

Die Azofarbstoffe als Tinktionsmittel für menschliche und thierische Gewebe.

Von

Dr. **H. Griesbach** (Mülhausen i. Els.)

Ein Nebenprodukt des bei der Destillation von Steinkohlen erhaltenen Leuchtgases bildet der Steinkohlentheer. Dieser unansehnliche Stoff ist in den letzten Decennien ein wichtiger Gegenstand der chemischen Forschung geworden und hat, da er der Ausgangspunkt zur Darstellung zahlreicher organischer Farbstoffe liefert, für Wissenschaft und Praxis enorme Bedeutung gewonnen. Wenn man die organische Chemie auch wohl die Chemie des Kohlenstoffes nennen kann, weil sämtliche dorthin gehörige Körper dieses Element enthalten, so hat man doch je nach dem Reichthume der Körper an Kohlenstoff zwei grosse Klassen von Kohlenstoffverbindungen unterschieden, nämlich die Fettkörper und die aromatischen Substanzen¹⁾, welche ihren Namen beide mehr oder weniger ihren Eigenschaften und ihrer Entstehung verdanken.

Bekanntlich ist es eine der Hauptaufgaben der modernen Chemie gewesen, die auf der Valenz der chemischen Elemente basirende atomistische Constitution der Verbindungen kennen zu lehren und diese durch sogenannte Kettenformeln zu versinnlichen. Während man nun als Fettkörper solche Kohlenstoffverbindungen betrachtet, welche beliebig viele Atome des vierwerthigen Kohlenstoffs in fortlaufenden oder verzweigten Ketten enthalten, nimmt man an, dass in allen aromatischen Substanzen sechs Kohlenstoffatome eine ringförmig geschlossene Kette bilden und nennt diesen Atomcomplex den Benzolkern, weil er zugleich die einfachste aromatische Verbindung, den Kohlenwasserstoff Benzol C_6H_6 bildet. Der Steinkohlentheer enthält in seiner complizirten Zusammensetzung vornehmlich aromatische Substanzen, welche man in eine

1) Ausserdem unterscheidet man auch wohl noch fett-aromatische Substanzen.

homologe Reihe, d. h. in eine Reihe, deren einzelne Glieder unter sich ein analoges chemisches Verhalten zeigen und sich durch eine bestimmte Differenz an Kohlenstoff- und Wasserstoffatomen unterscheiden, gebracht hat. Dieser Reihe, der sogenannten aromatischen Reihe, gehören die Azoverbindungen an, für deren chemische Konstitution charakteristisch ist, dass sie eine aus zwei unter sich verbundenen Stickstoffatomen bestehende zweiwertige Atomgruppe enthalten, welche mit zwei Kohlenstoffatomen zweier aromatischen Reste verbunden sind.

Zu diesen Azoverbindungen gehören drei verschiedene Klassen von Körpern, von denen uns nur die eigentlichen sogenannten Azoverbindungen interessiren, da sie die Amidoazo- und Oxyazo-Verbindungen, ihre Sulfosäuren und deren Salze, welche man als Azofarbstoffe *κατ' ἐξοχήν* bezeichnet, enthalten. Diese Körper sind meistens tiefgefärbte, alle Nuancen des Gelb, Orange und Roth durchlaufende Stoffe. Ihre Nuancen unterscheidet man meistens durch Hinzufügen der Buchstaben Y (yellow), O (orange), R (red, roth), OO, RR etc. etc. Von den zahlreichen und patentirten Azofarbstoffen haben sich auf dem Markte schliesslich nur wenige gehalten.

Ehe ich die Verwendung und Brauchbarkeit derselben für die Histologie hier mittheile, will ich die wichtigsten und von mir untersuchten ¹⁾ übersichtlich zusammenstellen, wobei ich zugleich den chemischen Namen derselben, den Namen des Entdeckers, der Fabrik, sowie die Litteratur, so viel es mir möglich war, berücksichtige. ²⁾

1) Ich erlangte anfangs die meisten der betreffenden Azofarben durch die Güte der Herren Dr. E. Nölting, Director an der hiesigen Chemischschule für chemische Farbenindustrie und Dr. Witt, zur Zeit ebenfalls hier wohnhaft.

2) Näheres über die Stoffe speciell in chemischer Hinsicht findet man in:

Bolley: Die chemische Technologie der Spinnfasern etc. Fortgesetzt von Kopp und Meyer.

