

## Über das Färben mit Carmin, Cochenille und Hämatein-Thonerde.

von

**Paul Mayer.**

Ähnlich wie ich es vor Kurzem<sup>1</sup> vom Hämatoxylin angab, verhält es sich mit dem Carmin: an Vorschriften zur Bereitung von Farblösungen ist kein Mangel, aber meist sind sie recht complicirt oder ungenau, und über die chemischen Vorgänge bei der Bereitung und Anwendung der Flüssigkeiten ist nichts Genaueres bekannt. Ja, man hat sich nicht einmal die Mühe gegeben, die einzige neuere rein chemische Untersuchung über das Carmin, nämlich die von LIEBERMANN<sup>2</sup>, zu benutzen und aus ihr die Consequenzen zu ziehen, obwohl ich bereits vor einigen Jahren ihre wesentlichsten Resultate einem größeren Leserkreise zugänglich zu machen versuchte<sup>3</sup>. Thatsächlich ist auch für den heutigen Histologen noch immer Carmin einfach Carminsäure mit einigen Verunreinigungen, ist das BEALE'sche Carmin eine Lösung von carminsaurem Ammoniak u. s. w. Die mikrotechnischen Lehrbücher aber schweigen entweder hierüber gänzlich (z. B. LEE, RAWITZ, GARBINI, STÖHR) oder tragen einfach diese irrige Ansicht vor, wie FOL, DIPPPEL (1. Aufl.), FREY, BEHRENS & SCHIEFFER-DECKER etc. etc. Nun hatte ich bereits 1887 den Wunsch geäußert,

<sup>1</sup> P. MAYER, Über das Färben mit Hämatoxylin. in: Mitth. Z. Stat. Neapel 10. Bd. 1891 pag. 170—186.

<sup>2</sup> C. LIEBERMANN, Zur Kenntnis der Cochenille und des Cochenillecarmins. in: Ber. D. Chem. Ges. 18. Jahrg. 1886 pag. 1969—1975.

<sup>3</sup> P. MAYER, Aus der Mikrotechnik. in: Internation. Monatschr. Anat. Phys. 4. Bd. 1887 pag. 37—46.

es möge auf Grund der Arbeit von LIEBERMANN ein Chemiker daran gehen, für den Histologen einen Carmin-Farbstoff von constanter Zusammensetzung herzustellen. So viel ich weiß, ist das nicht geschehen, und so habe ich denn selber Versuche gemacht, die auch zu brauchbaren Resultaten geführt haben. Im Folgenden gedenke ich darüber zu berichten und zugleich die bisherigen Methoden des Färbens mit Carmin und Cochenille kritisch zu besprechen.

### A. Das Carmin des Handels

ist durchaus nicht etwa Carminsäure. Lange Zeit hatte ich GIERKE im Verdacht, mit der gegentheiligen Angabe die Histologen aufs Glatteis geführt zu haben, indessen mit Unrecht. Denn bereits in der 1. Auflage] von FREY's Buch über das Mikroskop (1863 pag. 107) ist von carminsaurem Ammoniak die Rede, aber auch nicht er, sondern GERLACH<sup>1</sup> ist dafür verantwortlich. Jedenfalls durchzieht diese Auffassung wie ein rother Faden nun die ganze Litteratur und ist dann durch GIERKE in seiner bekannten Schrift über die Färberei noch besonders über allen Zweifel erhoben worden. Es heißt dort (in: Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. 1884 pag. 74): »chemisch gesprochen ist unser Farbstoff Carminsäure zu nennen und hat die Formel  $C_{17}H_{18}O_{16}$ « — und dann ruhig weiter pag. 75: »Carminsäure ist im Wasser nicht löslich, wohl aber in Verbindung mit Ammoniak als carminsaures Ammoniak und mit Essigsäure als essigsäures Carmin«. Alsdann kommt eine lange Auseinandersetzung über die Vortheile des kohlen-sauren Ammoniaks beim Färben mit Carmin, wobei jenes ohne allen Beweis als »Beize« im Sinne der Farbchemiker hingestellt wird<sup>2</sup>. Freilich durfte sich GIERKE gewissermaßen für

<sup>1</sup> Während der Entdecker der Carminfärbung, HARTIG, 1854—1858 stets nur von Carmin und höchstens von Carmin-Ammoniak redet, anfänglich auch lediglich Carmin in Wasser gelöst verwandte, spricht GERLACH (in: Wiss. Mitth. Physik. Med. Soc. Erlangen 1858 pag. 6) ohne Weiteres von einer »concentrirten Lösung von carminsaurem Ammoniak« und gebraucht diese Bezeichnung auch in seinen »Mikroskopischen Studien«. — Ich verdanke diese Angaben der Güte von H. HENKING, welcher die ältere Litteratur über Carmin in der Göttinger Bibliothek auf meinen Wunsch durchgesehen hat.

<sup>2</sup> Der Ausdruck Beize wird von Histologen oft verwandt, wo er gar nicht am Platz ist. So sagt SCHIEFFERDECKER (in: Das Mikroskop und die Methoden der mikroskopischen Untersuchung. Braunschweig 1889 pag. 191): »Es giebt bestimmte Stoffe, welche ein dauerndes Haften der Farbstoffe an dem Gewebe erleichtern event. allein ermöglichen: die Beizen. Solche sind z. B. Alaun, kohlen-saures Ammoniak, kohlen-saures Lithium, Kupfersalze, Eisensalze, etc.«

entschuldigt ansehen, da bereits 2 Jahre früher HOYER eine Vorschrift für ein »vollkommen neutrales carminsäures Ammoniak« gegeben hatte. Prüft man aber diese Vorschrift<sup>1</sup> und das Präparat näher, so zeigt es sich, dass dieses vermeintlich reine Salz nichts Anderes ist als ein recht theneres Carmin. Wäre es nämlich wirklich jenes Salz, so dürfte es ja beim Glühen auf Platinblech keine Asche hinterlassen, weil weder in der organischen Carminsäure noch im Ammoniak irgend welche unverbrennlichen Stoffe vorhanden sind; es giebt aber eine reichliche Asche, und in ihr lässt sich wie in der des Carmins leicht Thonerde nachweisen<sup>2</sup>. Indessen sowohl

In dieser Definition ist etwas vergessen, nämlich dass die »Beize« den Geweben fast immer vor der eigentlichen Färbflüssigkeit incorporirt wird, nicht gleichzeitig. Bei der Tinction der markhaltigen Nervenfasern nach WEIGERT z. B. sind sowohl das doppeltechromsaure Kali als auch das essigsäure Kupfer Beizen, und die Gewebe werden mit ihnen behandelt, bevor sie in das Hämatoxylin kommen. Alaun hingegen dürfte kaum als Beize benutzt werden, eben so wenig die genannten kohlen-sauren Alkalien. Von letzteren wird dies in dem bekannten Handbuche der technischen Chemie von MUSPRATT (4. Aufl. 3. Bd. 1889 pag. 16) ausdrücklich verneint, vom Alaun und den übrigen Thonerdesalzen freilich nicht; es zeigt sich aber bei genauerem Zusehen, dass der Färber entweder direct basische Thonerdesalze nimmt oder bei Verwendung von nicht basischen diese durch alkalische Zusätze darin überführt, und zwar nur zu dem Zwecke, um auf oder in der Faser Thonerde niederzuschlagen. Hiervon ist aber in der Mikrotechnik keine Rede. Noch mehr: der Alaun hilft — sei es im Alauncarmin oder der Alauncochenille, sei es im Hämalalaun oder im BÖHMER-schen Hämatoxylin — stets den eigentlichen Farbstoff zusammensetzen; dieser nämlich enthält immer Thonerde, wie ich es für das Hämatein bereits früher nachgewiesen habe und für das Carmin gleich zeigen werde. Überhaupt benutzt der Histologe ungleich dem Färber nur in seltenen Fällen wirklich Beizen und ist im Gegentheil meist durch Auswaschen mit Säuren etc. eifrig bemüht, »das dauernde Haften der Farbstoffe an dem Gewebe« zu verringern (vergl. auch unten pag. 502).

<sup>1</sup> H. HOYER, Beiträge zur histologischen Technik. 1. Carminlösung. in: Biol. Centralbl. 2. Bd. 1882 pag. 17—19. Noch einige Jahre früher hatte HOYER (Beiträge zur anatomischen und histologischen Technik. in: Arch. Mikr. Anat. 13. Bd. 1877 pag. 649 ff.) eine andere Methode zur Herstellung einer Carminlösung veröffentlicht, aber damals redete er noch nicht von carminsäurem Ammoniak.

<sup>2</sup> Das Präparat, welches ich untersuchte, stammt von GRÜBLER in Leipzig, es liegt aber kein Grund zur Annahme vor, dass es nicht conform HOYER bereitet sei. Da es etwas freies Ammoniak enthält (durch Lackmuspapier bequem nachweisbar), so löst es sich völlig klar in Wasser, und eben deshalb in Alkohol nur unter Zusatz einer Säure. Die wässrige Lösung färbt ganz diffus, aber auch die alkoholische thut es, also begreife ich nicht recht, was das Präparat für Vortheile bietet. Zudem ist sein Preis (bei GRÜBLER 10 g = 2,5 Mk.) auffällig hoch gegenüber dem des Carmins, dessen beste Sorte dieselbe Handlung mit 0,6 Mk. anzeigt. LEE nennt es übrigens in der neuesten Auflage seiner Technik pag. 81 richtiger HOYER's neutral Carmine.

