

# Untersuchungen über Chlorophyll;

von *Richard Willstätter*.

## XXIV. Über die Pigmente der Braunalgen;

von *Richard Willstätter* und *Harold J. Page*.

[Mitteilung aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Chemie in Berlin  
Dahlem.]

(Eingelaufen am 14. März 1914.)

### I. Das Chlorophyll der Braunalgen.

Die Definition der Phäophyceenfarbstoffe ist viel umstritten; es gilt noch als unentschieden, ob in den Braunalgen und in den Diatomeen Chlorophyll als solches vorkommt oder in der Form eines Abkömmlings von brauner Farbe, der leicht in Chlorophyll überzugehen vermag. Die Phäophyceen zeigen nämlich intensives Ergrünen bei raschem Abtöten mit heißem Wasser oder heißer Luft und auch bei Einwirkung organischer Lösungsmittel. Diese Reaktion erfordert freilich frisches Pflanzenmaterial; getrocknete oder durch Oxydasewirkung dunkler gewordene Objekte eignen sich nicht dafür.

Ferdinand Cohn<sup>1)</sup> war der Ansicht, daß in den Phäophyceen und Diatomeen ein dem Chlorophyll nahe verwandter brauner Farbstoff, vielleicht nur eine braune Modifikation des Chlorophylls vorkomme, das Phäophyll. Später ist H. Molisch<sup>2)</sup> für diese Annahme eingetreten, sie ist durch seine Untersuchungen zu einer interessanten Hypothese weiter entwickelt worden. Auch nach Molisch enthalten diese Pflanzen kein Chlorophyll, sondern ein

<sup>1)</sup> Über einige Algen von Helgoland. Beiträge zur näheren Kenntnis und Verbreitung der Algen, herausgegeben von L. Rabenhorst, Heft 2, 19. Leipzig 1865. — Beiträge zur Physiologie der Phykchromaceen und Florideen. Archiv f. mikroskop. Anatomie, Bd. 3 (1867).

<sup>2)</sup> Botan. Ztg. 63, 131 (1905).

braunes Pigment; Molisch erklärt das Phäophyll durch einen Vergleich mit jenem braunen Farbstoff, der aus Chlorophyll augenblicklich bei der Einwirkung von Alkalilauge entsteht und der so leicht weiterhin in grüne Chlorophyllderivate (Chlorophylline) übergeht. So bestechend uns diese Erklärung auch anfangs erschien, sie ließ sich doch bei genauer Betrachtung nicht aufrecht erhalten.

Die Existenz eines vom Chlorophyll verschiedenen und in Chlorophyll übergehenden Braunalgenfarbstoffs ist von anderen Forschern in letzter Zeit bezweifelt worden, von M. Tswett<sup>1)</sup>, F. Czapek<sup>2)</sup> und zuletzt von H. Kylin<sup>3)</sup>, der eine kritische Studie über die Farbstoffe der Fucoideen vor kurzem veröffentlicht hat, während wir schon mit der vorliegenden Arbeit beschäftigt waren. Tswett nimmt an, daß die Chlorophyllfarbe nur verdeckt sei durch die gelben Pigmente, namentlich Fucoxanthin, und daß sie in der Erscheinung des Ergrünnens der braunen Algen beim Abbrühen hervorgerufen werde durch die Auflösung der verschiedenen Pigmente in den Fettstoffen, andererseits bei der Einwirkung von organischen Lösungsmitteln oder von Reagenzien durch eine Auflösung oder Veränderung des Fucoxanthins.

Richtiger ist es wohl, daß es sich immer um ein in Lösung Gehendes des Chlorophylls selbst handelt, sei es beim Behandeln mit heißem Wasser oder mit Lösungsmitteln, wodurch das Ergrünen der Braunalgen hervorgerufen wird.

Wir haben außer Zweifel stellen können, daß das Chlorophyll als der fertige grüne Farbstoff in den Braunalgen enthalten ist. Diese zeigen im allgemeinen ja nicht etwa braune, sondern olivgrüne bis grünlichbraune

---

<sup>1)</sup> Ber. d. d. chem. Ges. **24**, 235 (1906); ferner Die Chromophylle in der Pflanzen- und Tierwelt, S. 300.

<sup>2)</sup> Lotos **59**, 251 (1911).

<sup>3)</sup> Archiv für Botanik, Stockholm, **11**, Nr. 5 (1912) u. Zeitschr. f. physiolog. Chem. **82**, 221 (1912).

Farbe; die Chlorophyllfarbe wird in ihnen vor allem deshalb so sehr verdeckt, weil die gelben Pigmente quantitativ überwiegen. Das molekulare Verhältnis der grünen zu den gelben Farbstoffen ist nämlich hier, anstatt 3 bis 5 : 1 wie bei vielen Landpflanzen<sup>1)</sup>, ungefähr 1 : 1.

Enthielten die Algen einen Farbstoff ähnlich der oft erwähnten braunen Phase des Chlorophylls, also vom Chlorophyll wahrscheinlich durch Öffnung eines Lactamringes sich unterscheidend, so würde er unter verschiedenen Einflüssen (Wärme, Lösungsmittel) nicht in das nämliche Chlorophyll, sondern je nach den Bedingungen in die Derivate der Chlorophyllin- oder Isochlorophyllinreihe übergehen. Das ist aber nicht der Fall; es erfolgt kein Umlactamisieren, nach den verschiedenen Behandlungen vermochten wir das Chlorophyll in der Form des Phytochlorins e zu isolieren.

Vollends wird die Ansicht von Molisch durch die spektroskopische Untersuchung widerlegt. Ein brauner Farbstoff wäre ja optisch vom Chlorophyll ganz verschieden, wie in der Tat das Spektrum der braunen Phase sich vom Chlorophyllspektrum wesentlich unterscheidet. Wenn wir bei der Phasenprobe<sup>2)</sup> des Chlorophylls mit alkoholischer Kalilauge rasch das Absorptionsspektrum prüfen, so vermischen wir darin die sonst für alle untersuchten Chlorophyllderivate charakteristische Hauptabsorption im Rot oder Orange; statt dessen zeigt sich starke Absorption im Grün und Violett. Hingegen unterscheidet sich das Spektrum der Braunalgen gar nicht erheblich von dem der gewöhnlichen Blätter. Es gibt auch, wie die folgenden Messungen zeigen, keine bedeutende Differenz zwischen frischen und abgebrühten Braunalgen, nur sind bei den frischen die Absorptions-

---

<sup>1)</sup> R. Willstätter u. A. Stoll, Untersuchungen über Chlorophyll (Berlin 1913), S. 116.

<sup>2)</sup> R. Willstätter u. A. Stoll, S. 144 und 168 in dem zitierten Buche.

bänder verschwommen und zwischen den Bändern ist das Spektrum verdunkelt, bei den abgebrühten aber sind die Absorptionsstreifen etwas gegen Violett verschoben, wahrscheinlich infolge des Übergangs von Chlorophyll aus dem kolloidalen Zustand in eine Lösung in den Fetten und Wachsen. Diese Verschiebung der Bänder gegen Violett beim Abbrühen ist nicht auf die Braunalgen beschränkt, sie zeigt sich auch bei den Blättern von Landpflanzen. Der ätherische Extrakt zeigt, wie der aus gewöhnlichen Blättern hergestellte, die Bänder noch bedeutend weiter gegen Violett hin verschoben.

*Absorptionsspektren.*

	Fucus, frisch	Fucus, abgebrüht
Orangebraunes Stück	685 — 663 .. 536 —	682 — 665
Olivfarbiges Stück	688 — 664 . 515 (etwas verstärkt um 590) 515 —	683 — — 664 Schatten um 585 506 —
Olivgrünes Stück	I. 695 — 655 .. II. 641 ... 616 .. 610 III. 595 .. 578 . IV. 561 — — 538 —	I. 687 — 656 ... 653 II. 630 . 610 III. 591 . 574 IV. 545 — — 510 —
	Ätherischer Extrakt aus Fucus	Fucus in frischem Zustand
Band I	678 — 647	694 — 661 ... 655 ..
„ II	627 ... 606	640 ... 612 .
„ III	585 .. 574	593 .. 579 .
„ IV	546   525	} 555 — — 512 —
Endabsorption	509 —	

Die mikroskopische Untersuchung der Braunalgen finden wir im Einklang mit der spektroskopischen Beobachtung.

Schnitte der grünsten Teile von frischem Fucus (Fig. 1) zeigen nur dicht unter der farblosen Cuticula eine Reihe von Zellen, worin ein großer Teil des Pig-

ments sich befindet, und zwar in einzelnen Körnchen in der von der Cuticula abgewandten Zellenhälfte, also anders wie bei grünen Blättern. Diese Hälfte ist olivgrün, die andere Zellhälfte ist stark lichtbrechend und höchstens schwach gelb. Nach dem Behandeln mit heißem Wasser ist das Pigment zerflossen und homogen in der ganzen Zelle enthalten, abgesehen von einem farblosen Rande; sie ist klarer und deutlicher grün. Hand in Hand mit der Änderung von Farbe und Spektrum beim Abbrühen geht also die Auflösung der Farbstoffe im öligen Inhalt der farbstoffführenden Zellen.

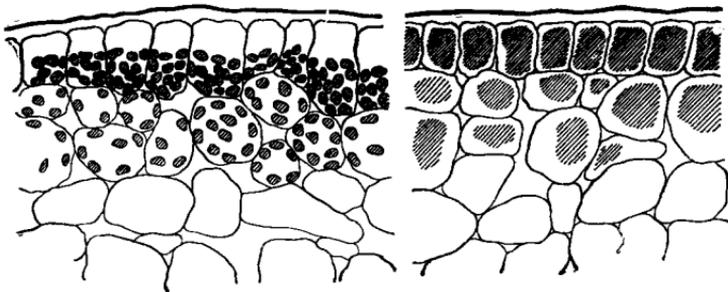


Fig. 1. Mikroskopischer Schnitt von *Fucus*, links in frischem, rechts in abgebrühtem Zustand.

