

ISOLIERUNG UND NACHWEIS VON  
CANTHAXANTHIN IM KLEINEN FLAMINGO  
(*PHOENICONAIAS MINOR*)

H. THOMMEN UND H. WACKERNAGEL

*Abteilung für Vitamin- und Ernährungsforschung der Fa. F. Hoffmann-La Roche  
und Co. A.G. und Zoologischer Garten, Basel (Schweiz)*

(Eingegangen am 23. Juli 1962)

SUMMARY

*Isolation and identification of canthaxanthin in the lesser flamingo  
(*Phoeniconaias minor*)*

Canthaxanthin originally isolated from the mushroom *Cantharellus cinnabarinus*, is the main pigment in the feathers and the skin of the lesser flamingo *Phoeniconaias minor*.

A surprisingly high concentration of the carotenoid was detectable in the liver, minor amounts in the heart and kidneys. Oxygenated carotenoids can be produced by animals from the alimentary carotenes. This possibility is also discussed in the case of the lesser flamingo. But an uptake of the canthaxanthin with the food, mostly consisting of animal and plant microorganisms, has also to be considered. Smaller amounts of esterified astaxanthin and traces of  $\beta$ -carotene could also be found. The carotenoids were isolated by column and thin-layer chromatography, and identified by their ultraviolet absorption maxima in comparison with known synthetic reference substances.

EINLEITUNG

Carotinoide besitzen als natürlich vorkommende Farbstoffe bei Tieren und Pflanzen eine grosse Bedeutung<sup>1-6</sup>. Die technische Entwicklung der Säulen- und Dünnschicht-chromatographie während der letzten Jahre, sowie die Möglichkeit Carotinoide als Vergleichssubstanzen in grosser Auswahl zu synthetisieren, ermöglichen die Isolierung und Identifizierung einer Reihe von weniger häufig auftretenden Vertretern dieser Stoffklasse.

Die Beobachtung, dass in Gefangenschaft die gelbe und rote Gefiederpracht von Vögeln mit jeder Mauser mehr und mehr verblasst, führte zu eingehenden Studien der Futterzusammensetzung. Es war nicht überraschend, als einerseits in den Federn Carotinoide als gelbe und rote Pigmente nachweisbar waren<sup>7-12</sup> und andererseits mit dem Futterzusatz von Carotinoiden eine zunehmende Pigmentierung des Gefieders beobachtet werden konnte<sup>13</sup>.

Erst kürzlich gelang jedoch der Nachweis von Canthaxanthin in Vogelfedern<sup>2, 11</sup>. Das Canthaxanthin wurde ursprünglich aus dem Pfifferling *Cantharellus cinnabarinus* isoliert<sup>14</sup> und als 4,4'-Diketo- $\beta$ -carotin erkannt<sup>15</sup> (Fig. 1).

Vorallem in der Familie der Flamingos (*Phoenicopteridae*), deren Vertreter sich durch intensiv rotgefärbte Flügeldecken, Achselfedern und Beinhaut auszeichnen, scheint es das wichtigste rote Pigment zu sein<sup>3, 17, 18</sup>.

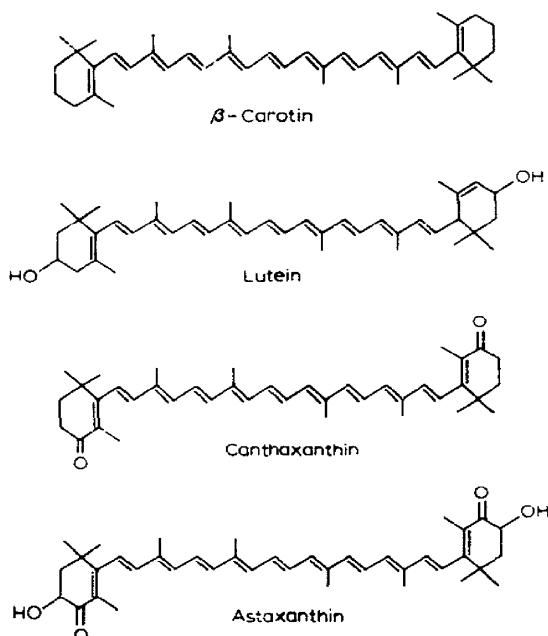


Fig. 1.