Schultz: Die Chemie des Steinkohlentheers etc. Braunschweig, Vieweg und Sohn 1882.

Azofarbstoffe.

Handelsmarke	Chemische Benennung	Entdecker, Patentinhaber, Bezugsquelle	Litteratur
1. Anilingelb	Amidobenzol	Simpson, Maule, Nicholson, zu beziehen in jeder grösseren Anilinfabrik.	Jahresber. d. prakt. Chem. 1861. 82, 462.
2. Säuregelb od. Echtgelb	Amidoazobenzolsulfosäure	Grässler, zu beziehen wie 1.	Chem. Indust. 1879. 49, 346.
3. Chrysoidin	Diamidoazobenzol	Caro. 1875. O. N. Witt. 1876 v. d. Firma Williams, Thomas & Dower (1876) in Brentford u. Fulham bei London in den Handel gebr., zu bez. wie 1.	A. W. Hoffmann: Berl. Ber. 1877. 10, 213. N. O. Witt. ibid. 1877, 10, 550, 654. Griess ibid. 1877, 10, 388.
4. Vesuvium. Phenylbraun, Bismarckbraun, Manchesterbraun	Triamidoazobenzol	Caro. Griess. Bezugsquelle: Dr. E. ter Meer & Comp., chem. Farbenfabr. Uerdingen a. Rh.	Ztsch. f. Ch. 1867. N. F. 3, 278.
5. Tropaeolin Y	Phenolazobenzolsulfosaures Natrium	O. N. Witt, v. d. Firma Williams Thomas u. Dower i. d. Handel gebr. Bezugsquelle Durand & Hugenin, Basel.	Ber. d. d. chem. Ges. 1879, 259.
6. Tropaeolin O, Chrysoin, Chryseolin, Tropaeolin R.	Resorcinazobenzolsulfosaures Natrium	O. N. Witt, von der in 5. gen. Firma in den Handel gebr. Bezugsquelle: ter Meer & Co.	Witt Privatmitth. an Griess u. Griess in: Ber. d. d. chem. Ges. 1878, 2143.
7. Tropaeolin OO Orange IV, Orange N (nach Witt der schönsten Tropaeolinfarbstoffe)	Diphenylaminazobenzolsulfosaures Kalium	N. O. Witt in der in 5. gen. Fabrik, von welcher d. Farbstoff auch in den Handel gebracht wurde. Bezugsquelle ter Meer & Co., unt. d. Namen Orange IV auch v. H. Poirrier in Paris entdeckt.	Bericht d. d. chem. Ges. 1879, 259.
8. Tropaeolin OOO Nr. 1, Orange I	Naphtolazobenzolsulfosaures Kalium	Zuerst v. H. Poirrier in Paris als Orange I, dann v. N. O. Witt in der in 5. gen. engl. Fabrik entdeckt, welche den Stoff i. d. Handel brachte. Bezugsq. Durand und Hugenin Basel.	Bericht d. d. chem. Ges. 1879, 259.
9. Tropaeolin OOO Nr. 2, Orange II, Chrysaurein β -Naphtolorange	β Naphtolazobenzolsulfosaures Kalium	Zuerst von H. Porrier in Paris als Orange II, dann v. N. O. Witt i. d. in 5. gen. Fabr. entd. Bezugsquelle u. a. auch Durand & Hugenin, Basel.	?
10. Crocein ¹⁾	Azobenzolsulfosäure-ammoniumazo β -naphtolsulfosaures Natrium	Farbenfabriken vorm. Friedr. Bayer & C. in Elberfeld, daselbst auch zu beziehen.	D. R. P. Nr. 18027 vom 18. März 1881.
11. Aechtroph Roccellin, Orseillin Nr. 3, Rubidin Rauracienne	β naphtolazonaphtalinsulfosäure	Entd. Caro. Bezugsq. Badische Anilin- u. Sodafabr. in Mannheim. Durand und Hugenin, Basel.	?

