

# Über die roten und blauen Farbstoffe der Algen.

Von  
**Harald Kylin.**

Mit zwei Kurvenzeichnungen im Text und einer Tafel:

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Upsala.)

(Der Redaktion zugegangen am 9. Dezember 1911.)

In einer früheren Arbeit (1910) habe ich nachgewiesen, daß es bei *Ceramium rubrum* (Huds.) Ag. zwei wasserlösliche Chromatophorenfarbstoffe gibt, nämlich Phykoerythrin und Phykocyan. In vielen wesentlichen Eigenschaften zeigten sich diese miteinander übereinstimmend, und die wichtigeren dieser Eigenschaften wurden in folgender Weise zusammengefaßt (Kylin, 1910, S. 235):

1. «Beide sind Proteinstoffe, die der Proteidgruppe angehören: sie sind aus einer Eiweiß- und einer Farbenkomponente zusammengesetzt.»

2. «Beide sind in reinem Wasser unlöslich, lösen sich aber bei Zusatz einer ganz kleinen Alkalimenge oder eines Neutralsalzes auf und zeigen im ganzen die Löslichkeits- und Fällbarkeitsverhältnisse der Globuline.»

3. «Beim Kochen oder beim Zusatz einer geeigneten Menge von Säuren oder Alkalien spaltet sich die Eiweißkomponente von der Farbenkomponente.»

4. «Bei Alkalibehandlung ergibt sich eine grüne Lösung mit braunroter Fluoreszenz.»

Die beiden Farbstoffe wurden zu einer gemeinsamen Gruppe zusammengefaßt, für welche der Name Phykochromoproteide vorgeschlagen wurde.

Nach Veröffentlichung der angeführten Arbeit habe ich mehrere Florideen untersucht, um nachweisen zu können, ob

es verschiedene Modifikationen von Phykoerythrin gebe. Bei diesen Untersuchungen habe ich auch meine Aufmerksamkeit darauf gelenkt, ob Phykocyan bei den untersuchten Algen, wie bei *Ceramium rubrum*, mit Phykoerythrin vergesellschaftet sei. Außerdem ist das Phykocyan einiger Cyanophyceen untersucht worden.

Das Material an untersuchten Salzwasser-algen ist zu verschiedenen Jahreszeiten an der schwedischen Westküste in der Nähe der zoologischen Station Kristineberg eingesammelt worden. Von den untersuchten Süßwasser-algen ist *Batrachospermum Gallaei* bei Eriksfors in der Nähe von Uddewalla (Bohuslän), *Lemanea fluviatilis*, *Batrachospermum* sp. und *Phormidium* sp. bei Kvarnbo in der Nähe von Upsala eingesammelt worden.

### I. Untersuchte Arten.

#### 1. *Antithamnion plumula* (Ellis) Thur.

Das Material wurde mit Toluol behandelt und in destilliertes Wasser gelegt. Nach 9 Tagen wurde abfiltriert und die so erhaltene Farblösung mit Ammoniumsulfat (10 g auf 100 ccm Lösung) versetzt. Nach einem Tage hatten sich kleine, stäbchenförmige, rote Krystalle gebildet. Der Niederschlag wurde abfiltriert, in Wasser gelöst, und die so erhaltene Lösung durch Zusetzen einer geeigneten Menge Ammoniumsulfat noch einmal zum Krystallisieren gebracht.

Die Farblösung ist schön rot und zeigt eine prachtvoll orangegelbe Fluorescenz in derselben Weise wie die Phykoerythrinlösungen, die ich früher bei *Ceramium rubrum* beschrieben habe. Die Lösung zeigt auch die für eine Phykoerythrinlösung charakteristischen drei Absorptionsbänder (s. Tafel 2, Fig. 1; vgl. Kylin, 1910, S. 212 u. 213).

#### 2. *Batrachospermum Gallaei* Sirodot.

Reingespültes, mit Toluol behandeltes Material wurde mit destilliertem Wasser übergossen und dann einen Tag an einem finsternen Ort stehen gelassen. Hierbei wurde derjenige Teil

des Materials, der an der Oberfläche des Extraktionswassers lag und demnach in Berührung mit der Luft war, stark violett gefärbt, während der übrige Teil des Materials seine vorherige dunkelmoosgrüne Farbe behielt. Das Material wurde umgeschüttelt und nach einem Tage war das an der Oberfläche liegende stark violett gefärbt worden. Das Extraktionswasser war schwach violettfarbig. Das Material wurde jetzt in eine größere Schale mit Wasser gebracht und dann ein paar Stunden unter oft wiederholtem Umrühren, der Einwirkung der Luft ausgesetzt, stehen gelassen. Das ganze Material wurde hierbei stark violettfarbig. Es wurde darnach wieder in destilliertes Wasser (+ Toluol) gelegt und noch zwei Wochen an einem finsternen Ort aufbewahrt, wonach das Wasser stark blauviolett gefärbt war.

Die eben erwähnte Farbenveränderung findet auch dann statt, wenn das Material 1—2 Wochen unberührt in Wasser liegt, und dieses wird auch hierbei blauviolett gefärbt. Da die Farbstoffe aber die Zellwände sehr langsam durchdringen, ist es ratsam, das Material wenigstens 2—3 Monate in Wasser liegen zu lassen, ehe die Farblösung abfiltriert wird.

Die abfiltrierte Farblösung wird mit Ammoniumsulfat (10 g auf 100 ccm Lösung) versetzt, und nach einem Tage erhält man kleine, blaue bis blaugrüne, rhomboederförmige Krystalle, oft zusammen mit einigen wohlentwickelten Phykoerythrin-krystallen. Die blauen bis blaugrünen Krystalle sind Phykocyan-krystalle, die nach dem Abfiltrieren der Mutterlauge wieder in Wasser gelöst werden können. Die so erhaltene Lösung ist blau bis blaugrün, mit lebhaft dunkelkarminroter Fluorescenz. Durch Zusetzen einer geeigneten Menge Ammoniumsulfat kann man das Phykocyan wieder in Krystallen erhalten, und nach einigen Umkrystallisierungen erhält man eine reine Phykocyan-lösung.

Die nach der Ausfällung des Phykocyans abfiltrierte Mutterlauge wird mit etwa 3—4 g Ammoniumsulfat auf 100 ccm Lösung versetzt und nach einem Tage wieder mit derselben Menge, bis die Lösung auf 100 ccm 20—25 g Salz enthält. Hierbei wird das Phykoerythrin nebst dem vorher in Lösung

gebliebenen Phykocyan ausgefällt. Der Niederschlag wird abfiltriert, in Wasser gelöst und die Lösung wieder mit einer geeigneten Menge Ammoniumsulfat versetzt, wobei man zuerst einen hauptsächlich aus Phykocyan bestehenden Niederschlag erhält. Nach dem Abfiltrieren dieses Niederschlages wird das Filtrat mit so viel Ammoniumsulfat versetzt, daß aller Farbstoff ausgefällt wird. Der so erhaltene Niederschlag wird wieder in Wasser gelöst und nach einigen Umkrystallisationen erhält man eine reine Phykoerythrinlösung.

*Batrachospermum Gallaei* enthält demnach sowohl Phykocyan wie Phykoerythrin, und es scheint, als ob die Phykocyanmenge größer wäre als die Phykoerythrinmenge.

Eine reine Phykoerythrinlösung aus dieser Alge zeigt die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder.

Eine reine Phykocyanlösung aus *Batrachospermum Gallaei* ist blau bis blaugrün, bei sehr geringer Konzentration blaugrün bis grün, bei größerer Konzentration oder in dickeren Schichten blauviolett bis violett. Sie zeigt eine prachtvoll dunkel-

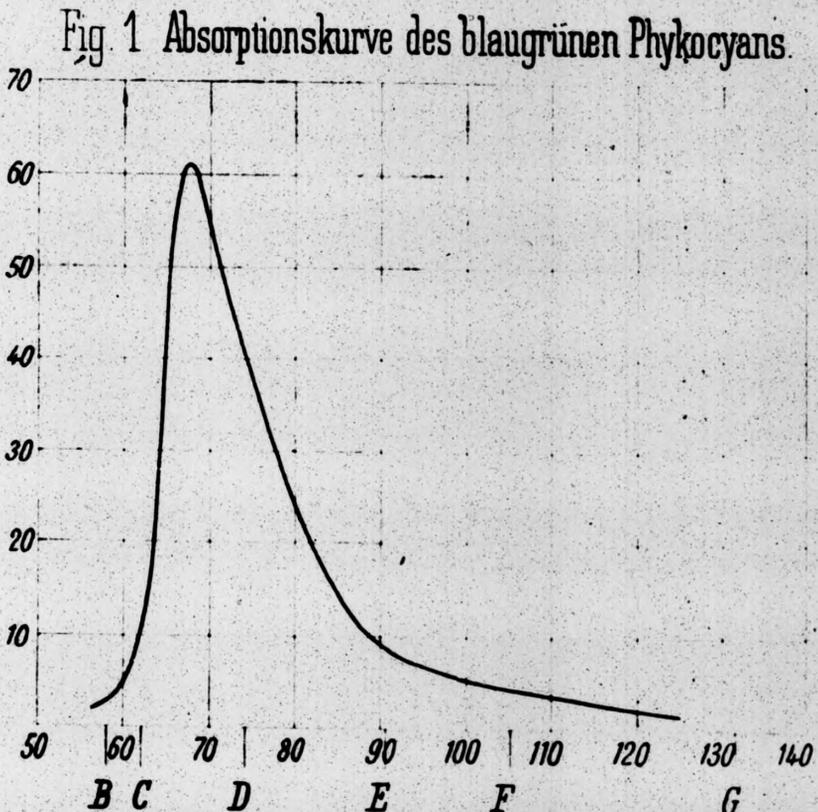


Tabelle 1.

