

durch eine Säule von 2 g Aluminiumoxyd filtriert. Nach dem Umkrystallisieren aus Methanol und anschliessender Sublimation im Hochvakuum war der Schmelzpunkt konstant bei 182°.

$$[\alpha]_D = -44,2^{\circ} \text{ (c = 1,10 in Chloroform)}$$

3,780; 3,730 mg Subst. gaben 10,121; 9,999 mg CO<sub>2</sub> und 3,262; 3,266 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>34</sub> H <sub>54</sub> O <sub>6</sub>	Ber. C 73,08	H 9,74
	Gef. „ 73,07; 73,16	„ 9,66; 9,80%

Die Analysen wurden in unserer mikroanalytischen Abteilung (Leitung *Hs. Gubser*) ausgeführt.

Organisch-chemisches Laboratorium der  
Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

## 18. Über Chromatophoren.

### Reinigung und Analyse der Farbstoffträger aus Mohrrüben und Spinatblättern

von **Werner Straus.**

(29. XII. 41.)

Chromatophoren sind besonders differenzierte Bestandteile der Pflanzenzelle, in denen die Pigmente ihren Sitz haben. Grüne „Chloroplasten“ enthalten Chlorophyll, Carotin und Xanthophyll als gefärbte Substanzen. In den Chloroplasten findet die Assimilation des Kohlendioxyds der Luft unter dem Einfluss des Lichtes statt. Die roten oder rotgelben „Chromoplasten“ verdanken ihre Farbe Carotinoiden.

Die Chromatophoren werden nie in der Zelle neu gebildet, sondern vermehren sich durch Teilung. Sie führen also bis zu einem gewissen Grade ein autonomes Leben in der Zelle<sup>1)</sup>.

Zentrifugiert man wässrige Pflanzenextrakte aus gefärbten Pflanzenteilen in der Ultrazentrifuge, so besitzen grün und gelb gefärbte Sedimente fast immer konstante Sedimentationsgeschwindigkeit und weisen scharfe Sedimentationsgrenzen auf. Diese Eigenschaften lassen einen hohen Grad molekularer Homogenität erkennen<sup>2)</sup>.

In der folgenden Arbeit wird versucht, Chromatophoren als mikroskopisch erkennbare Strukturen abzutrennen, zu reinigen, und sodann ihre chemische Zusammensetzung zu prüfen. Die mikroskopische Beobachtung bildet ein wichtiges Hilfsmittel zur Verfolgung des Reinigungsprozesses.

<sup>1)</sup> *M. Hartmann*, Allgemeine Biologie (1933), S. 83.

<sup>2)</sup> *R. W. G. Wyckoff*, Ergebn. Enzymforschung **8**, 11 (1939).

## I. Die Farbstoffträger der Mohrrüben.

Es ist bekannt, dass der Farbstoff der Karotten — das Carotin — in Form kleiner Kryställchen in den Karotten vorkommt. In der Tat kann man in einem Karottenschnitt unter dem Mikroskop rote Kryställchen beobachten. Wie die folgenden Versuche jedoch zeigen werden, macht das in Krystallform vorliegende Carotin nur einen kleinen Teil des gesamten in der Mohrrübe enthaltenen Carotins aus.

Um das Karottenpigment in seinem natürlichen Zustand zu untersuchen, geht man am besten von einem Karottensaft aus. Die in dieser Arbeit verwendeten Säfte wurden so erhalten, dass die Karotten auf einem Reibblech kleingeschabt, der entstehende Brei durch ein Tuch gepresst, und der ablaufende Saft zur Entfernung gröberer Bestandteile  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde bei 3000 Touren/Minute zentrifugiert wurde.

Betrachtet man einen Tropfen des rotgelben Saftes im Mikroskop, so fallen zahlreiche winzige Körnchen auf, die sich in lebhaftester Bewegung befinden. Die Körnchen erscheinen farblos. Man ist versucht, sie für Bakterien zu halten. Nun besitzen diese Teilchen aber Eigenschaften, welche sie als Träger des Carotins erkennen lassen. Sie sind empfindlich gegenüber Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration. Bei schwachem Ansäuern auf  $p_H \sim 4,5$  agglutinieren sie. Verfolgt man die Agglutination mikroskopisch, so beobachtet man die Zusammenballung der winzigen Körnchen zu nun deutlich rot gefärbten Haufen. Noch besser lässt sich die Säureempfindlichkeit im Reagenzglas sehen. Säuert man den Karottensaft schwach an, so beginnt innerhalb weniger Minuten die Ausflockung eines roten Sedimentes, das sich nach einiger Zeit am Boden absetzt. Die überstehende Flüssigkeit ist farblos. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Sedimentes stellt man wieder unzählige zu roten Agglomeraten zusammengeballte winzige Körnchen fest.