GIERKE als auch HOYER hätten nur das erste beste Lehrbuch der Chemie, z. B. GORUP-BESANEZ (Organische Chemie 2. Bd. 1862 pag. 648) oder K. B. HOFMANN (Zoochemie 1876 pag. 695) aufzuschlagen brauchen, um zu erfahren, dass die Carminsäure im Wasser leicht löslich sei. Diesen Vorwurf darf ich natürlich den späteren Autoren um so eher machen, besonders aber, nachdem LIEBERMANN'S Arbeit erschienen und von mir besprochen worden war. So z. B. SCHIEFFERDECKER, welcher den 2. Theil des 1. Bandes des Sammelwerkes über »die Gewebe des menschlichen Körpers und ihre mikroskopische Untersuchung« (Braunschweig 1859) bearbeitet hat und auf pag. 191—196 sich über Carmin und Cochenille auslässt. Denn auch er setzt Ammoniakcarmin und carminsäures Ammoniak gleich und verlässt sich auf HOYER sowie auf den Erfinder des »carminsäuren Natrons«, MASCHKE<sup>1</sup>.

Man wird nun zweierlei fragen: was ist denn eigentlich Carmin, und: ist es wirklich so schlimm, wenn man es als Carminsäure mit einigen Verunreinigungen bezeichnet? Auf die zweite Frage wäre zu antworten, dass man auf diese Weise jeglichen Fortschritt in der Färberei mit Carmin verhindert, was ja auch bisher unzweifelhaft der Fall gewesen ist. Denn obwohl noch jedes Jahr wenigstens ein halbes Dutzend neue Carminlösungen angepriesen<sup>2</sup> werden, so sind

<sup>1</sup> ADOLPH SCHMIDT (Zur Physiologie der Niere. in: Arch. Phys. Pflüger 48. Bd. 1890 pag. 34 ff.) hat eine richtigere Vorstellung vom Carmin, verdankt sie aber gleich mir LIEBERMANN. Er nennt deshalb auch pag. 45 das Product von MASCHKE Natroncarmin, bringt jedoch im Übrigen für unser Thema nichts Neues. Dagegen hat schon 1884 S. MARTINOTTI (Sull' uso dell' allume di cromo nella tecnica microscopica. in: Zeit. Wiss. Mikr. 1. Bd. pag. 361—366) einige Angaben über die Darstellung des Carmins gemacht, welche der richtigen Auffassung ziemlich nahe kommen, und hat dann 1886 (Il timolo nella tecnica microscopica. ibid. 3. Bd. pag. 351—358) sich neubei über den Unterschied zwischen Carmin und Carminsäure ausgesprochen, was ich auch seiner Zeit zu citiren nicht versäumt habe. Jüngst nun (L'ematossilina, l'emateina ed il carminio. ibid. 8. Bd. 1892 pag. 488—492) kommt er hierauf zurück, betrachtet aber den Alaun im Carmin als Beize. Gerade in den guten Sorten sei möglichst wenig Alaun vorhanden; wenn also LIEBERMANN 43% Thonerde darin gefunden habe, so müsse er ein schlechtes Carmin untersucht haben. Thatsächlich sind aber nach LIEBERMANN nicht 43, sondern nur reichlich 39% vorhanden (s. unten pag. 484); MARTINOTTI übersieht, dass die 43% sich nicht auf das Carmin, sondern auf dessen Asche beziehen, die selber nur 7% des Carmins ausmacht. Leider gibt MARTINOTTI nicht genau genug an, worin die älteren Sorten sich von den neueren unterscheiden, so dass eine Nachprüfung ausgeschlossen ist.

<sup>2</sup> Darunter so seltsame, wie die neuesten von R. HAUG (in: Zeit. Wiss. Mikr. 8. Bd. 1891 pag. 52), wo es schon genügt, die Namen zu hören: Alaun-

wir doch kaum weiter gekommen als schon 1879 GRENACHER war; höchstens dass wir einige früher sehr berühmte Lösungen, z. B. BEALE's Carmin, so ziemlich abgeschafft haben. Macht man sich aber klar, was Carmin eigentlich ist, so ergeben sich daraus Folgerungen, die für die Praxis nicht ohne Bedeutung sind. Ich werde daher hier nochmals kurz aus LIEBERMANN beibringen, was für uns wichtig ist.

Nach LIEBERMANN ist das Carmin des Handels (untersucht wurde eine »ausgezeichnet schöne und feurige« Sorte) »keine gewöhnliche Verbindung des Farbstoffs mit Thonerde, sondern eine Thonerdekalkprotein-Verbindung des Carminfarbstoffs«. Die Analyse ergab 17% Wasser, 20% stickstoffhaltige Substanzen, 56% Farbstoff, reichlich je 3% Thonerde und Kalk, sowie etwas Magnesia, Kali, Natron, Phosphorsäure und eine Spur Wachs. Hiernach verhält es sich mit dem Carmin wie mit dem ebenfalls in der Malerei gebrauchten Chromgelb: dieses ist ja nicht etwa Chromsäure, mit Blei verunreinigt, und so ist Carmin auch nicht Carminsäure<sup>1</sup> mit einigen andern Stoffen, sondern es stellt (abgesehen wohl vom Wasser) eine complicirte, allerdings noch nicht völlig erkannte chemische Verbindung dar, in welcher das Aluminium und Calcium eben so wenig fehlen dürfen, wie beispielsweise im Kochsalz das Natrium<sup>2</sup>.

Borax-Carmin mit essigsaurer Thonerde, und Ammoniak-Lithion-Carmin mit Ammonium chloratum. Jenes ist noch dazu »meist erst in einigen Wochen gut brauchbar«. Warum nicht noch einige Salze mehr nehmen? Übrigens hat bereitsROLLETT den Zusatz von Salzen empfohlen (vgl. unten pag. 486).

<sup>1</sup> In meinem Referate über die Arbeit von LIEBERMANN habe ich 1887 besonders hervorgehoben, dass Dieser den Ausdruck Carminsäure vermeidet. Indessen sagt er selbst, es sei eine starke Säure (vgl. unten pag. 487 Anm. 5), und so sehe ich nicht recht ein, warum man nicht die allgemein gebräuchliche Bezeichnung anwenden soll.

In der oben kurz mitgetheilten Analyse des Carmins ist ein unsicherer Factor vorhanden, den aber LIEBERMANN ausdrücklich als solchen kennzeichnet: die 20% stickstoffhaltige Substanzen sind aus den 3% wirklich gefundenen Stickstoffs unter der Annahme erhalten, dass man dabei proteïnartige Verbindungen mit etwa 15% Stickstoff vor sich habe. Die Carminsäure ist dann als der Rest von 100% zu 56% ermittelt. Nun habe ich andererseits unter der Voraussetzung, die Erden in der Asche seien im Carmin als Neutralsalze an die Carminsäure gebunden gewesen, die Menge der letzteren zu etwa 55% berechnet, und diese Übereinstimmung ist doch zu groß, um rein zufällig zu sein.

Vielleicht ist in weniger schön rothen Carminsorten das Verhältnis der Säure zu den Basen oder das von beiden zu den Proteïnstoffen anders. Im Einklang mit LIEBERMANN bin ich übrigens der Ansicht, dass letztere eine wichtige Rolle im Carmin spielen.

<sup>2</sup> Von mehreren Seiten wird behauptet, die hentigen Carmine seien nicht mehr so gut wie die früheren, es müsse in der fabrikmäßigen Darstellung

Thatsächlich färbt denn auch, wie ich bereits 1887 hervorgehoben habe und unten noch ausführlicher besprechen werde, der organische Farbstoff (die Carminsäure) allein ganz anders als er es im Verein mit den anorganischen Substanzen des Carmins thut.

Nun zu den Folgerungen für die histologische Technik!

Wenn LIEBERMANN eine Analogie zwischen dem Carmin und dem Türkischroth aufstellt, da in beiden Farben die relativen Mengen von Thonerde und Kalk gleich seien und da auch ein »schönes und echtes Krapproth zu seiner Bildung außer der Thonerde noch des Kalkes als Beize bedarf, welche sich beide in bestimmtem Verhältnisse später auf dem gefärbten Zeuge vorfinden«, so scheint er mir völlig im Recht zu sein, so weit das schöne Roth des Carmins bei der technischen Färberei in Frage kommt. Sieht man jedoch davon ab und begnügt sich in der Mikrotechnik mit dem Violett, wie es die Färbungen mit Alauncarmin liefern, so kann man des Kalkes entathen; Beweis dafür ist die trefflich färbende Alauncochenille, in welcher ja der Alaun die Gegenwart von Kalk so gut wie ausschließt<sup>1</sup>. Eben so wenig aber ist, wie sich unten zeigen wird, für histologische<sup>2</sup> Zwecke die Gegenwart der stick-

etwas geändert sein. Dies ist möglich, aber keineswegs bewiesen, jedenfalls gilt es nicht für die Löslichkeit des Carmins in destillirtem Wasser. Ich habe mir freilich im Jahre 1889 notirt, dass im Gegensatze zu einigen gerade damals gekauften Sorten ein ganz altes so gut wie unlöslich war; da ich aber damals den Einfluss der Qualität des Glases hierauf noch nicht kannte, so möchte ich jetzt selber diese Notiz in Zweifel ziehen. Denn ein und dieselbe Sorte Carmin giebt, mit Wasser in Reagenröhren von verschiedenem Glase gekocht, ganz verschieden starke Lösungen; ferner mag altes Carmin durch langes Liegen etwas Ammoniak verloren haben und nur aus diesem Grunde so gut wie unlöslich sein. (Leider habe ich jenes alte nicht mehr.) Jedenfalls hat bereits 1854 HARTIG zum Färben eine Lösung von Carmin in Wasser, also ohne Zusatz von Ammoniak, benutzt, und später hat PERLS (nach FREY's Mikroskop 7. Aufl. 1881, citirt bei GIERKE, 1. Bd. pag. 91) dasselbe gethan. So lange also nicht genauer angegeben wird, wodurch sich die neueren Carmine von den älteren unterscheiden, hege ich einigen Zweifel daran (s. auch oben pag. 483 Anm. 1).

<sup>1</sup> Genaueres über den Gehalt der Cochenille an Kalk scheint bisher nicht festgestellt zu sein; jedenfalls aber ist er im Vergleich zu dem im Carmin äußerst gering. Herr Dr. E. HERTER hat einen Auszug aus Cochenille mit heißem Wasser, den ich anfertigte und fast bis zur Trockne eingedampft ihm übergab, freundlichst für mich auf Kalk untersucht, aber nur Spuren davon gefunden. Wahrscheinlich stammt er aus den Malpighischen Gefäßen des Insektes.

