Eine neue Reihe von Holzreaktionen.

Von Dr. Viktor Grafe (Wien).

Seit der Wiesner'schen Entdeckung¹⁾, welche der botanischen Methodik die beiden ersten und bis auf den heutigen Tag ausschließlich in Gebrauch stehenden Holzreaktionen schenkte, wurde von verschiedenen Forschern eine ganze Reihe von Holzstoffreagenzien gefunden, die auf die verholzte Membran im Vereine mit einer Mineralsäure ähnliche Wirkungen ausüben wie das Phloroglucin, resp. das schwefelsaure Anilin. Von Lippmann²⁾ das Orcin (rotviolett), von Ihl³⁾ das Pyrogallol (blaugrün), von Niggel das Indol⁴⁾ (rot), von Mattiolo⁵⁾ das Skatol und Carbazol etc. Jedenfalls waren es stets zyklische Verbindungen, welche als Reagenzien in Verwendung kamen⁶⁾. Bei meinen Versuchen bezüglich der chemischen Natur der Holzsubstanz⁷⁾ gelangte ich auch dazu, den Einfluß von Körpern der aliphatischen Reihe auf dieselbe zu studieren. Die Körper, welche mit der Holzsubstanz gefärbte Produkte liefern, lassen sich in zwei Gruppen einteilen⁸⁾, von denen die eine lauter hydroxylhaltige Verbindungen (bisher Phenole), die andere lauter aromatische Amine aufweist. Es waren also zunächst die aliphatischen Alkohole in Betracht zu ziehen. Es wurden stets Parallelversuche mit einer 1%igen Vanillinlösung und einer alkoholischen Auflösung von aus Koniferenholz gewonnener Holzsubstanz angestellt. Die Versuche, diese Substanzen mit normalen primären Alkoholen bis zum Amylalkohol inkl. unter Verwendung von HCl oder H₂SO₄ zu kondensieren, mißlangen. Erst als ich die Operation mit Isobutylalkohol und Schwefelsäure wiederholte, gelangte ich zu einem Resultate, und es scheint, daß der betreffende Alkohol primär sein und die Gruppe (CH₃)₂ = CH — enthalten muß, um mit Vanillin, resp. der Holzsubstanz eine Farbenreaktion zu geben. Um die Reaktion durchzuführen, versetzt man die Lösung mit einigen Tropfen Isobutylalkohol und läßt vorsichtig an der Wand der Eprouvette eine geringe Menge Schwefelsäure vom spezifischen Gewichte 1.84 herabfließen. (Mit HCl gelingt die Reaktion nicht.) Alsbald färbt sich unter starker Erwärmung die Probe dunkelrot mit stark blauem Stich. Nach ganz kurzer Zeit erscheint die

¹⁾ Karstens bot. Unters. Bd. I, S. 120, 1866.

²⁾ Zit. bei Czapek, Zeitschr. phys. Chem. XXVII, 1, 2, Sitz.-Ber. der k. Akad. d. Wiss., Wien, Bd. LXXVII.

³⁾ Chem. Zeitg. 1885, 266.

⁴⁾ Flora 1881, 545.

⁵⁾ Zeitschr. f. wiss. Mikrosk. II, 354 (1885).

⁶⁾ Nach Abschluß der vorliegenden Untersuchung fand ich in Czapeks „Biochemie der Pflanzen“, p. 568, die Angabe, daß A. Kaiser (Chem. Zeitg. XXVI, 335, 1902) bereits mit Amylschwefelsäure eine ähnliche Erfahrung gemacht hat.

⁷⁾ Sitz.-Ber. der k. Akad., Wien, Bd. CXIII, Abt. I.

⁸⁾ Czapek, l. c. p. 147.