### Reinigung.

Das Ansäuern des Karottensaftes bis zum isoelektrischen Punkt der Farbstoffträger, d. h. derjenigen Wasserstoffionenkonzentration, bei der die Farbstoffträger ausflocken, gestattet die Abtrennung von den übrigen Bestandteilen des Saftes. Das abzentrifugierte noch feuchte Sediment löst sich in schwachen Alkalien wieder glatt auf. Beim Behandeln des Sedimentes mit Wasser tritt noch keine Lösung ein, so dass sich das Chromatophoren-Sediment mit Wasser auswaschen lässt.

Folgender Reinigungsgang wurde angewendet: Der durch halbstündiges Zentrifugieren bei 3000 Touren/Minute von Zellresten und sonstigen groben Partikeln befreite Karottensaft wird tropfenweise

mit verdünnter Essigsäure bis zum Ausflocken der gefärbten Substanz versetzt ( $p_H \sim 4,5$ ). Diese wird abzentrifugiert und auf der Zentrifuge mit destilliertem Wasser gewaschen. Sodann wird das Sediment in 0,05-proz. Ammoniakwasser aufgenommen, indem man es kurze Zeit mit der Ammoniaklösung schüttelt. Nun wird die ammoniakalische Lösung des Sedimentes eine halbe Stunde bei 3000 Touren/Minute zentrifugiert, um noch geringe Mengen ungefärbter Beimengungen, sowie solcher Partikel, die nicht in 0,05-proz. Ammoniakwasser löslich sind, zu entfernen. Von dem meist geringfügigen Sediment wird abgegossen, und die Farbstoffträger werden erneut mit verdünnter Essigsäure ausgeflockt. Das Umfällen und Auswaschen kann beliebig oft wiederholt werden, ohne dass die gefärbte Substanz eine erkennbare Veränderung erfährt.

### Eigenschaften.

Die Lösungen der gereinigten Farbstoffträger in 0,05-proz. Ammoniakwasser besitzen orangegelbe bis purpurrote Farbe. Bei Betrachtung im *Zeiss*-Spektroskop erkennt man ein scharfes Absorptionsspektrum mit drei im sichtbaren Gebiet gelegenen Absorptionsbändern. Ihre Maxima liegen bei  $537\text{ m}\mu$ ,  $490\text{ m}\mu$  und  $455\text{ m}\mu$ .

Die Lösungen fluoreszieren hellgrün unter der Quarzlampe.

Die Chromatophoren-Lösungen zeigen Strömungsdoppelbrechung: beim Schütteln tritt starke Schlierenbildung auf.

Mit Äther lässt sich der Lösung kein Pigment entziehen. Doch erfolgt bei kräftigem Schütteln ein Farbumschlag von Rot nach Gelb. Nach Zusatz von etwas Alkohol geht das Pigment in die ätherische Schicht über.

Ammoniumsulfat fällt die Farbstoffträger als rote Flocken aus.

### Chemische Analyse.

Aus einem zentrifugierten Karottensaft wurden die Farbstoffträger mit verdünnter Essigsäure ausgeflockt und nach dem beschriebenen Reinigungsgang viermal umgefällt. In Proben der ersten Ausfällung, sowie der zweiten und vierten Umfällung (= dritte und fünfte Ausfällung) wurde der Stickstoffgehalt und das Ätherlösliche („Lipoide“) bestimmt. Vor dem Trocknen im Exsikkator waren die Sedimente viermal mit destilliertem Wasser auf der Zentrifuge ausgewaschen worden.

Die Stickstoffbestimmung geschah nach *Kjeldahl* im Halbmikroverfahren (zur Analyse gelangende Substanzmengen 30 bis 100 mg). Zur Analyse der Lipoide wurden 90—100 mg des Sedimentes im Mikro-Extraktionsapparat 6 Stunden mit absolutem Alkohol, sodann 3 Stunden mit wasserfreiem Äther extrahiert, der getrocknete Rohextrakt mit wasserfreiem Äther aufgenommen und nach Fil-

trieren der ätherischen Lösung deren Rückstand zur Wägung gebracht.