Skalenteile des Instruments	Wellenlängen (in $\mu\mu$ )	Relative Extinktions- koeffizienten einer schwächeren Lösung	Relative Extinktions- koeffizienten einer stärkeren Lösung
56—57	706—696	—	0,118
57—58	696—687	—	0,130
58—59	687—678	—	0,145
59—60	678—670	—	0,168
60—61	670—663	—	0,271
61—62	663—656	0,099	0,473
62—63	656—649	0,149	0,841
63—64	649—642	0,244	—
64—65	642—636	0,389	—
65—66	636—630	0,499	—
66—67	630—624	0,581	—
67—68	624—618	0,613	—
68—69	618—613	0,597	—
69—70	613—607	0,566	—
70—71	607—602	0,528	—
71—72	602—597	0,491	—
72—73	597—593	0,455	—
73—74	593—589	0,421	—
74—75	589—585	0,392	—
75—76	585—581	0,367	—
76—78	581—573	0,318	—
78—80	573—565	0,269	—
80—82	565—557	0,218	—
82—84	557—549	0,171	—
84—85	549—545	) 0,146	0,834
85—86	545—541		) 0,768
86—87	541—537	) 0,119	0,700
87—88	537—534		) 0,632
88—89	534—531	) 0,101	0,580
89—90	531—528		) 0,535
90—92	528—522	0,085	0,458

Tabelle 1.

Fortsetzung.

Skalenteile des Instruments	Wellenlängen (in $\mu$ )	Relative Extinktions- koeffizienten einer schwächeren Lösung	Relative Extinktions- koeffizienten einer stärkeren Lösung
92—94	522—516	0,075	0,391
94—96	516—510	—	0,340
96—98	510—504	—	0,305
98—100	504—498	—	0,289
100—102	498—492	—	0,268
102—104	492—488	—	0,250
104—107	488—482	—	0,225
107—110	482—476	—	0,202
110—113	476—470	—	0,184
113—116	470—464	—	0,160
116—119	464—458	—	0,140
119—122	458—452	—	0,120
122—125	452—446	—	0,102

karminrote Fluoreszenz. Die Lösung besitzt ein kräftiges Absorptionsband im Orange zwischen C und D, welches äußerst schnell, unmittelbar nach der C-Linie beginnt, sein Maximum bei  $\lambda$  624—618 erreicht, um dann im Gelbgrün zwischen D und E zu verschwinden. Die Resultate der spektrophotometrischen Ausmessung ergeben sich aus der Tabelle 1 und der Kurvenzeichnung, Fig. 1.

Das Phykocyan aus *Batrachospermum Gallaei* krystallisiert in hexagonalen Rhomboedern; bei sehr langsamer Verdampfung einer mit etwas Ammoniumsulfat versetzten Lösung können auch prismatisch ausgebildete Krystalle entstehen, bisweilen drei bis vier sternförmig zusammensitzend. Die Krystalle sind immer sehr klein, die größten nur etwa  $4 \mu$  im Durchmesser. Sie zeigen keinen merkbaren Pleochroismus.<sup>1)</sup>

Die bei *Batrachospermum Gallaei* vorkommende Phykocyanmodifikation, welche ich blaugrünes Phykocyan

<sup>1)</sup> Die krystallographischen Angaben verdanke ich dem Privatdozenten Herrn Dr. P. D. Quensel.

nennen will, unterscheidet sich demnach sehr deutlich von der bei *Ceramium rubrum* vorkommenden, welche zwei Absorptionsbänder, eines zwischen C und D mit Maximum bei  $\lambda$  618—613 und eines zwischen D und E mit Maximum bei  $\lambda$  553—549 besitzt, und welche in rhombischen Tafeln kristallisiert (vgl. Kylin, 1910, S. 215 und 229 u. 230). Diese Modifikation ist auch in sehr verdünnter Lösung blau; bei größerer Konzentration wird die Farbe blauviolett, violett bis rotviolett; diese nenne ich blauviolettes Phykocyan.

Die oben erwähnte, stark blauviolette Färbung des mit Toluol behandelten Materials, wenn es einige Stunden der Einwirkung der Luft ausgesetzt wird, ist gar nicht dadurch bedingt, daß das Phykocyan und das Phykoerythrin erst bei einer postmortalen Oxydation entstehen würden. Spektroskopisch sind nämlich diese beiden Farbstoffe schon bei der lebenden Alge nachweisbar. Bei spektroskopischer Untersuchung der lebenden Alge zeigen sich vier kräftige Absorptionsbänder: eines zwischen B und C, eines zwischen C und D, eines zwischen D und E und eines zwischen E und F. Das erste gehört dem Chlorophyll, das zweite dem Phykocyan und die zwei letzteren dem Phykoerythrin an. — Eine gute Abbildung des Absorptionsspektrums einer lebenden *Batrachospermum*-Art ist von Rosanoff, 1867, Tab. II, Spektrum X gegeben worden. — Warum das abgetötete *Batrachospermum Gallaei* unter dem Einfluß der Luft die Farbe schnell wechselt, kann ich gegenwärtig nicht erklären.

### 3. *Batrachospermum* sp.

Das Material bestand aus dem Chantransia-Stadium einer *Batrachospermum*-Art, wahrscheinlich *B. moniliforme* Roth. Die Individuen waren rot gefärbt. Schon nachdem das Material wenige Tage in destilliertem Wasser (+ Toluol) gelegen hatte, war das Wasser kräftig rot-rotviolett gefärbt. Die abfiltrierte Farblösung wurde mit Ammoniumsulfat versetzt (15 g auf 100 ccm Lösung), und nach einem Tage hatte sich ein Niederschlag gebildet, der aus wohlgebildeten Phykoerythrinkristallen und aus kleinen, blaugrünen Phykocyanokristallen bestand.

Der Niederschlag wurde abfiltriert, in Wasser wieder gelöst, und nach einigen Umkrystallisationen wurde eine reine Phykoerythrinlösung erhalten. Das Phykocyan, welches nur in geringer Menge vorkam, rein darzustellen, gelang mir nicht, ganz sicher dürfte aber bei dem *Chantransia*-Stadium dieser *Batrachospermum*-Art dieselbe Phykocyanmodifikation vorliegen, wie bei *Batrachospermum Gallaei*. Die Phykoerythrinlösung zeigte die für eine solche Lösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder.

#### 4. *Callithamnion hiemale* Kjellm.

Das mit Toluol behandelte Material wurde mittels destillierten Wassers extrahiert. Nach zehn Tagen wurde die Farblösung abfiltriert und mit einer geeigneten Menge Ammoniumsulfat versetzt, um zum Krystallisieren gebracht zu werden: nach einem Tage hatten sich kleine Phykoerythrinkrystalle gebildet, deren Länge nur unbedeutend größer als die Breite war. Die Krystalle lösten sich leicht in Wasser, und die Lösung wurde noch zweimal durch Umkrystallisieren gereinigt. Die reine Lösung ist schön rot mit prachtvoll orangegelber Fluorescenz und zeigt die für eine Phykoerythrinlösung charakteristischen drei Absorptionsbänder.

#### 5. *Calothrix* sp.

Erst wenn man das Material an der Luft trocknet und gut pulverisiert, gelingt es, aus dieser Salzwassercyanophyce das Phykocyan zu extrahieren. Das gepulverte Material wird am besten 2—3 Tage in destilliertem Wasser (+ Toluol) liegen gelassen, worauf das Extrakt abfiltriert wird. Dieses ist blaugrün mit prachtvoll dunkel-karminroter Fluorescenz und mit schleimigen Kohlenhydraten sehr verunreinigt. Das Phykocyan wird mittels Ammoniumsulfat ausgefällt, der Niederschlag in Wasser wieder gelöst und dann durch einige Umfällungen gereinigt. Auch wenn eine mit etwas Ammoniumsulfat versetzte Lösung langsam verdampft wurde, wurden keine Krystalle erhalten. Die reine Lösung zeigt nur ein Absorptionsband, und dieses liegt im Orange zwischen C und D mit Maximum bei  $\lambda$  624—618. Spektroskopisch stimmt demnach das Phykocyan

aus *Calothrix* mit dem blaugrünen Phykocyan aus *Batrachospermum Gallaei* überein.

