

Ueber das Chlorophyll der Pflanzen.

Zweite Abhandlung.

(Fortsetzung von Band III, Seite 350 dieser Zeitschrift.)

von **F. Hoppe-Seyler.**

4. Einwirkung von Aetzkali auf Chlorophyllan.

Um die Einwirkung von Aetzkali in höherer Temperatur auf Chlorophyllan zu untersuchen, wurden gewogene Mengen des Farbstoffs in Aether gelöst in eine tubulirte Retorte gebracht, der Aether abdestillirt, der Rückstand mit reinem Alkohol übergossen, concentrirte alkoholische Kalilösung im Ueberschusse hinzugefügt, die Mischung einige Zeit im Wasserbade erhitzt, dann der Alkohol möglichst abdestillirt und das Destillat in verdünnter Salzsäure aufzufangen. Es gingen weder Ammoniak noch andere flüchtige Basen über und das Chlorophyllan schien bei dieser Behandlung überhaupt keine Veränderung zu erfahren, denn die syrupöse in der Retorte zurückgebliebene Masse zeigte bei der spectroscopischen Untersuchung der dünnen an der Wandung der Retorte herablaufenden Schichten den bekannten scharf contourirten schwarzen Absorptionsstreifen zwischen B und C und in Alkohol gelöst die entsprechende schön rothe Fluorescenz. Es ist hiernach zu erwarten, dass etwaige Beimengungen von Lecithin, welche den durch die Analysen nachgewiesenen Phosphorgehalt wahrscheinlich bedingen, durch Behandlung mit alkoholischer Kalilauge entfernt werden, und durch Einleiten von Kohlensäure, Abfiltriren der heissen alkoholischen Lösung und Erkaltenlassen bei hinreichender Concentration ein reineres Chlorophyllan als bisher dargestellt werden kann. Glycerinphosphorsaures Kali würde mit dem

Carbonat ausgefällt, Cholin aber würde beim Erkalten der alkoholischen Lösung und Auskrystallisiren des Chlorophyllan in Lösung bleiben.

Die syrupartige stark ätzkalihaltige Chlorophyllanlösung wurde noch heiss in der Retorte mit der ungefähr gleichen Menge Wasser versetzt und im Oelbade bei eingesetztem Thermometer langsam die Temperatur gesteigert, die überdestillirenden Dämpfe in etwas frisch destillirter Salzsäure aufgefangen. Erst bei ungefähr 170° beginnt feinblasiges Aufschäumen, welches über 200° nachlässt. Die Temperatur wurde dann schliesslich bis 260 oder selbst 290° gesteigert. Die Masse zeigte in diesen Temperaturen sich völlig ruhig und ohne weitere Veränderung.

Die salzsaure Lösung der Vorlage wurde im Wasserbade zur trockenen Salzmasse verdunstet, in Alkohol gelöst und mit alkoholischem Platinchlorid gefällt. Der hellgelbe Niederschlag, in Wasser schwer löslich, gab beim Abdampfen der wässerigen Lösung gelbe, gut ausgebildete Octaeder von $40,5\%$ Platingehalt. Da jedoch erst eine Bestimmung mit geringer Quantität des Platindoppelsalzes ($42,5$ Mllgr.) ausgeführt wurde, kann aus derselben noch nicht definitiv weiter geschlossen werden, als dass jedenfalls bei dem Schmelzen mit Kali aus dem Chlorophyllan eine Ammoniakbase von niedrigem Moleculargewicht oder Ammoniak selbst abgespalten wird.

Der beim Erkalten erstarrende Rückstand in der Retorte mit Wasser behandelt, löst sich zu einer purpurrothen trüben Flüssigkeit, aus welcher Aether beim Schütteln einen Körper aufnimmt, der neutral reagirt, beim Verdunsten des Aethers als bräunlicher, schwer und unvollkommen krystallisirender Syrup zurückbleibt. $3,15$ gr. gut gereinigtes Chlorophyllan gab $0,301$ gr. dieser Substanz ($9,55\%$). Ich habe die Untersuchung dieses Körpers, welcher nach der Prüfung mit Natrium etwas Stickstoff enthält, verschoben, weil die bis jetzt gewonnene Quantität desselben noch gering ist.