Aus einem Tiertransport aus Nakuru (Kenya) standen uns drei Vertreter des Kleinen Flamingos zur Verfügung\*, die kurz nach ihrer Ankunft starben (vermutlich ungünstige Fang- und Transporteinflüsse). Der Kleine Flamingo, der in Afrika südlich der Sahara, Madagaskar und Indien verbreitet ist, gelangt infolge seiner sehr spezialisierten Nahrungsansprüche selten in Tiergärten. Man schätzt seinen Gesamtbestand auf gegenwärtig drei Millionen, wonach er zahlenmäßig alle anderen Flamingo-Arten übertrifft. Die Lebensräume der Flamingos sind stark salzhaltige Seen. Die Vögel ernähren sich von mikroskopisch kleinen pflanzlichen und tierischen Organismen, die sie mit Hilfe ihrer an diese Nahrungsverhältnisse angepassten Schnäbel aufnehmen. Alle Arten besitzen feine Lamellen auf der Innenseite ihrer Schnäbel, mit deren Hilfe sie die Nahrung aus dem Wasser filtern. Beim Kleinen Flamingo sind diese Lamellen besonders fein, 45–50 werden pro cm gezählt, und bedecken die ganze Innenseite von Ober- und Unterschnabel. Seine Nahrungswahl richtet sich dementsprechend fast ausschliesslich auf mikroskopisch kleine Futterorganismen, unter welchen blaugrüne Algen und Diatomeen dominieren.

\* Wir möchten auch an dieser Stelle Herrn Dr. E. Lang, Direktor des Zoologischen Gartens Basel, bestens für die Überlassung des Tiermaterials danken.

## METHODEN UND ERGEBNISSE

*Untersuchung der Organe*

Die Organe wurden im Homogenisator mit Aceton homogenisiert. Die filtrierten Acetonextrakte wurden bei 40° in Stickstoffatmosphäre unter leichtem Vakuum zur Trockne gebracht und die Trockenrückstände in wenig Petroläther aufgenommen. Wir chromatographierten anschliessend an desaktiviertem Aluminiumoxyd (Aktivitätsstufe I mit 12 % Wasser, Gebr. Giulini, Ludwigshafen/Rhein). Die einzelnen Fraktionen wurden nötigenfalls auf der Kieselgelplatte (Kieselgel G, E. Merck, Darmstadt) aufgetrennt (Benzol-Aether-Methanol (85:10:5), Laufzeit: 30 Min.). Zum Streichen der Dünnschichtplatten verwendeten wir die Standardausrüstung der Fa. C. Desaga, Heidelberg. Die Identifizierung der Carotinoide erfolgte mittels Ultraviolet-Absorptionsmaxima (Spektralphotometer PMQ II der Fa. C. Zeiss, Oberkochen/Württemberg) und Dünnschichtchromatographie im Vergleich mit bekannten synthetischen Präparaten.

Wir beschreiben in der Folge die Aufarbeitung von Vogel 3, gestorben am 24.7.61.

*Niere*

Gewicht: 14.0 g. Acetonextrakt: 0.36 g, an 15.0 g Aluminiumoxyd + 12 % H<sub>2</sub>O chromatographiert (Tabelle I).

TABELLE I  
NIERE, VERTEILUNG DES ACETONEXTRAKTES AN ALUMINIUMOXID

Fraktion	Lösungsmittel	Volumen (ml)	Gewicht (g)	Farbe	Ultraviolet-Maxima (mμ)	
					Petroläther	CS <sub>2</sub>
1	Petroläther	80	0.05	Farblos	—	—
2	Petroläther-Benzol (7:3)	60	0.05	Orange	465	500
3	Petroläther-Benzol (1:1)	60	0.02	Gelborange	465	500
4	Benzol	40	0.01	Orange	465	500
5	Benzol-Äther	50	0.01	Blassorange	465	500
6	Äther	50	0.02	Blassorange	—	—
7	Methanol	50	0.11	Farblos	—	—

TABELLE II  
NIERE, ACETONEXTRAKT  
*R<sub>F</sub>*-Werte nach der Dünnschichtabtrennung.