Askenasy (1867, S. 235) erwähnt, daß er aus einer *Oscillaria*-Art eine Phykocyanlösung erhalten hat, die in dünnen Schichten meergrün, in dickeren schön himmelblau gefärbt war und eine überaus energische rote Fluorescenz zeigte. Spektroskopisch zeigte die Lösung nur ein Absorptionsband, und dieses lag zwischen C und D. Wahrscheinlich liegt hier dieselbe Modifikation vor, welche von mir bei *Calothrix* sp. nachgewiesen worden ist.

#### 6. *Ceramium diaphanum* Harv. et Ag.

Das mit Toluol behandelte Material wurde mittels destillierten Wassers extrahiert. Die abfiltrierte Farblösung wurde mit Ammoniumsulfat (10 g auf 100 ccm Lösung) versetzt, und nach einem Tage hatten sich Phykoerythrinkrystalle gebildet, die 2—3  $\mu$  breit und 20—36  $\mu$  lang waren. Die Lösung wurde noch zweimal durch Umkrystallisieren gereinigt. Bei einer dieser Umkrystallisierungen wurden Krystalle erhalten, die etwa 2  $\mu$  breit und 8—14  $\mu$  lang waren. Die reine Lösung ist schön rot mit prachtvoll orangegelber Fluorescenz und zeigt die für eine Phykoerythrinlösung charakteristischen drei Absorptionsbänder.

#### 7. *Chondrus crispus* (L.) Lyngb.

Diese Alge gibt keinen Farbstoff ab, auch wenn man sie in destilliertem Wasser ein paar Wochen liegen läßt. Erst wenn man die noch frische Alge zerquetscht und dann mit Wasser (+ Toluol) behandelt, ist es möglich, den Farbstoff zu extrahieren, und schon nach einigen Tagen wird eine rot-rotviolette Farblösung erhalten, die indessen mit schleimigen Kohlenhydraten stark verunreinigt ist, und welche sich deshalb nur mit Schwierigkeit filtrieren läßt. Durch Zusatz einer geeigneten Menge Ammoniumsulfat ist aber sehr leicht, das Phykoerythrin zum Krystallisieren zu bringen. Die Krystalle waren etwa 2—3  $\mu$  breit und 5—7  $\mu$  lang. Durch einige Umkrystallisierungen erhält man eine reine Phykoerythrinlösung, welche die für eine solche Lösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder zeigt.

Außer Phykoerythrin enthält *Chondrus crispus* auch Phykocyan, welches aber noch schwieriger zu extrahieren ist als das Phykoerythrin. Bei der Ausfällung des Phykoerythrins mittels Ammoniumsulfat erhält man das Phykocyan in Form von kleinen blauen Körnchen; wegen der großen Verunreinigung durch schleimige Kohlenhydrate ist es mir aber nicht gelungen, diesen Farbstoff in reiner Form herzustellen, und ich habe deshalb nicht untersuchen können, welcher Modifikation dieses Phykocyan angehört.

Die Angabe über das Vorkommen von Phykocyan gilt von der kleinen braunroten bis rotvioletten Form von *Chondrus crispus*, welche in der Litoralregion wächst. Die größere, schön hochrote Sublitoralform dieser Art entbehrt wahrscheinlich des Phykocyans, oder sie enthält wenigstens diesen Farbstoff in viel geringerer Menge als die Litoralform.

#### 8. *Cystoclonium purpurascens* (Huds.) Kütz.

Aus dieser Alge wird das Phykoerythrin nur mit Schwierigkeit und äußerst langsam extrahiert, und es ist deshalb ratsam, sie vor dem Extrahieren zu zerquetschen. Die erhaltene Lösung wird durch Zusatz einer geeigneten Menge Ammoniumsulfat zum Krystallisieren gebracht und dann durch einige Umkrystallisierungen weiter gereinigt. Bei den verschiedenen Krystallisationen sind Krystalle von folgender Größe erhalten worden: etwa 3  $\mu$  breit und 12—18  $\mu$  lang, etwa 4  $\mu$  breit und 12—16  $\mu$  lang und etwa 1  $\mu$  breit und 6  $\mu$  lang. Eine reine Lösung zeigt die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder.

#### 9. *Delesseria sanguinea* (L.) Lamour.

Mit Toluol behandeltes Material wird mittels destillierten Wassers extrahiert. Da das Phykoerythrin aber nur sehr langsam die Zellwände durchdringt, muß die Extraktionszeit wenigstens auf einen Monat ausgedehnt werden. Nach 2 bis 3 Monaten ist der Farbstoff zum größten Teil extrahiert. Die Farblösung ist schön rot mit prachtvoll orangegelber Fluorescenz. Durch Umfällung mittels Ammoniumsulfat kann das Phykoerythrin gereinigt werden. Bei diesen Umfällungen er-

hält man das Phykoerythrin nicht in Krystallen, sondern in kleinen Körnchen. Versetzt man eine Phykoerythrinlösung aus *Delesseria sanguinea* mit so wenig Ammoniumsulfat, daß noch nach einem Tage kein Niederschlag entstanden ist, und läßt sie dann ruhig verdampfen, fällt das Phykoerythrin nach und nach in Form von größeren Körnchen oder unregelmäßig entwickelten Krystallen aus. Gut entwickelte Krystalle habe ich aus dieser Alge niemals erhalten. Die Versuche wurden mehrmals wiederholt, und drei verschiedene Extraktionsserien jedesmal mit neuem Material gemacht. Das Material ist teils im Juni, teils im August gesammelt worden.

Eine wässerige Lösung des Phykoerythrins aus *Delesseria sanguinea* ist schon früher von Reinke (1886, S. 229) spektrophotometrisch ausgemessen worden, und da die Ausmessung mir ganz gut erscheint, möchte ich die Resultate derselben hier wiedergeben. Reinke schreibt (a. a. O.): «Die Absorption steigt langsam an vom äußersten Rot durch Orange und Gelb, um im Grün bei  $\lambda$  568 rapide das Hauptmaximum zu erreichen, welches zugleich einem Absorptionsband entspricht. Darauf fällt die Kurve auf  $\lambda$  556 zu, erreicht ein zweites, geringeres Maximum bei 545 (ebenfalls Absorptionsband), fällt dann bis zu einem Minimum bei 515, erhebt sich zu einem dritten (kleinsten) Maximum zwischen 500 und 508 (auch Absorptionsband), um von dort gegen das violette Ende des Spektrums stark abzufallen.»

In der Tabelle 2 ist die von Reinke gemachte spektrophotometrische Ausmessung mit einer von mir gemachten zusammengestellt. Aus Reinkes Ausmessung (a. a. O., Tabelle 12, S. 230) ist nur das Spektralgebiet, welches die Absorptionsbänder umfaßt, mitgenommen, und aus meiner Ausmessung nur die relativen Extinktionskoeffizienten der Maxima und Minima.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, stimmte Reinkes Ausmessung verhältnismäßig gut mit der meinigen überein. Werden die Angaben meiner Ausmessung in der erwähnten Tabelle mit denjenigen verglichen, die ich früher hinsichtlich der Lage und der relativen Stärke der Maxima und Minima im Absorptionsspektrum einer Phykoerythrinlösung aus *Ceramium rubrum*

gegeben habe, findet man, daß sie miteinander vollkommen übereinstimmen (Kylin, 1910, S. 212 u. 213).

Tabelle 2.

Nach Reinke		Eigene Untersuchung	
Wellenlänge (in $\mu\mu$ )	Relative Extinktions- koeffizienten	Wellenlänge (in $\mu\mu$ )	Relative Extinktions- koeffizienten
603—588	0,567	—	—
588—574	0,703	—	—
574—562	1,824	569—565	0,594 (max.)
562—551	1,699	557—553	0,510 (min.)
551—540	1,745	541—537	0,540 (max.)
540—530	1,658	—	—
530—521	1,553	—	—
521—512	1,420	516—510	0,363 (min.)
512—503	1,553	—	—
503—495	1,553	498—492	0,475 (max.)
495—488	1,420	—	—
488—474	1,143	—	—
474—461	1,000	—	—

#### 10. *Delesseria sinuosa* (Good. et Woodw.) Lamour.

Wie bei *Delesseria sanguinea* dringt das Phykoerythrin auch bei dieser Alge nur sehr langsam durch die Zellwände heraus. Es ist ebenfalls sehr schwierig, Phykoerythrinlösungen aus *Delesseria sinuosa* zum Krystallisieren zu bringen, und gut entwickelte Krystalle habe ich aus dieser Alge niemals erhalten.

#### 11. *Dilsea edulis* Stackh.

Aus dieser Alge ist das Phykoerythrin in destilliertem Wasser (+ Toluol) sehr leicht extrahierbar. Das Extrakt wird aber sehr schleimig und ist deshalb schwierig zu filtrieren. Bei Zusatz von Ammoniumsulfat erhält man einen flockigen Niederschlag von Kohlenhydraten zusammen mit dem amorph ausgefallten Phykoerythrin. Krystalle wurden nicht erhalten:

aus dieser Alge haben mir jedoch nur geringe Extraktmengen zur Verfügung gestanden. Die Lösung zeigt die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluoreszenz und Absorptionsbänder.