Wird die stark alkalische mit Aether ausgeschüttelte Flüssigkeit dann mit Schwefelsäure oder Salzsäure angesäuert

und wiederum mit Aether geschüttelt, so nimmt derselbe reichliche Quantitäten eines purpurrothen Farbstoffes auf, während die wässrige Flüssigkeit einen anderen mehr bläulich-purpurrothen Farbstoff nicht an den Aether abgibt und eine geringe Menge einer schwärzlichen harzigen Masse in beiden Flüssigkeiten ungelöst bleibt. Die Quantität der aus saurer Lösung durch Aether aufgenommenen nach Abdestilliren des Aethers getrockneten Substanz betrug von 3,15 gr. Chlorophyllan 1,947 gr. oder 61,8%. Da der in wässriger saurer Lösung zurückbleibende bläulich-purpurrothe Körper ein Zersetzungsproduct der in den Aether übergehenden purpurrothen Säure ist, wird die Quantität der bei Zersetzung des Chlorophyllan mit Aetzkali entstehenden in Aether löslichen Säure noch etwas höher, aber kaum über $\frac{2}{3}$ des Gewichts vom angewandten Chlorophyllan anzunehmen sein.

5. Die Dichromatinsäure.

Die in der angegebenen Weise aus der in Wasser gelösten Kalischmelze nach Ansäuern mit Salzsäure in Aether aufgenommene purpurrothe Säure verdient eine besondere Beachtung und eingehende Untersuchung, nicht allein weil sie das Hauptproduct der Einwirkung vom Aetzkali auf das Chlorophyllan ist, sondern auch wegen ihrer höchst merkwürdigen optischen Eigenschaften. Leider ist sie sehr zersetzlich, scheidet schon beim Verdunsten der ätherischen Lösung an der Luft an der Glaswandung einen violett-schwarzen, in Aether schwer löslichen Farbstoff ab, von dem unten noch die Rede sein wird, und krystallisirt beim Verdunsten der Lösung nur sehr unvollkommen.

Kocht man die Säure mit Alkohol und etwas Natriumcarbonatlösung zur Trockne ein und extrahirt den Rückstand mit absolutem Alkohol im Sieden, so erhält man eine prachtvoll purpurrothe, stark fluorescirende Lösung, bei deren Verdunstung ein purpurrother, in Wasser leicht löslicher Körper erhalten wird. Das in Wasser gelöste Natriumsalz wurde durch geringen Zusatz von Chlorbarium zunächst von etwaigen Spuren von Natriumcarbonat befreit, die filtrirte

Flüssigkeit dann mit Chlorbarium bis zur vollständigen Ausfällung versetzt, der amorphe, rothe Niederschlag warm abfiltrirt und mit Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat frei von Chlor war. Das rothe Bariumsalz erwies sich völlig unlöslich in Wasser, sehr wenig löslich in Aether, noch weniger in Alkohol. Getrocknet stellt es ein nicht besonders hygroscopisches, hellpurpurrothes Pulver dar, das erst weit über 100° schmilzt, bei gewöhnlicher Temperatur über Schwefelsäure getrocknet, durch Erhitzen bis 117° keinen Gewichtsverlust mehr erleidet. Beim Glühen einer Portion mit Natrium wurde kein Cyannatrium gebildet. Dies Barytsalz wurde im Luft- und Sauerstoffstrome im Platinschiffchen mit Kupferoxyd verbrannt und zur Sicherheit noch Kupferdrahtrollen vorgelegt, um etwaige Spuren von Stickstoffgehalt unschädlich zu machen. Die Analysen ergaben folgende Werthe:

I.	0,2038 gr. Substanz gab	0,4453 gr. CO_2
		0,1542 » H_2O
	Aus dem BaCO_3 im Schiffchen	0,0600 » BaSO_4 .
II.	0,2182 gr. Substanz gab	0,4833 » CO_2
		0,1670 » H_2O
	Aus dem BaCO_3 im Schiffchen	0,0632 » BaSO_4 .
III.	0,1839 gr. Substanz gab	0,4090 » CO_2
		0,1420 » H_2O
	Aus dem BaCO_3 im Schiffchen	0,0540 » BaSO_4 .