<sup>2</sup> Über den Unterschied der technischen Färberei von der histologischen s. unten pag. 502.

stoffhaltigen Substanzen im Carmin unbedingt erforderlich (s. jedoch p. 494 Anm. 2). Diese sind zudem, wie männiglich bekannt, in wässrigen Lösungen eine Quelle der Fäulnis, des übeln Geruches und wahrscheinlich der Sedimente: letzteres trifft ja auch für die alkoholischen Lösungen zu. Und wenn es wahr ist, was vielfach angegeben wird, dass »verfaultes Carmin« histologisch besser färbt als frisches, so wäre in der Regel der Stickstoff erst recht zu entbehren.

Solehe Erwägungen haben es mir nahe gelegt, von Neuem zu versuchen, ob sich nicht mit Carminsäure Ersprießliches leisten lasse. Diese stellte ich mir bereits 1883 in Form ihres Ammoniaksalzes her und fand<sup>1</sup>, dass sie »accurat so wie die Cochenilletinctur, und nicht wie Carmin« färbe. »Auch eine damals von TROMMSDORFF in Erfurt bezogene Probe von Carminsäure in Form eines zähflüssigen Extractes ergab mir für die Tinction die nämlichen Resultate«, und so machte ich keine weiteren Versuche, was vielleicht doch geschehen wäre, wenn ich von der sonst so vortheilhaft bekannten chemischen Handlung ein wirklich gutes Präparat bekommen hätte. Außer mir haben, wenn ich nicht irre, nur noch zwei Forscher die Carminsäure angewandt, sind indessen auch nicht weit gekommen<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> MAYER, Aus der Mikrotechnik pag. 44.

<sup>2</sup> Vor längerer Zeit hat A. ROLLETT (Bemerkungen zur Kenntnis der Labdrüsen und der Magenschleimhaut. in: Unt. Inst. Phys. Hist. Graz 2. Heft 1871 pag. 143 ff.) Carminroth zur Tinction empfohlen. Indessen ist nicht nur die Bereitung desselben, sondern auch seine Anwendung recht unständig, und es scheint in der That nicht, dass sonst Jemand es benutzt hat. ROLLETT theilt übrigens mit so vielen Anderen den Irrthum, dass Carmin = Carminsäure sei, und empfiehlt in derselben Schrift (sie war mir durch die Güte des Herrn Verfassers zugänglich) »neutrales carminsäures Ammoniak«, in Wirklichkeit eine Lösung von Carmin in Ammoniak mit Überschuss von letzterem, zum Färben des Magens der Säugethiere. Er bemerkt aber gleich dazu, es färbe »die Kerne nur wenig« (pag. 156), dagegen nach geringem Zusatz von Salzen (1% Chlorammonium, Chlornatrium oder schwefelsaurem Natron) seien »die Kerne vorherrschend und intensiv roth« gefärbt (pag. 157). Da sich nun das Carminroth nach ROLLETT ähnlich wie das salzfreie »carminsäure Ammoniak« verhält, so würde es ebenfalls diffus färben.

Ich verstehe nicht recht, wie FOL (pag. 184) als ROLLETT'sche Carminlösung folgende Vorschrift giebt: »Carminpulver wird mit verdünnter Schwefelsäure gekocht; der rothe Niederschlag [woher rührt dieser?] wird abfiltrirt und löst sich in reinem Wasser mit hellrother Farbe auf.« Die Färbung sei diffus und müsse mit Säure distinct gemacht werden. Noch dunkler freilich ist GIERKE's wirklich originelles, falls originales Referat über die obige Arbeit von ROLLETT: »R. giebt mehrere Verfahrungsweisen, um Carminlösungen haltbarer zu machen, so dass sie bestimmte Mengen freier Säure vertragen, ohne dass der Farbstoff gefällt wird.«

Zuerst hat sie DIMMOCK<sup>1</sup> gebraucht; er macht eine  $\frac{1}{4}\%$ ige Lösung in 50 % Alkohol, lässt Schnitte 2—5 Minuten darin und wäscht sie mit absolutem Alkohol aus. Auch verwendet er eine ganz neutrale Lösung von carminsäurem Ammoniak, ebenfalls in Alkohol, oder behandelt die Schnitte nach der Färbung noch mit Metallsalzen, um ihnen eine andere Farbe zu geben, und erwähnt auch richtig, dass mitunter die Salze in den Geweben selber diese Umfärbung besorgen.

Wie ich gleich zeigen werde, hat nur wenig gefehlt und DIMMOCK hätte die Carminsäure so verwandt, dass sie thatsächlich ein brauchbares Mittel geworden wäre. Eigenthümlicherweise ist genau an derselben Klippe UPSON<sup>2</sup> gescheitert, welcher etwa 1 % Carminsäure in einem Gemisch von 4 Theilen Wasser und 1 Theil Alkohol löst, die Schnitte von Nervengewebe darin 3—10 Minuten lässt und sie mit einer »Fixationsflüssigkeit« behandelt, die je nach dem gewünschten Farbenton Essigsäure, essigsäures Blei, schwefelsaures Eisen etc. ist<sup>3</sup>.

### B. Die Carminsäure

ist nach NIETZKI<sup>4</sup> eine purpurbraune, beim Zerreiben roth werdende Masse, welche sich leicht in Wasser und Alkohol, schwieriger in Äther löst. Sie ist eine schwache<sup>5</sup> zweibasische Säure, welche mit Alkalimetallen leicht lösliche, mit Erd- und Schwermetallen unlösliche violett gefärbte Salze bildet. Ich habe die Säure von E. MERCK in Darmstadt zum Preise von 2 Mark für 10 g bezogen; GRÜBLER zeigt sie mit 4 Mark an. Sie ist aschenfrei, etwas hygroskopisch, löst sich in Alkohol ganz, in Wasser nahezu klar, und färbt, wenn nicht in den Geweben besondere, hierzu geeignete Salze bereits vorhanden

<sup>1</sup> G. DIMMOCK, in: C. O. WHITMAN, *Methods of Research in Microscopical Anatomy and Embryology*. Boston 1855 pag. 34—35. Vom Carmin hat er die gewöhnliche falsche Vorstellung.

<sup>2</sup> H. S. UPSON, Die Carminfärbung für Nervengewebe. in: *Neurol. Centralbl.* 7. Jahrg. 1888 pag. 319—321 mit Bemerkung von W. C. KRAUSS). Ich citire nach SCHIEFFERDECKER's Referat (in: *Zeit. Wiss. Mikr.* 5. Bd. 1888 pag. 525—526), an dessen Schluss es heißt, die Methode scheine nicht viel zu leisten.

<sup>3</sup> Im Wesentlichen verfahren demnach UPSON und DIMMOCK ähnlich, wie ich es bereits 1879 mit der Cochenilletinctur gethan habe (*Mith. Z. Stat. Neapel* 2. Bd. 1881 pag. 17).

<sup>4</sup> R. NIETZKI, *Chemie der organischen Farbstoffe*. Berlin 1889. Cochenille (Carmin etc.) pag. 231—234.

<sup>5</sup> Nach LIEBERMANN pag. 1975 eine starke Säure. In der That treibt sie aus Marmor die Kohlensäure aus.

sind, nur schwach und ziemlich diffus<sup>1</sup>. ähnlich wie die Cochenille-tinctur (s. unten pag. 497).

Über die Salze der Carminsäure scheint auch den Chemikern nicht viel bekannt zu sein: sie sind, wie NIETZKI sagt, bisher sämtlich nur amorph erhalten worden. Uns interessiren hier in erster Linie die Thonerdesalze<sup>2</sup>.

Versetzt man eine Lösung von Carminsäure oder noch besser von carminsaurem Ammoniak (d. h. dem wirklichen, nicht dem sogenannten) mit essigsaurer Thonerde, so fällt fast alle Säure als carminsaure Thonerde aus und lässt sich abfiltriren, auswaschen und troeknen. Sie hat die merkwürdige Eigenschaft, sich nicht nur in Säuren und sauer reagirenden Salzen (z. B. Alaun), sondern auch in Alkalien und alkalisch reagirenden Salzen (z. B. Borax) zu lösen. vorausgesetzt, dass als Flüssigkeit nur Wasser oder schwacher Alkohol genommen wird. Die Lösung in Alaun färbt die Kerne ähnlich wie Alauncarmin, die in Borax ceteris paribus zwar viel schwächer, aber mehr nach Roth hin: der Unterschied ist sehr deutlich, selbst wenn man die Objecte nur mit reinem Wasser auswäscht.

Auch durch Chloraluminium wird das carminsaure Ammoniak als Thonerdesalz ausgefällt, aber nur zum Theil; eine nicht unerhebliche Menge bleibt gelöst. Nimmt man endlich Alaun, so bildet sich gar kein Niederschlag, sondern die carminsaure Thonerde bleibt in Lösung. Dies gilt erst recht, wenn man statt des Ammoniaksalzes die reine Carminsäure wählt. Eine derartige Flüssigkeit, für die ich

<sup>1</sup> In so fern zeigt sie große Ähnlichkeit mit dem Hämateïn, das ja auch an sich nicht zu brauchen ist, sondern erst mit Metallsalzen (Methoden von WEIGERT u. A.) oder mit Thonerde eine gute Flüssigkeit zum histologischen Färben liefert. Genau so verhält sich auch die Carminsäure. Gleich jenem ist sie gegen Eisensalze sehr empfindlich und gibt damit eine graue bis schwarze Verbindung. Man lese nun, wie seltsam und doch »nahezu sicher« diese einfache Erscheinung O. ZACHARIAS sich zurechtgelegt hat: »Bringt man in einem Probirgläschen eine kleine Menge Essigcarmin mit einigen Tropfen von 1 proc. (wässriger) Lösung von Eisenvitriol zusammen, so nimmt das Gemisch sofort eine dunkelbraune oder fast schwärzliche Färbung an. Der eigentliche Grund dieser Erscheinung ist chemisch noch nicht genügend aufgeklärt; aber dass eine Gerbsäure dabei im Spiele ist, welche von den Cochenille-Läusen aus deren Nährpflanzen mit aufgenommen wurde, dies kann als nahezu sicher angenommen werden.« (Verh. Ges. D. Naturf. Ärzte 63. Vers. Abth. Sitz. 1891 pag. 121.)