	N	„Eiweiss“ (N $\times$ 6,25)	„Lipoide“
Erste Ausfällung. . . .	9,1%	56,9%	34,4%
Zweite Umfällung . . .	9,6%	60,0%	36,4%
Vierte Umfällung . . .	8,9%	55,6%	37,4%

Nun wurde ein anderes Karottensaft-Sediment bereitet und achtmal durch Umfällen und Zentrifugieren wie oben gereinigt. Die Stickstoffanalyse ergab 10,2 % Stickstoff (= 63,4 % „Eiweiss“).

Wie aus den Analysen hervorgeht, zeigen die Analysenwerte Schwankungen, die ausserhalb der Fehlergrenze liegen<sup>1)</sup>. Wahrscheinlich ist dies durch die weiter unten beschriebene morphologische Uneinheitlichkeit der Chromatophoren-Sedimente bedingt. Auf Grund dieser ersten Versuchsserie kann also noch nicht entschieden werden, ob und nach welcher Reinigungsstufe Konstanz der Analysenwerte eintritt. Es müssen weitere Versuche vorgenommen werden, bei denen jede einzelne Reinigungsstufe und auch die bei der Reinigung abfallenden gefärbten Fraktionen chemisch und nach den unten beschriebenen morphologischen Gesichtspunkten analysiert werden müssen.

### Morphologische Differenzierung.

Eine Lösung der oben erwähnten achten Umfällung (Stickstoffgehalt 10,2 %) wurde unter Ölimmersion genauer mikroskopisch beobachtet. Es waren ausschliesslich rote Elemente sichtbar. Etwa folgende, sich immer wiederholende Strukturen können unterschieden werden:

1. Kleinste Körnchen  
Durchmesser etwa 0,5  $\mu$
2. Kurze gerade Stäbchen  
Länge 2—4  $\mu$ ; Breite etwa 0,7  $\mu$
3. Mittलगrosse, stark gekrümmte Stäbchen  
Länge 5—8  $\mu$ ; Breite etwa 0,7  $\mu$
4. Plumpe gerade Stäbchen, „röhrenartig“  
Länge 8—12  $\mu$ ; Breite etwa 1,5  $\mu$
5. Lange Fäden, kommaförmig oder spiralig gekrümmt  
Länge 10—15  $\mu$ ; Breite etwa 0,7  $\mu$

Vereinzelt wurden auch winzige rote Kryställchen festgestellt. Alle Elemente befinden sich in lebhaftester Bewegung.

Die unter 1 genannten Körnchen sind es, die bei der mikroskopischen Betrachtung von Karottensäften besonders auffallen und oben bereits erwähnt wurden.

<sup>1)</sup> Da die zur Verfügung stehende Analysenwage nicht sehr genau ist, liegt die Fehlergrenze nicht unter 3—5%.

Es soll versucht werden, die verschiedenen Farbstoffträger der Karotte voneinander zu trennen, um dann ihre chemische und biologische Natur einzeln zu untersuchen.

## II. Die Farbstoffträger der Spinatblätter.

Die mikroskopische Betrachtung eines Mohrrübenschnittes lässt die im Saft beobachteten winzigen Körnchen in der Pflanzenzelle selbst erkennen. Bei der Untersuchung eines Karottenschnittes, der sich bis in den inneren noch grünen Teil einer Mohrrübe erstreckte, konnten deutlich grüne Körnchen in den Zellen wahrgenommen werden.

Aus mehreren Mohrrüben wurden die inneren noch grünen Teile herausgeschnitten und aus ihnen durch Zerreiben und Auspressen etwas grüner Saft gewonnen. Nach Zentrifugieren (zur Entfernung grober Bestandteile) wurde mit verdünnter Essigsäure auf  $p_H \sim 4,5$  angesäuert. Es erfolgte die Ausflockung eines grünen Sedimentes, das sich unter dem Mikroskop als Agglomerat winziger grüner Körnchen erwies. In 0,05-proz. Ammoniaklösung war das Sediment wieder löslich.

Die Analogien zwischen roten und grünen Chromatophoren waren der Anlass, auch die grünen Farbstoffträger in die Untersuchung einzubeziehen.

Wie uns Herr Prof. *Chodat* erklärte, handelt es sich bei den grünen Körnchen um die sog. Grana, Bestandteile der Chloroplasten.