Schnitte von orangebraunen *Fucus*stücken zeigen ein anderes Bild. Hier ist die äußerste Zellreihe ziemlich vollständig von Pigment erfüllt und zwar ist in diesem Falle die äußere Hälfte tief braun, die innere öfters heller braun. Unter dieser ersten Reihe ist das Bild weniger regelmäßig; es gibt Zellen mit einzelnen, aber nicht zahlreichen olivgrünen Chlorophyllkörpern. Solche Algenstücke werden bei der Einwirkung von siedendem Wasser nur ein bischen mehr grünlich und etwas heller; der Farbstoff ist dann in der ersten Zellreihe gleichmäßig verteilt.

Zwischen den Bildern olivgrüner und rotbrauner Teile stehen Schnitte olivbrauner Stücke. Sie weisen in den ganzen Zellen der äußeren Reihe gelbes Pigment diffus auf, anscheinend gelöst, während die dunklere

innere Zellhälfte mehr von den Farbstoffen und zwar alles Chlorophyll in den Körnchen enthält.

Wir erklären also das Ergrünen der Braunalgen nicht durch die Bildung von Chlorophyll aus einem braunen Derivate, sondern als einen besonderen Fall der Aufhellung, welche alle Blätter beim Abbrühen erfahren. Bei den Braunalgen ist das Hervorrufen der grünen Farbe, die Erhöhung der Durchsichtigkeit beim Abbrühen besonders auffallend infolge der größeren Dicke ihrer Blätter und der bedeutenden Menge der die Chloroplasten überlagernden gelben Pigmente.

Eine ähnliche Erscheinung des Ergrünerens bei raschem Absterben, wie bei den Phäophyceen und Diatomeen, ist auch bei einer phanerogamen Pflanze beobachtet worden, bei der Orchidee *Neottia nidus avis*. J. Wiesner<sup>1)</sup>, der bei dem Behandeln mit Alkohol oder Äther das Ergrünen dieser Pflanze zuerst beobachtet hat, war der Ansicht, daß in ihr Chlorophyll doch präexistiert, gemengt mit einem anderen Farbstoff. Untersuchungen von A. F. W. Schimper<sup>2)</sup> und von O. Lindt<sup>3)</sup> haben aber das Vorkommen von fertigem Chlorophyll in der Nestwurz zweifelhaft gemacht und H. Molisch<sup>4)</sup> hat die hier beobachtete Erscheinung mit dem Verhalten der Phäophyceen in Parallele gebracht. Da Molischs Erklärung der Braunalgenfarbe sich nicht bestätigt hat, wird es von Interesse sein, auch die Orchidee mit der spektroskopischen Methode zu untersuchen.

Die winterliche Braunfärbung ausdauernder Blätter, z. B. von Thuja, hat schon früher G. Haberlandt<sup>5)</sup> erklärt als Verdecktwerden noch vorhandenen Chlorophylls durch einen braungelben Farbstoff.

---

<sup>1)</sup> Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. 8, 875 (1872).

<sup>2)</sup> Pringsheims Jahrb. f. wiss. Bot. 16, 119 (1885).

<sup>3)</sup> Bot. Ztg. 43, 825 (1885).

<sup>4)</sup> Bot. Ztg. 63, 142 (1905).

<sup>5)</sup> Sitzungsber. d. Wiener Akad. d. Wissensch., Math.-nat. Klasse, 173, Abteilg. I, 267 (1876).

Eine zweite Frage betrifft die Zusammensetzung des aus Phäophyceen extrahierten Chlorophylls.

H. C. Sorby<sup>1)</sup> und später M. Tswett<sup>2)</sup> haben angenommen, daß darin außer einer der beiden Komponenten des gewöhnlichen Chlorophylls, nämlich a, eine neue dritte Chlorophyllkomponente vorkomme, die von Sorby Chlorofucin, von Tswett Chlorophyll  $\gamma$  genannt wird. Wir können dieser Ansicht zurückfolgen bis zu der grundlegenden Notiz von G. G. Stokes<sup>3)</sup> (1864), worin er von zwei Chlorophyllkomponenten sprach und fortfuhr:

„ . . . but in olive-coloured seaweeds (*Melanospermae*) the second green substance is replaced by a third green substance, and the first yellow substance by a third yellow substance, to the presence of which the dull colour of those plants is due.”

Mit dem angenommenen dritten Chlorophyllfarbstoff befaßt sich Tswett eingehender in seinem zitierten Buche und er beschreibt für diese Komponente ein sehr charakteristisches Spektrum:

I 638 — 622, II 588 — 575, III 465 — 440  $\mu\mu$  (in Äther), das ein scharfes Band aufweist gerade in der Lücke zwischen den Absorptionen der Chlorophylle a und b im Orange. Dasselbe Band soll sich nach Tswett im Spektrum frischer Braunalgen bei etwa 640 — 625  $\mu\mu$  befinden, während es gemäß der allgemeinen Verschiebung der Absorptionsbänder in den Blättern erheblich weiter gegen das rote Ende gerückt sein müßte.

Von dieser dritten Chlorophyllkomponente haben wir niemals eine Spur beobachtet bei raschem Verarbeiten frischer Braunalgen mit kalten Lösungsmitteln<sup>4)</sup> und zwar bei zahlreichen Versuchen mit

---

<sup>1)</sup> Proc. Roy. Soc. **21**, 442 (1873).

<sup>2)</sup> Ber. d. d. bot. Ges. **24**, 235 (1906).

<sup>3)</sup> Proc. Roy. Soc. **13**, 144 (1864).

<sup>4)</sup> Tswett hingegen extrahiert die Braunalgen durch Erhitzen mit 65 prozentigem Alkohol.

*Fucus vesiculosus* und *virgoides*,  
*Dictyota*,  
*Cystosira*,  
*Laminaria*.

Obwohl es gelang, den gesamten Farbstoff in Lösung zu bringen, zeigen die Extrakte das Absorptionsband bei ungefähr 630 nicht. Nur aus nicht mehr frischen oder aus getrockneten Phäophyceen erhielten wir wiederholt Lösungen, welche dieses Chlorophyllderivat aufwiesen, gebildet durch eine noch unbekannte Reaktion, durch eine Zersetzung des Chlorophylls. Beim Liegen der Braunalgen verdarb das Chlorophyll mehr und mehr; auch im Mehl getrockneter Braunalgen waren die Farbstoffe sehr wenig haltbar.

Das sogenannte Chlorophyll  $\gamma$  ist also kein natürlicher Farbstoff.

Dieses Ergebnis ist in seiner Bedeutung weitreichend. Willstätter und Hug, Isler und Stoll waren darauf bedacht, den alten, zum Teil in Vergessenheit geratenen Beobachtungen von Stokes und denen von Sorby und den neuen Forschungen von Tswett volle Gerechtigkeit widerfahren zu lassen und Anerkennung zu verschaffen. Die Zusammensetzung des Chlorophylls der Landpflanzen aus zwei Komponenten war von Stokes, Sorby und Tswett vermutet und wahrscheinlich gemacht worden. Aber bewiesen war sie nicht; es war zweifelhaft, ob die älteren Ergebnisse der Entmischung auf den natürlichen Farbstoff bezogen werden dürfen oder ob sie auf Veränderung des Chlorophylls während der Extraktion und während der Entmischung beruhen. Gerade die nunmehrige Widerlegung aller früheren Angaben über die Phäophyceenfarbstoffe zeigt deutlich die Unsicherheit der Angaben von Stokes bis auf Tswett.

Trotz des Fehlens einer spezifischen Komponente zeigt das Chlorophyll der Phäophyceen eine sehr merkwürdige Abweichung von den Landpflanzen sowie von den

Grünalgen. Es besteht nämlich fast ausschließlich aus der Komponente a. Von Chlorophyll b sind nur Spuren zu beobachten, höchstens 5 Proz. Auch dieses Ergebnis war übereinstimmend bei allen Proben der verschiedenen Arten, die oben erwähnt worden sind.

Es zeigt sich also, daß die Braunalgen als ein von der Natur dargebotenes Ausgangsmaterial für die sogenannte blaue Chlorophyllkomponente dienen können, wofür sie zuerst H. C. Sorby<sup>1)</sup> empfohlen hat. Die Isolierung des Chlorophylls a ist gerade darum so überraschend einfach, weil eben Sorbys dritter Chlorophyllfarbstoff, das Chlorofucin, in der Pflanze gar nicht existiert und sich unter den von uns ausgearbeiteten Bedingungen auch nicht bildet. Es war daher auch von praktischer Bedeutung, die experimentellen Schwierigkeiten zu überwinden, welche eben die Verarbeitung dieses Pflanzenmaterials bot.

Die Phäophyceen lassen sich nicht gleich den Landpflanzen in getrocknetem Zustand verwenden.

Wir haben die Algen aus Skandinavien, aus England und aus Istrien bezogen und sie teils an Ort und Stelle, teils im Laboratorium vorsichtig getrocknet und dann mahlen lassen. Danach ließ sich nur ein kleiner Teil, z. B. nur noch etwa 5 Proz. des ursprünglich darin enthaltenen Chlorophylls extrahieren und auch nicht mehr Fucoxanthin, und die kleine Menge der Farbstoffe war nicht einmal in unversehrtem Zustand.

Es erwies sich daher als notwendig, die Braunalgen in frischem Zustand zu verarbeiten, nämlich sie zur Zerstörung der Enzyme abzubrühen oder besser sie sogleich zu extrahieren. Die Schwierigkeiten der Zerkleinerung und Extraktion des zähen Materials wurden durch eine Vorextraktion mit 40 prozentigem Aceton überwunden, also nach der von Willstätter und Stoll beschriebenen allgemeinen Methode der Verarbeitung frischer Blätter,

---

<sup>1)</sup> Proc. Roy. Soc. 21, 452 (1873).

die sich auch bei einem so schwer zu behandelnden Pflanzenmaterial bewährt. Bei diesem Verfahren wird viel schleimige Substanz extrahiert, so daß man nachher die Algen sehr gut zerkleinern und mit wasserärmerem Aceton allen Farbstoff ausziehen kann.