<sup>2</sup> Es scheint mir, als gäbe es ihrer mehr als eins, und sie würden sich dann durch den Gehalt an Thonerde von einander unterscheiden. Indessen ist dies für das Färben selber nicht von Belang, da meine Vorschriften nicht von diesen Salzen, sondern von der Carminsäure ausgehen.

nach Analogie mit dem Hämalau den Namen **Carmalaun** vorschlage, empfehle ich in erster Linie zum Färben. Man nehme

Carminsäure 1 g, Alaun 10 g, destillirtes Wasser 200 ccm. Lösung durch Erwärmen. Kann klar abgegossen oder filtrirt werden und bleibt, falls man ein Antisepticum (s. unten) hinzufügt, klar. (Eine Probe hat sich vom Anfang November 1891 bis jetzt ganz unverändert gehalten.)

Das Carmalaun ist ziemlich hell roth nach violett hin. Es färbt vorzüglich durch (auch Osmiumpräparate) und verleiht auch Schnitten, Membranen, Larven von Krebsen etc. schöne Färbung. Beim Auswaschen mit destillirtem Wasser bleibt das Plasma etwas gefärbt: will man dies nicht, so braucht man nur, wie beim Hämalau, vorsichtig mit Alaun auszuziehen, oder in schwierigen Fällen mit schwacher Säure.

Man kann natürlich auch weniger Alaun nehmen, z. B. nur die Hälfte, aber die Lösung setzt dann nach einiger Zeit ab.

Verglichen habe ich das Carmalaun mit dem Alauncarmin<sup>1</sup> GRENACHER's, das ja mit Recht für seine zarten Färbungen berühmt ist. Dabei stellte sich heraus, dass man ein Äquivalent desselben dann erhält, wenn man einer 3—5%igen Lösung von Alaun in Wasser  $\frac{1}{1000}$  Carminsäure zusetzt (also: 1000 Wasser, 30—50 Alaun, 1 Carminsäure, kalt zu lösen). Diese so schwache und nebenbei gesagt auch billige Lösung färbt doch genau so gut, nur mit einem rotheren Tone, wie das Alauncarmin, und ist demselben dadurch überlegen, dass bei der Bereitung das Kochen vermieden werden kann und der Farbstoff ganz ausgenutzt wird. Auch sie bedarf eines Antisepticums, was übrigens in gleicher Weise vom Alauncarmin gilt. Ich nehme als solches gewöhnlich einige Thymolkrystalle oder nach dem Vorgange von PARTSCH etwas ( $\frac{1}{100}$ ) Salicylsäure, von der sich ja nur äußerst wenig löst, oder salicylsaures Natron ( $\frac{5}{100}$ ). Das Saccharin, dem man antiseptische Wirkungen nachrühmt, hat sich mir nicht bewährt.

<sup>1</sup> Im December 1889 ermittelte ich, dass 5 g Alaun und 100 g Wasser durch längeres Kochen etwa 0,5 g des damaligen Carmins lösten. Nahm ich mehr Carmin und kochte nach dem Abfiltriren den Überschuss desselben nochmals mit Alaunlösung, so erhielt ich ein Alauncarmin, das viel dunkler war als das gewöhnliche und auch intensiver färbte. Offenbar wird das Carmin beim Kochen mit Alaunlösung zerlegt, indessen lohnt es sich jetzt wohl kaum noch, hierauf näher einzugehen.

### Carminsäure mit Chloraluminium und Salzen.

Das Carmalaun färbt deutlich mehr nach Roth hin, wenn man ihm Chlorcalcium<sup>1</sup> zusetzt. Da indessen dabei ein Niederschlag von Gips entsteht, welcher einen Theil des Farbstoffes mit sich zu Boden reißt, so ist ein solches Verfahren nicht anzurathen. Nimmt man dagegen als Thonerdesalz das Chloraluminium, so lässt sich das genannte Kalksalz natürlich ohne Umsetzung beimengen.

a. Wässrige Lösung. Setzt man zu einer Lösung von Carminsäure in Wasser vorsichtig etwas Chloraluminium, so fällt, wie schon gesagt, zunächst carminsäure Thonerde an, löst sich aber wieder, sobald man mehr Chloraluminium hinzufügt. Und nun muss man nur, genau wie ich es bei Besprechung des KLEINENBERG'schen Hämatoxylin's geschildert habe, nicht zu viel vom Solvens nehmen, um eine Flüssigkeit zu erhalten, die außerordentlich stark und dabei doch distinct färbt, freilich blauviolett. Die Vorschrift hierfür würde lauten: Carminsäure 1, Chloraluminium 3, Wasser 200. Hat man also irgend welche Gründe, das Carmalaun nicht zu benutzen, so mag man hierzu greifen; die Anwendung geschieht wie bei jenem, auch muss man ein Antisepticum zusetzen. Es färbt aber viel stärker das Plasma mit<sup>2</sup>.

Ich habe theils mit der obigen Lösung, theils mit anderen, die in der relativen Menge der Säure und des Salzes abwichen, sehr zahlreiche Versuche nach der Richtung hin angestellt, ob sich durch Zusatz von anderen Salzen eine schöne rothe Färbung erreichen lasse. Dies ist mir indessen weder mit Salpeter noch auch mit Chlorcalcium gelungen. Ein einigermaßen befriedigendes Roth lässt sich, wie zu erwarten stand, nur dann erhalten, wenn man möglichst wenig Chloraluminium nimmt, und zwar so wenig, dass nicht aller Niederschlag sich wieder löst (also statt der oben angegebenen 3 Theile nur etwa  $\frac{1}{2}$  Theil); nur ist dann die Färbung lange nicht so präcis, wie mit Carmalaun, so dass man mit Alaun, Chloraluminium oder Säure auswaschen muss, falls man reine Kernfärbung haben will. Wohl aber ist ein Zusatz von Chlorcalcium<sup>3</sup> zu alkoholischen Lösungen angezeigt, wie sich sofort des Näheren ergeben wird.

<sup>1</sup> Chlorammonium oder Salpeter wirken nicht so.

<sup>2</sup> Im Carmalaun, Hämalan und andern Lösungen wirkt der Alaun gewiss nicht als »Beize«, sondern verhindert geradezu das Plasma an der Aufnahme von Farbe. Wie er das fertig bringt, wäre allerdings noch zu ermitteln.

<sup>3</sup> Chlorbarium oder Chlorstrontium wirken ähnlich, nicht aber thut es Salpeter.

b. Alkoholische Lösung. Carminsäure ist allein oder mit Chloraluminium auch in absolutem Alkohol löslich; gleichwohl fallen die Färbungen in so starkem Alkohol nicht differenzirt genug aus. Stärker als bis zu 70% soll man daher lieber den Alkohol nicht nehmen. Genau wie bei dem ja ebenfalls alkoholischen Hämacalcium (vgl. diesen Band pag. 182 Anm. 2) ist auch hier ein Überschuss von Chloraluminium nur in so fern schädlich, als er die Färbung sehr abschwächt; zudem geht der Farbenton selber mehr und mehr nach Blau hin — umgekehrt natürlich, je mehr Carminsäure man nimmt, um so mehr nach Roth. Immerhin darf man auf 1 Theil der Säure zwischen  $\frac{1}{4}$  und 2 Theile Chloraluminium nehmen und wird stets noch brauchbare Färbungen bekommen<sup>1</sup>. Nach längerem Probiren und Vergleichen möchte ich nun folgende Lösung, welche Chlorcalcium enthält, unter dem kurzen Namen **Paracarmin** als die beste bezeichnen:

Carminsäure 1 g, Chloraluminium  $\frac{1}{2}$  g, Chlorcalcium 4 g,  
70%iger Alkohol 100 cem. Man löst kalt oder warm, lässt  
absetzen und filtrirt.

Die Lösung ist schön roth, aber so hell, dass man in nicht zu dicken Schichten auch kleine Objecte gut sehen kann. Auswaschen mit saurem Alkohol ist für Schnitte, oder falls man Stücke, die geschnitten werden sollen, durchfärben will, ganz unnöthig, und auch für Oberflächenansichten wird man gewöhnlich nur mit schwachen Lösungen von Chloraluminium in Alkohol zu waschen brauchen; sollte auch dies nicht genügen, so ist Alkohol mit etwa 5% Essigsäure ( $2\frac{1}{2}$  % Eisessig) anzuwenden. Die Objecte werden roth, nicht violett, freilich nicht so feurig roth, wie in Boraxcarmin nach Ausziehen mit saurem Alkohol. Gefärbt habe ich sowohl große Stücke von erwachsenen Haien als auch von Embryonen derselben, ferner ganz kleine Larven, Schnitte etc. Über die Länge der Zeit, welche die Objecte zur Durchfärbung brauchen, lässt sich nichts Genaueres sagen, denn das richtet sich ganz nach ihnen selber; da sie aber in starkem, säurefreiem Alkohol liegen, so kann auch ein längeres Verweilen darin ihnen unmöglich schaden. Das Paracarmin wird gegenwärtig hier im Institute viel verwandt und von Manchen dem Carm-

<sup>1</sup> Was ich oben pag. 183 über die Färbung des Entoderms in den Tentakeln der Hydroiden sagte, nämlich dass man dem Hämatein mehr Chloraluminium zufügen solle als sonst gebräuchlich, trifft auch für die Carminsäure zu: je mehr Thonerdesalz, desto tiefer dringt die Färbung.

alaun vorgezogen. Ich habe eine kleine Menge von Mitte October 1891 her aufbewahrt; sie ist noch jetzt, also nach etwa 7 Monaten, völlig so gut und klar wie zu Anfang.