Flüssigkeit im durchfallenden Licht violett, im auffallenden blau. Nach längerem Stehen ist die Lösung durchaus blau und man kann durch entsprechendes Verdünnen mit Alkohol und Wiederaussetzen des Reagens blaugrüne bis hellgrüne Färbungen hervorrufen. Merkwürdigerweise ist die Nuancierung nicht so sehr eine Funktion der Probenkonzentration als der Menge des Reagens. Am besten operiert man, wenn man sich ein einheitliches Reagens in folgender Weise herstellt: 30 cm³ Isobutylalkohol werden mit 15 cm³ Schwefelsäure der oben genannten Konzentration vorsichtig unter Kühlen in fließendem Wasser überschichtet und nach und nach durchgeschüttelt. Die Mischung färbt sich hellrot bis dunkelrot und es entwickelt sich Schwefeldioxyd (am Geruch erkennbar). Setzt man von dieser Mischung einige Tropfen zu einer Spur Holzmehl, so wird dasselbe schwärzlich (offenbar infolge der Schwefelsäurewirkung). Verdünnt man aber mit wenig Alkohol und schüttelt die Eprouvette, so zeigen die an der Wand anhaftenden Holzteilchen eine schöne blaue bis blaugrüne Farbe, in der Flüssigkeit erscheint genau das Rotviolett, welches man erzeugen kann, wenn man dieselbe Probe mit Vanillinlösung vornimmt. Stellt man den Versuch mit Schnitten verholzter Gewebe am Objektträger an, so färbt sich das Reagens, in dem die Schnitte liegen und diese selbst makroskopisch erkennbar, rotviolett. Erst nach längerer Zeit tritt die blaue Färbung hervor. Nach meinen Erfahrungen ist es am zweckmäßigsten, die Schnitte nicht länger als ca. 1 Stunde im Reagens liegen zu lassen und dann sofort in Glycerin zu übertragen. Schon makroskopisch, besonders aber unter dem Mikroskop, sieht man nun die verholzten Zellen prächtig blau, doch erscheinen einzelne auch grün und rotviolett. Da bei gleich dünnen Schnitten dieselben Färbungen stets an denselben Zellen aufzutreten scheinen, ist es vielleicht möglich, daß die Verschiedenheit der Färbung mit der Verholungsintensität zusammenhängt und daß es gelingen könnte, mit diesem Reagens die Stärke der Verholung zu erkennen. Warum die blaue Farbe erst im Glycerin deutlich zutage tritt und ob sich derselbe Effekt nicht auch durch passende Verdünnung des Reagens erzielen läßt, ist noch festzustellen. Dieselbe Reaktion tritt auch mit dem entsprechenden Amyl- und Hexylalkohol ein. Die Haltbarkeit der Färbung erstreckt sich auf fünf bis sechs Tage. Es verdient hervorgehoben zu werden, daß einige Substanzen, welche die Wiesner'schen Reaktionen mit derselben Farbennuance geben wie das Holz¹⁾, mit meinem Reagens nicht in Aktion treten, so z. B. die Kaffeesäure und Ferulasäure; Piperonal liefert wohl ein intensives Rotviolett, das aber sehr schnell in Grasgrün übergeht. Dagegen zeigen Vanillin und dessen Verwandte, soweit man Farbenreaktionen überhaupt auf ihre Identität untereinander beurteilen darf²⁾, die Reaktion mit genau demselben Farbenton wie das Holz.

¹⁾ Czapek, l. c. 151.

²⁾ Grafe, Sitz.-Ber. d. k. Akad. Wien, CXIII, Abt. I, 32.

In der Folge fand ich noch eine andere Reihe aliphatischer Individuen, welche mit der Holzsubstanz, resp. dem Vanillin zu farbigen Verbindungen zusammentreten. Es sind das aliphatische Aldehyde. Wenn man Isobutylaldehyd unter denselben Bedingungen, wie dies oben für den Isobutylalkohol dargelegt wurde, mit Schwefelsäure zusammenbringt, so resultiert eine rote Flüssigkeit, welche ebenfalls ein Holzreagens vorstellt. Bringt man Schnitte auf einem Objektträger in einen Tropfen der Mischung, so färben sie sich nach und nach rötlich. Legt man sie nach etwa 1 Stunde in Glycerin, so sieht man die verholzten Zellen prächtig weinrot bis rotviolett. Die weitere Verfolgung der in dieser vorläufigen Mitteilung beschriebenen Reaktionen, sowie die entsprechenden Versuche mit verschiedenen aliphatischen Aminen behalte ich mir vor. Es möge noch erwähnt werden, daß die Tinktionskraft der Reagentien intensiv genug ist, um auch stärkeren Vergrößerungen standzuhalten.

Ein schlauchartiges Blatt von *Pinguicula alpina*.

Von E. Zederbauer (Wien).

(Mit 2 Figuren.)

Alljährlich wird im botanischen Garten der k. k. Universität in Wien eine Anzahl der einheimischen *Pinguicula*-Arten, *Pinguicula alpina* und *vulgaris* kultiviert. Im Jahre 1901 wurde eine ziemliche Anzahl von Individuen von *P. alpina*, gesammelt im Siebenbrunnerkessel des Raxgebietes, in Töpfe versetzt und in den für insektenfressende Pflanzen bestimmten Schaukasten gegeben. Unter diesen fand ich im Mai ein Individuum, welches ein grünes Blatt besaß, das ein von den anderen abweichendes Aussehen hatte. Der ungefähr 1·5 cm lange dünne Stiel ging im oberen Teile in eine schlauchartige Bildung über, die einen kleinen länglichen Schlitz besaß. Sie hatte eine Länge von 5 mm und war etwas ausgebaucht. Der Schlitz war 3 mm lang und 1 mm breit.

Im Innern der Höhlung waren einige längliche Haare, soweit mit der Lupe zu konstatieren war, die dieselbe Beschaffenheit wie die in der Mitte eines normalen *Pinguicula*-Blattes über dem Gefäßbündel stehenden Haare aufwiesen. Auf dem Stiele und an der Außenseite des Blattes standen einige zerstreute Köpfchenhaare. Besser als eine Beschreibung mag die nebenstehende Abbildung eine Vorstellung geben, welche das Blatt von der Seite und von oben darstellt.