## 12. *Dumontia filiformis* (Fl. Dan.) Grev.

Aus dieser Alge ist das Phykoerythrin sehr leicht zu extrahieren und schon nachdem das Material eine Woche lang mit destilliertem Wasser (+ Toluol) behandelt worden ist, ist der Farbstoff beinahe vollkommen extrahiert. Die abfiltrierte Lösung ist in hohem Grade von schleimigen Kohlenhydraten verunreinigt. Die Farbe ist rotviolett und die Lösung zeigt eine braun-orangefarbige Fluoreszenz. Dies deutet darauf hin, daß sie nicht nur Phykoerythrin, sondern auch Phykocyan enthält. Durch Zusetzen einer geeigneten Menge Ammoniumsulfat erhält man einen Niederschlag, der aus Phykoerythrin mit etwas Phykocyan verunreinigt, besteht, und durch einige Umfällungen dieses Niederschlages ist eine reine Phykoerythrinlösung zu erhalten. Es ist bei diesen Umfällungen sehr schwierig, das Phykoerythrin zum Krystallisieren zu bringen. Bei langsamem Verdampfen einer Lösung, die nur mit einer verhältnismäßig geringen Menge Ammoniumsulfat versetzt war, gelang es mir jedoch, große, sehr gut entwickelte Krystalle zu erhalten. Die größten waren 280  $\mu$  lang und 12  $\mu$  breit. Die reine Lösung zeigt die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluoreszenz und Absorptionsbänder.

Trotz vieler Versuche ist es mir nicht gelungen, das Phykocyan durch Zusatz von Ammoniumsulfat zum Krystallisieren zu bringen. Jedesmal fällt es in amorpher Form aus, und dabei wird immer etwas Phykoerythrin mitgerissen. Zur spektroskopischen Untersuchung mußte deshalb eine mit etwas Phykoerythrin verunreinigte Lösung verwendet werden. Diese Lösung zeigte zwei kräftige Absorptionsbänder, das eine zwischen C und D mit Maximum bei  $\lambda$  618—613, das andere, etwas schwächere zwischen D und E mit Maximum bei  $\lambda$  565—545. Außerdem wurde ein sehr schwacher Streifen bei  $\lambda$  498—492 beobachtet, welcher von den Phykoerythrinresten verursacht

wurde. Das erste Band entspricht vollkommen dem ersten Absorptionsband des blauvioletten Phykokocyan aus *Ceramium* (vgl. S. 402). Das zweite Band ist aus dem ersten und zweiten Absorptionsbande des Phykoerythrins (Max. bei  $\lambda$  569—565 und  $\lambda$  541—537) und aus einem dem Phykokocyan angehörenden Bande zusammengesetzt. Das zweite Absorptionsband des *Dumontia*-Phykokocyan liegt demnach zwischen den beiden ersten Absorptionsbändern des Phykoerythrins, d. h. es hat dieselbe Lage wie das zweite Band des *Ceramium*-Phykokocyan. Das *Dumontia*-Phykokocyan wäre demnach spektroskopisch dem blauvioletten Phykokocyan zuzuzählen (vgl. *Porphyra hiemalis*, S. 418).

### 13. *Furcellaria fastigiata* (Huds.) Lamour.

Die oberen, von Epiphyten nicht bewachsenen Gabelzweige dieser Alge wurden abgeschnitten und in destilliertes Wasser (+ Toluol) gelegt. Nach einigen Tagen war das Wasser etwas gelbbraun gefärbt, oben aber stärker als unten. Nun wurden zwei Proben abgenommen und in je ein Reagenzröhrchen gebracht, von denen das eine zugeschlossen wurde, das andere aber offen gelassen. Nach einem Tage war die Flüssigkeit in diesem Röhrchen etwas stärker gelbbraun geworden als vorher, in jenem aber unverändert geblieben. Das Extrakt reduziert kräftig ammoniakalische Silbernitratlösung; von Eisenchlorid wird es gefällt, und der Niederschlag ist grünfarbig. Dieses deutet darauf hin, daß es einen mit den Gerbstoffen verwandten Stoff enthält. Wahrscheinlich ist es eben dieser Stoff, welcher, indem er oxydiert, verursacht, daß das Extrakt gelbbraun gefärbt wird.

Nach einem Monate war das Extraktionswasser tiefbraun gefärbt. Das Material wurde dann zerquetscht und wieder in destilliertes Wasser (+ Toluol) gelegt. Nach einigen Tagen war das Wasser rötlich gefärbt und zeigte eine schwache, orangegelbe Fluorescenz. Das Extrahieren wurde zwei Monate fortgesetzt. Das dann abfiltrierte Extrakt zeigte die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder. Da es aber sehr schleimig war und nur

eine geringe Phykoerythrinmenge enthielt, gelang es mir nicht, den Farbstoff in reiner Form zu gewinnen.

#### 14. *Griffithsia corallina* (Lightf.) Ag.

Mit Toluol behandeltes Material wurde mittels destillierten Wassers extrahiert, und die abfiltrierte Farblösung mit einer geeigneten Menge Ammoniumsulfat versetzt. Das Phykoerythrin krystallisierte darauf in kleinen, stäbchenförmigen Krystallen. Die reine Lösung zeigt die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder.

#### 15. *Laurentia pinnatifida* (Gmel.) Lamour.

Es ist verhältnismäßig schwierig, das Phykoerythrin aus dieser Alge zu extrahieren, und man muß deshalb das Material wenigstens einen Monat in Wasser (+ Toluol) liegen lassen. Durch Zusatz von Ammoniumsulfat ist es leicht, den Farbstoff aus der abfiltrierten Lösung zum Krystallisieren zu bringen. Die Krystalle sind oft an einem Ende keilförmig zugespitzt, und nicht selten findet man, daß zwei bis mehrere Krystalle mittels des zugespitzten Endes aneinander angeheftet sind. Eine reine Lösung zeigt die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder.

#### 16. *Lemanea fluviatilis* (Dillw.) Ag.

Mit Toluol behandeltes Material wurde in destilliertes Wasser gelegt. Nach einem Tage zeigte sich, daß der Teil des Materials, der an der Oberfläche des Extraktionswassers lag, violett gefärbt worden war, während der übrige Teil des Materials seine dunkelmoosgrüne Farbe behalten hatte (vgl. *Batrachospermum Gallaei* S. 397). Nach einigen Tagen war auch dieser Teil etwas violettfarbig, und auch das Wasser war etwas rotviolett geworden. Das Material wurde drei Monate liegen gelassen, und dann wurde die Farblösung abfiltriert. Diese war kräftig rotviolett und zeigte eine braun-orangefarbige Fluorescenz.

Die Farblösung wurde mit 10 g Ammoniumsulfat auf 100 ccm Lösung versetzt, und nach einem Tage hatte sich ein reichlicher Niederschlag gebildet, der aus blauen, rhombo-

ederförmigen Phykocyankrystallen, etwa 10—15  $\mu$  im Durchmesser, nebst einigen wohlentwickelten Phykoerythrinkrystallen, etwa 3  $\mu$  breit und 20—45  $\mu$  lang, bestand. Der Niederschlag wurde abfiltriert, in Wasser gelöst, und nach einigen Umkrystallisationen wurde eine reine Phykocyanlösung erhalten.

Die Mutterlauge nach der Abfiltrierung des Phykocyanniederschlages wurde jeden Tag mit etwas Ammoniumsulfat versetzt, bis sie etwa 25 g auf 100 ccm enthielt. Hierbei bildeten sich Phykocyankrystalle, hauptsächlich aber Phykoerythrinkrystalle, unter denen mehrere besonders große bis zu 10—12  $\mu$  breite und 70—100  $\mu$  lange vorkamen, aber auch solche, die nur 1—3  $\mu$  breit und 10—15  $\mu$  lang waren. Der Niederschlag wurde abfiltriert, in Wasser gelöst, und nach einigen Umkrystallisationen wurde eine reine Phykoerythrinlösung erhalten.

*Lemanea fluviatilis* enthält demnach sowohl Phykocyan wie Phykoerythrin und, wie es scheint, ungefähr dieselben Mengen von jedem Farbstoff. Die Phykoerythrinlösung zeigt die für eine solche Lösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder. Die Phykocyanlösung zeigt ein kräftiges Absorptionsband im Orange zwischen C und D mit Maximum bei  $\lambda$  624—618. Die spektrophotometrische Ausmessung ergab eine Absorptionskurve, die vollkommen mit der des blaugrünen Phykocyan aus *Batrachospermum Gallaei* übereinstimmte. Auch krystallographisch stimmt das Phykocyan aus *Lemanea fluviatilis* mit dem *Batrachospermum*-Phykocyan überein.