Fraktion	<i>R<sub>F</sub></i> -Werte			
1				
2	0.4			
3	0.4	0.36		
4	0.4	0.36	0.26	0.2
5				0.2
6	0.4			
7				

Die einzelnen Fraktionen wurden auf der Dünnsschichtplatte aufgetrennt (Tabelle II).

Der  $R_F$ -Wert von 0.4 entspricht dem Canthaxanthin. Die beiden Fraktionen 3 und 4 wurden präparativ auf der Kieselgelplatte aufgetrennt. Die den  $R_F$ -Werten von 0.36, 0.26 und 0.2 entsprechenden Zonen geben dem Canthaxanthin ähnliche Ultraviolet-Absorptionsmaxima. Eine Identifizierung dieser Spurencarotinoide war nicht möglich. Ähnliche Verhältnisse liessen sich auch bei den übrigen Abtrennungen beobachten. In der Niere fanden wir insgesamt 200  $\mu\text{g}$  Canthaxanthin, neben 120  $\mu\text{g}$  ( $R_F$  0.36 = 20  $\mu\text{g}$ ,  $R_F$  0.26 = 80  $\mu\text{g}$ ,  $R_F$  0.2 = 20  $\mu\text{g}$ ) nichtidentifizierbaren Carotinoiden.

### Leber

Gewicht: 44.0 g, Acetonextrakt: 1.43 g. Der Acetonextrakt wurde während 12 Stunden in 75 ml Aether und 75 ml 10% methanolischer Kalilauge bei Zimmertemperatur und unter Stickstoff verseift. Unverseifbarer Anteil 0.53 g; verseifbarer Anteil 0.90 g.

Der verseifbare Anteil enthielt keine Carotinoide. Der unverseifbare Anteil von 0.53 g wurde an 25.0 g Aluminiumoxyd + 12%  $\text{H}_2\text{O}$  chromatographiert (Tabelle III).

TABELLE III

LEBER, CHROMATOGRAPHIE DES UNVERSEIFBAREN ACETONEXTRAKTES AN ALUMINIUMOXID

Fraktion	Lösungsmittel	Volumen (ml)	Gewicht (g)	Farbe	Ultraviolet-Maxima (mp)	
					Petroläther	$\text{CS}_2$
1	Petroläther	150	0.12	Gelborange	—	—
2	Petroläther-Benzol (7:3)	330	0.35	Rotorange	465	496/500
3	Petroläther-Benzol (1:1)	120	0.02	Orange	465	500
4	Benzol	100	0.01	Geiß	490	—
5	Benzol-Äther (9:1)	100	0.01	Gelb	—	—
6	Äther	80	0.02	Gelb	—	—
7	Methanol	100	0.13	Gelb	—	—

TABELLE IV

LEBER, UNVERSEIFBARER ANTEIL DES ACETONEXTRAKTES

$R_F$ -Werte nach der Dünnsschichtabtrennung

Fraktion	$R_F$ -Werte
1	—
2	0.65
3	0.68
4	0.68
5	—
6	—
7	—

Fraktion 1 (0.12 g) wurde ein zweites Mal chromatographiert (5.0 g Aluminiumoxyde + 12%  $\text{H}_2\text{O}$ ) (Tabelle V).

Aus den Fraktionen 2, 3 und 4 liessen sich 2050  $\mu\text{g}$  Canthaxanthin isolieren.

TABELLE V

LEBER, ZWEITE CHROMATOGRAPHIE VON FRAKTIION I DES UNVERSEIFBAREN ANTEILES  
DES ACETONEXTRAKTES

Fraktion	Lösungsmittel	Volumen (ml)	Gewicht (g)	Farbe	Ultraviolet-Maxima (mμ)	
					Petroläther	CS <sub>2</sub>
8	Petroläther	15	0.05	Gelb	452	480
9	Petroläther-Benzol (7:3)	10	0.02	Blassgelb	—	—
10	Petroläther-Benzol (1:1)	20	0.01	Rot	465	500
11	Benzol	15	0.01	Blassrosa	—	—
12	Äther	15	0.01	—	—	—

Fraktion 8 enthielt 80 µg β-Carotin.

