1]. Auch hier ist Ausziehen mit saurem Alkohol erforderlich. Theoretisch ist also Nichts leichter, als durch Versuche zu ermitteln, wie eine wirklich brauchbare Lösung beschaffen sein muss. Leider aber ist das nicht so einfach, denn das Object selber redet dabei ein bedeutendes Wort mit. Ist z. B. die Oberfläche mit einer Gallerte bedeckt, welche den Farbstoff begierig aufnimmt, oder mit Salzen imprägnirt, die sich mit der Lösung umsetzen, so muss man letztere viel saurer wählen als gewöhnlich. Ja, ich habe bisher mit keiner einzigen Lösung, auch mit der Böhmer'schen nicht, die Tunikaten gut färben können: stets nahm der Mantel die Hauptmenge des Farbstoffes in Anspruch und hielt ihn auch beim Ausziehen mit Säure viel zu fest, als dass ich gute Übersichtsbilder bekommen hätte.

Immerhin lässt sich so viel sagen: eine gute Lösung darf nicht blauviolett sein; ist sie es, so lässt sie sich durch vorsichtigen Zusatz von Säure etwas verbessern. Richtiger ist es aber, von vorn herein weniger Thonerdesalz zu nehmen.

Bei der ungemeinen Empfindlichkeit des Hämateïns gegen Säuren, Alkalien und Salze — sie ist früher lange nicht genug erkannt und betont worden — werden einige Bemerkungen über die Reinheit der Ingredienzien wohl nicht überflüssig sein.

a) Über das Hämateïn s. oben pag. 172.

b) Das Chloraluminium darf nicht feucht sein. Es löst sich in Alkohol etwas trübe und reagirt auf Lackmus, ähnlich dem Alaun, stark sauer.

c) Der Alkohol und die Gefäße dürfen nicht alkalisch reagiren. Beides ist häufiger der Fall, als man glaubt, und manche

[1] Wenn also Sanfelice (Dell' uso dell' iodo nella colorazione dei tessuti con la ematossilina. in: Boll. Soc. Natural. Napoli Vol. 3. 1889. pag. 37—38) sich darüber beklagt, man könne mit der Kleinenberg'schen Lösung keine Stücke in toto färben, so hat er zufällig mit einer solchen zu thun gehabt, die zu viel Hämateïn enthielt. Alsdann hat auch das Mittel, welches er zum Durchfärben vorschlägt, nämlich das vorherige Tränken der Gewebe mit Jod oder den Zusatz von Jod zur Lösung selber, seine Berechtigung. Nur befindet sich in der Sanfelice'schen Flüssigkeit selber das Hämatoxylin ebenfalls im Überschuss, so dass sich ohne Jod leicht Niederschläge auf den Objecten bilden.

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

Lösung verdirbt nach einiger Zeit, weil das Glas nicht gut ist. Namentlich gilt das von den Reagenzgläsern und den Flaschen mit Pipetten darin. Man erkennt dies leicht daran, dass eine schwache Lösung von Hämateïn in Alkohol (etwa 1 : 1000) ihre hellgelbe Farbe allmählich in purpurn umwandelt, wobei man natürlich, um während der Prüfung das kohlensaure Ammoniak der Luft abzuhalten, das Gefäß verschließen muss. Eine nicht angesäuerte violette Lösung von Hämateïn und Chloraluminium (je 1 Theil in 100 Theilen Alkohol) darf, etwa im Verhältnis von 1 : 100 dem zu prüfenden Alkohol zugesetzt, auch nach 24 Stunden noch nicht ausgefällt sein. Arbeitet man nur mit stark sauren Lösungen oder wäscht man die gefärbten Objecte so wie so mit Säure aus, so wird der oben besprochene Übelstand wohl keine Rolle spielen; man sollte es sich aber doch zur Regel machen, namentlich wenn man vor langer Zeit conservirte Objecte färben will, den Alkohol wie angegeben zu prüfen, und falls er die Verbindung Häm.-Thonerde ausfällt, ihn zu wechseln. Denn auch bei saurer Reaktion (z. B. wenn Sublimat darin ist) hält er mitunter diese Probe nicht aus, und die Folge davon ist natürlich bei Durchfärbungen größerer Stücke, dass im Inneren derselben unliebsame Niederschläge auftreten.