In größerem Maßstab wurde vorzugsweise *Fucus virsoides* aus dem Adriatischen Meere verarbeitet. Für die freundliche Versorgung mit großen Mengen der Fucoideen sind wir der Zoologischen Station der Kaiser Wilhelm-Gesellschaft in Rovigno und ihrem Leiter, Hrn. Dr. Thilo Krumbach, zu aufrichtigem Danke verpflichtet.

Die Algen wurden in Mengen von 10—20 kg durch eine Walzenmühle mit Maschinenantrieb ganz grob gemahlen und sofort  $\frac{1}{4}$  bis höchstens  $\frac{1}{2}$  Stunde lang unter häufigem Umrühren in 40 prozentiges Aceton eingelegt (2 Liter für je 1 kg Algen). Dann saugt man auf großen Nutschen ab und entfernt noch vollständiger die schleimige Flüssigkeit mittelst einer hydraulischen Presse unter einem Druck von 300 Atmosphären. Nun läßt sich das Material zwischen den Steinwalzen viel feiner mahlen.

Die zerkleinerten Algen extrahieren wir, um zu große Verdünnung der Extrakte zu vermeiden, in Portionen entsprechend 3 kg Ausgangsmaterial fünfmal mit 85 prozentigem Aceton in folgender Weise: Man füllt das Material in Filtrierstutzen, rührt es mit 3 Liter Lösungsmittel an und saugt auf der Nutsche ab. Das einmal ausgezogene Mehl kommt in den zweiten Filtrierstutzen, wird mit neuen 3 Liter Aceton angesetzt und wieder abgesaugt. Das zweite Filtrat (nicht etwa schon das erste) dient zum ersten Extrahieren der zweiten Portion. Die erste Algencharge wandert in den dritten Stutzen, ihr dritter Extrakt dient zum zweiten Extrahieren der zweiten Portion und so fort, bis jede 3 Kilogrammmenge fünfmal ausgezogen ist. Der fünfte Extrakt jeder Charge dient zum vierten Extrahieren der folgenden, zum dritten der übernächsten usw. Aus den chlorophyll-

haltigen Extrakten fällt, wenn sie in frisches Mehl kommen, infolge der Verdünnung durch das darin noch enthaltene Wasser Chlorophyll wieder aus, das erst bei einer folgenden Extraktion von neuem in Lösung geht. Daher sind alle ersten Auszüge gelbbraun, fast frei von Chlorophyll, sie werden nur auf Fucoxanthin verarbeitet. Alle zweiten bis fünften Extrakte, welche olivgrün, dann rein grün sind, vereinigt man (z. B. 25 Liter aus 20 kg) und fällt daraus in Portionen von etwa 4 Liter durch Anrühren mit Talk und vorsichtiges Verdünnen mit der eben erforderlichen Menge Wasser das Chlorophyll aus. Der zweckmäßige Grad der Verdünnung ist bei jedem Versuche so auszuprobieren, daß das Fucoxanthin zum größten Teile in Lösung bleibt; man braucht gewöhnlich 3—4 Vol. Wasser für 10 Vol. des Extraktes.

Etwas Fucoxanthin geht in allen Fällen in den Talk, der deshalb auf der Nutsche zuerst mit 65 prozentigem Aceton, dann einmal mit 60 prozentigem Alkohol ausgewaschen wird. Die sämtlichen Filtrate dienen zusammen mit den ersten, nur Spuren von Chlorophyll enthaltenden Extrakten als Ausgangsmaterial für die Isolierung von Fucoxanthin (siehe das III. Kapitel), der Talk enthält das Rohchlorophyll in annähernd quantitativer Ausbeute.

Aus dem mit Talk verdünnten Chlorophyll ist nach den von Willstätter und Stoll beschriebenen neuen Methoden Chlorophyllinkalium sowie Phäophytin dargestellt worden. Die Ausbeute an Phäophytin betrug nach dem Umfällen aus Chloroformlösung mit Alkohol 4,5 g aus 10 kg frischem Fucus (nach der quantitativen Bestimmung 5 g Chlorophyll enthaltend) und an Chlorophyllinkalium 4,2 g.

Neben den Pigmenten ist beim Aufarbeiten der Lösungen ein neues Phytosterin isoliert worden, das in einer späteren Arbeit (von Harold J. Page) weiter untersucht werden soll.

*Untersuchung des Chlorophylls.* Bei der Spaltungs-

probe mit siedender konzentrierter methylalkoholischer Kalilauge und darauffolgendem Ansäuern entstand aus dem Phäophytinpräparate fast nur Phytochlorin e, von Phytorhodin g lediglich eine Spur: es lag also annähernd reine Komponente a vor.

Bei der quantitativen Phytolbestimmung erhielten wir

aus 0,50018 g Phäophytin 0,15908 g Phytol, d. i. 31,81 Proz.

„ 0,53961 g „ 0,16728 g „ d. i. 31,00 „

Die theoretische Phytolzahl von Phäophytin a beträgt 33,7.

Um endlich auch den Magnesiumgehalt des Braunalgenchlorophylls zu bestimmen, haben wir 5 g des rohen Chlorophyllinkaliums zum Rhodophyllin abgebaut; zu diesem Zweck wurde mit methylalkoholischer Kalilauge im Autoklaven 2 Stunden auf 125° erhitzt, dann die Temperatur im Laufe einer Stunde bis auf 160° gesteigert und noch gegen 3 Stunden so gehalten. Dem Rhodophyllin war etwas Pyrrophyllin beigemischt, die Trennung geschah mit Hilfe von sehr verdünntem Ammoniak, das nur die zweibasische Säure aus der ätherischen Lösung extrahiert. Die Ausbeute an kristallisiertem Rhodophyllin belief sich auf 0,63 g; das Pyrrophyllin isolierten wir in der Form des entsprechenden Porphyrins, nämlich 0,15 g.

Für die Veraschung diente das Rhodophyllin nach dem Trocknen im Hochvakuum zur Gewichtskonstanz; die Asche bestand in reinem Magnesiumoxyd.

0,18839 g gaben 0,01260 g MgO.

0,16687 g „ 0,01174 g MgO.

	Ber. für $C_{33}H_{34}O_4N_4Mg$	Gef.
Mg	4,23	4,03 4,24

## II. Quantitative Bestimmung der Farbstoffe.

Die Bestimmung der Phäophyceenpigmente lehnt sich an die allgemeine Methode für die quantitative Analyse der vier Chloroplastenfarbstoffe an, die Willstätter und Stoll<sup>1)</sup> mitgeteilt haben. Das Besondere unseres Falles

<sup>1)</sup> IV. Kapitel der „Untersuchungen über Chlorophyll“ (Berlin, 1913).

liegt nicht so sehr in der Schwierigkeit der Extraktion, als hauptsächlich in der Auflösung des komplizierteren Gemisches von Carotinoiden. Zugleich vereinfacht sich hier die Chlorophyllbestimmung dadurch, daß nur die Menge der Chlorophyllkomponente *a* ermittelt zu werden braucht; das gesamte Chlorophyll beträgt dann etwa 5 Proz. mehr.

Die Braunalgen enthalten drei stickstofffreie Pigmente, nämlich außer den allgemein verbreiteten (Carotin und Xanthophyll)<sup>1)</sup> ein drittes Carotinoid, das Fucoxanthin, dessen Zusammensetzung  $C_{40}H_{54}O_6$  im folgenden Kapitel behandelt wird. Ein von manchen Botanikern angenommenes wasserlösliches braunes Pigment, Phykophän, existiert in der lebenden Braunalge nicht, was Molisch, Tswett und Kylin schon gezeigt haben. Bei raschem Extrahieren mit wasserhaltigem Aceton, wodurch Oxydasewirkungen ausgeschlossen werden, erhält man keinen wasserlöslichen Farbstoff; die extrahierte Pflanzensubstanz finden wir dann so gut wie farblos.

Die Trennung des Fucoxanthins vom Xanthophyll durch ein Entmischungsverfahren ist uns gelungen, wiewohl bei der Verteilung zwischen Petroläther und wasserhaltigen Alkoholen beide die alkoholische Schicht aufsuchen. Fucoxanthin geht aber noch leichter in wasserhaltigen Alkohol über als Xanthophyll. Deshalb wenden wir einen viel (nämlich 30 Volumprozent) Wasser enthaltenden Holzgeist an, worin Xanthophyll sich nur noch wenig löst, und andererseits ein Gemisch von Äther und Petroläther, in welches Xanthophyll trotz seiner Unlöslichkeit in Petroläther überzugehen vermag. (Vgl. die Tabelle Seite 258.) Daraus ergibt sich ein gutes, wenn auch

---

<sup>1)</sup> Carotin und Xanthophyll hat schon H. Kylin in den Fucoideen nachgewiesen, wir haben ihre Identität bestätigt, nämlich Xanthophyll durch seine Verteilung zwischen Alkoholen und Petroläther gekennzeichnet und durch den Mangel basischer Eigenschaften vom Fucoxanthin unterschieden, das Carotin in schönen Krystallen vom Schmelzp. 172—172,5° (korr.) isoliert.

etwas kompliziertes Verfahren, das nach wiederholter Vornahme der Entmischung die Lösung des Fucoxanthins homogen liefert. Dabei bleiben Carotin und Xanthophyll mit dem Chlorophyll im Äther-Petroläther zurück und werden dann wie sonst fraktioniert.

*Ausführung der Analyse.* Die Braunalgen werden zwischen Filtrierpapier abgedrückt und mit der Syenitwalzenmühle fein gemahlen. Von den zerkleinerten Algen wird ein Teil für die Bestimmung des Trockengewichtes verwendet und 40 g für die Extraktion. Hierfür zerreibt man das Material mit ungefähr 200 g Sand, mit noch mehr bei besonders zähen Algen, und mit 50 ccm 40prozentigem, dann mit weiteren 50 ccm 30prozentigem Aceton. Nach dem Überführen in die Nutsche und Vorextrahieren mit mehr 30prozentigem Aceton wird der gesamte Farbstoff mit wasserfreiem Aceton ausgezogen; das Filtrat ist anfangs gelb, darauf gelbgrün, blaugrün und am Ende farblos.