### Herz

Gewicht: 10.3 g. Acetonextrakt: 0.21 g, an 10.0 g Aluminiumoxyd + 12 % H<sub>2</sub>O chromatographiert (Tabelle VI).

TABELLE VI

HERZ, CHROMATOGRAPHIE DES ACETONEXTRAKTES AN ALUMINIUMOXYD

Fraktion	Lösungsmittel	Volumen (ml)	Gewicht (g)	Farbe	Ultraviolet-Maxima (mμ)	
					Petroläther	CS <sub>2</sub>
1	Petroläther	35	0.02	Blassgelb	450-452	478-480
2	Petroläther-Benzol (7:3)	30	0.01	Gelb	—	—
3	Petroläther-Benzol (1:1)	40	0.02	Rot	462-465	495-500
4	Benzol	40	0.01	Orange	—	—
5	Äther	30	0.01	Blassgelb	—	—
6	Methanol	40	0.15	—	—	—

TABELLE VII

Herz, Acetonextrakt, R<sub>F</sub>-Werte nach der Dünnschichtabtrennung.

Faktion	R <sub>F</sub> -Werte
1	0.83
2	0.83
3	0.77
4	0.63
5	0.63
6	0.63

Aus dem Herz liessen sich 10 µg β-Carotin (inkl. Isomere; R<sub>F</sub> 0.83), sowie 215 µg Canthaxanthin (R<sub>F</sub> 0.63) isolieren.

### Flügelfedern

Aus den vom Kiel befreiten und feingeschnittenen roten Federn eines Flügels isolierten wir die Carotinoide auf zwei Arten. Es gelingt mit zehntägigem Einlegen der

Federn in eine gesättigte Lösung von Kaliumrhodanid etwa 50 % der Pigmente mit Methanol zu extrahieren. Eine totale Entfärbung erreichten wir jedoch erst nach kalter 24-stündiger Verseifung in Aether + 10 % methanolischer Kalilauge unter Rühren und in inerter Gasphase. Die Vorbehandlung mit Kaliumrhodanid gestattete den Nachweis von Astaxanthin, welches in veresterter Form vorliegt. Zur methodischen Vereinfachung führten wir bei späteren Isolierungen nur noch die alkalische Verseifung in Aether bei Zimmertemperatur durch, sodass das Astaxanthin als Astacin erfasst wurde.

3.5 g Federn wurden kalt verseift. 0.02 g Petrolätherextrakt chromatographierten wir an 2.0 g Aluminiumoxyd + 12 % H<sub>2</sub>O (Tabelle VIII).

Pro 1 g Federn waren 100 µg Canthaxanthin (*R<sub>F</sub>* 0.75) und 15 µg Astacim (*R<sub>F</sub>* 0.62, Schwanz) nachzuweisen.

TABELLE VIII

## FLÜGELFEDERN, CHROMATOGRAPHIE DES ACETONEXTRAKTES AN ALUMINIUMOXYD

Fraktion	Lösungsmittel	Volumen (ml)	Gewicht (g)	Farbe	Ultraviolet-Maxima (mµ)	
					Petroläther	CS <sub>2</sub>
1	Petroläther	20	0.01	—	—	—
2	Petroläther-Benzol	20	0.01	—	—	—
3	Benzol	30	0.01	Rotorange	465-470	500
4	Äther	60	0.01	Orange	465-468	500
5	Methanol	15	0.01	—	—	—
6	Essigsäure	50	0.01	Rotviolett	Nicht bestimmbar	

TABELLE IX

## FLÜGELFEDERN, ACETONEXTRAKT

*R<sub>F</sub>*-Werte nach der Dünnschichttauf trennung.