Die Substanz schäumte auch bei vorsichtiger Verbrennung im Schiffchen so hoch auf, dass stets ein kleiner Theil des Schaumes das Glasrohr berührte. Das Verbrennungsrohr wurde deshalb nach der Verbrennung und nach Herausnahme des Schiffchens an passender Stelle zerschnitten und das am Rohre haftende BaCO_3 theils mechanisch, theils durch Salzsäure abgelöst und zur Bariumbestimmung mit dem Inhalt des Schiffchens vereinigt, verwendet. Der Kohlenstoffgehalt des Bariumcarbonats ist aus dem gewogenen Bariumsulfat berechnet und zu dem im Uebrigen gefundenen Kohlenstoffgehalt addirt.

Die Verbrennung der Kohle war in allen Analysen eine vollständige.

Die erhaltenen analytischen Werthe führen zu der Zusammensetzung:



	berechnet	gefunden		
		I.	II.	III.
C	61,62	61,11	61,90	62,17
H	8,47	8,41	8,50	8,58
Ba	17,58	17,31	17,03	17,25
O	12,32			

Die Formel $(C_{21} H_{35} O_3)_2 Ba$ würde schon

C 62,45, H 8,67 Ba 16,98, O 11,89%

verlangen und sonach sich bereits ziemlich weit von den gefundenen Werthen entfernen. Es ist ausserdem wahrscheinlich, dass eine geringe Verunreinigung mit etwas bereits zersetzter Säure einen etwas zu hohen Kohlenstoffgehalt und entsprechend zu niedrigen Bariumgehalt finden liess.

Ich habe für diese Säure $C_{20} H_{34} O_3$ den Namen Dichromatinsäure wegen ihrer höchst interessanten optischen Erscheinungen gewählt und zwar wegen ihres zweifarbigen Fluorescenzlichtes. Sie ist ausgezeichnet in ihrer schön purpurrothen, in äusserster Verdünnung noch rosenrothen, ätherischen Lösung durch sehr schöne Spectralerscheinungen, wie ich ähnliche noch von keiner Substanz kenne. Die Untersuchung ihrer Einwirkungen auf das Licht wurden von mir ausgeführt mit einem grösseren Spectroscope, dessen Collimator und Fernrohr nur senkrecht zur optischen Axe geschnittene Quarzlinsen enthielten, während als Prismen entweder zwei Quarzprismen oder ein grosses Flintglasprisma von Steinheil benutzt wurden. Die schönen Absorptionerscheinungen, welche die Lösungen der Dichromatinsäure zeigen, sind aber auch mit jedem einfachen Spectroscope gut erkennbar. Die Messungen wurden durch beleuchtete Scala nach Kirchhoffs Methode und nur mit Sonnenlicht ausgeführt, so dass die Stellung der einzelnen Regionen des Spectrums durch die stärksten Frauenhofer'schen Linien auf die Scala über-

tragen werden konnten. Bei allen im Folgenden verzeichneten Angaben haben die in Betracht kommenden Linien folgende Stellung zur Scala:

$$\begin{array}{lll} B = 0 & D = 45 & b = 93-95 \\ C = 12 & E = 86 & F = 122. \end{array}$$

Die Lösungen befanden sich in Flaschen von quadratischem, horizontalen Querschnitt und waren sehr verdünnt, weil in concentrirten Lösungen die einzelnen Absorptionsstreifen bald zusammenfließen. In einer solchen Lösung wurden im durchfallenden Lichte folgende Absorptionen bestimmt.

Absorptionsstr.	I	21— 24	Scalentheile von B = 0 gerechnet.
»	II	26— 29	» » »
»	III	46— 59 ¹⁾	» » »
»	IV	69— 79	» » »
»	V	84— 89	» » »
»	VI	99—124	» » »

Das blaue Licht war dann gut sichtbar noch von 124 bis 184.