Ehe ich mich nun zur Cochenille wende, möchte ich noch die gebräuchlichen Carminlösungen einer kurzen Besprechung unterziehen und sie, so weit es nicht schon geschehen ist, mit den neuen Flüssigkeiten vergleichen. Nach ihrer Reaction lassen sie sich in zwei große Gruppen<sup>1</sup> bringen.

1. alkalische. Aus allen wird durch Essigsäure das Carmin gefällt, eben so durch eine reichliche Menge von starkem Alkohol. Verdünnte Salzsäure präcipitirt ebenfalls aus allen das Carmin, in dessen löst sich dieses, wenn man mehr Salzsäure zusetzt und erwärmt, wieder auf; aus Boraxcarmin löst es sich schon kalt wieder, falls man nur Alkohol hinzufügt (hierauf beruht eben beim GRENACHER'schen Boraxcarmin die Möglichkeit des Auswaschens mit angesäuertem starkem Alkohol; Lithioncarmin verhält sich eben so. Hierher gehören

a) das sog. neutrale Carmin, d. h. der wässrige Auszug aus Carmin, der sich durch Abdampfen concentriren lässt und dann leidlich gut und kräftig färbt, wenn man nur nicht zu lange auswäscht und zuletzt mit etwas Essigsäure die Farbe in den Geweben fixirt,

b) das HOYER'sche sog. carminsäure Ammoniak, im Wesentlichen gleich dem vorigen,

c) das Boraxcarmin,

d) das Ammoniakcarmin<sup>2</sup>,

e) das Lithioncarmin und

f) das Pikrocarmin.

<sup>1</sup> Dies thut auch FOL (Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie etc. Leipzig 1884 pag. 184), nur lässt er fälschlich das Boraxcarmin neutral sein. Nach ihm hat das Carmin nur in saurer Lösung »die Eigenschaft eines Kernfärbemittels«.

<sup>2</sup> Mit Recht ist es LIEBERMANN aufgefallen, dass sich Carmin völlig in Ammoniak löst, obwohl Thonerde und Kalk darin sind, und dass letztere in dieser Lösung durch oxalsaures Ammon sich nicht nachweisen lassen. Für die Thonerde habe ich oben bereits angegeben, dass sie in ihrer Verbindung mit Carminsäure in Ammoniak (auch in Borax) löslich ist. So verhält sich auch carminsaurer Kalk. Kocht man übrigens Carmin anhaltend mit Wasser und Oxalsäure, so geht die Carminsäure in Lösung, während die Erden als oxalsäure Verbindungen zurückbleiben (MAYER, Aus der Mikrotechnik pag. 43). Ich habe dies jetzt nochmals gethan und aus der Carminsäure (nach Entfernung der überschüssigen Oxalsäure) mit Alaun ein brauchbares Carmalaun gewonnen, wie dies auch nicht anders zu erwarten stand.

2. saure, d. h. die mit freier Säure oder mit sauer reagirenden Salzen hergestellte. Hierher gehören

a) das alkoholische Salzsäure-Carmin (GRENACHER: MAYER); aus ihm fällt der Farbstoff schon durch Wasser aus, löst sich aber in der Wärme nach Hinzufügen von etwas Salzsäure; fällt man ihn durch Alkali, so ist er in Wasser löslich.

b) das Essigsäure-Carmin und

c) das Alauncarmin, das schon des Alauns wegen sich nicht mit starkem Alkohol bereiten lässt und durch Basen zersetzt wird. Sowohl das Salzsäure- als auch das Alauncarmin färben lange nicht so schön roth wie die Carmine der 1. Gruppe.

Vom Lithioncarmin habe ich absolut keine Vortheile gesehen: es färbt Stücke nur schlecht durch und macerirt dieselben nicht unbedeutend, steht also dem Boraxcarmin erheblich nach<sup>1</sup>. Als die besten Lösungen dürften also omnium consensu nur gelten: Alauncarmin nach GRENACHER und Boraxcarmin nach GRENACHER<sup>2</sup>: denn über das Pikrocarmin sind die Meinungen schon recht getheilt<sup>3</sup>, und ich persönlich finde gleich Anderen, dass eine gute Färbung mit Carmin, auf welche eine Behandlung der Objecte mit Pikrinsäure (in Alkohol oder auch erst in Terpentinöl) folgt, wenigstens für Präparate, die in Balsam aufbewahrt werden sollen, eben so viel leistet und bequemer zu erzielen ist als direct mit Pikrocarmin. Aber auch das Boraxcarmin lässt beim Durchfärben großer Stücke mitunter im Stich: sei es, dass es nicht genügend eindringt, sei es, was öfter vorkommt, dass trotz sorgfältigsten Auswaschens im Inneren körnige Präcipitate von Carmin bleiben. Und streng genommen ist auch das Alauncarmin nicht tadellos, da es bekannt-

<sup>1</sup> Auf die übrigen Carmine mit freien oder kohlen-sauren Alkalien braucht also erst recht nicht eingegangen zu werden. Sie können alle nur in Frage kommen, wenn man Gewebe färben will, die man vorher mit Chromsäure oder ihren Salzen dermaßen behandelt hat, dass alle anderen Färbungen nicht mehr anschlagen wollen, oder falls man zugleich färben und maceriren will. Dies gilt natürlich auch von Beales Carmin, das gleichfalls nur einen beschränkten Wirkungskreis haben kann. Das Essigsäure-Carmin ist ebenfalls nur in ganz bestimmten Fällen von Nutzen und wird in der Regel schädlich wirken.

<sup>2</sup> Das Boraxcarmin ist bekanntlich schon 1865 von THIERSCH und ähnlich auch von WOODWARD angewandt worden, jedoch sind beide Vorschriften wenig rationell, scheinen auch außer bei den Erfindern kaum irgendwo in Gebrauch gewesen zu sein. Die allgemeine Aufnahme datirt jedenfalls erst von 1879 und ist GRENACHER zu verdanken.

<sup>3</sup> Beweis die große Menge Vorschriften zu seiner Herstellung. Die ursprüngliche von RANVIER ist jedenfalls die umständlichste.

lich nur langsam färbt und für Stückfärbung überhaupt kaum verwendbar ist. Ihm ist in dieser Beziehung das Carmalaun entschieden überlegen (s. oben pag. 489). und dem Boraxearmin ist es das Paracarm in so fern, als es stärker alkoholisch (70% gegen 35%), nicht alkalisch (mithin den Geweben nicht gefährlich) und dem Verderben<sup>1</sup> viel weniger ausgesetzt ist. Freilich liefert es nicht die lebhaft rothen Färbungen wie jenes, die mit Recht in den Augen vieler Histologen als Vorzug gelten. Meine Bemühungen aber, aus Carminsäure ein brauchbares Analogon des Boraxearmins herzustellen, sind bisher fehlgeschlagen, obwohl es gelingt, neben dem Thonerde-ein Kalksalz<sup>2</sup> in alkalische Lösung zu bringen.

Erwähnung verdient noch, dass auch in den Carminlösungen nicht die Carminsäure allein das färbende Princip ist,

<sup>1</sup> Abgesehen davon, dass die Lösungen in dem Maße schwächer werden, wie sich Sedimente darin bilden, und dass jedes Filtriren lästig ist, übt letzteres, wenn es öfter geschieht, auch einen schädlichen Einfluss auf die Farblösung aus. Dies zeigt sich am deutlichsten in den Versuchen von S. KRYSINSKI (Über Suspension und Lösung. in: Sitz. Ber. Jena. Ges. Med. Naturw. f. d. Jahr 1884 pag. 5—18), welcher allerlei Lösungen durch eine große Reihe in einander gesteckter Filter gehen ließ. »Carmin wird durch 80 Filter noch nicht entfärbt, das Filtrat erscheint jedoch schon deutlich schwächer gefärbt.« In der That hat das gewöhnliche Filtrirpapier auch aus guten Handlungen deutlich Affinität zu Farbstoffen, und leider ist diese oft nicht einmal an allen Stellen eines Filters gleich groß, so dass Zersetzungen des Farbstoffes leicht vorkommen können. — KRYSINSKI's theoretische Folgerungen scheinen mir übrigens gänzlich haltlos zu sein, da seine Versuche sämmtlich eine andere Deutung zulassen. Ob sie durch die Chemiker eine Widerlegung gefunden haben, ist mir nicht bekannt.

<sup>2</sup> Wie schon erwähnt, sind carminsaurer Kalk und carminsäure Thonerde in Boraxwasser löslich, aber färberisch halten sie den Vergleich mit Boraxearmin bei Weitem nicht aus. Die specifischen Leistungen des letzteren müssen also doch irgendwie mit dem Gehalte des Carmins an den nicht näher bekannten Eiweißstoffen zusammenhängen; vielleicht ganz einfach nur so, dass diese Stoffe in dem Alkohol von 70%, der zum Auswaschen benutzt wird, niedergeschlagen werden und daher mehr Farbe im Gewebe fixirt halten als sonst der Fall sein würde. Denn beim Auswaschen mit Wasser geht fast alle Farbe wieder fort (gerade wie beim Lithioncarmin). — Da im Carmin nach LIEBERMANN Phosphorsäure enthalten ist, so habe ich auch phosphorsauren Kalk verwandt, aber gleichfalls ohne Erfolg. Eine Art Boraxearmin erhält man auch durch Lösung von Chloraluminium, Carminsäure und Borax in schwachem Alkohol, aber es färbt, selbst wenn es sehr concentrirt genommen wird, nicht stark genug. Ähnlich verhält es sich, wenn man Carminsäure und Thonerdehydrat (ich meine dasjenige, welches im Handel die Bezeichnung: in Essigsäure löslich trägt) mit Wasser oder Alkohol kocht. Die Flüssigkeit reagirt nur wenig alkalisch, färbt diffus und macht den Gebrauch sauren Alkohols nöthig, aber die Farbe ist zu schwach und auch lange nicht so schön roth wie beim echten Boraxearmin.

sondern diese in ihrer Verbindung mit Thonerde und wohl auch mit Kalk. Für die alkalischen Lösungen, in welche das Carmin unzersetzt übergeht, ist das ohne Weiteres klar; aber auch für das Salzsäure-Carmin gilt es, weil es gleichfalls die anorganischen Salze enthält, und für das Alannearmin natürlich ebenfalls, so weit die Thonerde in Frage kommt.