Fraktion	<i>R<sub>F</sub></i> -Werte
1	—
2	0.81
3	0.75
4	0.75
5	0.62
6	0.62

TABELLE X

## FLÜGELFEDERN, ACETONEXTRAKT AUF ALUMINIUMOXYD CHROMATOGRAPHIERT

Fraktion	Lösungsmittel	Volumen (ml)	Gewicht (g)	Farbe	Ultraviolet-Maxima (mµ)	
					Petroläther	CS <sub>2</sub>
1	Petroläther	30	—	Farblos	—	—
2	Petroläther-Benzol (7:3)	60	0.07	Orange	465-468	498-500
3	Benzol	60	0.03	Karminrot	465	498
4	Benzol-Äther (9:1)	50	0.01	Karminrot	465	498
5	Äther	50	0.01	Blassrosa	465	498-500
6	Methanol	60	0.08	Blassgelb	—	—

3.5 g Federn wurden während 15 Tagen in einer Lösung von 160 g Kaliumrhodanid in 100 ml Wasser bei Zimmertemperatur unter Stickstoff im Dunkeln aufbewahrt. Nach dem Abgiessen der Salzlösung, waschen mit Wasser und mildem Trocknen im Stickstoffstrom wurde mehrere Male mit Aceton ausgezogen. Der Acetonextrakt wog 0.26 g, die an 15.0 g Aluminiumoxyd + 12% H<sub>2</sub>O verteilt wurden (Tabelle X).

Fraktion 2 (*R<sub>F</sub>* 0.56 und 0.44) wurde auf der Kieselgelplatte präparativ aufgetrennt. Die Zone mit einem *R<sub>F</sub>*-Wert von 0.56 entsprach dem veresterten Astaxanthin. Die mit einem *R<sub>F</sub>*-Wert von 0.44 (0.45), resp. 0.36 laufenden Substanzen lagen nur in Spuren vor und waren nicht zu identifizieren. Dem Canthaxanthin entspricht der *R<sub>F</sub>*-Wert von 0.6. Canthaxanthin und Astaxanthinester lassen sich mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie voneinander trennen. Bei Behandlung mit Kaliumrhodanid konnten wir pro Gramm Feder 40 µg Canthaxanthin und 15 µg Astacin (als Astaxanthinester) nachweisen.

TABELLE XI  
FLÜGELFEDERN, ACETONEXTRAKT  
*R<sub>F</sub>*-Werte nach der Dünnschichtchromatographie

Faktion	<i>R<sub>F</sub></i> -Werte		
1	—		
2	0.56	0.44	
3	0.6	0.45	
4	0.6	0.45	0.36
5	0.6	0.45	0.36
6	—		

TABELLE XII  
BEINHAUT, ACETONEXTRAKT AUF ALUMINIUMOXYD CHROMATOGRAPHIERT

Fraktion	Lösungsmittel	Volumen (ml)	Gewicht (g)	Farbe	Ultraviolet-Maxima (mµ)	
					Petroläther	CS <sub>2</sub>
1	Petroläther	50	0.08	—	—	—
2	Petroläther-Benzol (7:3)	60	0.03	Rot	462-465	498-500
3	Benzol	150	0.03	Rot	465	498
4	Benzol-Äther (9:1)	50	0.01	Orange	465	498
5	Äther	40	0.01	Rosa	Nicht bestimbar	
6	Methanol	50	0.01	Blassgelb	—	—

TABELLE XIII  
BEINHAUT, ACETONEXTRAKT  
*R<sub>F</sub>*-Werte nach der Dünnschichtchromatographie

Faktion	<i>R<sub>F</sub></i> -Werte		
1	—		
2	0.9		
3	0.9	0.5	0.1
4			0.1
5		0.4	
6	—		

*Beinhaut*

Die Beinhaut eines Beines wurde abgezogen und bei 50° im Vakuumtrockenschrank getrocknet, anschliessend zerschnitten und mit Sand zerrieben. Die roten Pigmente liessen sich mit Aceton extrahieren.

Trockengewicht: 1.3 g. Acetonextrakt: 0.15 g, chromatographiert an 6.0 g Aluminiumoxyd + 12% H<sub>2</sub>O (Tabelle XII).

Fraktion 2 (*R<sub>F</sub>* 0.9) wurde in methanolischer Kalilauge bei Zimmertemperatur verseift, wobei das veresterte Astaxanthin in Astacin umgewandelt wurde.

Fraktion 3 wurde präparativ aufgetrennt, wobei eine Trennung des Astaxanthins (verestert) vom Canthaxanthin möglich war.