Zur Untersuchung des Fluorescenzlichtes in der Lösung wurde Sonnenlicht vom Heliostaten in das dunkle Zimmer auf eine Quarzlinse von ungefähr 12 Cm. Brennweite und 45 Mm. Oeffnung geworfen, der Lichtkegel in der Lösung erzeugt und unter Ablendung des Seitenlichtes das Spectroscop so aufgestellt, dass das Fluorescenzlicht unter 90° gegen die Richtung des einfallenden Sonnenlichtes in den Spalt des Spectroscopes eintrat. Das bei dieser Anordnung erhaltene Spectrum besteht aus zwei nahe bei einander stehenden ungefähr gleichbreiten durch einen schmalen, völlig dunkeln Zwischenraum getrennten rothen Lichtbändern.

Lichtband I 19—24 Scalentheile

» II 25--29 »

Vergleicht man die Stellung dieser Lichtbänder mit den im durchfallenden Lichte beobachteten Absorptionsbändern, so erkennt man sogleich, dass die Stellung des Absorptionsbandes I fast genau dem Lichtband I und

¹⁾ Besonders dunkel von 50—55.

Absorptionsband II ebenso dem Lichtband II entspricht, dass jedoch die Lichtbänder gegen den Anfang des Spectrum im Roth hin ein wenig verbreitert sind, so dass der dunkle Zwischenstreif zwischen den Fluorescenzlichtbändern etwas nach dem Anfang des Roth hin verschoben ist gegen den hellen Streif des Sonnenspectrums im durchfallenden Lichte zwischen den Absorptionsbändern I und II.

Dies Verhalten der Dichromatinsäure erhält ein erhöhtes Interesse durch ihre genetischen Beziehungen zum Chlorophyll, welches dieselbe Uebereinstimmung zwischen fluorescirendem und, im durchfallenden Lichte, absorbirten Lichte zeigt, wenn auch die Lage des Absorptionsstreifens und des Fluorescenzlichtes im Spectrum eine ganz andere ist als diejenige der Dichromatinsäure.

Es ist hiernach höchst wahrscheinlich, dass die bewegliche Atomgruppe im Chlorophyll, welche von Licht sehr verschiedener Wellenlänge zu den Schwingungen entsprechend B bis C im Spectrum veranlasst wird, nicht allein erhalten bleibt bei der Bildung des Chlorophyllan, sondern selbst beim Schmelzen des letzteren mit Aetzkali bei 200—250° nicht zerstört wird, dass dabei zwar Ammoniakbase und ein noch unbekannter, indifferenter Körper abgespalten werden, diese Atomgruppe aber in der stickstofffreien Dichromatinsäure erhalten bleibt, insofern aber eine Aenderung der Verhältnisse dieser Atomgruppe eintritt, als in genannter Säure die Schwingungsgeschwindigkeit der fluorescirenden Lichtarten zugenommen hat, entsprechend den Unterschieden der Wellenlängen im Spectrum zwischen B bis C einerseits, und ungefähr der Mitte zwischen C und D andererseits. Auch das fluorescirende Licht der Chlorophylllösung zeigt in seinem Spectrum eine Andeutung von Zerspaltung in zwei durch einen dunkeln Streifen getrennte Lichtbänder.

6. Zersetzungsprodukte der Dichromatinsäure.

Wie oben bereits erwähnt ist, zersetzt sich die Dichromatinsäure schon beim Verdunsten ihrer ätherischen