### C. Cochenille.

Über das Insekt, welches die Cochenille liefert, ist man durchaus nicht so gut unterrichtet, wie bei der Wichtigkeit dieses Handelsartikels vermuthet werden könnte. Die meisten Autoren schreiben ihre Angaben einfach von einander ab. Auch die neueste Zusammenstellung darüber, die von R. BLANCHARD, lässt Genaueres vermissen; namentlich kann man daraus absolut nicht ersehen, wo und wie im Insekt der Farbstoff sich bildet und ablagert. GIERKE sagt freilich (1. Bd. pag. 73) hierüber ganz resolut, er »wird im Inneren der Leibeshöhle erzeugt und scheint ein gleichmäßig purpurngefärbter Saft zu sein; bei mikroskopischer Betrachtung erkennt man jedoch, dass in einem farblosen Saft außerordentlich kleine, purpurne Körnchen enthalten sind«. Dies ist zum mindesten ungenau; ich gehe jedoch hier nicht weiter darauf ein, sondern gebe in einem besondern Artikel (s. diese Zeitschrift pag. 505 ff.) einige Beiträge zur Kenntniss von *Coccus cacti*.

Über die chemische Zusammensetzung der Cochenille sind ebenfalls die Gewährsmänner alles Andere eher als zuverlässig und einig. LIEBERMANN, der neueste, bringt zwar auch keine Analyse, schätzt aber den Gehalt an Farbstoff (Carminsäure) auf etwa 9—10% und das Maximum in einer »sehr guten Silbercochenille« auf noch nicht 14%. Dabei kritisirt er die Angaben von MÈNE und JOHN, welche 26—50% gefunden haben. MÈNE<sup>1</sup> sagt ferner, die Asehe betrage  $3\frac{1}{3}$ —6% und bestehe aus phosphorsaurem Kalk und Chlorkalium, während DIETERICH<sup>2</sup> sie zu  $\frac{4}{5}$  aus phosphorsaurem Kalinatron bestehen lässt.

<sup>1</sup> In: Comptes Rend. Tome 68 pag. 666 ff.

<sup>2</sup> Citirt nach LIEBERMANN. — Der wässrige Auszug, dessen ich oben pag. 485 Anm. 1 erwähnte, enthält nach E. HERTER viel Phosphorsäure an Alkalien gebunden. Bei der Bereitung des Carmins werden diese Salze darin übergehen, wie schon LIEBERMANN angiebt, und sie brauchen daher auch in ihm gar keine besondere Rolle zu spielen, sondern sind einfach ein nothwendiges Übel. Dagegen muss der Kalk eben so gut eigens hineingeschafft werden wie

Meine eigenen Versuche mit Cochenille haben Folgendes ergeben.

1) Die Carminsäure ist in der Cochenille nicht frei, sondern an eine Base gebunden, und zwar nicht an Kalk, sondern an irgend welches Alkali. Der Beweis hierfür ist: reine Carminsäure wird aus ihrer Lösung in Wasser durch Chlorcalcium erst dann ausgefällt, wenn sie mit einem Alkali neutralisirt wird<sup>1</sup>. Der wässerige Auszug aus Cochenille hingegen wird ohne Weiteres durch Chlorcalcium ausgefällt, eben so der alkoholische. Ferner löst sich bei Öffnung des lebenden Thieres der Farbstoff sofort in Wasser oder schwachem Alkohol und lässt sich andererseits durch Chlorcalcium an Ort und Stelle fixiren. Er kann also nur ein carminsaures Alkali sein, und bei den weiter unten zu besprechenden alkoholischen Tincturen ist demnach die Gegenwart von Kalksalzen ausgeschlossen, falls sie nicht absichtlich zugesetzt werden.

2) Die Alauncochenille ist ohne allen Zweifel ein vorzügliches Färbemittel, das sehr distinkt und doch ziemlich stark, allerdings blau-violett tingirt. Warum CZOKOR<sup>2</sup> gebrannten Alaun statt des gewöhnlichen nimmt, ist mir unklar geblieben; er selbst sagt es nicht. Ein Grund dazu lag um so weniger vor, als schon 3 Jahre früher PARTSCH<sup>3</sup> eine Vorschrift gegeben hatte, die rationeller war

die Thonerde, und von den stickstoffhaltigen Substanzen wird das auch wohl gelten. Nur findet man — und LIEBERMANN klagt ebenfalls darüber — in den Vorschriften zur Carminbereitung, wie sie die Lehrbücher bieten, hiervon gar Nichts erwähnt, häufig dagegen den baaren Unsinn, wie z. B. dass aus einer Abkochung der Cochenille beim Stehen an der Luft sich allmählich der Carmin als zarter Schlamm absetze etc.

<sup>1</sup> Das so gebildete carminsaure Calcium ist schmutzig graugrün. Wäscht man es aus und trocknet es, so ist es eine haltbare Masse, aus der sich jederzeit durch Auflösen in Alaunwasser ein kräftiges Alauncarmin gewinnen lässt. Übrigens ist das Kalksalz etwas in Wasser löslich (mit braun-röthlicher Farbe) und kann daraus durch Alcohol fast ganz ausgefällt werden. Ähnliches habe ich bereits 1881 angegeben (l. c. pag. 17 Anm. 1).

<sup>2</sup> JOHANN CZOKOR, Die Cochenille-Carminlösung. in: Arch. Mikr. Anat. 18. Bd. 1880 pag. 412—414: Cochenille und Alumen ustum je 7 g, Wasser 700, eingekocht bis auf 400.

<sup>3</sup> CARL PARTSCH, Beiträge zur Kenntnis des Vorderdarmes einiger Amphibien und Reptilien. in: Arch. Mikr. Anat. 14. Bd. 1877 pag. 179 ff. Auf pag. 180 giebt er an, man solle fein zerriebene Cochenille mit Alaunlösung (5 : 100) längere Zeit kochen und später zur Verhütung des Schimmels etwas Salicylsäure zusetzen, welche der Färbung nicht schade. Schnitte seien in 2—5 Minuten gut gefärbt. Nach der Darstellung in FOL's Lehrbuch (pag. 184) könnte man glauben, beide Autoren hätten dieselbe Vorschrift gegeben, während thatsächlich nur die von CZOKOR copirt wird. — PARTSCH hat die Menge des Alauns richtig bemessen, denn wie ich aus Erfahrung weiß, genügen 3% nicht, um den Farb-

und auch, so weit ich selber darüber urtheilen kann, ein fast eben so gutes Product liefert, das noch dazu nicht gleich der anderen Lösung fortwährend Niederschläge bildet, sondern klar und von gleicher Stärke bleibt<sup>1</sup>.

3) Die Cochenilletinctur habe ich seiner Zeit kaum wärmer<sup>2</sup> empfohlen als sie es verdiente; es scheint aber nicht, dass sie viel Anklang gefunden hat. Denn abgesehen von einigen speciellen Fällen, wo sie wegen ihrer Eigenschaft, die Drüsen oder ihre Secrete besonders auffällig zu färben, gerühmt wird, hat eigentlich nur LEE<sup>3</sup> auch neuerdings noch ihrer lobend gedacht. Dies hängt wohl so zusammen, dass kurz vorher GREXACHER seine Formeln veröffentlicht hatte, und da diese in der That schönere und namentlich kräftigere Färbungen liefern, so war das Missgeschick der Cochenilletinctur erklärt. Gegenwärtig möchte ich aber mehr als damals betonen, dass sie nur dann wirklich von Nutzen sein kann, wenn in den Geweben (oder deren Abscheidungen) Salze vorhanden sind, welche mit der Carminsäure unlösliche, specifisch gefärbte Verbindungen eingehen.

Die Cochenilletinctur wird je nach der Stärke des Alkohols, mit der sie bereitet ist, verschiedene Stoffe enthalten: mehr oder weniger Fett, dem entsprechend weniger oder mehr sogenannte Extractivstoffe u. s. w. Darum ist, wie ich auch schon damals hervorgehoben habe, »zur völligen Ausziehung des nicht fixirten Farbstoffes ein gleich starker Alkohol durchaus nothwendig«. Außerdem enthält die Tinctur als das färbende Princip carminsäures Alkali<sup>4</sup>,

stoff (carminsäure Thonerde) in Lösung zu halten, namentlich wenn noch phosphorsaure Alkalien dabei sind. Eine stärkere Flüssigkeit gewinnt man, wenn man außer den 50% Alaun noch 10% Kalisalpeter nimmt. Der Grund dafür ist mir unklar.

<sup>1</sup> Ganz vor Kurzem hat C. L. HERRICK (Notes upon Technique. in: Journ. Comp. Neur. Cincinnati Vol. 1 1891 pag. 134) statt des Alauns schwefelsäure Thonerde empfohlen; es sei ein »vast improvement«. MARTINOTTI (s. oben pag. 483 Anm. 1) hat 1884 Chromalaun benutzt, scheint aber hierin keine Nachfolger gehabt zu haben.

<sup>2</sup> Von den Präparaten aus dem Jahre 1879 besitze ich noch eine Anzahl, welche auch mit Borax- oder Alauncarmin nicht hätten schöner gefärbt werden können. Meist sind es pelagische Krebse (Copepoden, Phrominiden), aber auch allerlei Larven, wie Auricularien etc.