Für die Verarbeitung mancher besonders zäher und schleimiger Algen war die Walzenmühle nicht tauglich. *Ulva lactuca* ließ sich besser im Mörser mit Sand zerreiben. *Laminaria* schnitten wir in kleine Stücke und führten zur Entfernung von Schleimen wiederholte Vorextraktionen mit 30prozentigem Aceton im Becherglase aus, dann bewirkten wir die Zerkleinerung mit einer Fleischhackmaschine, um endlich den Brei mit Sand zu vermischen und mit 95prozentigem Aceton lange zu extrahieren; die letzten Spuren von Farbstoff gingen beim Stehen mit wasserfreiem Aceton heraus.

Aus dem Extrakt ist durch Vermischen mit 300 ccm Äther und Verdünnen mit destilliertem Wasser der Farbstoff in ätherische Lösung zu bringen, die durch sehr vorsichtiges Waschen mit destilliertem Wasser vom Aceton befreit wird. Nun vermischen wir sie mit dem gleichen Volumen niedrig siedenden (30—50°) Petroläthers.

Zur Abtrennung des Fucoxanthins schüttelt man den Äther-Petroläther viermal mit dem gleichen Volumen

petroläthergesättigten 70prozentigen Methylalkohols aus und hält nach jedem Ausschütteln durch Zusatz von Äther das Volumen der oberen Schicht konstant. Da in den wasserhaltigen Holzgeist Xanthophyll mit übergegangen ist, so werden die vereinigten Extrakte einmal mit dem gleichen Volumen einer Mischung aus  $\frac{5}{6}$  Vol. Petroläther und  $\frac{1}{6}$  Vol. Äther gewaschen. Dabei geht aber etwas Fucoxanthin verloren; deshalb engt man diesen Auszug im Vakuum auf 250 ccm ein, vermischt mit ebensoviel Äther und extrahiert noch zweimal mit je  $\frac{1}{2}$  Liter petrolätherhaltigem 70prozentigen Methylalkohol. Die neuen holzgeistigen Auszüge werden zu den früheren gegeben und die ätherisch-petrolätherische Restlösung zur Hauptlösung. Das Fucoxanthin ist schließlich zur Bestimmung in 250 ccm Äther übergeführt, vom Methylalkohol durch Waschen befreit und mit einer Vergleichslösung von reinem Fucoxanthin in Äther colorimetrisch analysiert worden. Diese Lösung ist im Dunkeln 8 bis 10 Tage ohne Farbverlust haltbar, aber nicht länger; bequemer ist daher die Anwendung einer Vergleichslösung von Bichromat (siehe Seite 266).

Von der petrolätherisch-ätherischen Lösung dient eine Hälfte zur Bestimmung von Chlorophyll, die andere zur Trennung von Carotin und Xanthophyll.

## Gehalt der Braunalgen an Chlorophyll und Carotinoiden

Nr.	Gattung	Zeit	Trockengehalt	Mengen (in g)				Mengen (in g)				
				in 1 kg frischer Algen				in 1 kg trockener Algen				
				Chlorophyll	Fucoxanthin	Carotin	Xanthophyll	Chlorophyll	Fucoxanthin	Carotin	Xanthophyll	Summe der gelben Pigmente
1	Fucus	Mai	28,5	0,503 <sup>1)</sup>	0,169	0,089	0,087	1,765	0,593	0,312	0,305	1,210
2	Dictyota	„	—	0,640	0,250	0,057	0,063	—	—	—	—	—
3	Laminaria <sup>2)</sup>	Juni	15,4	0,185	0,081	0,006	0,038	1,202	0,528	0,038	0,247	0,813

<sup>1)</sup> Menge von Chlorophyll a allein.

<sup>2)</sup> Zusammengestellt aus zwei verschiedenen Bestimmungen.

Molekulares Verhältnis zwischen Chlorophyll  
und den gelben Farbstoffen

Nr.	Algen- gattung	Chlorophyll		Carotin: Xan- thophyll: Fucoxanthin
		Q	Carotin + Xanthophyll + Fucoxanthin	
1	Fucus		0,95	1,08:1:1,75
2	Dictyota		1,20	0,77:1:3,60
3	Laminaria		1,07	0,16:1:1,92

*Ergebnis.* Die Phäophyceen enthalten viel weniger Chlorophyll als die Landpflanzen und relativ weit mehr gelbe Pigmente als diese und als die Grünalgen, das molekulare Verhältnis des Chlorophylls zu den Carotinoiden entfernt sich nicht weit von 1. Unter den gelben Pigmenten überwiegt das sauerstoffreichste, das Fucoxanthin.

Bei den quantitativen Bestimmungen hat sich das Ergebnis der spektroskopischen Beobachtung und der präparativen Arbeit bestätigt, daß fast nur das sauerstoffärmere Chlorophyll a in den Braunalgen vorkommt. Nach dem Verseifen des Phäophytins und der Isolierung des Phytochlorins e im Gang der Analyse wurde stets die nur noch sehr wenig gefärbte ätherische Lösung mit 12prozentiger Salzsäure extrahiert und dieser Auszug mit der kleinen Menge von schwach basischem Spaltungsprodukt verglichen, die bei der Herstellung der Vergleichslösung (in diesem Fall aus Methylphäophorbid a allein) auftritt. Die Fraktion in 12prozentiger Salzsäure war beim Versuche nur sehr wenig stärker als bei der Vergleichslösung, obwohl sie beim Versuche alles vorhandene Rhodin neben etwas schwach basischem Phytochlorin enthalten mußte. Sie enthielt eben von Phytorhodin g nur eine Spur.

Zum Vergleiche mit den Braunalgen haben wir aus der Abteilung der Chlorophyceae ein Beispiel herangezogen, *Ulva lactuca*. Das Verhältnis der Chlorophyllkomponenten entfernt sich hier vom durchschnittlichen Werte in entgegengesetztem Sinne wie bei den

Phäophyceen, indessen nicht weit. Das Chlorophyll ist nämlich relativ reich an der Komponente b. Die gelben Pigmente treten verhältnismäßig mehr hervor als bei den höheren Pflanzen, doch nicht in dem Maße wie bei den Braunalgen.

*Ulva lactuca* (Rovigno, Mai) Trockengehalt 17,6.

Mengen in 1 kg der frischen Alge:

0,1648 g Chlorophyll a, 0,1172 g Chlorophyll b, 0,0243 g Carotin, 0,0643 g Xanthophyll.

Mengen in 1 kg der trocknen Alge:

0,9362 g Chlorophyll a, 0,6660 g Chlorophyll b, 0,1381 g Carotin, 0,3653 g Xanthophyll.

$$\frac{Q_a}{b} = 1,43; \quad \frac{Q_x}{c} = 2,50; \quad \frac{Q_{a+b}}{c+x} = 1,96.$$

### III. Über Fucoxanthin, $C_{40}H_{54}O_6$ .

Fucoxanthin, das den Phäophyceen eigentümliche Carotinoid, haben wir in Krystallen isoliert und analysiert. Es unterscheidet sich durch seinen bedeutenden Sauerstoffgehalt von den beiden anderen, in allen untersuchten Pflanzen verbreiteten gelben Pigmenten.

Zusammensetzung des Carotins:	C 89,5;	H 10,5;	O —
„ „ Xanthophylls:	C 84,4;	H 9,9;	O 5,7
„ „ Fucoxanthins:	C 76,1;	H 8,6;	O 15,3

Das Fucoxanthin überwiegt der Menge nach unter den Carotinoiden der Braunalgen, während umgekehrt das Chlorophyll der Phäophyceen fast ausschließlich in der sauerstoffärmeren Komponente a besteht. Es ist denkbar, daß unter den besonderen Lebensbedingungen der Seepflanze die fehlende Chlorophyllkomponente b in ihrer Funktion durch das besonders sauerstoffreiche Carotinoid ersetzt wird.

Die Geschichte der Fucoideenfarbstoffe hat vor kurzem H. Kylin<sup>1)</sup> geschildert; wir können uns daher mit den hauptsächlichsten Angaben begnügen. A. Millardet<sup>2)</sup> hat dem gelben Farbstoff der Phäophyceen den

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. 82, 221 (1912).

<sup>2)</sup> Compt. rend. 68, 462 (1869).

Namen Phykoxanthin gegeben. H. C. Sorby<sup>1)</sup> unterschied drei gelbe Pigmente: orange Xanthophyll, Lichnoxanthin, Fucoxanthin; das letztere soll in reichlicher Menge, das zweite in sehr geringer vorkommen. Von Reinke<sup>2)</sup>, Hansen<sup>3)</sup> und Gaidukow<sup>4)</sup> sind später Angaben über die Carotinoide der Braunalgen gemacht worden, die nicht bestätigt werden können.

M. Tswett<sup>5)</sup> hat sich in seinen ausgedehnten Versuchen über die Chromophylle auch mit den Phäophyceen beschäftigt und in ihnen drei gelbe Farbstoffe unterschieden: Carotin, Fucoxanthophyll und Fucoxanthin. Er scheint das Fucoxanthophyll für verschieden von dem gewöhnlichen Xanthophyll zu halten, aber er hat keine Unterschiede mitgeteilt. Nun ist Tswett überhaupt mittelst seiner chromatographischen Adsorptionsanalyse zu einer besonders weitgehenden Auflösung des Gemisches gelber Pigmente gelangt. Er unterscheidet vier Xanthophylle ( $\alpha$ ,  $\alpha'$ ,  $\alpha''$ ,  $\beta$ ), die im Spektrum kleine Differenzen bezüglich der Lage der Absorptionsstreifen aufweisen; in Substanz isoliert und analysiert sind die Pigmente allerdings nicht. Xanthophyll  $\beta$  wandert am schwersten in dem Chromatogramm weiter, die  $\alpha$ ,  $\alpha'$  und  $\alpha''$ -Verbindungen werden von Petroläther mit 1 Proz. Alkohol herausgelöst,  $\beta$  hingegen erfordert viel größeren Alkoholzusatz.