Handelsmarke	Chemische Benennung	Entdecker, Patentinhaber, Bezugsquelle	Litteratur
12. Ponceau R aus Salz R ¹⁾ , Xylidinponceau	Xylolazo β naphtoldisulfosäure	Entd. u. patent. v. d. Fabr. v. Meister, Lucius u. Brüning in Höchst a. M., das. zu beziehen.	D. R. P. Nr. 3229. 24. Apr. 1878. chem. Indust. 1878, 410.
13. Ponceau RR a. Salz R ¹⁾	Pseudocumolazo β naphtoldisulfosäure	Wie 12.	Wie 12.
14. Ponceau G a. Salz G ¹⁾	Xylolazo β naphtoldisulfosäure	Wie 12.	Wie 12.
15. Ponceau GG a. Salz G ¹⁾	Pseudocumolazo β -naphtoldisulfosäure	Wie 12.	Wie 12.
16. Bordeaux R a. Salz R ¹⁾	Naphtalinazo β naphtoldisulfosäure	Wie 12.	Wie 12.
17. Bordeaux G a. Salz G ¹⁾	Wie 16.	Wie 12.	Wie 12.
18. Biebricher Scharlach Ponceau RRR ¹⁾ .	β Naphtolazobenzolsulfosäurenatrium-azobenzolsulfosaures Natrium	Entd.: Nietzki. W. v. Miller. — 1879 in d. Handel gebr. von der Anilinfabr. v. Kalle & Co. in Bibrich, auch von Friedr. Bayer in Elberfeld u. v. der Aktiengesellsch. für Anilinfabrikation in Berlin. Bezugsquelle daselbst.	Bericht d. d. chem. Ges. 1880, 801. ibid. 1880, 542, 803, 980.
19. Orange III ¹⁾ . Helianthin, Goldorange	Dimethylanilinazobenzolsulfosaures Ammonium	Entd.: N. O. Witt. Bezugsq.: Chem. Fabr. v. Dr. E. ter Meer.	?

Es handelte sich bei meinen Versuchen nicht nur um Tinctio-
nen einzelner Gewebepartien, nicht nur um Kernfärbung, sondern
es war mir darum zu thun, in den verwendeten Farbstoffen Mittel
zu suchen, welche womöglich für alle Gewebelemente, Verwendung
finden möchten. Ich habe es deswegen nicht unterlassen, die Azo-
stoffe nach allen Richtungen hin zu probiren, glaube aber hoffen
zu dürfen, dass es für weitere Untersuchungen lohnend wäre, die
von mir begonnenen Methoden auszubeuten; denn mit Flemming²⁾
bin ich der Ansicht, dass Studien über Azofarbstoffe in ihrer An-
wendung für die Histologie eine sehr dankbare Aufgabe sind.

Meine Untersuchungen entsprangen zunächst aus eigenen
Bedürfnissen; einerseits wünschte ich Farbstofflösungen zu verwen-

1) Sollte Jemand die Farbstoffe, ohne sie erst in grösserer Menge aus
der Fabrik zu beziehen, probiren wollen, so bin ich gerne bereit, so lange
meine Vorräthe ausreichen, davon mitzutheilen. — Dasselbe sei auch von dem
Jodgrün gesagt, welches in Deutschland augenblicklich schwer aufzutreiben ist.

2) Vergl. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 19.

den, für welche eine umständliche Präparation und penible Aufbewahrung nicht erforderlich ist, sondern welche in wenigen Augenblicken, ohne Abwägen bestimmter Mengen, einfach durch Einschütten des Stoffes in destillirtes Wasser erhalten werden können, andererseits wünschte ich, dass dieselben bei Demonstrationen momentan wirken und intensiv und leuchtend gefärbte Bilder liefern möchten. Ausser den angegebenen Bedingungen wünschte ich mit Weigert¹⁾ auch noch folgende erfüllt zu sehen: Färbung, welche auch dem Anfänger, dem die technische Fertigkeit des geübten Histologen noch mangelt, absolut sicher gelingt, Färbung, welche nur bis zu einem bestimmten Grade die Gewebe durchdringt, so dass man nicht nöthig hat mit gespannter Aufmerksamkeit einen Zeitraum abzuwarten, über welchen hinaus Ueberfärbung eintreten würde, Färbung, welche der entfärbenden Wirkung des Waschwassers und des Alcohol. absol. auf beliebige Zeit Trotz bietet und endlich Färbung, welche beim Aufbewahren der Präparate, sei es in stark oder weniger stark lichtbrechenden Medien, weder ausbleicht, noch in einen dunkleren Ton übergeht. In wie weit die von mir untersuchten Stoffe diesen Bedingungen Genüge leisten, werde ich in Nachstehendem zeigen, bemerken möchte ich nur noch, dass ich grade in der Löslichkeit der Azostoffe in Wasser einen Vorzug derselben vor anderen Tinktionsmitteln, die mit Alcohol bereitet werden, erblicke.