Zur Gewinnung grüner Chromatophoren wurden Spinatblätter nach Entfernung der Mittelrippen und Waschen mit Wasser durch die Fleischmaschine zerkleinert, im Mörser zerrieben, und der Brei sodann in einer kleinen Handpresse durch ein Tuch gepresst. Durch Ausziehen des Pressrückstandes mit Wasser kann weiterer Saft gewonnen werden.

Die Abtrennung und Reinigung der Farbstoffträger aus Blatt-extrakten geschieht auf gleiche Weise wie für die Karottensäfte beschrieben wurde: Ausfällen mit verdünnter Essigsäure, Auswaschen des abzentrifugierten Sedimentes mit Wasser, Wiederaufnahme und halbstündiges Zentrifugieren in 0,05-proz. Ammoniaklösung, Ausfällen mit Essigsäure usw.

Bei der Herstellung des Präparates, dessen Analysenwerte weiter unten mitgeteilt werden, war auf jeder Reinigungsstufe eine zusätzliche Waschung mit 0,002-proz. Ammoniaklösung eingeschaltet worden, bevor die Wiederauflösung in 0,05-proz. Ammoniak erfolgte. Die Alkalinität des 0,002-proz. Ammoniakwassers reicht zur Lösung der Farbstoffträger noch nicht aus, ermöglicht also deren Auswaschen in schwach alkalischem Milieu. Die zusätzliche Waschung mit 0,002-proz. Ammoniakwasser dürfte die Reinigung der Sedimente etwas beschleunigen. Doch kann sie auch unterbleiben, da ein be-

deutenderer Unterschied zwischen den nur mit Wasser und den zusätzlich mit 0,002-proz. Ammoniaklösung gewaschenen Sedimenten nicht feststellbar war.

Aus 1 kg Spinat wurden 2,1 g gereinigte Chromatophoren erhalten. Diese Zahl soll nur die Grössenordnung der Ausbeute angeben, denn durch fortgesetzte Extraktion des noch stark grün gefärbten Pressrückstandes hätten leicht weitere Mengen gewonnen werden können.

### Eigenschaften.

Die ammoniakalische Lösung der gereinigten Farbstoffträger besitzt ein Chlorophyllspektrum mit Maximum des Hauptbandes bei 676 m $\mu$ . Die Lösungen fluoreszieren rot unter der Quarzlampe.

Beim Schütteln der Lösungen tritt nur eben wahrnehmbare Schlierenbildung auf; die Strömungsdoppelbrechung ist also gering. Hier zeigt sich ein Unterschied zwischen den Chromatophorenlösungen aus Spinatblättern und denen aus Mohrrüben. Wie aus dem Folgenden hervorgehen wird, ist dieser Unterschied der Ungleichheit der in beiden Fällen in Lösung vorhandenen Strukturen zuzuschreiben.

Äther entzieht der Lösung keine Spur der Pigmente (Chlorophyll, Xanthophyll und Carotin). Nach Alkoholzusatz färbt sich der Äther sofort an.

Ammoniumsulfat fällt die Farbstoffträger aus.

### Chemische Analyse.

Ein sechsmal durch Umfällen wie üblich gereinigtes Chromatophorensediment wurde auf jeder Reinigungsstufe auf Stickstoffgehalt und Lipoidgehalt analysiert. (Ausführung der Analysen wie beim Karottensediment angegeben. Von der vierten und sechsten Reinigungsstufe wurden keine Lipoidanalysen gemacht, da versehentlich zu wenig Sediment zurückbehalten wurde (70—100 mg). Dieses wurde ganz zur Stickstoff-Bestimmung verwendet.) Die Sedimente waren vor dem Trocknen einmal mit 0,002-proz. Ammoniaklösung und viermal mit destilliertem Wasser auf der Zentrifuge gewaschen worden.