d) Das Chlorcalcium reagire neutral oder doch nur schwach alkalisch, sei auch nicht feucht (vgl. oben pag. 176 Anm. 2).

e) Ein geringer Gehalt der Thonerdesalze an Eisen scheint nicht schädlich zu wirken. Die Verbindung Hämateïn-Eisen hat zwar nicht die schön violette Farbe, sondern ist mehr blaugrau, aber zugleich so ungemein intensiv, dass ganz schwache Mengen von Eisen nur zur Verstärkung der Färbung dienen werden. Nur färbt sich dann das Plasma leicht mehr mit, als erwünscht ist, auch bedarf es relativ großer Mengen Säure, um die Eisenverbindung gelöst zu halten.

Vielleicht erwartet man nun, wenn man sich geduldig durch diese Auseinandersetzungen hindurchgearbeitet hat, von mir eine Vorschrift für eine dem Hämalaun ebenbürtige alkoholische Tinctur zu erhalten. Leider muss ich aber bekennen, dass es mir trotz der mannigfachsten Versuche nicht gelungen ist, eine solche ausfindig zu machen. Dies scheint überhaupt nicht möglich zu sein, und der

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

Grund dafür liegt offenbar in erster Linie, wenn nicht sogar ausschließlich darin, dass im Hämalaun den Geweben Wasser dargeboten wird[1]. So kommt denn auch — und dies ist für mich der einzige Trost, falls es einer ist — nach meinen Erfahrungen selbst die beste KLEINENBERG'sche Lösung den wässerigen Hämatoxylinlösungen, speciell der BÖHMER'schen und der DELAFIELD'schen, durchaus nicht gleich, sondern unterscheidet sich davon zu ihrem Nachtheil durch ihr vergleichsweise geringes Vermögen, in die Tiefe zu dringen[2]. Nicht als wenn sie dies überhaupt nicht thäte, aber sie färbt alsdann die oberflächlichen Schichten zu stark[3], und man muss dann unter Umständen sogar mit Säure den Überschuss entfernen. Immerhin empfehle ich aber als Ersatz der KLEINENBERG'schen Tinctur die folgende, bequem, rasch und constant herstellbare alkoholische Lösung, für die ich den kurzen Namen **Hämacalcium** vorschlage.

Hämateïn oder H.-Ammoniak 1 g, Chloraluminium 1 g, Chlorcalcium 50 g, Eisessig[4] 10 ccm, 70 %iger Alkohol 600 ccm. Man zerreibe die beiden ersten Stoffe fein, gebe die

---

[1] Löst man Hämateïn und Chloraluminium unter Zusatz von Essigsäure in Wasser, und zwar genau dieselben Mengen, wie bei dem gleich näher zu beschreibenden alkoholischen »Hämacalcium«, so wirkt die Flüssigkeit beim Färben nicht gleich dem Hämacalcium, sondern gleich dem Hämalaun. Es muss also das Wasser von vortheilhaftem Einfluss auf die Tinction sein.

Ich habe mich übrigens davon überzeugt, dass auch ein längerer Aufenthalt im Hämalaun selbst zarten Geweben nicht schadet, falls sie nur gut gehärtet waren. Vom Alauncarmin und der Alauncochenille ist Ähnliches bekannt, und ich bin jetzt auch von meiner Vorliebe für alkoholische Färbemittel etwas zurückgekommen. Sie sind allerdings meist bequemer in der Anwendung und aus diesem Grunde den wässerigen vorzuziehen; wenn es sich aber um Feinheiten handelt, so würde ich gegenwärtig doch zu Lösungen mit Alaun greifen.