Pro Gramm Beinhaut fanden wir 290 µg Astaxanthinester, 110 µg Canthaxanthin und 10 µg Astacin, welch letzteres wahrscheinlich während der Aufarbeitung aus dem Astaxanthin entstanden ist.

Wir hatten Gelegenheit, drei Vögel auf ihren Carotinoidgehalt zu untersuchen. Die Ergebnisse sind in Tabelle XIV zusammengestellt.

TABELLE XIV  
CAROTINOIDGEHALT

Organ	Gewicht	$\beta$ -Carotin	Canthaxanthin	Astaxanthin
<i>Vogel 1 (gestorben am 7.7.61)</i>				
Leber	60.0 g	37 µg	370 µg	—
Herz	13.7 g	12 µg	82 µg	—
Niere	13.2 g	—	81 µg	—
Federn (Flügel)	—	—	70 µg/g Federn	1.5 µg/g
Beinhaut	—	—	535 µg/g Beinhaut	56 µg/g
<i>Vogel 2 (gestorben am 10.7.61)</i>				
Leber	34.0 g	100 µg	4340 µg	—
Herz	9.6 g	7 µg	176 µg	—
Niere	13.5 g	8 µg	350 µg	—
Federn (Flügel)	—	—	57 µg/g	19 µg/g
Beinhaut	—	—	266 µg/g	139 µg/g
<i>Vogel 3 (gestorben am 24.7.61)</i>				
Leber	44.0 g	80 µg	2050 µg	—
Herz	10.3 g	10 µg	215 µg	—
Niere	14.0 g	—	200 µg	—
Federn (Flügel)	—	—	100 µg/g	15 µg/g
Beinhaut	—	—	110 µg/g	300 µg/g

## DISKUSSION

Im Gefieder und in der Beinhaut des Kleinen Flamingos tritt, wie bei andern untersuchten Flamingoarten, Canthaxanthin neben Astaxanthin als rotes Pigment auf. Der von uns erstmals untersuchte Vogel ist zudem in der Lage, Canthaxanthin in der Leber in überraschend grossen Mengen zu speichern. Sogar in Niere und Herz lassen sich bedeutende Carotinoidmengen nachweisen. Bereits bei Eröffnung der Tiere fällt

die rotorange Färbung der Organe auf.  $\beta$ -Carotin tritt hinter dem Canthaxanthin und dem Astaxanthin stark zurück. Es darf deshalb postuliert werden, dass der Vogel in der Lage ist, kohlenwasserstoffartige Carotinoide, die mit der Nahrung aufgenommen werden, zu oxydieren (Fig. 2)

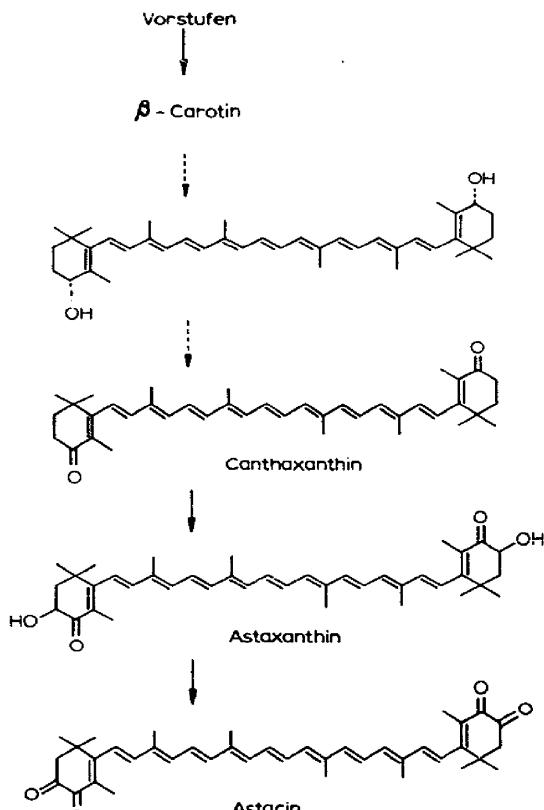


Fig. 2.