	N	N $\times$ 6,25	„Lipoid“
Erste Ausfällung. . . .	11,6%	72,5%	23,1%
Erste Umfällung . . .	11,1%	69,4%	24,7%
Zweite Umfällung . . .	12,1%	75,6%	24,3%
Dritte Umfällung . . .	11,8%	73,8%	
Vierte Umfällung . . .	12,0%	75,0%	24,6%
Fünfte Umfällung . . .	11,9%	74,4%	
Sechste Umfällung . . .	12,1%	75,6%	24,3%

Die Zusammensetzung der Sedimente wird also nach zweimaliger Umfällung konstant. Der durchschnittliche Stickstoffgehalt beträgt dann 12,0 %, der Lipoidgehalt 24,4 %. Zur Kontrolle dieses Befundes wurde aus Spinatblättern ein neues Chromatophorenpräparat bereitet und als Stichprobe die fünfte Reinigungsstufe auf Stickstoff analysiert. Die Analyse ergab 12,2 % Stickstoff, also innerhalb der Fehlergrenze den konstanten Wert. (Die Umfällungen waren bei diesem Präparat nur mit destilliertem Wasser, nicht wie vorher auch noch mit 0,002-proz. Ammoniaklösung gewaschen worden.)

Bei der Bestimmung der Lipoide blieben nach Extraktion der Sedimente mit Alkohol und Äther die Rückstände am Schluss immer noch schwach grün gefärbt zurück. Ein Bruchteil des Chlorophylls oder seiner Umwandlungsprodukte liess sich demnach den Sedimenten mit Alkohol und Äther nicht entziehen.

Ein kleiner Teil des Stickstoffs der Präparate entfällt auf das Chlorophyll. Eine Ziffer für den Eiweissgehalt kann daher erst errechnet werden, wenn die Analyse der Pigmente vorgenommen worden ist.

### Mikroskopische Prüfung.

Die mikroskopische Prüfung der mehrfach umgefällten Spinatblatt-Chromatophoren in schwach ammoniakalischer Lösung ergab, dass nur eine einzige Strukturart vorkommt, nämlich die Grana von etwa  $0,5 \mu$  Durchmesser. Stäbchen, wie sie bei den Karottensedimenten auftreten, wurden nicht festgestellt.

### III. Besprechung.

Das bekannte Vorkommen von Carotinkrystallen in Mohrrüben, von welchem Abbildungen in zahlreichen botanischen und biologischen Lehrbüchern Kenntnis geben, dürfte bisher das Interesse von einer eingehenderen Untersuchung des natürlichen Zustandes des Mohrrübenpigmentes abgelenkt haben. Doch hat schon *v. Wisselingh*<sup>1)</sup>, der die morphologischen Veränderungen der Carotinoidteilchen zahlreicher Pflanzenzellen unter dem Einfluss chemischer Reagenzien prüfte, an der Krystallnatur der in der Karotte beobachteten Strukturen gezweifelt. In jüngster Zeit stellen *R. Kuhn* und *H. J. Bielig*<sup>2)</sup> auf Grund des Verhaltens eines Karottensaftes gegenüber Invertseifen fest, dass das Carotin der Karotte — ebenso wie das Chlorophyll des Blattes — als sog. Symplex, d. h. an hochmolekulare Träger-substanzen gebunden, vorliegen muss.

*P. Karrer* und *W. Straus*<sup>3)</sup> hatten berichtet, dass kolloidales Carotin verschiedenen Dispersitätsgrades in Anwesenheit von Albumin Chromoproteid-Charakter annimmt und auch bei Gegenwart

<sup>1)</sup> *C. van Wisselingh*, *Flora* **107**, 381 (1915).

<sup>2)</sup> *R. Kuhn*, *H.-J. Bielig*, *B.* **73**, 1080 (1940).

<sup>3)</sup> *P. Karrer*, *W. Straus*, *Helv.* **21**, 1624 (1938).

von Lecithin diesen Charakter beibehält. An anderer Stelle<sup>1)</sup> hatten wir auf Grund des optischen Verhaltens von Modellösungen eines Karottensaftes in der Karotte eine enge Beziehung zwischen Carotin und Lecithin (oder ähnlichen Substanzen) angenommen. Die Frage, ob die Karottenteilchen ausser Lecithin auch Eiweiss enthalten, musste damals offen gelassen werden, da Eiweiss wohl die Löslichkeitseigenschaften, aber nicht die optischen Eigenschaften des Carotins in den Modellösungen beeinflusste. Wie aus den Untersuchungen an Modellösungen hervorgeht, können die Eigenschaften des Farbstoffes in Lösungen nicht darüber Auskunft geben, ob in der Lösung kolloidales Carotin bei Anwesenheit von Eiweiss und Lipiden vorkommt, oder ob das Carotin in einem definierten Komplex (oder „Symplex“) konstanter Zusammensetzung gebunden ist. Eine Entscheidung hierüber ist nur durch die Isolierung des Komplexes herbeizuführen, wie sie in der vorliegenden Arbeit in Angriff genommen wurde.