[2] Hierüber habe ich Folgendes ermittelt: bei im Übrigen gleichbleibenden Verhältnissen zwischen Chlorcalcium, Alkohol und Hämateïn muss man, um eine Wirkung in die Tiefe zu erzielen, viel Thonerdesalz nehmen; will man hingegen eine Lösung haben, die sich mehr auf die Oberfläche beschränkt, so darf man nur wenig Thonerdesalz zusetzen. Jene Lösung färbt aber im Allgemeinen langsam und schwach, daher muss man sie überhaupt stärker anfertigen, als die andere. Ein Zusatz von Glycerin erleichtert das Eindringen in die Tiefe, verlangsamt aber gleichfalls die Färbung.

[3] Auch das von SANFELICE empfohlene Jod (s. oben pag. 180) hilft diesem Übelstande nicht ab, sondern verhindert nur die Bildung des metallisch glänzenden Niederschlags.

[4] Oder von der gewöhnlichen Essigsäure des Handels (sie enthält etwa 50 % Eisessig) 20 ccm.

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

Essigsäure und den Alkohol dazu und löse kalt oder warm: zuletzt setze man das Chlorcalcium[1] hinzu.

Die Flüssigkeit ist rothviolett (aber mehr nach Roth hin als das Hämalaun) und giebt, so weit ich bisher gefunden habe, keinen Niederschlag auf den Geweben, falls diese nicht selber dazu Anlass bieten; sollten die Objecte zu roth gefärbt sein, so mag man sie mit etwas Chloraluminium (2 % in Alkohol gelöst) oder mit den oben pag. 179 Anm. 1 genannten Lösungen behandeln. Gewöhnlich werden sie aber beim Waschen in neutralem 70 %igen Alkohol bereits von selbst violett oder blau. Ausziehen mit saurem Alkohol ist in der Regel nicht nöthig.

Speciell für Hydroiden habe ich, um das Entoderm in den Tentakeln ähnlich stark zu färben wie es das Hämalaun thut, die Verdünnung des Hämacalciums mit 1/3 des Volumens Glycerin gut gefunden[2]. Gleiches erzielt man durch Zusatz von Chloraluminium bis etwa zum 8fachen der Menge des Hämateïns. Und so wird man je nach dem Objecte wohl die Lösung etwas variiren müssen.

Über die Haltbarkeit der Färbungen mit Hämateïn habe ich begreiflicherweise nur geringe Erfahrungen sammeln können. Schnitte mit Hämalaun tingirt sind seit fast 3 Monaten in Glycerin theils offen, theils unter dem Deckglase völlig gut geblieben — und das will schon

---

[1] Ich habe das Chlorcalcium beibehalten, möchte aber befürworten, dass ein Anderer, dem Salze wie Chlormagnesium, Carnallit etc. leichter zugänglich sind, diese auf ihre Anwendung genau prüfe; ich musste mich darauf beschränken, ihre Verwendbarkeit überhaupt festgestellt zu haben. Längere Zeit habe ich geglaubt, das salpetersaure Ammoniak sei vorzuziehen, und in der That bietet es auch den großen Vortheil, dass es sich mit Alaun nicht umsetzt und dass sich bei seiner Gegenwart entschieden mehr Alaun löst als in reinem Alkohol. Indessen bin ich wieder davon abgekommen, denn um dieselben Wirkungen zu erzielen, wie mit 10 % Chlorcalcium, muss man 20—25 % salp. Ammoniak nehmen, und dann schrumpfen manche Gewebe doch nicht unbedenklich. Recht gut ist indessen folgende sehr bequem herzustellende Flüssigkeit:

Hämalaun 10 ccm, 70%iger Alkohol 10 ccm, salp. Amm. 5 g; das Salz löst sich rasch auf, man lässt aber über Nacht an einem kühlen Orte den Überschuss an Alaun auskrystallisiren und filtrirt dann ab.