Ob dem Canthaxanthin nur die Bedeutung eines Farbstoffes zukommt, lässt sich mit unserer Arbeit nicht entscheiden. Ferner muss mit der Möglichkeit gerechnet werden, dass der Kleine Flamingo das Canthaxanthin ganz oder teilweise mit der Nahrung aufnimmt. Bekanntlich enthalten zahlreiche der im Wasser lebenden tierischen und pflanzlichen Mikroorganismen eine Reihe der verschiedenartigsten Carotinoide, wobei die Anwesenheit von Canthaxanthin nicht ausgeschlossen werden darf. Sicherlich stehen die grossen Carotinoid-Mengen, die wir isolieren und nachweisen konnten, auch im Zusammenhang mit den extremen Lebensbedingungen des Vogels.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Canthaxanthin, das ursprünglich im Pfifferling *Cantharellus cinnabarinus* gefunden wurde, findet sich als vorherrschendes rotes Pigment in den Federn und der Haut des kleineren Flamingos.

Eine ausserordentlich hohe Menge des Carotinoids liess sich in der Leber nachweisen. Canthaxanthin konnte auch im Herz und in den Nieren gefunden werden. Carotinoide, welche Sauerstoff-Funktionen enthalten, können vom Tier mit der Nahrung aufgenommen werden. Dies gilt auch für das Canthaxanthin, das unter Umständen in den tierischen und pflanzlichen Mikroorganismen, die einen wesentlichen Bestandteil der Nahrung des Flamingos darstellen, enthalten sein kann. Andererseits kann das Canthaxanthin auch als biologisches Umwandlungsprodukt des Vogels selbst angesehen werden.

In Spuren konnten wir  $\beta$ -Carotin und verestertes Astaxanthin isolieren. Neben der Säulen- wurde vor allem die Dünnschichtchromatographie angewandt. Ultraviolett-Absorptionsmaxima und synthetische Präparate dienten zur Identifizierung der gefundenen Carotinoide.

#### LITERATUR

- <sup>1</sup> P. KARRER UND E. JUCKER, *Carotinoide*, Birkhäuser, Basel, 1948.
- <sup>2</sup> T. W. GOODWIN, *The Comparative Biochemistry of the Carotenoids*, Chapman & Hall, London, 1952.
- <sup>3</sup> D. L. FOX, *Comparative Biochemistry of Photoreactive Systems*, Academic Press, New York, 1960.
- <sup>4</sup> A. WINTERSTEIN, *Angew. Chem.*, 72 (1960) 902.
- <sup>5</sup> A. WINTERSTEIN, *Chem. Ber.*, 93 (1960) 2951.
- <sup>6</sup> L. ZECHMEISTER, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe*, 18 (1960) 223.
- <sup>7</sup> D. L. FOX, *Nature*, 175 (1955) 942.
- <sup>8</sup> O. VÖLKER, *Naturwissenschaftl. Rundschau*, 265 (1955).
- <sup>9</sup> O. VÖLKER, *J. Ornithol.*, 99 (1958) 209.
- <sup>10</sup> O. VÖLKER, *Fortschr. Chem. org. Naturstoffe*, 18 (1960) 177.
- <sup>11</sup> O. VÖLKER, *Naturwissenschaften*, 48 (1961) 581.
- <sup>12</sup> O. VÖLKER, *J. Ornithol.*, 102 (1961) 430.
- <sup>13</sup> H. WACKERNAGEL, *The Avicultural Magazine*, 65 (1959) 20.
- <sup>14</sup> H. WACKERNAGEL, *Wissenschaftl. Veröffentl., Ges. Ernährung*, 9 (1962), im Druck.
- <sup>15</sup> F. HAXO, *Botan. Gaz.*, 112 (1950) 228.
- <sup>16</sup> F. J. PETRACEK UND L. ZECHMEISTER, *Arch. Biochem. Biophys.*, 61 (1956) 137.
- <sup>17</sup> L. BROWN, *The Mystery of the Flamingos*, Country Life Ltd, London, 1959.
- <sup>18</sup> A. W. JOHNSON, *Condor*, 60 (1958) 289.
- <sup>19</sup> A. W. JOHNSON, F. BEHN UND W. R. MILLIE, *Condor*, 60 (1958) 289.