Die Untersuchung hat also ergeben, dass das Carotin in der Karotte grösstenteils in charakteristischen Strukturen von Körnchen- oder Stäbchenform lokalisiert ist, welche ausser dem Pigment noch Eiweiss und Lipide enthalten. Der Eiweissgehalt der Farbstoffträger liegt bei 60 %, der Lipoidgehalt bei 35 %. Der genaue Prozentsatz kann erst angegeben werden, wenn konstante Analysenziffern erhalten wurden.

Die isolierten Farbstoffträger der Karotten sind im Aussehen Bakterien täuschend ähnlich. Ihre Beweglichkeit überschreitet die *Brown'sche* Molekularbewegung und muss als Eigenbewegung bezeichnet werden. Auch sei an die in der Einleitung erwähnte Eigenschaft der Chromatophoren erinnert, sich durch Zweiteilung zu vermehren. Die Möglichkeit, dass die Chromatophoren Bakterien- oder Virus-ähnlichen Charakter besitzen, ist sehr überraschend. Es müssen weitere Versuche abgewartet werden, ehe Genaueres darüber ausgesagt werden kann.

Enge Verwandtschaft dürfte zwischen den Farbstoffträgern der Karotte und dem Pigment der Netzhaut, dem Sehpurpur, bestehen. Hierüber soll später berichtet werden, wenn die Eigenschaften der Pigmente in den gereinigten Farbstoffträgern qualitativ und quantitativ näher gekennzeichnet worden sind. Es sei hier nur die Untersuchung von *E. Broda*, *C. Goodeve*, *R. Lythgoe* und *E. Victor*<sup>2)</sup> erwähnt, nach welcher der isoelektrische Punkt des Sehpurpurs bei  $p_H = 4,47$  liegt. Der isoelektrische Punkt der Karotten-Chromatophoren befindet sich in der gleichen Gegend.

---

<sup>1)</sup> *W. Straus*, Diss. Zürich 1939, S. 66.

<sup>2)</sup> *E. E. Broda*, *C. F. Goodeve*, *R. I. Lythgoe*, *E. Victor*, *Nature* **144**, 709 (1939).



W. Menke<sup>1)</sup> hat in Chloroplastenpräparaten nach Herauswaschen des Chlorophylls das Carotinspektrum mit Maxima bei 540 m $\mu$  und 490 m $\mu$  beobachtet. Die gleichen Maxima besitzen die gereinigten Farbstoffträgerlösungen der Karotten. Die Übereinstimmung der Spektren des Carotins in Chloroplasten und Karotten macht die Ähnlichkeit oder Gleichheit des Zustandes in beiden Fällen wahrscheinlich.

Anders wie die Chromatophoren-Sedimente der Karotten, enthielten die oben beschriebenen Grana-Sedimente der Spinatblätter nur eine einzige Strukturart. Die Analysen zeigten das Vorliegen eines definierten Komplexes mit konstantem Stickstoffgehalt (12,0 %) und konstantem Lipoidgehalt (24,4 %).

In der Literatur sind zahlreiche durch Ausfällung oder Zentrifugieren gewonnene Chloroplastenpräparate beschrieben worden. Doch ist ein Vergleich mit den in der vorliegenden Arbeit erhaltenen Präparaten meist nicht möglich, da die Fraktionen der anderen Autoren entweder ganze Chloroplasten — also viel grössere Strukturen als die Grana — enthielten, oder mitgerissene Fremdsubstanzen, die nicht entfernt werden konnten. W. Menke<sup>2)</sup> trennte aus Spinatblättern „Chloroplastensubstanz“ durch Hitzekoagulation und Ammoniumsulfatfällung ab. Diese Fraktionen scheinen noch recht unrein gewesen zu sein. Menke wandte auch schon die Methode der Ausfällung mit verdünnter Säure beim isoelektrischen Punkt der Farbstoffträger an. Menke's so gewonnene Fraktion enthielt 9,2 % Stickstoff und 29,7 % Lipide. Vergleicht man diese Zahlen mit der oben angeführten „ersten Ausfällung“ mit 11,6 % Stickstoff und 23,1 % Lipiden, so erkennt man, dass allein das Auswaschen mit 0,002-proz. Ammoniaklösung und mit destilliertem Wasser ziemlich viel Fremdstoffe entfernt haben muss.