Bei Dialyse wird das Phykocyan gefällt. Der Niederschlag ist gewöhnlich amorph, nur selten werden einige rhomboederförmige Krystalle oder aus nadelförmigen Krystallen bestehende Aggregate ausgebildet. Er löst sich nur sehr schwer in einer verdünnten Neutralsalzlösung, leicht aber in 0,01%iger Natriumcarbonatlösung. Von einer 0,1%igen Natriumcarbonatlösung wird der Farbstoff zerstört.

Werden einige Kubikzentimeter Lösung mit einigen Tropfen Salzsäure oder Eisessig versetzt, so wird die Fluorescenz augenblicklich vernichtet, die Farbe der Lösung wird abgeschwächt und spielt mehr in Grün-Blaugrün als vorher. Ist



1. Absorptionsspektrum des Phykoerythrins.
2. „ blaugrünen Phykocyan.
3. „ blauen Phykocyan.
4. „ blauvioletten Phykocyan.

die Lösung nicht zu stark verdünnt, so ruft Salzsäure auch einen Niederschlag hervor. Die Farbveränderung beruht darauf, daß die Säure die Farbenkomponente und die Eiweißkomponente des Farbstoffes von einander spaltet. Nach dem Zusatz der Säure ist die Farbe von der abgespaltenen Farbenkomponente bedingt. Diese ist demnach in saurer Flüssigkeit grün bis blaugrün. Die Farbenkomponente des Phykocyans aus *Ceramium rubrum* ist in saurer Flüssigkeit blau mit schwachem Stich ins Violette (vgl. Kylin, 1910, S. 219—220 und S. 225—228). Von Salpetersäure wird die Lösung gefällt, und der Niederschlag bei Erwärmung vorübergehend rot, dann gelb gefärbt.

#### 17. *Lomentaria clavellosa* (Turn.) Gaill.

Mit Toluol behandeltes Material wurde zehn Tage mit destilliertem Wasser extrahiert, und die darauf abfiltrierte Farblösung mit Ammoniumsulfat versetzt, um das Phykoerythrin zum Krystallisieren zu bringen. Kleine, stäbchenförmige Krystalle wurden erhalten. Die durch einige Umkrystallisationen gereinigte Lösung zeigte die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder.

#### 18. *Nemalion multifidum* (Web. et Mohr) J. G. Ag.

Mit Toluol behandeltes Material wurde zwei Monate mit destilliertem Wasser extrahiert. Das erhaltene Extrakt war sehr schleimig, weshalb es sich nur schwierig filtrieren ließ. Nach dem Filtrieren wurde es mit Ammoniumsulfat (10 g auf 100 ccm Lösung) versetzt, und nach einem Tage hatte sich ein aus wohlentwickelten Phykoerythrinkrystallen bestehender Niederschlag gebildet, der in Wasser gelöst wurde. Nach einigen Umkrystallisationen wurde eine reine Lösung erhalten, welche die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder zeigte.

#### 19. *Phormidium* sp.

Luftgetrocknetes, gepulvertes Material von dieser Süßwassercyanophycee wurde zwei Tage in destilliertem Wasser (+ Toluol) extrahiert. Das abfiltrierte, mit schleimigen Kohlenhydraten verunreinigte Extrakt war hellblau und zeigte eine

prachtvoll dunkelkarminrote Fluoreszenz. Um das Phykocyan auszufällen, wurde es mit Ammoniumsulfat versetzt. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst und durch einige Umfällungen gereinigt. Auch wenn eine mit etwas Ammoniumsulfat versetzte Lösung langsam verdampft wurde, wurden keine Krystalle erhalten.

Eine reine Lösung des Phykocyan aus dieser Alge ist hellblau; in verdünnter Lösung zeigt die Farbe einen Stich ins Grün; bei größerer Konzentration wird die Farbe blauviolett bis violett; die Fluoreszenz ist prachtvoll dunkelkarminrot. Spektroskopisch zeigt sie zwei Absorptionsbänder, das eine, stärkere im Orange zwischen C und D mit Maximum bei  $\lambda$  618—607, das andere, etwas schwächere im Gelbgrün zwischen D und E, aber näher an D mit Maximum bei  $\lambda$  577—573. Das Minimum zwischen diesen Maxima liegt bei  $\lambda$  589—585. Die Resultate der spektrophotometrischen Ausmessung ergeben sich aus der Tabelle 3 und der Kurvenzeichnung 2. Die Tabelle zeigt, daß der größte Extinktionskoeffizient (0,580) bei  $\lambda$  613—607 liegt, daß der Extinktionskoeffizient (0,577) bei  $\lambda$  618—613 aber nur unbedeutend kleiner ist. Der Unterschied ist so klein, daß er innerhalb der Fehlergrenzen liegt, und es ist deshalb nicht berechtigt, zu sagen, daß das Maximum des ersten Absorptions-

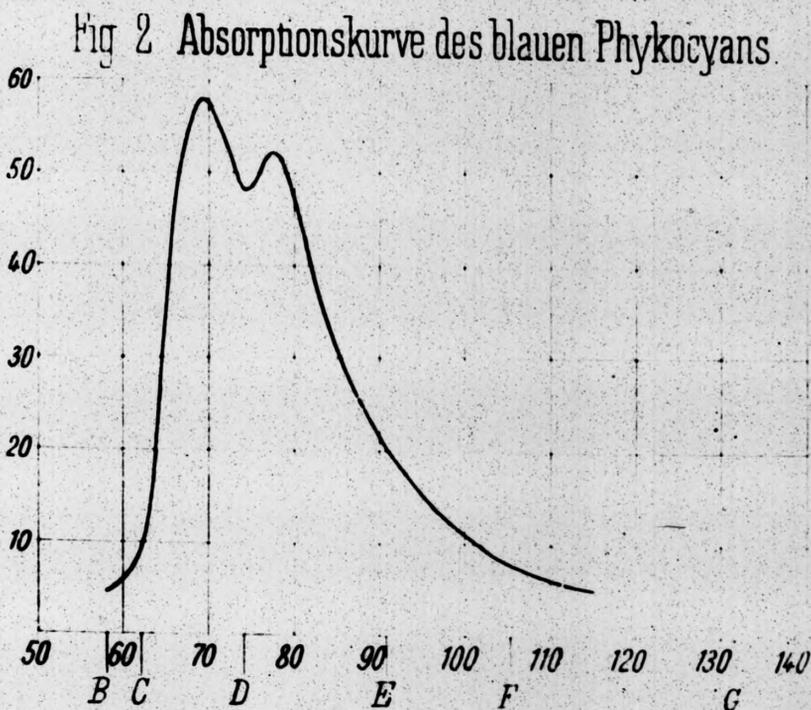


Tabelle 3.

Skalenteile des Instruments	Wellenlänge (in $\mu$ )	Relative Extinktions- koeffizienten einer schwächeren Lösung	Relative Extinktions- koeffizienten einer stärkeren Lösung
57—59	696—678	—	0,076
59—60	678—670	—	0,094
60—61	670—663	—	0,107
61—62	663—656	0,089	0,142
62—63	656—649	0,119	0,203
63—64	649—642	0,191	0,314
64—65	642—636	0,295	0,497
65—66	636—630	0,400	0,716
66—67	630—624	0,495	0,810
67—68	624—618	0,543	—
68—69	618—613	0,577	—
69—70	613—607	0,580	—
70—71	607—602	0,564	—
71—72	602—597	0,539	—
72—73	597—593	0,517	0,861
73—74	593—589	0,490	0,821
74—75	589—585	0,480	0,792
75—76	585—581	0,492	0,826
76—77	581—577	0,512	0,858
77—78	577—573	0,520	0,869
78—79	573—569	0,513	0,849
79—80	569—565	0,497	0,819
80—81	565—561	0,463	0,781
81—82	561—557	0,425	0,753
82—83	557—553	0,391	0,710
83—84	553—549	0,361	0,656
84—85	549—545	0,323	0,608
85—86	545—541	0,277	0,557
86—88	541—534	0,230	0,460
88—90	534—528	0,190	0,373
90—93	528—519	0,154	0,313
93—96	519—510	0,129	0,250
96—99	510—501	0,102	0,199
99—103	501—490	0,079	0,151
103—107	490—482	—	0,134
107—112	482—472	—	0,102
112—117	472—462	—	0,087

bandes zwischen  $\lambda$  613—607 liegt, sondern zwischen  $\lambda$  618 bis 607, oder vielleicht lieber zwischen  $\lambda$  615—610.

Die hier vorliegende Phykocyanmodifikation, die blaues Phykocyan genannt werde, unterscheidet sich sehr gut von den beiden vorher erwähnten Modifikationen, dem blaugrünen Phykocyan aus *Batrachospermum Gallaei* und dem blauviolettten Phykocyan aus *Ceramium rubrum* (vgl. S. 402). Das blaugrüne Phykocyan besitzt nur ein Absorptionsband; das blauviolette besitzt wie das blaue zwei Absorptionsbänder, ein stärkeres zwischen C und D und ein schwächeres zwischen D und E. Dieses letztere Band liegt aber bei dem blauviolettten Phykocyan näher an E (Max. bei  $\lambda$  553—549), bei dem blauen dagegen näher an D (Max. bei  $\lambda$  577—573). Das Maximum des ersteren Absorptionsbandes liegt bei dem blauviolettten Phykocyan bei  $\lambda$  618—613, bei dem blauen dagegen bei  $\lambda$  615—610.