1) **Anilingelb**, fast unlöslich in Wasser, gut löslich in Alcohol. Der Stoff ist nach meinen Untersuchungen für histologische Zwecke unbrauchbar.

2) **Säuregelb** oder **Echtgelb**, in Wasser leicht löslich. Knochen färbt sich schön orange. Ein Schnitt aus dem Os front. des Menschen, bei welchem die Diploevenen mit Berliner Blau injicirt sind, liefert ein herrliches Bild. Trachealknorpel des Hundes färbt sich citronengelb; Binde- und Gallertgewebe ebenfalls. In Querschnitten durch den in Alcohol gehärteten Eingeweidesack von Unio färben sich Epithelien orange, Muskeln goldgelb schillernd, Drüsengewebe erscheinen bräunlich, und die Kerne in den Drüsenzellen treten sehr deutlich hervor; Nervelemente färben sich nach meinen Erfahrungen weniger gut.

Ich habe das Echtgelb an frischen Geweben, an Alcohol- und Chromsäurepräparaten probirt, für letztere findet der Farbstoff von

1) Bismarckbraun als Färbemittel. Dieses Arch. Bd. 15. p. 258—60.

mir keine Anerkennung, während ich sowohl an frischen als auch an in Alkohol gehärteten Präparaten gute Bilder erhielt. Für isolirte Zellen aller Art mit Ausnahme von Drüsenzellen kann ich das Echtgelb nicht grade empfehlen, der Kern wird nicht distinct genug vom Plasma abgehoben. In einem grösseren Querschnitte, wo die verschiedensten Gewebeformen sich finden, erleichtert das Echtgelb die Uebersicht deswegen, weil die verschiedenen Gewebeformen durch Annahme eines verschiedenen Farbentones vom hellsten Citronengelb bis zum Braun sich von einander deutlich abheben.

Man wählt am besten recht concentrirte Lösungen, da der Farbstoff von Alcohol ziemlich stark ausgezogen wird.

3) **Chrysoidin**, in Wasser leicht löslich, Knochen und alle Arten Binde-substanzen nehmen die Farbe so gut wie nicht an, frische Gewebe färben sich ganz diffus hellgelb, auch Alkohol- und Chromsäurepräparate liefern mir unbefriedigende Bilder. Der Farbstoff wird stark von Alcohol ausgezogen.

4) **Bismarckbraun**. Dieser Farbstoff ist zuerst von Weigert zur Untersuchung herangezogen und hernach oftmals angewendet worden. An meinen Präparaten zeigen sich Protoplasmen, Binde-substanzen schwach und diffus gelb gefärbt. Muskeln färben sich an Alkoholpräparaten strohgelb. Einen schönen braunen, durchaus nicht diffusen Farbenton nimmt Drüsengewebe an. Am brauchbarsten halte ich das Bismarckbraun für Kerntinktionen sowohl an Alkohol- als auch an Chromsäurepräparaten. An isolirten Ganglienzellen tritt der Kern deutlich hervor; während das Plasma fast ungefärbt erscheint. Für einzellige Organismen, Bacterien aller Art, farblose Blutkörperchen etc. ist das Bismarckbraun recht geeignet. Der ausziehenden Wirkung des Alkohols gegenüber verhält sich der Farbstoff resistent.

5) **Tropaeolin Y**, leicht löslich in Wasser. Binde-substanzen und Muskeln mariner Wirbellosen bleiben ungefärbt, wenn man frische Objecte wählt. Süßwasserformen nehmen eine schwache citronengelbe Färbung an. In Alkohol gehärtete marine Mollusken verhalten sich wie die frischen Objecte. Muskulatur der Wirbelthiere färbt sich strohgelb. In Chromsäure erhärtetes menschliches Rückenmark nimmt die Farbe so gut wie nicht an. Drüsengewebe in Alkohol und Chromsäure gehärtet färbt sich zwar, doch tritt eine deutliche Differenzirung des Kernes nicht ein. Gut färben sich Schnitte durch völlig entkalkten und in Alkohol conservirten

Knochen. Mit Tropaeolin Y gefärbte Schnitte, namentlich Knochen, verhalten sich gegen Alkohol ziemlich resistent.

6) **Tropaeolin O.** Man löst am besten in kochendem Wasser und filtrirt, wenn die Lösung nicht ganz klar.