Tswett<sup>6)</sup> hält das Xanthophyll von Willstätter und Mie<sup>g</sup> für ein isomorphes Gemisch von zwei oder drei Xanthophyllen, worin  $\alpha$  überwiege. Es ist zu prüfen, ob diese Annahme des verdienten Botanikers wie so viele seiner Beobachtungen zutrifft. Wenn wir die außerordentliche Ähnlichkeit des Xanthophylls der

<sup>1)</sup> Proc. Roy. Soc. **21**, 474 (1873).

<sup>2)</sup> Pringsheims Jahrb. **10**, 400 (1876).

<sup>3)</sup> Arb. d. bot. Instituts Würzburg III, 289 (1885).

<sup>4)</sup> Ber. d. d. bot. Ges. **21**, 538 (1903).

<sup>5)</sup> Ber. d. d. bot. Ges. **24**, 234 (1906).

<sup>6)</sup> Die Chromophylle in der Pflanzen- und Tierwelt, Warschau 1910 (Russisch), S. 233.

Blätter mit dem von Willstätter und Escher<sup>1)</sup> isolierten Pigment des Hühnereidotter — nur der Schmelzpunkt ist unterscheidend — berücksichtigen, so können wir die Möglichkeit nicht ganz ausschließen, daß die Krystalle des Xanthophylls der Chloroplasten aus sehr ähnlichen isomorphen Körpern bestehen, für deren Trennung wir keine präparativen Methoden haben. Indessen ist es auch sehr wohl möglich, sogar wahrscheinlicher, daß bei der chromatographischen Analyse Carotin und Xanthophyll durch Oxydation, der sie in adsorbiertem Zustande leicht unterliegen, Veränderung erlitten haben.

Hierauf scheinen uns die Angaben von Tswett in der Tat hinzudeuten. Unsere Präparate von Xanthophyll geben mit etwas konz. Salzsäure keinen Farbumschlag, während Tswett anführt, daß seine Xanthophylle, besonders  $\beta$ , beim Versetzen der Alkohollösung mit Salzsäure eine grüne, dann blaue Färbung zeigen.

Es ist immer ein und dasselbe Xanthophyll von Willstätter und Stoll aus Landpflanzen erhalten worden; mit demselben halten wir auch das Xanthophyll aus den Braunalgen für identisch. Auch Kylin hat die Identität angenommen. Diesem Forscher ist es in seiner zitierten Untersuchung zuerst gelungen, aus Fucoideen (und zwar aus der getrockneten Pflanze) kristallisiertes Carotin und Xanthophyll zu isolieren und ferner das Fucoxanthin (oder Phykoxanthin) in Lösung von den anderen Farbstoffen einigermaßen abzutrennen. Um das Gemisch von Xanthophyll und Fucoxanthin zu zerlegen, wendet Kylin Petroläther an, der Xanthophyll im Rückstand lassen und Fucoxanthin lösen soll. Dabei wird aber, wie sich in unseren Versuchen gezeigt hat, Fucoxanthin nur durch große Mengen farbloser Begleiter in den Petroläther mitgenommen und zwar niemals ohne Beimischung von Xanthophyll. Fucoxanthin ist an sich vollkommen unlöslich in Petroläther.

<sup>1)</sup> Zeitschr. f. physiol. Chem. 76, 214 (1912).

Unsere Methode für die Isolierung des Fucoxanthins gründet sich auf einen nicht eben großen Unterschied in der Verteilung desselben und des Xanthophylls zwischen wasserhaltigem Holzgeist und Äther-Petroläther; das sauerstoffreichere Carotinoid ist in stark wasserhaltigen Alkoholen löslicher als Xanthophyll.

Fucoxanthin ist in seinen Lösungen orange-gelb; es krystallisiert prächtig und zwar mit einem Gehalt von Krystallalkohol oder Wasser. Es zeigt die typischen Merkmale der Carotinoide, die Autoxydierbarkeit derselben allerdings nur in seinen Lösungen, nicht in krystallisiertem Zustand. Die Zusammensetzung, welche durch die Formel  $C_{40}H_{54}O_6$  oder eine sehr ähnliche ausgedrückt wird, läßt die Beziehung zum Carotin und Xanthophyll erkennen.

Zu der physiologischen Bedeutung des Pigmentes gesellt sich ein großes Interesse in rein chemischer Hinsicht, das durch sein eigentümliches Verhalten gegen Alkalien und noch mehr gegen Säuren bedingt ist. Die verschiedenen Carotinoide geben die bekannte tief blaue Farb-reaktion nur mit konz. Schwefelsäure. Das Fucoxanthin allein besitzt viel bedeutendere basische Eigenschaften, welche in der Bildung von Oxoniumsalzen zutage treten. Es reagiert so wie ein schwächeres Amin mit Mineralsäure, von 30 prozentiger Salzsäure z. B. wird die ätherische Lösung sofort entfärbt und die saure Schicht wird prachtvoll blauviolett, in großer Verdünnung himmelblau. Dabei entsteht ein beständiges Farbsalz, welches vier Atome Chlor enthält; zerlegt man das Salz mit Alkali, so enthält das entbundene gelbe Produkt noch ein Atom Chlor.

Sauere Eigenschaften fehlen dem Fucoxanthin; dennoch wird es von methylalkoholischer Kalilauge gebunden und zugleich verändert; setzt man es aus der Alkaliverbindung in Freiheit, so entsteht eine neue gelbe Substanz von sehr charakteristischem Absorptionsspektrum und von derart erhöhten basischen Eigen-

schaften, daß ihre ätherische Lösung schon mit ganz verdünnter Säure ein tief blaues Salz abscheidet.

Dieses Verhalten läßt vermuten, daß im Fucoxanthin Pyronringe existieren, deren Äthersauerstoff sich bei der Bildung der schön blauen Salze betätigt. Die Reaktion mit alkoholischem Kali scheint in der Aufspaltung eines Teiles der Pyronkerne zu bestehen; ein Teil der Oxydgruppen bleibt dabei unversehrt; die Verstärkung ihres basischen Charakters kann auf die Bildung von Hydroxylen bei der Aufspaltung zurückgeführt werden.

Es sind nun die folgenden *Carotinoide* isoliert worden:

*Carotin*  $C_{40}H_{56}$ ; aus der Mohrrübe<sup>1)</sup>, aus grünen Pflanzen<sup>2)</sup>, aus Braunalgen, aus dem *Corpus luteum* der Kuh<sup>3)</sup>, aus Rindergallensteinen.<sup>4)</sup>

*Lycopin* von derselben Zusammensetzung; aus der Tomate.<sup>5)</sup>

*Xanthophyll*  $C_{40}H_{56}O_2$ : aus Landpflanzen<sup>6)</sup> und Algen.

*Lutein* von derselben Zusammensetzung; aus Hühnereidotter.<sup>7)</sup>

*Fucoxanthin*  $C_{40}H_{54}O_6$ ; aus Braunalgen.

<sup>1)</sup> Wackenroder, Geigers Mag. f. Pharm. **33**, 144 (1831); Zeise, diese Annalen **62**, 380 (1847).

<sup>2)</sup> A. Arnaud, Compt. rend. **102**, 1119 (1886); **104**, 1293 (1899). R. Willstätter und W. Mieg, diese Annalen **355**, 1 (1907).

<sup>3)</sup> H. H. Escher, Zeitschr. f. physiol. Chem. **83**, 198 (1913).

<sup>4)</sup> H. Fischer und H. Röse, Zeitschr. f. physiol. Chem. **88**, 331 (1913).

<sup>5)</sup> R. Willstätter und H. H. Escher, Zeitschr. f. physiol. Chem. **64**, 47 (1910).

<sup>6)</sup> R. Willstätter und W. Mieg, diese Annalen **355**, 1 (1907).

<sup>7)</sup> R. Willstätter und H. H. Escher, Zeitschr. f. physiol. Chem. **76**, 214 (1912).

## Isolierung.

Im ersten Kapitel ist die Extraktion von Phäo-phyceen in größerem Maßstab und die Verarbeitung auf Chlorophyll beschrieben worden.

Das Filtrat vom Rohchlorophyll-Talk und die ersten, nicht auf Chlorophyll verarbeiteten Auszüge enthalten das gesamte Fucoxanthin mit einem großen Teile des Xanthophylls und mit Spuren von Chlorophyll. Die Isolierung des Fucoxanthins gelingt im wesentlichen nach demselben Verfahren wie die quantitative Bestimmung der Phäo-phyceenfarbstoffe. Auf Grund der etwas verschiedenen Verteilung zwischen stark wasserhaltigem Methylalkohol und Äther-Petroläther wird das Fucoxanthin vom Xanthophyll getrennt und zu gleicher Zeit auch von der Hauptmenge farbloser Begleiter, die seine Ausfällung erschweren, nämlich von sehr viel Fett und Wachs. Sie bleiben zum großen Teil in der ätherischen Schicht.

Verteilung von Fucoxanthin und Xanthophyll zwischen Petroläther-Äther (Gemisch gleicher Vol.) und Holzgeist.