Schnitte und kleinere Objecte (Auricularien, Eier mit Keimstreifen, Hydroiden) werden sehr gut darin, freilich nicht so gut wie im Hämalaun; größere Gegenstände damit in toto zu färben, habe ich nicht versucht. An Alkohol enthält die Lösung so viel wie das Grenacher'sche Boraxcarmin.

[2] Das Hämatoxylin von Ehrlich enthält noch mehr Glycerin und ist erheblich schwächer an Alkohol. Übrigens ist auch Zucker (10—20 %) hierfür ein gutes Mittel. Vielleicht ist selbst der Überschuss an freiem, unoxydirtem Hämatoxylin in der Kleinenberg'schen Lösung, dessen ich oben gedachte, nach dieser Richtung hin nicht bedeutungslos.

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

etwas heißen. Die Präparate in Balsam haben sich gleichfalls unverändert erhalten (nur wo das Bergamottöl, das ich angewandt hatte, nicht gut durch Terpentinöl entfernt war, blassten sie bereits nach einigen Tagen erheblich ab; auch das Nelkenöl ist gefährlich), nur mache ich hierbei auf die Möglichkeit aufmerksam, dass sie nach einiger Zeit doch verderben könnten. Das Hämateïn nämlich wird sowohl durch Oxydation als auch durch Reduction zu farblosen Körpern umgewandelt (zu Oxalsäure resp. zu Hämatoxylin); und da wir nun den Canadabalsam noch viel zu wenig kennen, um zu beurtheilen, welche Umsetzungen er allmählich erleiden oder auch veranlassen kann, so wäre es immerhin möglich, dass die Färbungen sich nicht hielten. Ein Nachdunkeln aber, wie es beim Hämatoxylin zufolge eigenen und fremden Erfahrungen mitunter vorkommt und sich ja auch jetzt leicht verstehen lässt, ist natürlich beim Hämateïn nicht zu befürchten.

Zum Schlusse möchte ich noch mit einigen Worten auf das Wesen der Färbung mit Hämateïn eingehen, wobei ich aber weit davon entfernt bin, mich über die Theorie des Färbens im Allgemeinen aussprechen zu wollen. Falls ich meine obigen thatsächlichen Angaben richtig deute, so beruht die Wirkung des uns beschäftigenden Farbstoffes darauf, dass die Verbindung Hämateïn-Thonerde aus der Lösung in Wasser oder Alkohol ausgefällt wird, und zwar nicht durch freies Kali, Natron oder Ammoniak — denn diese Basen sind in conservirten Objecten doch wohl nicht vorhanden — sondern durch organische und anorganische (z. B. phosphorsaure) Salze, sowie vielleicht durch andere organische Körper. Wir hätten es demnach mit einer rein chemischen Umsetzung zu thun, nicht etwa mit Oberflächenattraction oder ähnlichen nicht allzu klaren Vorgängen. Leider kennen wir die Verbindung Hämateïn-Thonerde nicht näher, sonst könnten wir vielleicht Genaueres über die Art, wie sie unlöslich gemacht wird, ermitteln. So viel steht jedoch schon jetzt fest, dass bei der enormen Färbekraft des Hämateïns nur ganz geringe Mengen desselben zur Ausfällung gelangen, also auch nur unbedeutende Quantitäten von Salzen in den Kernen vorhanden zu sein brauchen. Dürfen wir diese aber darin erwarten? Gewiss. Denn im lebenden Gewebe sind sie bekanntlich vorhanden und so können sie auch bei der Conservirung entweder direct oder nach Umsetzung mit dem Conservirungsmittel darin fixirt werden. Jenes würde für Alkohol zutreffen, dieses für Sublimat[1] etc. Hat man also ein Object