Knochen wird dunkelorange gefärbt. Binde-substanzen, Knorpel und Muskeln nehmen einen gelben Ton an, doch ist derselbe bei den einzelnen Geweben verschieden und kaum näher zu beschreiben. Epithelialgebilde von Wirbelthieren färben sich bräunlich. Drüsengewebe wird quittengelb, doch erscheinen Kerne nicht deutlich differenzirt. Chromsäurepräparate, namentlich Nervenmasse, so zum Beispiel die graue Substanz des Rückenmarkes nehmen schön citronengelbe Färbung an. Der Farbstoff verhält sich in allen Geweben gegen Alkohol resistent.

7) **Tropaeolin OO** ¹⁾, in Wasser leicht löslich. Die Färbung, welche die einzelnen Gewebe annehmen, ähnelt sehr der durch Tropaeolin O erzeugten, doch erscheinen mir die Farbentöne, ausgenommen an Knochen, schwächer, obgleich die Lösung denselben Concentrationsgrad besass, wie die des Tropaeolin O. Resistenz gegen Alkohol wie bei Tropaeolin O.¹⁾

8) **Tropaeolin 000, Nr. 1**, leicht in Wasser löslich. Knochen und Binde-substanzen färben sich dunkel orange, letztere mit einem Stich ins Röthliche. Alle von mir untersuchten Gewebe, sowohl Alkohol- als auch Chromsäurepräparate, nehmen die Farbe gleichmässig und nicht diffus an. Der Farbstoff liefert eine schöne Kernfärbung, welche dunkler ist als die mit Tropaeolin OO. Gegen Alkohol sehr resistent.

9) **Tropaeolin 000 Nr. 2**, in Wasser leicht löslich, färbt

1) Flemming's Orange (p. 323) ist dasselbe, nur dass er das Natriumsalz verwendet hat; ob sich das Natrium- und Kaliumsalz verschieden gegen Gewebe verhalten, habe ich nicht probirt. Mit Flemming finde ich, dass Tropaeolin OO eine gute, wenn auch nur schwache Kernfärbung liefert. So viel ich übrigens von Chemikern, die sich speciell mit dem Gegenstand beschäftigen, erfahre, ist das Kaliumsalz das gewöhnlich dargestellte. — Interessant ist die Anwendung, welche das Tropaeolin OO schon 1879 in der Pathologie erfahren hat. Es handelt sich nicht um Gewebetinktionen, sondern um den Nachweis freier Salzsäure im Magensaft. „Dasselbe gibt in verdünnter Lösung mit den geringsten Spuren von Mineralsäure eine schön. carmoisinrothe Färbung.“ Vgl. R. von der Velden: Ueber Vorkommen und Mangel der freien Salzsäure im Magensaft bei Gastrektasie p. 6, 9, 7. Sep.-Abd. a. d. deutsch. Arch. f. klin. Med. XXIII. Bd.

wie Nr. 1 alle Gewebe gleichmässig und nicht diffus, dunkel orangeroth, wird aber dann von Alkohol so viel extrahirt, dass alle Präparate hellere Farbentöne zeigen als die, welche mit Nr. 1 tingirt wurden. An isolirten protoplasmatischen Gebilden färbt sich der Kern tief orangeroth, nach wenigen Versuchen, die ich angestellt, eignet sich dieser Azofarbstoff gut für die Hermann-Flemming'sche Kerntinktionsmethode.¹⁾

10) **Crocein**, leicht in Wasser löslich, färbt Knochen, Knorpel, Binde-substanzen und Muskeln sowohl im frischen Zustande, als auch an Alkoholpräparaten gleichmässig und scharf purpurroth. Wohl die schönsten Bilder erhalte ich an Drüsengeweben, Pancreas vom Menschen, Leber von Wirbelthieren und von Wirbellosen, Hoden etc. Die Zellen der Samenkanälchen vom Kater zeigen eine scharfe Kernfärbung; in der Niere des Hundes, welche in Alkohol erhärtet wurde, erhielt ich eine herrliche Färbung der Zellen der Harnkanälchen und diese heben sich durch ein dunkles Roth scharf von der heller gefärbten Binde-substanz ab. Chromsäurepräparate nehmen die Färbung gut an. Die Hörner der grauen Substanz aus dem in dieser Weise erhärteten Rückenmark (Aeffen) zeigen einen scharlachrothen Farbenton, dunkel kirschroth finde ich die Substantia alba. Das Crocein ist ein sehr brauchbares Tinktionsmittel.