Lösung theilweise unter Abscheidung eines in Aether schwer löslichen, violett-schwarzen Körpers. Ich habe mir viel Mühe gegeben, diese Substanz, welche gleichfalls die Eigenschaften einer Säure zeigt, in Quantitäten zu gewinnen, die eine ausreichende Untersuchung gestatteten, doch bisher vergeblich; bei häufig wiederholter Lösung der Dichromatinsäure scheidet sich immer wieder etwas von dieser Substanz ab, aber ihre Menge ist stets gering. Sie kann in verdünnter Sodalösung gelöst, diese Lösung zur Trockene verdunstet und durch heissem Alkohol aus dem pulverisirten Rückstand eine schön roth fluorescirende Lösung der Natriumverbindung erhalten werden. Das Fluorescenzlicht der alkohol-ätherischen Lösung zeigt keine scharfe Trennung in zwei Lichtbänder, die Brechbarkeit dieser Lichtarten ist dieselbe wie in dem Lichte der Dichromatinsäure, während das gleichfalls keine Zertheilung in zwei Absorptionsstreifen zeigende Absorptionsband zwischen C und D im durchfallenden Lichte etwas weiter nach D hingerrückt ist. Die übrigen Absorptionsstreifen sind mit der Dichromatinsäure übereinstimmend. Die ätherische Lösung der nicht an Natrium gebundenen Substanz von schön rosenrother bis purpurrother Farbe zeigt die Absorptionsercheinungen der Dichromatinsäure, nur ist der Absorptionsstreif I viel dunkler als II, während die Dichromatinsäure das Gegentheil ergibt. Die Messungen im Spectrum ergaben die folgenden Werthe:

		Freie Säure in Aether, sehr verdünnt.	Natriumverbindung in Alkohol und Aether, nicht sehr verdünnt.
Absorptionsstreif	I	19 bis 24	} 23 bis 33
»	II	26 » 29	
»	III	45 » 56	45 » 64
»	IV	69 » 79	} 69 » 90
»	V	— » —	
»	VI	99 » 114	97 » 134
Blaues Licht	sichtbar	bis 184	bis 169
Lichtband	I	19 bis 24	lichtschwach,
»	II	24 » 29	lichtstark.

Der Absorptionsstreif der Dichromatinsäure V 84 bis 89 war in der Lösung des Zersetzungsproductes nicht zu erkennen, wohl wegen zu geringer Concentration.

Die sehr grosse Aehnlichkeit der Absorptionserscheinungen des Zersetzungsproductes mit denen der Dichromatinsäure hatte mich zuerst zu der Annahme geführt, dass die Dichromatinsäure ein Gemenge sei, welches sich in diesen Farbstoff und eine wahrscheinlich farblose Säure zerlegen lassen; alle Versuche die ich zur Trennung ausführte, ergaben aber, dass es sich nur um eine Zerlegung der Dichromatinsäure handelt.

Viel besser unterscheidet sich durch seine optischen, wie chemischen Eigenschaften ein anderes Zersetzungsproduct der Dichromatinsäure, welches stets in geringer Menge bei dem Zusatz überschüssiger Säure zur wässerigen Lösung einer Alkaliverbindung der Dichromatinsäure oder beim Schütteln des Barytsalzes mit Aether und verdünnter Salzsäure erhalten wird. Es ist oben schon der Löslichkeit dieses Körpers in wässriger Säure mit bläulicher Purpurfärbung Erwähnung gethan. Durch vorsichtige Neutralisation der Lösung am besten mit Barytwasser erhält man den Körper als bräunlichen, flockigen Niederschlag, der zu einer dunkelbraunen, fast schwarzen Masse mit etwas violetten Metallglanz trocknet.

Die bläulich-purpurrothe Lösung zeigt in ihren Lichtabsorptionsverhältnissen sehr auffallende Aehnlichkeit mit der aus Hämoglobin durch Einwirkung starker Säuren, reichlich aus Hämatin durch Säuren oder durch Reductionsmittel erhaltenen und unter dem Namen Haematoporphyrin von mir beschriebenen Substanz¹⁾; auch in ihrem fluorescirenden Lichte, das ich früher beim Hämatoporphyrin ausser Acht gelassen hatte, zeigt sich grosse Aehnlichkeit. Obwohl ich diesen Körper noch nicht in genügender Quantität rein habe erhalten können, möchte ich dies Zersetzungsproduct des Chlorophyll, um lange Umschreibungen zu vermeiden, mit dem Namen Phylloporphyrin bezeichnen und als vorläufige

¹⁾ Vergl. meine *physiol. Chemie*, Th. III, S. 393 u. 397, 1879.
Zeitschrift f. physiol. Chemie, IV.