[1] Mir ist da besonders lehrreich der Fall gewesen, wo auf Schnitten durch

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

für das Färben mit Hämateïn gut conservirt, so hat man es, ohne dies eigentlich zu beabsichtigen, entweder noch besonders mit Salzen etc. versorgt oder die ihm normal eigenen niedergeschlagen; und hat man es schlecht conservirt, so hat man es entweder mit Stoffen (Chrom- oder Osmiumverbindungen etc.) überladen oder der natürlichen Salze etc. beraubt, so dass die Hämateïn-Thonerde nicht eingreifen kann. Dabei mag im letzteren Falle das »Chromatin« im Kerne noch vorhanden und durch andere Färbemittel nachweisbar sein; und es würde sich damit gewissermaßen so verhalten wie mit dem Chlorophyllkorn, das auch ohne sein Grün existiren kann. Es wäre zu wünschen, dass an geeignetem Materiale diese meine Vermuthung auf ihre Richtigkeit hin geprüft würde; man hätte dann aber auch in den Conservirungsflüssigkeiten die Stoffe festzustellen, welche sie den Objecten entzogen haben. Wie complicirt übrigens diese Dinge alle sind, geht aus dem Verhalten des Schleimes in den Becherzellen gegen das Hämateïn hervor, dessen ich bereits oben pag. 177 ff. gedachte: bei Gegenwart von Alaun bleibt er ungefärbt, mit Chloraluminium in wässeriger Lösung ebenfalls, in alkoholischer hingegen nur dann, wenn sie außerdem eine bedeutende Menge Salze enthält; hat man ihn zunächst im Hämacalcium ungefärbt gelassen und wäscht nun das Chlorcalcium durch Alkohol aus dem Schnitte aus, so färbt sich der Schleim hinterher mit Hämateïnthonerde, falls sie ihm in Alkohol ohne Salze dargeboten wird. Ich sehe wohl ein, dass man gerade diese Reihe von Erscheinungen gegen meine obige Ansicht geltend machen und darauf hinweisen kann, dass sie sich leichter durch den Grad von Dicklichkeit der Lösungen und die darauf zu beziehende verschieden starke Quellung des Schleimes, also mehr auf physikalischem Wege, erklären lassen; aber dem steht wieder entgegen, dass der Zusatz von Glycerin oder Zucker zum Alkohol den Schleim nicht unfärbbar macht. Kurz, einstweilen ist noch keine Aussicht auf eine befriedigende Erklärung

---

die in Sublimat gehärteten Eingeweide eines Fisches alle Kerne in den älteren Ovarialeiern undurchsichtig erschienen, und erst nach Anwendung von Jodalkokol die Carminfärbung, welche im Reste des Präparates überall deutlich war, auch hier hervortrat; das zeigt doch nur, dass diese Kerne das Quecksilber des Sublimates entweder von vorn herein stärker angezogen oder beim Auswaschen des ganzen Fisches mit Jodalkohol länger festgehalten hatten als die übrigen und das gesammte Plasma. Und ich wüsste nicht, wie man diese Erscheinung ohne Zwang anders als rein chemisch deuten wollte. Freilich ist damit nicht erklärt, wie der lebende Kern zu seinen Salzen kommt und warum er davon mehr oder andere hat als das Plasma.

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

vorhanden, und man muss sich daran genügen lassen, für die Praxis der Färberei mit Hämatoxylin einige Erleichterungen geschaffen zu haben.

Dass sich Manches von den obigen Ausführungen auch auf das Carmin anwenden lässt, versteht sich von selbst, und ich habe in der That bereits für mich Vortheil davon gezogen, bin aber noch nicht zur Aufstellung neuer einfacher Vorschriften gelangt.

Neapel, im Mai 1891.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: Mittheilungen aus der Zoologischen Station zu Neapel

Jahr/Year: 1891-1893

Band/Volume: 10

Autor(en)/Author(s): Mayer Paul

Artikel/Article: Über das Färben mit Hämatoxylin. 170-186