	Xanthophyll		Fucoxanthin	
	Extrahiert	Gewaschen mit Äther-Petroläth.	Extrahiert	Gewaschen mit Äther-Petroläth.
65 proz. Methylalkohol	beinahe nicht	—	in fünf Malen größtenteils	—
70 proz. Methylalkohol	spurenweise	fast alles wird abgegeben	fast ganz in drei Malen	ein wenig wird abgegeben
75 proz. Methylalkohol	sehr deutlich	fast alles wird abgegeben	quantitativ in drei Malen	ein wenig wird abgegeben

Die frischen Braunalgen sind gewöhnlich in Mengen von 15—20 kg verarbeitet worden. Die vereinigten fucoxanthinhaltigen Filtrate vom Rohchlorophyll (40 Liter aus 20 kg) werden in Portionen von je 4 Liter in 1 Liter eines Gemisches aus Petroläther vom Siedep. 30—50°

(3 Vol.) und Ather (1 Vol.) eingetragen und mit 1,5 Liter Wasser versetzt. Nach dem Durchschütteln ist die wäßrig-acetonige Schicht nur schwach gelblichgrün. Die erhaltenen tief orangegelben Farbstofflösungen werden durch sehr vorsichtiges Waschen, wobei allzu leicht lästige Emulsionen vorkommen, vom Aceton befreit und im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur bis auf 500 ccm Gesamtvolumen eingedampft. Dabei können schon Flocken vom Fucoxanthin ausfallen, man verdünnt wieder mit  $\frac{1}{2}$  Liter Äther. Nun wird die Trennung der beiden gelben Pigmente vorgenommen durch etwa viermaliges vorsichtiges Ausschütteln mit je 1 Liter 70 prozentigem Holzgeist, der mit Petroläther gesättigt worden, und noch zweimaliges Ausziehen mit der halben Menge. Aus der dunkelbraunen, orangefarbig tingierenden methylalkoholischen Lösung entfernt man mitgeführtes Xanthophyll durch einmaliges Ausschütteln mit der gleichen Menge einer Mischung aus 5 Vol. Petroläther und 1 Vol. Äther. Da diese Waschflüssigkeit einen nicht unerheblichen Teil des Fucoxanthins mitnimmt, so dampft man sie im Vakuum zu einigen Hundert Kubikzentimetern ein, verdünnt mit derselben Menge Ather und zieht aufs neue zweimal mit 70prozentigem Holzgeist aus. Diese letzten Auszüge werden natürlich auch mit Äther-Petroläther gewaschen. Aus allen holzgeistigen Lösungen führen wir nun portionenweise durch vorsichtiges Entmischen das Fucoxanthin in viel Äther über und engen die filtrierte Lösung bei niedriger Temperatur auf gegen 200 ccm ein, d. i. bis fast zur Sirupdicke. Auf Zusatz von niedrig siedendem Petroläther (höchstens 1 Liter) fällt das Fucoxanthin schon in ziemlich reinen, ziegelroten Flocken aus. Die Ausbeute an solchem schon etwa 85 prozentigen Rohprodukt betrug 2 g, d. i. rund die Hälfte des colorimetrisch bestimmten Farbstoffs der Alge; bei der ersten Umkrystallisation aus Methylalkohol verminderte sich die Ausbeute um ein Viertel.

Alle Extrakte und Lösungen sind möglichst rasch und

tunlichst unter Luftabschluß aufgearbeitet worden; wir ließen sie nur im Dunkeln, und zwar in ganz vollen, gut verschlossenen Gefäßen stehen.

In diesem Gang der Isolierung sind Reagenzien, welche Mineralbestandteile enthalten (z. B. Brunnenwasser), vermieden, auch keine Trocknung mit Calciumchlorid vorgenommen worden. Bei einigen ersten Versuchen zur Gewinnung von Fucoxanthin haben Willstätter und Forsén solche Vorsicht nicht geübt; vielleicht aus diesem Grunde sind sie zu sonderbaren Beobachtungen gekommen, zu Fucoxanthinpräparaten, welche zwar nach einmaligem und nach wiederholtem Umkrystallisieren aus Methylalkohol einheitliche, schöne Prismen vom Schmelzp. 145—150° bildeten, die aber beim Veraschen 3—4 Proz. reines CaO hinterließen.

Reines Fucoxanthin hingegen ist aschefrei.

Wir haben ein reines Präparat einmal aus methylalkoholischer Calciumchloridlösung und ein folgendes Mal aus Methylalkohol umkrystallisiert; die Krystalle gaben uns sodann 2,2 Proz. Asche von Calciumoxyd. Allerdings war unsere Substanzmenge klein und die Abtrennung von der Mutterlauge vielleicht nicht vollständig.

Wenn es auch ungünstig ist, Braunalgen in getrocknetem Zustand für die Gewinnung von Fucoxanthin anzuwenden, so wird es doch nicht ohne Wert sein, auch für diesen Fall unser Verfahren in Kürze anzugeben. Wir extrahierten das Algenmehl im Perkulator mit Sprit und führten das Chlorophyll und andere Begleiter des Fucoxanthins aus dem Perkolate in Petroläther über (durch Entmischen von 4 Liter Perkolat mit 750 ccm Petroläther), um sie zu beseitigen. Dann brachten wir das Pigment aus der alkoholisch-wäßrigen Schicht in Benzol, engten die Lösung im Vakuum ein und verdünnten sie mit Petroläther. Hieraus wurde das Fucoxanthin aufs neue mit wasserhaltigem Alkohol (75-, besser mit 65 prozentigem) extrahiert, um noch mehr

von den Fettstoffen und die letzten Beimischungen von Chlorophyll abzutrennen. Endlich ätherten wir den weingeistigen Extrakt aus, konzentrierten die ätherische Lösung wieder im Vakuum und fällten sie mit Petroläther. Die Ausbeute an rohem Fucoxanthin ist schlecht und das Präparat unrein; es enthält noch etwas Xanthophyll und muß mit Hilfe der Verteilung zwischen Holzgeist und Äther-Petroläther gereinigt werden.

Wenn das Algenmehl mehr als einige Wochen alt ist, kann man nicht mehr hoffen, Fucoxanthin daraus zu isolieren. Es haben sich dann Chlorophyllderivate, z. B. eine Substanz vom Spektrum des sogenannten  $\gamma$ -Chlorophylls von Tswett gebildet, welche das Fucoxanthin in die alkoholischen Lösungen begleiten und mit ihm ausgefällt werden. Nur durch sehr verlustreiche fraktionierte Fällung mit Petroläther kann man Fucoxanthin davon trennen.

### Beschreibung und Analyse.

Das Rohprodukt von Fucoxanthin war in allen organischen Lösungsmitteln, außer Methylalkohol und Petroläther, sehr leicht löslich. Aus wenig Methylalkohol ließ es sich sehr gut umkrystallisieren und in bläulich glänzenden, braunroten, langen Prismen von monoklinem Habitus erhalten (Fig. 2). Unter dem Mikroskop sind die Krystalle bernsteingelb, und braun, wo mehrere Prismen sich kreuzen; das Pulver ist ziegelrot.

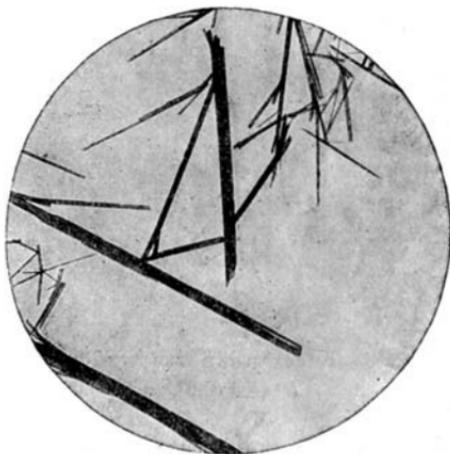


Fig. 2. Fucoxanthin aus Methylalkohol.

Diese Krystalle enthalten 3 Mol. Methylalkohol, der

im Vakuumexsiccator vollständig abgegeben wird.<sup>1)</sup> Dabei wird die Substanz hygroskopisch; hat sie aber Wasser angezogen, so ist es nicht mehr möglich, sie davon im Vakuum bei gewöhnlicher Temperatur zu befreien. Die Trocknung muß dann in der Wärme ausgeführt werden, am besten bei sehr niedrigem Druck.

Für die folgenden Bestimmungen dienten zwei verschiedene Krystallisationen nach etwa 10 Minuten langem scharfen Abpressen zwischen Filtrierpapier.

I. 0,7674 g verloren 0,1059 g.  
 II. 0,8171 g „ 0,1119 g.

	Ber. für	Gef.	
	$C_{40}H_{54}O_6 + 3CH_4O$	I	II
$3CH_4O$	13,23	13,79	13,69

In einer sehr charakteristischen zweiten Krystallform tritt Fucoxanthin auf, wenn man seine weingeistige (oder acetone) Lösung unter Ausschluß von Luft z. B.

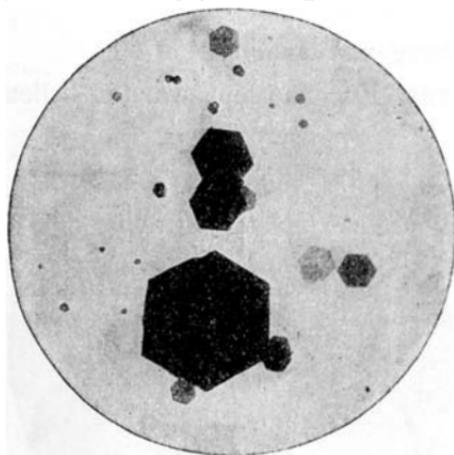


Fig. 3. Fucoxanthin aus verdünntem Alkohol.

in Kohlensäureatmosphäre über Wasser aufstellt, nämlich in bläulichglänzenden großen, regelmäßigen sechsseitigen Tafeln (Fig. 3). Sie sind dunkelrot, in der Durchsicht unter dem Mikroskop citronengelb bis rot je nach der Dicke. Für die Analyse wurden diese Krystalle in einen trocknen Strom von

Kohlensäure gebracht; sie änderten danach an der Luft

<sup>1)</sup> An der Luft erleiden die Krystalle zunächst bedeutende Gewichtsabnahme, die aber dann durch Aufnahme von Wasser zum großen Teil wieder ausgeglichen wird. (Vgl. im folgenden die Beschreibung.)

ihr Gewicht nicht, verloren aber Krystallwasser im Hochvakuum bei 105°.

0,13102 g verloren 0,00683 g.

Ber. für $C_{40}H_{54}O_6 + 2H_2O$	Gef.
2H <sub>2</sub> O            5,41	5,21

Die beiden Krystallisationen des Fucoxanthins lassen sich ineinander überführen. Beim Fällen mit Wasser scheidet die äthyl- oder methylalkoholische oder die Acetonlösung Nadelchen aus; sie gehen innerhalb 5 Minuten in der Flüssigkeit in die sechseckigen Täfelchen des Hydrats über. Umgekehrt verwandeln sich die unter scheinbarer Erhaltung ihrer Krystallform im Hochvakuum getrockneten sechseckigen Tafeln sofort in die Prismen der Verbindung mit Methylalkohol, wenn sie mit diesem z. B. unter dem Mikroskop in Berührung gebracht werden.