Characteristik ausser den freilich ungenügenden obigen Angaben über das chemische Verhalten, seine optischen Verhältnisse in saurer Lösung beschreiben. Das Verfahren der Untersuchung und die Verhältnisse für die Messung, Stellung der Spectrallinien zur Scala waren die oben für die Dichromatinsäure geschilderten, die Concentration der salzsauren Lösung eine sehr geringe:

Absorptionsstreif I	33 bis	39
»	II	54 » 84
Blaues Licht sichtbar bis 199		
Fluorescirendes Lichtband	19	» 34

Die schon bei der Dichromatinsäure schwach erkennbare Verlangsamung der Schwingungsgeschwindigkeit des fluorescirenden Lichtes gegen das absorbirte Sonnenlicht ist bei der sauren Lösung des Phylloporphyrin sehr auffallend und doch scheint eine bestimmte Beziehung des Absorptionsstreifens I dieses Farbstoffs und seiner Fluorescenz zu den Absorptionsstreifen I und II der Dichromatinsäure und den ihnen entsprechenden Fluorescenzlichtbändern unverkennbar, so dass bei der weiteren chemischen Verwandlung des Chlorophyll die kräftige Absorption des Lichtes und das Fluorescenzlicht weiter und weiter im Spectrum nach dem Gelb hinrücken, mehr und mehr aber dabei die Schwingungsgeschwindigkeit des fluorescirenden Lichtes hinter der des absorbirten zurückbleibt.

Mit der weiteren Untersuchung der Zusammensetzung und Eigenschaften des Chlorophyllan und seiner Zersetzungsproducte bin ich beschäftigt.

In den Comptes rendus, T. 89, p. 861, Nr. 20, vom 17. Novbr. 1879 wurden von Herrn Gautier Eigenschaften und Zusammensetzung von Krystallen beschrieben, die er als Chlorophyllkrystalle bezeichnet und nach einer Methode erhalten hat, die meiner Ansicht nach eine reine Substanz nicht liefern kann, weil eine Beimengung von Wachs nicht wohl zu entfernen ist. Die von ihm angegebenen Charactere scheinen mir für ein Gemenge von Erythrophyll, Chlorophyllan und etwas Wachs zu sprechen; die angegebenen Be-

Beziehungen zu Gallenfarbstoff sind mir dagegen ganz unverständlich. Die einzige Notiz, welche Hr. Gautier vor dem Erscheinen meiner Arbeiten (in den Berichten der deutschen chemischen Gesellschaft 1879, Band XIII, Seite 1555 und in dieser Zeitschrift Bd. III, S. 339, erschienen am 1. September 1879) publicirt hat und die einzige, auf welche er selbst sich bezieht, im Bull. de la soc. chimique de Paris 1877, nouv. ser., T. XXVIII, p. 147, lautet: «M. Gautier présente en outre à la Société un échantillon de chlorophylle cristallisée et pure. C'est la première fois, qu'on obtient cette substance sous cette forme.» Diese Notiz, welche ganz im Unklaren lässt, was für Krystalle gemeint sind, da keine Angabe irgend welcher Eigenschaften gemacht ist, hat nicht einmal im Register des Bandes Erwähnung gefunden. Die Angabe der Darstellung und ersten Untersuchungen seines krystallisirten Chlorophyll hat Hr. Gautier mehrere Monate nach dem Erscheinen jener Arbeiten von mir publicirt. Seine analytischen Werthe stehen den von mir für das Chlorophyllan angegebenen nahe, im Uebrigen weichen die beschriebenen Eigenschaften von denen des Chlorophyllan ziemlich erheblich ab.

Ich habe aus den Nadeln von *Pinus picea*, aus den Blättern von *Yucca recurvata* und *gloriosa*, *Aucuba japonica* und grünem Winterkohl, aus letzterem mit viel Schwierigkeit, dasselbe Chlorophyllan krystallisirt erhalten wie früher aus Gramineen.