11) **Roccellin**, leicht löslich in Wasser. Knochen und Binde-substanzen färben sich kirschroth, letztere oft mit einem Stich ins Bläuliche. Schön gefärbt erscheinen ferner Muskeln, Drüsen und Epithelien. Die Farbe ist sowohl für Alkohol- als auch für Chromsäurepräparate verwendbar. Der Stoff eignet sich für die Hermann-Flemming'sche Kernfärbungsmethode ziemlich gut. Von Alkohol wird die Farbe ziemlich stark extrahirt, namentlich an Binde-substanzen. Knochenschnitte liefern mir die schönsten Bilder.

12) **Xylidinponceau**, leicht löslich in Wasser. Fleming probirte es für Kerntinktionen ohne Erfolg. Mir liefert es gute Färbungen an in Alkohol conservirten Knochen, Binde-substanzen und Muskeln. Drüsengewebe färben sich diffus. Bei in Alkohol gehärtetem Rückenmark färbt sich die graue Substanz leidlich. Chromsäurepräparate färben sich nach meinen Versuchen nicht. Von Alkohol wird es ziemlich stark extrahirt.

1) Vgl. Tageblatt der deutsch. Naturforschergesellsch. in Graz 1875. pag. 105.

13) **Ponceau RR**, leicht löslich in Wasser; mit dem Xylidinponceau hat es die Unbrauchbarkeit für Chromsäurepräparate gemein, im allgemeinen ist es ihm aber entschieden vorzuziehen; denn verschiedene Gewebeformen, welche ersteres diffus färbt, nehmen mit Stoff RR gleichmässig scharfe Ponceau- bis scharlachrothe Färbung an. In Drüsenzellen erhielt ich mehrfach eine scharfe Kernfärbung, ebenso in Epithelialzellen. Gegen Alkohol ist es resistent.

14) **Ponceau G**, leicht löslich in Wasser. Knochen färben sich dunkel orange, Binde-substanzen von Alkoholpräparaten, Muskeln und Epithelien safrangelb. In Drüsengeweben sowie an isolirten Zellen erhielt ich eine gute Kernfärbung. Nervensubstanz nimmt einen heller gelben Ton an. An Chromsäurepräparaten erhielt ich keine befriedigende Resultate. Für Wirbelthiergewebe eignet sich der Stoff besser als für das Gewebe von Wirbellosen, von denen ich hauptsächlich marine Mollusken zur Untersuchung herbeizog. Aus manchen Geweben extrahirt Alkohol stark, aus Knochen fast gar nicht.

15) **Ponceau GG**, leicht in Wasser löslich, für Chromsäurepräparate unbrauchbar. Scharf und schillernd orange färben sich aus Alkoholpräparaten Knochen, leimgebendes Bindegewebe und Muskeln. Für andre von mir untersuchte Gewebselemente ist der Farbstoff mehr oder weniger unbrauchbar. Alkohol extrahirt ziemlich stark.

16) **Bordeaux R**, am besten unter Erwärmen und unter Zusatz einiger Tropfen Alkohol in Wasser zu lösen. Knochen, Muskeln und leimgebendes Bindegewebe färben sich schön „Bordeaux-roth“. Frische Präparate eignen sich weniger gut als Alkoholpräparate. Der Stoff eignet sich nach meinen Untersuchungen für Kernfärbungen sowohl an Alkohol- als auch Chromsäurepräparaten. Für Drüsengewebe hat mir das Bordeaux R recht gute Dienste geleistet. Gegen Alkohol ist der Farbstoff ziemlich resistent.

17) **Bordeaux G**, am besten unter Erwärmen in Wasser zu lösen. Ist chemisch dasselbe wie Bordeaux R und verhält sich für histologische Zwecke demselben im allgemeinen sehr ähnlich, nur sind die Farbentöne gelber, während Bordeaux R meist ganz rothe Töne liefert.

18) **Biebricher Scharlach**, leicht in Wasser löslich. Es färbt gleichmässig und distinct mit hochrother Farbe die verschiedensten Gewebe von Alkoholpräparaten. Für Chromsäurepräparate ist der Farbstoff nicht vorthellhaft. Zellkerne treten scharf hervor

und wenn ästhetische Gesichtspunkte in diesem Zweige der mikroskopischen Technik eine Rolle spielen könnten, so findet man auch hierfür in der Färbung mit Biebricher Scharlach volle Befriedigung. Gegen Alkohol verhält es sich sehr resistent.