<sup>3</sup> A. B. LEE, The Microtomist's Vade-mecum. Second Edition London 1890. Es heißt dort pag. 92: »I am convinced that it ought to be better known. It is very useful in many cases (Annelids, for instance), and indispensable for Arthropoda.«

<sup>4</sup> Es war mir schon immer auffällig gewesen, dass der Auszug aus Coche-

und dieses färbt gleich der Carminsäure allein durchaus nicht irgendwie stark oder präcis, sondern nur schwach und diffus. Sobald es jedoch in den Geweben oder deren Secreten Gelegenheit zur Umsetzung mit Kalk-, Thonerde-, Magnesia- oder gar Metallsalzen findet, können sehr schöne, brauchbare Färbungen zu Stande kommen. Mitunter sehen die Präparate fast so aus als wären sie mit Carmin gefärbt, und ich würde gegenwärtig hieraus beinahe den Schluss ziehen, dass in den Objecten Thonerde<sup>1</sup> schon vorhanden gewesen sein muss, als sie in die Cochenilletinctur hineinwanderten. Andererseits habe ich jetzt wieder vielfach mit neuen Tincturen gearbeitet und bin dabei zu dem schon oben erwähnten Resultate gekommen, dass die Cochenilletinctur nach der früheren Formel (1 g Cochenille, 10 cem Alkohol von 70%) nur in ganz speciellen Fällen gute Dienste leisten wird.

Bei dem vergleichsweise geringen Preise der Cochenille — sie kostet etwa nur  $\frac{1}{50}$  von der Carminsäure — schien es angezeigt zu erproben, ob sich nicht doch eine für alle Fälle brauchbare Tinctur daraus gewinnen ließe. Ich möchte nun nach sehr zahlreichen Versuchen folgende Formel geben:

Cochenille 5 g, Chlorcalcium 5 g, Chloraluminium 0,5 g,  
Salpetersäure (von 1,20 spec. Gew.) 8 Tropfen, Alkohol  
(von 50 %) 100 cem.

Die Cochenille muss möglichst fein pulverisirt sein und wird mit den Salzen in einem Mörser gut gemengt. Alsdann setzt man den Alkohol nebst der Säure zu und erhitzt bis zum Kochen, lässt unter öfterem Umschütteln einige Tage kalt stehen und filtrirt. Diese neue Tinctur färbt ähnlich wie Paracarmin, nur nicht ganz so intensiv und auch nicht so distinct. Man muss sich aber immer vor Augen halten, dass sie je nach der Art der Cochenille<sup>2</sup> verschieden aus-

---

nille mit absolutem Alkohol ganz hell ist. Wäre die Carminsäure im freien Zustande, so könnte dies nicht der Fall sein. In der That erhält man denn auch eine vergleichsweise starke Tinctur, wenn man angesäuerten absoluten Alkohol nimmt und so die Carminsäure in Freiheit setzt.

<sup>1</sup> In den normalen thierischen Geweben ist sie bisher nicht constatirt worden.

<sup>2</sup> Die unsrige ist von E. MERCK in Darmstadt bezogen. Sollte eine Cochenille gar wenig Farbstoff enthalten, so würde der Zusatz von Chloraluminium und Säure zu verringern sein. — Natürlich könnte man sich auch zunächst durch Ausziehen der Cochenille mit angesäuertem Alkohol eine Lösung von Carminsäure herstellen und ihr dann nachträglich die Salze zusetzen. Dies habe ich auch anfänglich gethan und so die Menge der Salze für die bestimmte Sorte

fallen wird, und dass sie auch in der Anwendung umständlicher ist als das Paracarmin, weil ja die Objekte sowohl vorher als auch nachher in Alkohol von 50% müssen. Übrigens wird man leicht ersehen, dass man es im Wesentlichen mit einem Paracarmin zu thun hat, welches nur noch Fett und sonstige aus der Cochenille ausgezogene Stoffe enthält, also zum Absetzen neigt. Aus allen diesen Gründen darf also die modificirte Tinctur gegenüber dem Paracarmin nur als Nothbehelf gelten.

Zum Schlusse möchte ich noch einiges Neue über Hämatein<sup>1</sup> bringen und daran allgemeine Betrachtungen knüpfen, die sich auf das Färben thierischer Gewebe, speciell deren Kerne überhaupt beziehen. Im vergangenen Jahre habe ich (s. oben pag. 172) als einzige Bezugsquelle für den reinen Farbstoff die Firma R. GEIGY & Comp. in Basel angegeben; inzwischen hat aber nun auch E. MERCK in Darmstadt ein mich in jeder Beziehung befriedigendes Hämatein-Ammoniak dargestellt, was ich hier gern erwähne. Hoffentlich gelangen die Chemiker auch über das Hämatein bald völlig ins Klare, und wir somit leichter zu constanten Präparaten.

Mit dem Hämalaaun, und namentlich dem sauren, bin ich bisher stets zufrieden gewesen; so auch fast alle Herren, die es auf meinen Wunsch gebraucht haben. Ein geringer Absatz bildet sich übrigens in den Flaschen auch trotz der Gegenwart der Essigsäure. Das Hämacalcium hält sich leider bei Weitem nicht so gut, wie

Cochenille empirisch ermittelt. Nur ist dies ein weiterer Weg und macht noch eine zweite Filtrirung nothwendig. Die obige Vorschrift bezweckt übrigens gar nicht, die Cochenille völlig zu erschöpfen, aber das ist ja auch bei dem niedrigen Preise derselben nicht nöthig.

<sup>1</sup> In der allerjüngsten Zeit sind über Hämatein noch 2 Publicationen erschienen: die von MARTINOTTI (s. oben pag. 483 Anm. 1) erkennt meine früheren Angaben als richtig an und macht mich nur darauf aufmerksam, dass ich meinerseits den älteren MARTINOTTI nicht citirt habe. Man wird dies aber wohl verzeihlich finden, wenn man erfährt, dass der Titel der betreffenden Arbeit lautet: *Il timolo nella tecnica microscopica*. Die andere ist von P. G. UNNA (Über die Reifung unserer Farbstoffe. in: *Zeit. Wiss. Mikr.* 8. Bd. 1892 pag. 475 ff. 2. Hämatoxylin pag. 483—487, aber noch nicht bis zu Ende erschienen), berücksichtigt die meinige nicht und bietet ihr gegenüber Neues nur in so fern, als sie »reifes« BÖHMER'sches Hämatoxylin durch Schwefel vor der weiteren Oxydation (»Überreife«) bewahren lehrt, was ja unter Umständen seine Vortheile haben mag, und dass sie umgekehrt die Oxydation des Hämatoxylins zu Hämatein mit eigens neutralisirtem Wasserstoffsuperoxyd ausführt, was ich früher auch gethan, aber als zu umständlich wieder verworfen habe.

ich geglaubt habe, sondern schlägt nach Blau um und setzt ziemlich stark ab. Es giebt aber ein einfaches Mittel dagegen: man bereite sich die Lösung in zwei Flaschen derart, dass jede die Hälfte des Alkohols und der Säure enthält und außerdem die eine alles Chlorcalcium, die andere alles Hämatein und alles Chloraluminium. Beim Gebrauch nimmt man dann aus beiden Flaschen gleiche Mengen. Ich habe diese Lösungen seit Mitte November 1891 stehen; sie riechen zwar beide stark nach Essigäther, sind aber sonst noch so gut wie zu Anfang<sup>1</sup>.

Ganz allgemein aber habe ich für Hämacalcium Folgendes gefunden. In ihm befindet sich die Verbindung Hämatein-Thonerde gewissermaßen im labilen Gleichgewicht und schlägt sich auf jedem hineingebrachten Gegenstand nieder, sobald dieser nur im geringsten dazu Anlass giebt, also z. B. mit Salzen beladen ist. In Folge davon kann auch der Farbstoff kaum in die Tiefe des Objectes dringen, sondern hält sich auf der Oberfläche. Sobald man jedoch entweder die Lösung saurer macht oder den Gegenstand vorher einige Zeit in angesäuertem Alkohol hat verweilen lassen, geht die Färbung sehr schön von statten, und man braucht dann auch nicht sauer auszuwaschen. Dieser kleine Kunstgriff ist sehr zu empfehlen.

Viele von meinen Versuchen mit Carmin und Hämatein habe ich an niederen Seethieren angestellt, die ja meist umfangreiche Hohlräume im Inneren des Körpers haben. Färbt man nun mit starken Lösungen, so ergeben sich große Schwierigkeiten beim Bemühen, aus den Höhlungen die Lösung lediglich durch Auswaschen ohne mechanische Eingriffe (Auspressen, Öffnen der Höh-

<sup>1</sup> Bereits 1882 hat RANVIER ein neues Hämatoxylin (*«Hématoxyline nouvelle»*) beschrieben und es auch in der 2. Auflage seines *Traité technique d'histologie* (Paris 1888) auf pag. 91 sehr gerühmt. Er nimmt den Absatz aus den Flaschen mit alter BÖHMER'schen Lösung (*«H. vieille»*), wäscht ihn mit Wasser und löst ihn von Neuem in 10/100igem Alaunwasser. Neuerdings hat nun CH. CONTEJEAN (in: *Bull. Soc. Philomath. Paris* (S) Tome 3 1891 pag. 117) die etwas seltsame Vorschrift in ein reinliches System gebracht, um diesen *«précieux réactif colorant»* ja unter allen Umständen sicher zu gewinnen. (Man möge aber hierüber das Original nachlesen.) Sie läuft darauf hinaus, aus der BÖHMER'schen Lösung durch Barytwasser den ganzen Farbstoff zu fällen und nach etlichen umständlichen Cautelen ihn wieder in Alaun hinein zu schaffen. Es scheint mir, dies kann man mit Hämatein bequemer haben! — RANVIER giebt pag. 92 eigens an, Präparate mit irgend einem Hämatoxylin gefärbt seien in Glycerin nicht haltbar. Für mein Hämalun gilt dies nicht, falls nicht etwa das Glycerin sauer ist.

lungen etc.) zu entfernen. Denn so gut die wässerigen oder alkoholischen Farben eindringen, so schwer weichen sie hinterher dem reinen Wasser oder Alkohol und werden daher leicht durch die späteren Prozeduren an Ort und Stelle ausgefällt. Ich habe auf alle mögliche Weise versucht, kräftige Diffusionsströme zu erzeugen, aber es ist mir nicht gelungen. Mithin empfehlen sich für solche Thiere, z. B. die Salpen, schwache Lösungen, die man entsprechend länger einwirken lässt. Dabei ist aber zu beachten, dass häufig bereits durch die Verdünnung der starken Tinctur, z. B. des Paracarmins, mit Alkohol ein Niederschlag entsteht und zwar nicht etwa sofort, sondern erst über Nacht; noch leichter kommt dies vor, wenn das Object selber nicht ganz reinlich ist. Es empfiehlt sich daher, die dünnen Lösungen in allen irgendwie zweifelhaften Fällen ganz schwach anzusäuern; alsdann bekommt man sicher sehr distincte Färbungen<sup>1</sup>. Andererseits nehme man zum Durchfärben compacter Gewebe, die geschnitten werden sollen, nie dünne Lösungen, weil diese ja vergleichsweise weniger saure Salze resp. Säuren enthalten und daher leicht im Inneren des Objectes Niederschläge veranlassen; die Consequenz von dieser Regel ist natürlich die, dass man oft sehr lange auswaschen muss.