A. Stoll, der die Erkenntnisse über Bindung und Zustand der Pigmente in den Chloroplasten in entscheidender Weise gefördert hat, konnte den natürlichen „Chloroplastin“-Komplex isolieren. Nach A. Stoll, E. Wiedemann und A. Ruegger<sup>3)</sup> enthält der Komplex:

68,7% Eiweiss,  
21,6% ungefärbte Lipide und  
8,0% Pigmente (Chlorophyll, Xanthophyll, Carotin).

Ein genauerer Vergleich des Chloroplastins mit unserem Präparat ist erst möglich, wenn wir den Pigmentgehalt unseres Präparates bestimmt haben werden. Doch lässt sich schon erkennen, dass sich Eiweiss- und Lipoidgehalt in beiden Fällen recht nahe kommen. Stoll's Chloroplastin scheint etwas reicher an Lipiden (ungefärbte

<sup>1)</sup> W. Menke, Naturw. 23, 31 (1940).

<sup>2)</sup> W. Menke, Z. Botan. 32, 273 (1937).

<sup>3)</sup> A. Stoll, E. Wiedemann, A. Ruegger, 121. Jahresversammlung d. Schweiz. Naturf. Ges., Basel, 6.—8. Sept. 1941.

Lipoide + Pigmente) und ärmer an Eiweiss zu sein als die isolierten Grana-Sedimente.

Die Löslichkeit der gereinigten Chromatophoren in schwachen Alkalien besteht nur in feuchtem Zustand. Durch Trocknen werden die Präparate unlöslich, also denaturiert. Hieraus darf auf eine wichtige Rolle der Wassermolekeln beim strukturellen Aufbau der Chromatophoren geschlossen werden.

Die Analyse der isolierten Chromatophoren soll weitergeführt und sodann das Verhalten der Farbstoffträger vom physiologischen Gesichtspunkt aus geprüft werden. Vielleicht ergibt die In-Vitro-Untersuchung der Chromatophoren neue Einblicke in die Funktion dieser Strukturen in der Zelle.

Herrn Prof. Dr. F. Chodat bin ich für wertvolle Anregungen und die Förderung dieser Arbeit zu grösstem Dank verpflichtet.

Genf, Botanisches Institut der Universität.  
Laboratorium für Chemie und Mikrobiologie.

## 19. Veilchenriechstoffe.

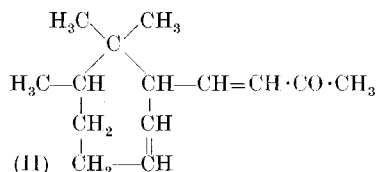
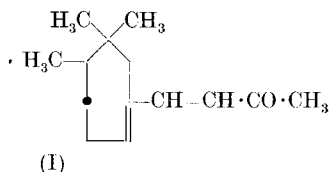
(12. Mitteilung <sup>1)</sup>).

### Über den Abbau des Irons mit Ozon und Chromsäure

von L. Ruzicka, C. F. Seidel, H. Schinz und M. Pfeiffer.

(29. XII. 41.)

In verschiedenen früheren Abhandlungen wurden zur Diskussion gewisser bei der Untersuchung des Irons erhaltener Resultate die Formeln I<sup>2)</sup> bzw. II<sup>3)4)</sup> benützt. In dieser Arbeit teilen wir die Resultate des Ironabbaus durch Ozon und Chromsäure mit, die zur Aufstellung dieser beiden Formeln geführt haben. In einer kürzlichen Mitteilung<sup>4)</sup> wurde über das Absorptionsspektrum des Irons berichtet, auf Grund dessen eine eindeutige Entscheidung zu Gunsten der Formel II gefällt werden konnte.



<sup>1)</sup> 11. Mitt. Helv. **24**, 1434 (1941).

<sup>2)</sup> Auf Grund einer Privatmitteilung zuerst mitgeteilt im Lehrbuch der Organischen Chemie von P. Karrer, Leipzig, 3. Aufl., 1933, S. 684, siehe auch Ruzicka, Seidel und Schinz, Helv. **16**, 1143 (1933).

<sup>3)</sup> Ruzicka, Schinz und Seidel, Helv. **23**, 935 (1940); Ruzicka und Brugger, J. p. [2] **158**, 125 (1941).

<sup>4)</sup> Ruzicka, Seidel und Firmenich, Helv. **24**, 1434 (1941).