19) **Goldorange**, leicht in Wasser löslich. Es färbt sowohl frische Objecte, als auch Alkohol- und Chromsäurepräparate. Knochen erscheint tief orangeroth, Knorpel und Muskulatur goldgelb. Binde-substanzen färben sich röthlich. Für Drüsengewebe ist das Goldorange ein ausgezeichnetes Tinctivmittel. In der Niere differenziren sich die Harnkanäle schön und zierlich gegen die Binde-substanz. Das Drüsenepithel der Prostata färbt sich schillernd goldig, der Kern tritt durch dunklere Färbung deutlich hervor. Mit Berliner Blau injicirte Leber liefert ein herrliches Bild, die verästelt blauen Gefäße auf goldig schimmerndem Grunde nehmen sich wie eine architectonische Malerei unter dem Mikroskope aus. Ein Querschnitt durch die Haut liefert ebenfalls feine Bilder. Gegen Alkohol ist die Färbung ziemlich resistent, doch empfehle ich für den Gebrauch nicht zu schwache Lösungen.

Es sind grade in den letzten Jahren so viele neue Tinktionsmittel für menschliche und thierische Gewebe empfohlen worden, dass man fast auf den Gedanken kommen könnte, die alten und bewährten Färbemittel müssten ihren Platz im histologischen Laboratorium den modernen Anilinfarben abtreten. Doch ich bin weit davon entfernt, einem solchen Wechsel das Wort zu reden. Mit einer blendenden Schönheit ist leider oft auch eine schnelle Vergänglichkeit verbunden, unsere Erfahrungen über die Haltbarkeit der mit Azofarbstoffen oder anderen neueren Anilinfarben angefertigten Präparate sind noch nicht alt genug. Ob die von mir untersuchten Azostoffe der Vergänglichkeit grösseren oder geringeren Widerstand bieten, wird erst die Folge lehren, meine ältesten Präparate sind wie die mit Jodgrün¹⁾ hergestellten ungefähr dreiviertel Jahr alt und haben seit ihrer Anfertigung keine Veränderung erlitten. Aber was auch immer die Zukunft in dieser Hinsicht bringen wird, die Brauchbarkeit der Azostoffe, wie der meisten Anilinfarben für momentane leicht auszuführende, scharfe und die einzelnen Gewebe oft mit den verschiedensten Farbentönen ausstattende Tinctionen wird dadurch nicht beeinträchtigt. Es sei mir gestattet zur Methodik noch einige kurze Bemerkungen hinzuzufügen.

1) Vergl. zoolog. Anz. Nr. 117.

In wie weit sich die von mir untersuchten Azostoffe für Doppelfärbungen unter sich oder mit anderen Tinktionsmitteln eignen, muss ich einstweilen dahingestellt sein lassen, doch will es mir nach den Mittheilungen Schiefferdecker's¹⁾ wahrscheinlich erscheinen, dass für solche günstige Resultate bevorstehen.

Die mancherlei Hilfsreagenzien, die beim Tingiren sonst so oft zur Verwendung kommen, sind für die Färbung mit Azostoffen von untergeordneter Bedeutung, ja sie können unter Umständen recht unangenehm wirken. Man hüte sich die Färbungen unvorsichtig mit unorganischen oder organischen Säuren oder mit Alkalien zu behandeln, es entstehen gar oft Niederschläge und Farbenveränderungen in den Geweben.

Am besten lassen sich die mit Azostoffen gefärbten Präparate nach gehöriger Entwässerung und Aufhellung in ätherischen Oelen in Harzen einschliessen. Bei der Aufhellung verwendet man meistens Nelkenöl. Sehr zarte Farben aber werden bei meinen Versuchen durch die gelbe Farbe des Nelkenöls oftmals beeinträchtigt. In solchen Fällen brauche man Lavendelöl oder am allerbesten ein absolut farbloses Anisöl, doch muss man Acht geben, dass nicht Schrumpfung und Brüchigkeit der Gewebe eintritt.

Für das Durchfärben grösserer Gewebsstücke eignen sich die Azostoffe nicht, je feiner dagegen der Schnitt, desto herrlicher und leuchtender das Bild.

1) Vgl. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 15. p. 33 sq.