Man kann Fucoxanthin auch umkrystallisieren durch tropfenweisen Zusatz von niedrig siedendem Petroläther zu seiner Lösung in wasserfreiem Äther. Er krystallisiert dann ohne Gehalt an Lösungsmittel in derben Nadeln. Durch Holzgeist wird diese Form sofort in die Prismen umgewandelt, welche 3 Mol. CH<sub>3</sub>OH enthalten.

Die Zusammensetzung des Fucoxanthins ist mit folgenden Präparaten<sup>1)</sup> ermittelt worden:

<sup>1)</sup> Es darf nicht unerwähnt bleiben, daß die Analyse unseres ersten Präparats von Fucoxanthin (aus Fucus, der Anfang Februar gesammelt worden) von allen späteren abwich und für die Formel  $C_{40}H_{54}O_5$  stimmte. Das Präparat, zweimal aus Methylalkohol umkrystallisiert, war allem Anschein nach rein und besaß den Schmelzpunkt 147°.

I. 0,1048 g gaben 0,2921 CO<sub>2</sub> und 0,0815 H<sub>2</sub>O.  
 II. 0,1049 g „ 0,2922 CO<sub>2</sub> „ 0,0795 H<sub>2</sub>O.

	Ber. für	Gef.	
	$C_{40}H_{54}O_5$	I	II
C	78,12	77,79	77,74
H	8,66	8,91	8,68

Da wir kein Präparat von dieser Zusammensetzung mehr erhalten haben, ist es unentschieden geblieben, ob wir in jener Dar-

I. und II. Algen im Monat März gesammelt; Fucoxanthin zweimal aus Methylalkohol umkrystallisiert und im Hochvakuum bei  $105^{\circ}$  getrocknet.

III. Dasselbe Präparat, zwei weitere Male aus Methylalkohol umkrystallisiert, Trocknung wie oben.

IV. Algen im Juni gesammelt; Präparat zweimal aus Methylalkohol umkrystallisiert.

V. Dieselbe Darstellung, zwei weitere Male aus Äther-Petroläther umkrystallisiert.

	I.	0,1290 g	gaben	0,3621	CO <sub>2</sub>	und	0,0994	H <sub>2</sub> O.		
	II.	0,1137 g	„	0,3189	CO <sub>2</sub>	„	0,0875	H <sub>2</sub> O.		
	III.	0,1284 g	„	0,3586	CO <sub>2</sub>	„	0,1010	H <sub>2</sub> O.		
	IV.	0,1375 g	„	0,3848	CO <sub>2</sub>	„	0,1081	H <sub>2</sub> O.		
	V.	0,12137 g	„	0,3401	CO <sub>2</sub>	„	0,0978	H <sub>2</sub> O.		
Gefunden		I		II		III		IV		V
C		76,55		76,49		76,17		76,32		76,43
H		8,62		8,61		8,80		8,80		9,01
		Ber. für C <sub>40</sub> H <sub>54</sub> O <sub>6</sub> <sup>1)</sup>				Gefunden im Mittel				
C		76,14				76,39				
H		8,63				8,77				

Die um zwei Wasserstoffatome reichere Formel C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>6</sub>, welche fordern würde C 75,90 und H 8,93, ist diesen Analysen zufolge weniger wahrscheinlich.

stellung eine andere Substanz in Händen hatten. Natürlich wären die Verbindungen mit 6 und 5 At. Sauerstoff einander viel ähnlicher als Carotin und Xanthophyll.

Eine Bildung der späteren Präparate aus C<sub>40</sub>H<sub>54</sub>O<sub>5</sub> durch Luftoxydation während der Isolierung ist ausgeschlossen, da wir bei den späteren Darstellungen alle Vorsicht gegen Oxydation geübt haben.

Es bleibt also noch zu bestätigen, daß die Zusammensetzung der gelben Phäophyceenpigmente in den verschiedenen Jahreszeiten konstant ist.

<sup>1)</sup> Die gefundenen Werte würden noch besser mit der Formel C<sub>41</sub>H<sub>56</sub>O<sub>6</sub> (berechnet C 76,35, H 8,76) übereinstimmen. Indessen ziehen wir die Formel mit 40 Kohlenstoffatomen wegen der großen Analogie zwischen Fucoxanthin und Xanthophyll und Carotin vor. — Für eine Methoxylbestimmung hat uns die Substanz leider nicht gereicht.

Die Molekulargewichtsbestimmung haben wir mit gleichfalls in der Wärme im Hochvakuum getrockneten Präparaten ausgeführt und zwar nach der kryoskopischen Methode im verbesserten Beckmannschen Apparate (unter Luftabschluß, mit magnetischem Rührer).

In Benzol (Konstante 50); mit einer dreimal umkrystallisierten Substanz:

I. In 10,0 g Benzol gaben 0,1295 g: 0,096° Gefrpf.-Erniedr.

In Veratrol (Konstante 63,8); mit einem viermal umkrystallisierten Präparat:

II. In 10,04 g Veratrol gaben 0,1919 g: 0,182° Gefrpf.-Erniedr.

III. „ 10,06 g „ „ 0,3605 g: 0,336° „

	Ber. für	Gef.		
	$C_{40}H_{54}O_6$	I	II	III
Molgew.	630	675	670	680

Der Schmelzpunkt des Fucoxanthins liegt (etwas abhängig<sup>1)</sup> von der Art des Erhitzens) bei 159,5—160,5° (korr.).

Mit konz. Schwefelsäure gibt das Pigment dieselbe tiefblaue Farbreaktion wie die anderen Carotinoide, ein Tropfen konz. Salpetersäure bewirkt vorübergehend dieselbe Erscheinung und dann sofort Zersetzung.

Das reine Fucoxanthin in Substanz absorbiert keinen Sauerstoff, es war bei wochenlanger Beobachtung der feingepulverten Krystalle gegen Luftsauerstoff beständig. Das aus Holzgeist krystallisierte Präparat zeigt eigentümliche Gewichtsschwankungen an der Luft. Zunächst wird Methylalkohol gegen Wasser vertauscht, danach bewegt sich mit dem Wechsel der Luftfeuchtigkeit das Gewicht zwischen weiten Grenzen. Es scheinen zwei Hydrate aufzutreten, eines mit  $2H_2O$ , das in trockner Luft beständig ist und eines mit  $3H_2O$ , dessen Bildung nur in feuchter Luft vollständig wird. Auch nach langem

<sup>1)</sup> Der Schmelzpunkt wird nur richtig und konstant gefunden mit Krystallisationen aus Äther-Petroläther, welche im Hochvakuum bei 105° getrocknet sind. Die aus Methylalkohol umkrystallisierten und ebenso getrockneten Präparate schmelzen weniger scharf und immer ungefähr 10° tiefer.

Stehen gehen die Präparate im Hochvakuum bei  $110^{\circ}$  zum ursprünglichen Gewicht zurück. Die Lösungen des Fucoxanthins hingegen sind empfindlich und verderben namentlich am Lichte leicht. Besonders unbeständig scheint die Lösung in Benzol zu sein, auch eine wäßrig-alkoholische Lösung war nach etwa einer Woche gänzlich ausgebleicht. Dabei entstanden amorphe farblose Oxydationsprodukte, welche nur 60,7 und 63,1 Proz. Kohlenstoff und 7,1 bzw. 7,4 Proz. Wasserstoff enthielten, also etwa der Zusammensetzung  $C_{40}H_{54}O_{16}$  und  $C_{40}H_{54}O_{14}$  entsprachen.

Oxydationsmittel wirken auf Fucoxanthin lebhaft ein; seine Acetonlösung reduziert Permanganat, die Lösung in 30 prozentiger Salzsäure wird von Wasserstoffsuperoxyd entfärbt, andererseits auch durch Reduktionsmittel wie Zink.

In seinen Löslichkeitsverhältnissen steht das Fucoxanthin, wie sich schon aus dem Gang seiner Isolierung ergibt, dem Xanthophyll viel näher als dem Carotin. Von der umkrystallisierten Substanz sind in 100 g Methylalkohol beim Kochen 1,66, bei  $0^{\circ}$  0,41 g löslich, viel weniger als vom Rohprodukt.

Die Krystalle lösen sich ziemlich schwer in Äther, ziemlich leicht in Schwefelkohlenstoff, reichlich in Äthylalkohol.

Die Lösungen weisen keine Fluoreszenz auf.

Die ätherische Lösung ist orange-gelb, rein gelb tingierend, die alkoholische Lösung ist etwas rotstichiger und tingiert bräunlich gelb; viel mehr rot ist Fucoxanthin in Schwefelkohlenstoff.

Um hinsichtlich der Farbintensität Fucoxanthin mit Carotin und Xanthophyll zu vergleichen, wandten wir eine Lösung von  $5 \times 10^{-5}$  Molen in 1 Liter Äther an; 50 mm Fucoxanthinschicht waren äquivalent 80 mm der entsprechenden Lösung von Carotin in Petroläther und 108 mm Xanthophyll in Äther sowie 85 mm der Kaliumbichromatlösung (2 g in 1 Liter Wasser), welche für die

colorimetrische Bestimmung dieser gelben Pigmente empfohlen worden ist.<sup>1)</sup>

Das *Absorptionsspektrum* des Fucoxanthins ist nach der Lage der Bänder dem Xanthophyllspektrum ähnlich, aber es ist verschwommener und weist am Ende des sichtbaren Gebietes eine viel weiter ins Indigblau reichende Absorption auf, so daß schon bei mäßiger Schichtdicke der zweite Absorptionsstreifen mit der Endabsorption verschmilzt.

Bei der 20 mm-Schicht der angewandten Lösung beobachten wir eine verschwommene Absorption von  $\lambda = 498 \mu\mu$  bis zum Ende. Darin hebt sich zuerst ein dunklerer, dann ein etwas weniger dunkler Streifen heraus, beide unscharf begrenzt.