Der Name blaues Phykocyan ist schon von Molisch (1906, S. 800) gebraucht worden, um eine Phykocyanmodifikation zu bezeichnen, die er aus einer *Oscillaria*-Art erhielt. Das Spektrum dieser Modifikation ist durch eine Endabsorption im äußersten Rot und durch zwei Bänder (I und II) knapp zu beiden Seiten der Linie D ausgezeichnet. Die Bänder haben folgende Lage: I bei  $\lambda$  635—605 und II bei  $\lambda$  580—560. Die von Molisch erwähnte Endabsorption ist wahrscheinlich Verunreinigungen zuzuschreiben (Molisch hat nur ein Wasserextrakt untersucht, nicht eine reine Lösung): hinsichtlich der Lage der beiden Absorptionsbänder stimmen dagegen seine Angaben so gut mit den meinigen (s. Tab. 3) überein, daß sie meines Erachtens die Schlußfolge erlauben, daß in der von Molisch untersuchten *Oscillaria*-Art dieselbe Phykocyanmodifikation vorkommt, wie in der von mir untersuchten *Phormidium*-Art.

Aus *Oscillaria limosa* Ag. erhielt Molisch (1906, S. 805) eine Phykocyanmodifikation, die er blauvioletttes Phykocyan nannte, und welche drei Absorptionsbänder besitzen soll. Die Lage dieser Bänder wäre: I bei  $\lambda$  655—650, II bei  $\lambda$  630—600 und III bei  $\lambda$  575—555. Die beiden Absorptionsbänder des blauen Phykocyans wären demnach bei dem blauviolettten Phykocyan etwas gegen den stärker brechbaren Teil des Spektrums ver-

schofen (von  $\lambda$  635—605 nach 630—600 und von  $\lambda$  580—560 nach  $\lambda$  575 bis 555), und außerdem besäße die letztere Modifikation ein Band bei  $\lambda$  655—650, welches bei der ersteren Modifikation fehlt. Dieses letztere Band ist aber wahrscheinlich Verunreinigungen zuzuschreiben, und die Verschiebung hinsichtlich der zwei übrigen Absorptionsbänder ist zu gering, um mit Sicherheit erweisen zu können, daß die erwähnten Modifikationen voneinander verschieden sind, so lange die Untersuchung sich nicht auf eine reine Farbstofflösung basiert. Meines Erachtens wäre demnach das Phykocyan aus *Oscillaria limosa* nicht von dem blauen Phykocyan verschieden, wenigstens ist der Unterschied nicht erwiesen. — Mit dem von mir so genannten blauvioletten Phykocyan aus *Ceramium rubrum* ist das Phykocyan aus *Oscillaria limosa* durch die Lage des Absorptionsbandes zwischen D und E wohl verschieden.

Molisch hat das Phykocyan einer *Oscillaria*-Art in Kristallen erhalten, die wahrscheinlich dem monoklinen System angehören (vgl. Molisch, 1895, S. 133).

#### 20. *Polysiphonia Brodiaei* (Dillw.) Grev.

Mit Toluol behandeltes Material wurde eine Woche mit destilliertem Wasser extrahiert, das abfiltrierte, sehr schleimige Extrakt durch Zusatz von Ammoniumsulfat gefällt, und der in Wasser wieder gelöste Niederschlag durch einige Umfällungen gereinigt. Phykoerythrinkristalle habe ich aus dieser Art niemals erhalten. Auch wenn man eine mit etwas Ammoniumsulfat versetzte Phykoerythrinlösung langsam verdampfen läßt, erhält man nur einen amorphen, roten Niederschlag (vgl. *Dellesseria sanguinea*, S. 405). Eine Phykoerythrinlösung aus *Polysiphonia Brodiaei* unterscheidet sich von allen bisher besprochenen Phykoerythrinlösungen dadurch, daß sie der prachtvoll orangegelben Fluorescenz vollkommen entbehrt. Sie zeigt aber die rote Farbe und die charakteristischen drei Absorptionsbänder einer gewöhnlichen Phykoerythrinlösung.

#### 21. *Polysiphonia nigrescens* (Dillw.) Grev.

Mit Toluol behandeltes Material wurde drei Monate mit destilliertem Wasser extrahiert. Nach dem Abfiltrieren des

Extrakt wurde dieses mit Ammoniumsulfat (15 g auf 100 g Lösung) versetzt und nach einem Tage hatte sich ein aus kleinen Phykoerythrinkrystallen bestehender Niederschlag gebildet, der in Wasser gelöst und dann durch einige Umkrystallisationen gereinigt wurde. Die Lösung zeigt die Farbe und die drei Absorptionsbänder einer gewöhnlichen Phykoerythrinlösung, entbehrt aber beinahe vollkommen der orangegelben Fluoreszenz (vgl. *Polysiphonia Brodiaei*); nur bei kräftiger Beleuchtung (am besten in direktem Sonnenlicht) kann man eine Andeutung einer orangegelben Fluoreszenz beobachten. Die Phykoerythrinlösungen aus *Polysiphonia nigrescens* krystallisieren sehr leicht, aber nur kleine Krystalle, die größten etwa 2  $\mu$  breit und 4  $\mu$  lang, sind erhalten worden. — Mehrere Extraktionsserien mit kürzerer Extraktionszeit wurden gemacht; die Phykoerythrinlösungen entbehren aber immer beinahe vollkommen der Fluoreszenz.

## 22. *Porphyra hiemalis* Kylin.

Mit Toluol behandeltes Material wurde drei Wochen in destilliertem Wasser extrahiert. Das Extrakt war von schleimigen Kohlenhydraten sehr stark verunreinigt und ließ sich deshalb nur mit Schwierigkeit filtrieren. Die Farbe war rotviolett und die Fluoreszenz braun-orangefarbig. Nach dem Abfiltrieren wurde Ammoniumsulfat (10 g auf 100 ccm Lösung) zugesetzt, und nach einem Tage hatten sich gut entwickelte Phykoerythrinkrystalle gebildet. Die größeren waren etwa 3  $\mu$  breit und 15 bis 20  $\mu$  lang. Der Niederschlag wurde abfiltriert, in Wasser gelöst, und nach einigen Umkrystallisationen wurde eine reine Phykoerythrinlösung erhalten. Diese zeigte die für eine solche Lösung charakteristische Farbe, Fluoreszenz und Absorptionsbänder.

Die Mutterlauge nach dem Abfiltrieren des Phykoerythrin-niederschlages wurde jeden Tag mit etwa 2—3 g Ammoniumsulfat auf 100 ccm Lösung versetzt, bis sie etwa 25 g Salz auf 100 ccm Lösung enthielt. Hierbei bildeten sich teils Phykoerythrinkrystalle, teils amorphe, blauviolette Körnchen, die wesentlich aus Phykocyan bestanden. Der Niederschlag wurde abfiltriert und in Wasser gelöst. Es wurde dann durch mehrere

Umfällungen bei Zusatz von Ammoniumsulfat versucht, das Phykocyan in reiner Form darzustellen. Schließlich wurde eine indigoblaue, in größeren Schichten blauviolette—violette—rotviolette Lösung mit prachtvoll dunkelkarminroter Fluorescenz erhalten. Diese Lösung war jedoch, wie ich glaube, nicht vollkommen rein, sondern mit Spuren von Phykoerythrin vermischt. Das Phykocyan aus *Porphyra* ist nur mit Schwierigkeit zum Krystallisieren zu bringen. Erst wenn eine mit etwas Ammoniumsulfat versetzte Lösung während einiger Wochen langsam verdunstet, erhält man das Phykocyan in Form von Krystalldrusen, die aus sehr feinen Nadeln bestehen. Dieser Umstand macht es sehr schwierig (oder vielleicht unmöglich), die letzten Phykoerythrinreste abzutrennen.

Spektroskopisch zeigte die aus *Porphyra* erhaltene Phykocyanlösung zwei Absorptionsbänder, das eine im Orange zwischen C und D mit Maximum bei  $\lambda$  618—613, das andere, etwas schwächere im Grün zwischen D und E mit Maximum bei  $\lambda$  561—553. Das Minimum zwischen diesen beiden Maxima liegt bei  $\lambda$  585—577. Das erste Band stimmt vollkommen mit dem ersten Bande des blauvioletten Phykocyan aus *Ceramium rubrum* überein. Das zweite Band des *Porphyra*-Phykocyan ist im Vergleich zum zweiten Bande des *Ceramium*-Phykocyan etwas nach dem weniger brechbaren Teil des Spektrums verschoben (von  $\lambda$  553—549 nach  $\lambda$  561—553), jedoch nicht so stark, daß seine Lage mit der Lage des zweiten Bandes des blauen Phykocyan (Max. bei  $\lambda$  577—573) übereinstimmt. Diese Verschiebung des Minimums und des zweiten Maximums des *Porphyra*-Phykocyan ist wahrscheinlich einer Phykoerythrinverunreinigung (vgl. oben) zuzuschreiben: das *Porphyra*-Phykocyan würde demnach spektroskopisch dem blauvioletten Phykocyan angehören (vgl. *Dumontia filiformis* S. 409).