Ich kann auch diese kleine Arbeit nicht abschließen, ohne meiner Überzeugung davon Ausdruck zu geben, dass unsere gesammte Färberei lediglich auf chemischen Umsetzungen der Farbstoffe mit Bestandtheilen der thierischen oder pflanzlichen Gewebe beruht. Für das Hämateïn habe ich dies bereits vor einiger Zeit (s. meine frühere Mittheilung darüber, oben pag. 184) geäußert, und was ich seitdem vom Carmin, genauer der Carminsäure, selber gesehen habe, bestärkt mich nur in dieser Ansicht<sup>2</sup>. Der entgegengesetzten Meinung lege ich desswegen nicht viel Gewicht bei, weil sie — so weit die Farchemiker und die Farbtechniker in Frage kommen — von Leuten ausgesprochen wird, welche die complicirte Structur der thierischen und pflanzlichen

<sup>1</sup> Wenn LEE pag. 78 sagt, Objecte, die mit Carmin gefärbt werden sollen, dürfen nicht sauer reagiren, so gilt für Paracarmin und Carmalaun gerade das Gegentheil: sie dürfen nicht alkalisch sein. Für Hämacalcium gilt daselbe, vgl. oben pag. 500.

<sup>2</sup> FOL scheint zwar auf meiner Seite zu stehen. Wenn er indessen pag. 189 gesperrt drucken lässt: »der färbbare Theil des Zellkernes verhält sich im Allgemeinen dem an ihn gebundenen Farbstoffe gegenüber wie ein schwach alkalischer Körper«, so ist das ein Irrthum, der sich daraus erklärt, dass FOL sowohl das Alauncarmin als auch das BÖHMER'sche Hämatoxylin für neutral reagirende Lösungen hält.

Fasernicht genügend zu kennen scheinen, jedenfalls aber sie außer Acht lassen und die Faser wie ein in sich gleichmäßiges Ding behandeln, etwa wie einen Metalldrath. Erfreulicher Weise gewiunt aber neuerdings auch bei den Farchemikern die richtige Ansicht mehr und mehr an Boden. Dass andererseits die Histologen, wenn sie überhaupt auf theoretische Erörterungen eingehen, so gern von Oberflächenattraction etc. sprechen, hat seinen Grund theilweise darin, dass ihnen die Chemie meist herzlich fremd ist, und theilweise darin, dass sie die Ansichten der Farbtechniker ohne Weiteres angenommen und auf ihre Objecte übertragen haben. Dabei vergessen sie eben, dass die technische Färberei von der histologischen, speciell von der Kernfärberei, doch recht verschieden ist: bei jener soll das Gewebe ganz und gar gefärbt werden; daher schlägt man denn auch den Farbstoff ich möchte sagen gewaltsam darin nieder. Bei der histologischen dagegen soll nicht das ganze Gewebe, sondern nur ein bestimmter Bestandtheil desselben gefärbt werden, und dieser fixirt gewissermaßen aus eigenem Antriebe die Farbe (oder bildet sie wohl erst gar), wenn man sie ihm in der richtigen Lösung darbietet. Ein gutes Kernfärbemittel (z. B. das Alauncarmin) also färbt nur die Kerne intensiv und lässt die übrigen Bestandtheile der Zelle ungefärbt, so dass für das Auswaschen nur Wasser nöthig ist. Nur wenn man darauf ausgeht, nicht den Kern allein, sondern auch andere Theile der Zelle oder wohl nur diese zu färben, nähert man sich in der Mikrotechnik in etwas den Methoden der Färber und muss dann auch wohl zu den sogenannten Beizen greifen, d. h. das Objekt erst zur Annahme der gewünschten Farbe vorbereiten (vgl. oben pag. 481 Anm. 2).

Was speciell die Kerne anlangt, um deren Färbung es sich mir fast ausschließlich handelt, so habe ich schon bei einer andern Gelegenheit (pag. 184 ff.) die Ansicht entwickelt, ihre Färbbarkeit beruhe nicht direct auf der Anwesenheit des sog. Chromatins, sondern auf der gewisser Salze, und es möge sich vielleicht mit dem Chromatin ähnlich verhalten wie »mit dem Chlorophyllkorn, das auch ohne sein Grün existiren kann«. Was ich über die Wirkung des Carmalauns und Paracarmins ermittelt habe, bestärkt mich darin, hat mich aber leider nicht weiter geführt. Nun ist neuerdings von ROBERT SCHNEIDER<sup>1</sup> der Nachweis gebracht worden, dass wenigstens bei man-

<sup>1</sup> So besonders bei *Proteus*; s. SCHNEIDER, Neue histologische Untersuchungen etc. in: Sitz. Ber. Akad. Berlin f. 1890 pag. 887 ff.

chen Thieren Eisen in nicht unbeträchtlichen Mengen ein normaler Bestandtheil der Kerne ist, und unabhängig von ihm behauptet dies auch MACALLUM<sup>1</sup>. Es besteht also die Hoffnung, dass man mit der Zeit auch die anderen normalen Salze der Kerne kennen lernen wird. Einstweilen freilich lassen die neuen Untersuchungen von AUERBACH<sup>2</sup>, der im sogenannten Chromatin zwei Substanzen unterscheiden lehrt, die sich nicht nur gegen Farbstoffe, sondern auch gegen Chlornatrium, chromsaures Ammoniak und Sublimat verschieden verhalten, die Frage nur noch verwickelter erscheinen.

Man könnte sich darüber wundern, dass ich die obigen Muthmaßungen lediglich auf das Verhalten der Gewebe gegen Thonerde + Hämatein oder Carminsäure gründe und nicht auch die Theerfarbstoffe heranziehe. Letztere seien ja chemisch viel genauer bekannt als erstere, von denen bisher nur eine summarische Formel aufgestellt sei; außerdem lasse man sie ohne Zusätze, d. h. bloß im Wasser oder Alkohol etc. gelöst, auf die Gewebe einwirken. Indessen ist dies Alles doch nur Schein: nicht nur die Einfachheit der Reaction zwischen Farbstoff und Gewebe, sondern auch die genaue Kenntnis der Farbstoffe selber. Denn erstens ist man gerade bei den besten Theerfarben auf den Bezug aus bestimmten Fabriken angewiesen, was also zeigt, dass absolut reine Stoffe nicht leichter zu haben sind als auch z. B. das Hämatein; zweitens hilft einstweilen wenigstens die Kenntnis der Structurformeln der Farbstoffe uns gar nicht weiter; und drittens hat erst jüngst UNNA (l. c. pag. 477 ff.) gezeigt, wie complicirt die Färbungen mit Methylenblau verlaufen können, und welche Manipulationen man vornehmen muss, um z. B. mit Sicherheit die Körner in den Mastzellen roth gefärbt zu erhalten.

Diese Überlegungen sprechen doch nicht dafür, dass wir in der Erkenntnis des Wesens der Tinctionen durch Versuche mit Theerfarben besonders leicht gefördert werden können.

Endlich möchte ich nochmals darauf aufmerksam machen, dass beim Färben der Kerne mit Hämatoxylin und Carmin nach den gewöhnlichen Methoden nicht die genannten Stoffe allein die Farbe

<sup>1</sup> A. B. MACALLUM, On the Demonstration of the Presence of Iron in Chromatin by Micro-chemical Methods. in: Proc. R. Soc. London Vol. 49 1891 pag. 488—489. Er hat es in den Kernen von Pflanzenzellen gefunden und in den thierischen nirgend vermisst.

<sup>2</sup> L. AUERBACH, Zur Kenntnis der thierischen Zellen. in: Sitz. Ber. Akad. Berlin f. 1890 p. 735 ff.

hervorbringen, sondern dass stets Thonerde dabei nöthig ist<sup>1</sup>. Wir haben es immer zu thun mit Hämatein und Thonerde oder Carminsäure und Thonerde, nebenbei können auch noch andere Stoffe, z. B. Kalk eine Rolle spielen. Man sollte also nicht mehr von einer Färbung mit Hämatoxylin reden, wenn man die Lösungen von BÖHMER, DELAFIELD etc. benutzt, sondern sagen: gefärbt mit Hämatein-Thonerde nach BÖHMER etc. Geradezu falsch aber ist es, wenn man behauptet, man habe Thieren carminsäures Ammoniak injicirt. Thäte man dies, so würde man wohl andere Resultate über die Exeretionsorgane erhalten, als jetzt, wo man eine Lösung von Carmin in Ammoniak einführt, die ja Kalk und Thonerde enthält.

Neapel, im Mai 1892.

---

<sup>1</sup> Eisen allein kann die Bindung der Farbstoffe an den Kern nicht in den Farbtönen bewirken, in welchen sie thatsächlich erfolgt. Thonerde muss stets mit ausgefüllt werden.

---

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://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 Carmin, Cochenille und Hämatein-Thonerde. 480-504](#)