0,005 g Fucoxanthin in 1 Liter Alkohol

Schichtdicke in mm	10	20
Band I	492... 476.	498. 492 — — 473 ..
„ II	467... 451.	462... 443.
Endabsorption }	—	—

#### Verhalten gegen alkoholische Kalilauge.

Das Verhalten des Fucoxanthins gegen Alkalien ist sehr merkwürdig. Saure Eigenschaften zeigt es nicht, es geht aus Äther gar nicht in wäßrige Lauge über, es wird von 50 prozentiger Kalilauge oder festem Bariumhydroxyd nicht angegriffen und reagiert nicht mit Natriummetall. Hingegen wirken alkoholische Alkalien auf Fucoxanthin ein, und zwar konzentrierte sofort, verdünnte langsamer, aber schließlich auch vollständig. Übergießt man die Krystalle mit der konz. methylalkoholischen Lauge, so lösen sie sich rasch, viel leichter als in Methylalkohol allein. Daß eine Bindung des Fucoxanthins erfolgt, bemerkt man beim Ausäthern der alkalischen Flüssigkeit, sie gibt nur sehr wenig Farbstoff an Äther ab. Nach siebenmaligem Ausäthern beispielsweise war

<sup>1)</sup> Willstätter u. Stoll, a. a. O., S. 106.

aller Methylalkohol entfernt und das Kaliumhydroxyd in fester Form abgeschieden, den größten Teil des Farbstoffs enthaltend. Die Verbindung des Fucoxanthins mit dem Alkali wird durch Wasser zerlegt, aber das Fucoxanthin daraus nicht unverändert in Freiheit gesetzt. Es zeigt außerordentliche Erhöhung seiner basischen Eigenschaften und eine auffallende Änderung des Absorptionsspektrums.<sup>1)</sup> Beim Versetzen der alkalischen Masse mit Wasser und Äther entsteht eine ätherische Lösung des Pigmentes, welche mit viel verdünnter Säure ein blaues Salz bildet als Fucoxanthin selbst. 16 prozentige Salzsäure färbt sich tiefblau an, 3 prozentige noch merklich, indem sie eine große Menge blauer Flocken ausscheidet, 0,5 prozentige nimmt tiefere Farbe an als 3 prozentige, noch 0,001 prozentige Säure wird mit einer konz. ätherischen Lösung blau. Die Fällung des Chlorides wird fast quantitativ auf Zusatz von Petroläther, Äther und salzsäuriger Schicht werden entfärbt, da das Salz offenbar nur in ätherhaltiger oder andererseits in sehr verdünnter Säure löslich ist.

Die ätherische Lösung des aus methylalkoholischer Kalilauge isolierten Pigments zeigt ein blässeres und grünstichigeres Gelb; sie scheint sehr empfindlich gegen atmosphärischen Sauerstoff zu sein. Das Spektrum weist zwei scharfe, weit gegen Violett verschobene Bänder auf.

- a) 0,01 g Fucoxanthin in 2 Liter Alkohol + 2 Liter methylalkoholischer Kalilauge.  
 b) 0,01 g daraus isolierten Pigmentes in 8 Liter Alkohol.

Schichtdicke in mm	a	b	
	10	10	20
Band I	461 — — 451	458 . . . 448	460 — — 446
„ II	435 — — 423	433 . . 420	433 — — 419

<sup>1)</sup> H. Kylin [Zeitschr. f. physiolog. Chem. 82, 228 (1912)] und M. Tswett [Ber. d. d. chem. Ges. 24, 340 (1906)] haben schon bemerkt, daß Fucoxanthin von Alkalien angegriffen wird. Tswett beobachtet nach der Reaktion ein einziges dunkleres Absorptionsband zwischen 460 und 445  $\mu$ .

Im Gegensatz zum Fucoxanthin ist Xanthophyll gegen alkoholische Kalilauge beständig; es war wichtig, dies festzustellen, da bei mehreren Methoden für seine Isolierung Gelegenheit zur Veränderung durch Alkali gegeben wäre. Wir haben ein Präparat von Xanthophyll unter Vermeidung der Anwendung von Alkalien dargestellt und auf die reine Substanz konz. methylalkoholisches Kali einwirken lassen. Nach der Wiedergewinnung gab das Pigment in ätherischer Lösung ebenso wie vor der Behandlung nur eine sehr schwache Blaufärbung mit 30 prozentiger Salzsäure. Den Schmelzpunkt des angewandten Präparates fanden wir nach starkem Sintern bei 167—167,5° (unkorr.), den Schmelzpunkt des mit Alkali behandelten bei 167,5—168,5°. Erst beim Erhitzen beginnt eine Einwirkung der konz. alkoholischen Lauge auf das Xanthophyll.

Es ist bemerkenswert, daß sich Xanthophyll aus seiner Lösung in methylalkoholischer Kalilauge, obwohl es darin nicht verändert wird, doch nur sehr träge und unvollständig mit Äther extrahieren läßt. Es scheint sich also doch in lockerer Bindung mit dem Alkali darin zu befinden.

#### Chlorhydrat des Fucoxanthins, $C_{40}H_{54}O_6 \cdot 4HCl$ .

Die alkoholische Lösung des Fucoxanthins wird mit einem Tropfen starker Salzsäure allmählich tiefblau, die ätherische Lösung wird beim Durchschütteln mit 30 prozentiger Salzsäure entfärbt, wobei die Säure prachtvoll violettblaue, in großer Verdünnung himmelblaue Farbe annimmt. Ebenso verhält sich 40 prozentige Schwefelsäure, starke Salpetersäure nimmt gleichfalls Fucoxanthin mit blauer Farbe auf, zerstört aber das Pigment rasch und gibt sofort wieder ein gelbes Produkt an Äther ab. Auch mit ätherischer Pikrinsäure findet in einigen Minuten solche Salzbildung statt. Verdünntere Säuren (z. B. 25 prozentige Salzsäure) wirken langsamer ein; Salzsäure von weniger als 20 Proz. HCl reagiert aber nicht mehr mit einer frischen Fucoxanthinlösung.

Die Chlorwasserstoffverbindung wird durch ätherische Salzsäure in blauen Flocken mit prachtvollem kupfrigem Glanz gefällt, welche beim Trocknen an der Luft Chlorwasserstoff verlieren. Wird das Produkt in Chlorwasserstoffatmosphäre über Chlorcalcium getrocknet, so enthält es vier Mol. Chlorwasserstoff. Es schmilzt nach starkem Sintern unscharf bei 215°. Beim Erhitzen mit Kalk tritt ein leichtflüchtiges Destillat auf, dessen Geruch an Naphthalin erinnert.

I.	0,07884 g	gaben	0,05762	AgCl	(mit CaO bestimmt).
II.	0,04917 g	„	0,03696	AgCl	( „ CaO „ ).
		Ber. für		Gef.	
		$C_{40}H_{54}O_6 \cdot 4HCl$		I	II
Cl		18,27		18,17	18,59

Das Chlorid löst sich in Alkohol, Benzol und Chloroform leicht mit indigblauer Farbe. Beim Schütteln mit Äther und Bicarbonatlösung entsteht eine grünstichig gelbe ätherische Lösung, die schon mit 10 prozentiger Salzsäure zu reagieren beginnt und die das Fucoxanthin nicht unverändert enthält. Nach dem Abdampfen und Trocknen wies das Produkt nämlich einen Chlorgehalt von 5,22 Proz. auf, während sich für die Aufnahme von 1 Mol. HCl 5,32 Proz. berechnet. Es ist also Bindung von Chlorwasserstoff erfolgt.

Das durch methylalkoholische Kalilauge veränderte Fucoxanthin reagiert in ähnlicher Weise mit ätherischer Chlorwasserstoffsäure; ein Überschuß des Reagens ist zu vermeiden, das Salz ist darin löslich, andererseits ist es in ätherhaltiger Salzsäure weniger löslich als das Chlorhydrat des Fucoxanthins. Die im Chlorwasserstoffstrom getrocknete Fällung enthielt nur wenig mehr Chlor als das oben beschriebene Chlorid, nämlich 19,65 und 19,03 Proz.

*Jodid des Fucoxanthins,  $C_{40}H_{54}O_6J_4$ .*

Fucoxanthin addiert Jod in Schwefelkohlenstoff augenblicklich, in Äther langsamer; die Lösung färbt sich dabei grün, aus dem Schwefelkohlenstoff scheiden

sich dunkle Öltropfen ab, aus der ätherischen Lösung rasch krystallinisch erstarrende Öltröpfchen oder sogleich Klumpen derber Krystalle.

Es scheint nicht möglich zu sein, ein Dijodid zu erhalten; wendet man zu geringe Mengen von Jod an, so tritt neben unverändertem Fucoxanthin das Tetrajodid auf. Die Analysenpräparate wurden mit ätherischen Lösungen der Komponenten dargestellt, und zwar I mit überschüssigem, II mit zu wenig Jod und III aus der Mutterlauge des vorigen mit mehr Jod ausgefällt. Die Präparate II und III sind als Rohprodukte analysiert, I aus Chloroform mit Petroläther umgefällt worden.

I.	0,1049 g	gaben	0,0925	AgJ	(nach Carius).
II.	0,08084 g	„	0,06610	AgJ	( „ „ ).
III.	0,06919 g	„	0,0584	AgJ	( „ „ ).

	Ber. für	Gef. <sup>1)</sup>		
	$C_{40}H_{54}O_6J_4$	I	II	III
J	44,61	47,66	44,20	45,69

Das Jodid krystallisiert in violettschwarzen kurzen, zugespitzten Prismen mit kupfrigem Glanz, die unter dem Mikroskop graues bis blaugrünes Licht hindurchlassen. Die Substanz ist in Chloroform und Aceton sehr leicht löslich mit tiefblauer Farbe, etwas schwerer in Benzol, schwer löslich in Äther. Sie schmilzt nach kurzem Sintern bei 134—135° (korr.).

<sup>1)</sup> Die Präparate I und III konnten, da sie mit Jodüberschuß dargestellt waren, etwas mitgefälltes Jod enthalten.