### 23. *Rhodomela subfusca* (Woodw.) Ag.

Mit Toluol behandeltes Material wurde einen Monat mit destilliertem Wasser extrahiert, und nach dem Abfiltrieren des Extrakts wurde dieses mit Ammoniumsulfat gefällt. Der Niederschlag wurde in Wasser gelöst und durch einige Umfällungen

gereinigt. Phykoerythrinkrystalle sind nicht erhalten worden (möglicherweise sehr kleine). Die Lösung zeigt die Farbe und die drei Absorptionsbänder einer Phykoerythrinlösung, entbehrt aber beinahe vollkommen der orangegelben Fluorescenz (vgl. *Polysiphonia Brodiaei* und *P. nigrescens*).

#### 24: *Spermothamnion roseolum* (Ag.) Pringsh.

Da das Phykoerythrin aus dieser Alge sehr schwierig zu extrahieren ist, ist es ratsam, das mit Toluol behandelte Material wenigstens einen Monat in destilliertem Wasser liegen zu lassen. Bei Zusatz von Ammoniumsulfat krystallisiert die Phykoerythrinlösung sehr gut, und durch einige Umkrystallisationen ist der Farbstoff in reiner Form zu erhalten. Die Lösung zeigt die für eine Phykoerythrinlösung charakteristische Farbe, Fluorescenz und Absorptionsbänder.

### II. Das Rhodospermin.

In Exemplaren von *Bornetia secundiflora* Thur., die in konzentrierter Kochsalzlösung gelegen hatten, beobachtete Cramer (1862, S. 350) prachtvoll karminrote Krystalle, die dem hexagonalen System angehörten. Neben diesen beobachtete er auch farblose, oktaederähnliche Krystalle. Die ersteren Krystalle wurden als hexagonales Rhodospermin bezeichnet, die letzteren als oktaederisches Rhodospermin. Auch in Weingeistexemplaren von der eben erwähnten *Bornetia*, von *Gallithamnion caudatum* J. Ag.? und von *Morothamnion seminudum* Cram. ist hexagonales Rhodospermin von Cramer (1862, S. 356) beobachtet worden.

Später beobachtete Cohn (s. Klein, 1871, S. 168) hexagonales Rhodospermin an einem mikroskopischen Präparat von *Ceramium rubrum*. Das *Ceramium* war in ein Gemisch von halb Seewasser und halb Glycerin gelegt und mit Asphaltlack hermetisch verschlossen worden. — Klein (1877, S. 291) bezeichnet das hexagonale Rhodospermin nur mit dem Namen Rhodospermin (vgl. Klein, 1882, S. 54).

Von Molisch (1894, S. 186) ist erwiesen worden, daß das Rhodospermin nichts anderes ist als krystallisiertes Phyko-

erythrin. Er beobachtete zuerst solche Krystalle in Thallusstücken von *Nitophyllum punctatum* (Stackh.) Harv., welche in Meerwasser liegend abstarben. Es gelang ihm auch, eine Methode zu finden, «um bei *Nitophyllum* mit der Sicherheit eines physikalischen Experimentes die Krystalle zu erzeugen». Die Methode ist, «die lebende Alge in eine 10%ige Kochsalzlösung, der ein paar Tropfen Schwefelkohlenstoff beigemischt wurde, einzulegen und darin am besten mehrere Tage zu belassen» (Molisch, 1894, S. 178).

Während meiner Untersuchungen über die Farbstoffe der Florideen sind mehrere Versuche gemacht worden, bei verschiedenen Algen «Rhodosperminkrystalle» d. h. Phykoerythrin-krystalle innerhalb der Zellen herzustellen. In solchen Algen, bei welchen das Phykoerythrin nur sehr langsam die Zellwände durchdringt, erhält man in reichlicher Menge gut ausgebildete Krystalle, wenn sie einige Tage in Meerwasser liegen bleiben. Um die Algen rasch abzutöten und die Verwesung zu verhindern, ist es ratsam, das Wasser mit etwas Toluol zu versetzen. Sehr gut gelingt es, auf diese Weise in *Spermothamnion roseolum* und *Cystoclonium purpurascens* Phykoerythrin-krystalle herzustellen. Noch besser gelingt es aber, wenn man diese Algen in eine 5%ige Lösung von Kochsalz oder Ammoniumsulfat legt und etwas Toluol zusetzt. Schon nach einigen Stunden sind in einzelnen Zellen kleine Krystalle nachweisbar, und nach einem Tage sind prachtvolle Krystalle entstanden. Auch 10%ige Lösungen der erwähnten Neutralsalze können gut verwendet werden. — Wie in den bereits erwähnten Arten ist es auch sehr leicht, Phykoerythrin-krystalle in den *Callithamnion*-Arten herzustellen.

Die Versuche, in verschiedenen Florideen Phykoerythrin-krystalle herzustellen, werden am besten so ausgeführt, daß man Thallusstücke einige Tage in einer 5—10%igen Lösung von Kochsalz oder Ammoniumsulfat, welche mit etwas Toluol versetzt ist, liegen läßt. Auf dieser Weise gelingt es gut, in den Zellen vieler Florideen Phykoerythrin-krystalle zu erhalten, bei anderen aber, z. B. bei *Ceramium rubrum*, gelingt es nicht immer, Krystalle zu erhalten, oder diese treten nur ver-

einzelnt in wenigen Zellen auf, bei anderen wieder, z. B. bei *Delesseria*-Arten sind Krystalle nur selten beobachtet worden. Es möge erwähnt werden, daß eine Phykoerythrinlösung (aus *Ceramium rubrum*) durch Zusatz von Kochsalz nicht zum Krystallisieren gebracht werden kann. Eine Phykoerythrinlösung wird bei Sättigung mit Kochsalz nicht gefällt (vgl. Kylin, 1910, S. 185).

Bei folgenden Florideen ist es mir gelungen, Phykoerythrin-krystalle innerhalb der Zellen herzustellen:

*Antithamnion plumula* (Ellis) Thur.

*Bangia fuscopurpurea* (Dillw.) Lyngb.

*Batrachospermum Gallaei* Sirodot.

»                                      *moniliforme* Roth.

*Callithamnion corymbosum* (Smith) Lyngb.

»                                      *fruticulosum* J. G. Ag.

»                                      *frucellariae* J. G. Ag.

»                                      *hiemale* Kjellm.

»                                      *Hookeri* (Dillw.) Aresch.

*Ceramium diaphanum* Harv. et Ag.

»                                      *rubrum* (Huds.) Ag.

*Chantransia virgatula* (Harv.) Thur.

*Chondrus crispus* (L.) Lyngb.

*Cruoria pellita* (Lyngb.) Fr.

*Cystoclonium purpurascens* (Huds.) Kütz.

*Delesseria alata* (Huds.) Lamour.

»                                      *sanguinea* (L.) Lamour.

»                                      *sinuosa* (Good. et Woodw.) Lamour.

*Dilsea edulis* Stackh.

*Griffithsia corallina* (Lightf.) Ag.

*Laurentia pinnatifida* (Gmel.) Lamour.

*Lomentaria clavellosa* (Turn.) Gaill.

»                                      *rosea* (Harv.) Thurn.

*Nemalion multifidum* (Web. et Mohr.) J. G. Ag.

*Porphyra umbilicalis* (L.) J. G. Ag.

*Rhodochorton Rothii* (Turt.) Näg.

*Spermothamnion roseolum* (Ag.) Pringsh.

Bei folgenden Florideen ist es mir dagegen nicht gelungen, Phykoerythrin-krystalle innerhalb der Zellen herzustellen:

*Furcellaria fastigiata* (Huds.) Lamour.

*Polyides rotundus* (Gmel.) Grev.

*Polysiphonia Brodiaei* (Dillw.) Grev.

    '    *elongata* (Huds.) Harv.

    '    *nigrescens* (Dillw.) Grev.

*violacea* (Roth.) Grev.

*Rhodomela subfusca* (Woodw.) Ag.

    '    *virgata* Kjellm.

Es wäre wohl nicht unmöglich, auch in diesen Algen Phykoerythrinkristalle zu erhalten. Die Phykoerythrinlösungen aus *Polysiphonia nigrescens* krystallisieren ja sehr gut bei Zusatz von einer geeigneten Menge Ammoniumsulfat (vgl. S. 416).

Dieselbe Methode, die zum Krystallisieren des Phykoerythrins innerhalb der Zellen führt, kann auch zum Krystallisieren des Phykocyanins innerhalb der Zellen verwendet werden, und nach dieser Methode sind solche Krystalle in den Zellen von *Batrachospermum Gallaei*, *B. moniliforme* und *Ceramium rubrum* erwiesen worden. Bei den zwei ersteren Arten sind Krystalle in großer Menge erhalten worden, bei der letzteren wurden sie aber nur bei einer Gelegenheit beobachtet.

Bei *Porphyra umbilicalis* und *Bangia fuscopurpurea* wurden keine Phykocyaninkristalle erhalten, wohl aber blauviolette Körnchen, die Phykocyanin enthielten.

### III. Zusammenfassung und Schlußbemerkungen.

#### 1. Phykoerythrin.

Eine Phykoerythrinlösung ist schön karminrot, bei geringerer Konzentration mit einem Stich ins Violette, bei größerer Konzentration mit einem Stich ins Orange. Sie zeigt eine prachtvoll orangegelbe Fluorescenz und besitzt drei Absorptionsbänder, das erste im Gelbgrün mit Maximum bei  $\lambda$  569—565, das zweite im Grün mit Maximum bei  $\lambda$  541—537 und das dritte im Blau mit Maximum bei  $\lambda$  498—492. Das erste Band ist das stärkste, das dritte das schwächste. Das Phykoerythrin krystallisiert in hexagonalen Prismen meistens ohne Pyramidenflächen. Solche Flächen entstehen nur, wenn die Krystallisation

in einer Lösung stattfindet, welche verhältnismäßig viel Salz enthält (15—20 g Ammoniumsulfat auf 100 ccm Lösung). Die Krystalle sind optisch negativ und zeigen keinen erkennbaren Pleochroismus. Das Verhältnis zwischen der Länge und der Breite variiert von 1,5 : 1 bis 25 : 1. Die größten beobachteten Krystalle waren 280  $\mu$  lang und 12  $\mu$  breit.

Diese Phykoerythrinmodifikation ist aus 20 Florideen extrahiert und spektroskopisch untersucht worden. Bei drei untersuchten Arten, *Polysiphonia Brodiaei*, *P. nigrescens* und *Rhodomela subfusca* gibt es eine andere Phykoerythrinmodifikation, die sich aber von der zuerst erwähnten Modifikation nur dadurch unterscheidet, daß sie vollkommen oder beinahe vollkommen der Fluorescenz entbehrt (das Phykoerythrin aus *Polysiphonia Brodiaei* und *Rhodomela subfusca* wurde nicht in Krystallen erhalten). Es möge daran erinnert werden, daß die *Polysiphonia*- und *Rhodomela*-Arten, wenn sie im Wasser liegend absterben, nicht wie die meisten übrigen Florideen eine orangegelbe Farbe annehmen.

Das Phykoerythrin ist bisher nur bei den Florideen gefunden worden. Hansens Angaben (1893, S. 297—298), daß das Phykoerythrin auch bei der Chlorophyce *Bryopsis disticha* und bei den Fukoideen *Taonia atomaria* und *Dictyota dichotoma* vorkomme, erweisen nicht, daß der rote Farbstoff dieser Algen mit dem Phykoerythrin identisch ist.

## 2. Phykocyan.

Folgende Phykocyanmodifikationen sind nachgewiesen worden:

1. **Blaugrünes Phykocyan.** Die Lösung ist blau—blaugrün, bei geringer Konzentration blaugrün—grün, bei größerer Konzentration blau—blauviolett—violett. Sie zeigt eine prachtvoll dunkelkarminrote Fluorescenz und besitzt ein Absorptionsband, welches im Orange zwischen C und D liegt mit Maximum bei  $\lambda$  624—618. Diese Phykocyanmodifikation krystallisiert in hexagonalen Rhomboedern; nur selten werden die Krystalle prismatisch ausgebildet. Sie zeigen keinen erkennbaren Pleochroismus. Diese Modifikation kommt bei *Batrachospermum*

Gallaei, *Lemanea fluviatilis* und *Calothrix* sp. vor: aus der letzten Art wurde sie jedoch nicht in Krystallen erhalten.

2. Blaues Phykocyan. Die Lösung ist hellblau, bei geringerer Konzentration mit einem Stich ins Grün, bei größerer Konzentration indigoblau—blauviolett—violett. Sie zeigt eine prachtvoll dunkelkarminrote Fluoreszenz und besitzt zwei Absorptionsbänder, das eine im Orange zwischen C und D mit Maximum bei  $\lambda$  615—610, das andere, etwas schwächere im Gelbgrün zwischen D und E, aber näher an D mit Maximum bei  $\lambda$  577—573. Von mir nicht in Krystallen erhalten (vgl. S. 416). Ist bei einer *Phormidium*-Art nachgewiesen worden. Diese Modifikation ist wahrscheinlich bei den Cyanophyceen sehr verbreitet.

3. Blauvioletttes Phykocyan. Die Lösung ist indigoblau, bei geringerer Konzentration hellblau, bei größerer Konzentration blauviolett—violett—rotviolett. Sie zeigt eine prachtvoll dunkelkarminrote Fluoreszenz und besitzt zwei Absorptionsbänder, das eine im Orange zwischen C und D mit Maximum bei  $\lambda$  618—613, das andere, etwas schwächere im Grün zwischen D und E, aber näher an E mit Maximum bei  $\lambda$  553—549. Diese Phykocyanmodifikation krystallisiert in rhombischen Tafeln. Die Krystalle sind stark dichroitisch, längs der kleineren Diagonale blau, längs der größeren violett. Diese Modifikation ist bei *Ceramium rubrum* nachgewiesen worden. Das Phykocyan aus *Dumontia filiformis* und *Porphyra hiemalis* stimmt wahrscheinlich mit dieser Modifikation spektroskopisch überein. Das *Dumontia*-Phykocyan wurde nicht in Krystallen erhalten, das *Porphyra*-Phykocyan krystallisiert sehr schwer in aus feinen Nadeln bestehenden Krystalldrusen.

Nach Molisch (1906, S. 802) kommt bei *Scytonema Hofmanni* Ag. eine Phykocyanmodifikation vor, die vier Absorptionsbänder besitzen soll, nämlich I bei  $\lambda$  655—650, II bei  $\lambda$  630—600, III bei  $\lambda$  575—565 und IV bei  $\lambda$  555—540. Das Band II scheint dem für die drei oben erwähnten Modifikationen gemeinsamen Band zwischen C und D zu entsprechen, das Band III dem zweiten Band des blauen Phykocyan und das Band IV dem zweiten Band des blauviolettten Phykocyan:

das sehr schwache Band I dürfte den Verunreinigungen zuzuschreiben sein. Diese Modifikation wird von Molisch violettes Phykocyan genannt. Eine mit dieser Modifikation nahe verwandte soll nach Molisch auch bei *Peltigera canina* L. vorkommen.

Das Phykocyan ist ein für die Cyanophyceen charakteristischer Farbstoff; außer bei diesen Algen kommt es aber auch bei einigen Florideen vor und ist gegenwärtig bei folgenden nachgewiesen: *Bangia fuscopurpurea* (S. 422), *Batrachospermum Gallaei*, *B. moniliforme* (S. 422), *Ceramium rubrum*, *Chondrus crispus*, *Dumontia filiformis*, *Lemanea fluviatilis*, *Porphyra hiemalis* und *P. umbilicalis* (S. 422).

#### Literaturverzeichnis.

- Askenasy, E. Beiträge zur Kenntnis des Chlorophylls und einiger dasselbe begleitender Farbstoffe. Bot. Zeitung, 1867.
- Cramer, C. Das Rhodospermin, ein krystalloidischer, quellbarer Körper im Zellinhalt verschiedener Florideen. Vierteljahrsschrift der naturf. Ges. in Zürich, Bd. 7, 1862.
- Hansen, A. Über Stoffbildung bei den Meeresalgen. Mitteilungen aus der Zoolog. Station zu Neapel, Bd. 11, Berlin 1893.
- Klein, J. Über die Krystalloide einiger Florideen. Flora 54, Marburg 1871.
- — Algologische Mitteilungen. Flora 60, Marburg 1877.
- — Die Krystalloide der Meeresalgen. Pringsheims Jahrbücher, Bd. 13, Leipzig 1882.
- Kylin, H. Über Phykoerythrin und Phykocyan bei *Ceramium rubrum* (Huds.) Ag. Diese Zeitschrift, Bd. 69, Straßburg 1910.
- Molisch, H. Das Phykoerythrin, seine Krystallisierbarkeit und chemische Natur. Botanische Zeitung, 1894.
- — Das Phykocyan, ein krystallisierbarer Eiweißkörper. Botanische Zeitung, 1895.
- — Untersuchungen über das Phykocyan. Sitzungsber. d. kaiserl. Akad. d. Wissensch., Mathem.-Naturw. Klasse, Bd. 115, Wien 1906.
- Reinke, J., Photometrische Untersuchungen über die Absorption des Lichtes in den Assimilationsorganen. Botanische Zeitung 1886.
- Rosánoff, S. Observations sur les fonctions et les propriétés des pigments de diverses Algues. Mémoires de la Soc. imp. des sciences nat. de Cherbourg. Bd. 13, 1867.