Zeitschrift: Candollea : journal international de botanique systématique = international journal of systematic botany

Herausgeber: Conservatoire et Jardin botaniques de la Ville de Genève

Band: 10 (1943-1946)

Artikel: Michel Tswett : le créateur de l'analyse chromatographique par adsorption : sa vie, ses travaux sur les pigments chlorophylliens

Autor: Dhéré, Charles

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-880429

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 06.08.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

MICHEL TSWETT

Le créateur de l'analyse chromatographique par adsorption
Sa vie, ses travaux sur les pigments chlorophylliens [1]

par

Charles DHÉRÉ

Introduction.

I. Vie de Tswett. Son doctorat à Genève.

II. Travaux sur les pigments chlorophylliens.
Elaboration de l'Analyse chromatographique par adsorption.
A. — *Chlorophylles* a *et* b.
B. — *Caroténoïdes.*

III. Développement de l'Analyse chromatographique jusqu'à nos jours.

IV. Appendice : Notes complémentaires.

Conclusion générale : Tswett et les « Prix Nobel » de chimie.

Bibliographie.

INTRODUCTION

La mort de TSWETT remonte au mois de mai 1920. Le lecteur se demandera sans doute pourquoi on publie maintenant, et dans la revue genevoise *Candollea*, une notice biographique sur ce botaniste russe. Il pourra aussi se demander, éventuellement, quel est au juste l'intérêt que présente en botanique la méthode d'analyse imaginée par TSWETT et jusqu'à quel point le signataire de ces lignes — qui n'est pas un botaniste de carrière — est qualifié pour traiter ce sujet.

---

[1] Manuscrit reçu le 23 mars 1943.

Commençons donc par dire qu'en 1937, L. ZECHMEISTER et L. v. CHOLNOKY ont publié un livre intitulé : *Die chromatographische Adsorptionsmethode.* Dès 1938, paraissait une seconde édition, très augmentée. Citons les premières lignes du prospectus de l'édition de 1937 : *Der geniale russische Botaniker* TSWETT *ersann 1906 ein originelles einfaches Arbeitsverfahren zum Nachweis, zur Bestimmung und zur Isolierung von organischen Verbindungen, sowie zur Prüfung von Materialen der verschiedensten Art auf Homogenität.* A la fin de la préface de l'édition de 1938, les auteurs déclarent : *Es war beabsichtigt, den vorliegenden Band mit einer Biographie von* TSWETT *einzuleiten, zuverlässige Angaben über das bewegte Leben dieses Bahnbrechers waren aber bis jetzt nicht erhältlich.*

Après bien des recherches personnelles dans la littérature, je ne puis que confirmer ce qu'avaient dit alors ZECHMEISTER et v. CHOLNOKY : effectivement, à la fin de 1939, aucune notice biographique sur TSWETT n'avait encore paru. Mais il faut ajouter que dans les *Biographies des Botanistes à Genève* (1500 à 1931), éditées en janvier 1940 par la Société botanique suisse, il y a (p. 463) une courte notice (28 lignes) consacrée à TSWETT et rédigée par JOHN BRIQUET [1].

Relevons tout de suite que, comme l'indique le titre même de cette publication, œuvre posthume de J. BRIQUET, Genève peut s'enorgueillir, à juste titre, de compter TSWETT au nombre des botanistes qui ont illustré son Université. C'est à Genève, en effet, qu'il prépara sa thèse de doctorat (publiée en 1896), et il eut alors précisément comme condisciple, dans le laboratoire du professeur MARC THURY, le futur directeur de *Candollea*, M. le professeur HOCHREUTINER. Je dois à M. HOCHREUTINER non seulement d'avoir accueilli cet article dans sa revue, mais encore de m'avoir fourni beaucoup de précieux renseignements et documents sans lesquels je n'aurais pu rédiger cette notice (rédaction commencée en 1941).

Nous n'exposerons qu'après la biographie, l'œuvre capitale de TSWETT ; mais sa portée en botanique sera mise dès maintenant en relief par les deux citations suivantes extraites de travaux de A. SEYBOLD (1939 : 114 ; 1940 : 3), un des auteurs ayant le plus contribué, dans ces tout derniers temps, à l'étude des propriétés optiques et du rôle respectif des pigments chlorophylliens : *Im Mittelpunkt physiologischer Forschung stehen heute die Probleme der*

---

[1] J. BRIQUET (décédé en 1931) semble avoir ignoré la mort de TSWETT. Il termine la notice en disant seulement qu'il n'a plus eu de nouvelles de TSWETT depuis 1917. Dans les *Berichte deutsch. bot. Ges.* XXXVII : 160, la mort de TSWETT fut pourtant annoncée en 1920. — Signalons qu'une bibliographie (complète ?) des travaux de TSWETT est annexée à cette notice de BRIQUET.

Pflanzenpigmente. Kaum eine andere Methode hat sich bei der Trennung der Pigmentkomponenten so bewährt wie die Adsorptionsmethode von TSWETT ... TSWETT *hat mit seiner bahnbrechenden chromatographischen Adsorptionsanalyse, die für die Pigmentphysiologie unschätzbare Dienste leistet, die Ergebnisse von* STOKES *und* SORBY *bestätigt und* wohl zum ersten Mal *die Chlorophylle* a *und* b *sauber voneinander getrennt.*

Enfin la citation suivante suffira déjà sans doute pour éviter qu'on ne nous taxe d'intrus dans l'exposé que nous ferons, par la suite, de la méthode de TSWETT : *Wohl der erste Forscher, von dem die Bedeutung der Tswettschen Methodik erkannt wurde, war* DHÉRÉ, *in dessen Laboratorium die adsorptionsanalytische Arbeitsweise seit 1911 in Gebrauch steht* (ZECHMEISTER u. v. CHOLNOKY 1937 : 11) [1].

I. — VIE DE TSWETT. SON DOCTORAT A GENÈVE

MICHEL TSWETT (MIKHAÏL TSVET) naquit à ASTI (Italie septentrionale) le 19 mai 1872 ; il était fils de SIMÉON TSWETT et de MARIE DOROZZA, c'est-à-dire de père russe et de mère italienne.

Venu très jeune en Suisse, il fit ses études secondaires en partie à LAUSANNE, au Collège Gaillard, puis à GENÈVE, où il suivit les classes supérieures du Collège [2]. Deux de ses condisciples d'alors

---

[1] On verra que j'ai modifié (avec W. DE ROGOWSKI, d'abord, en 1911) le dispositif original pour le rendre plus pratique (*Recherches sur les pigments chlorophylliens*). J'ai été, de plus, un des premiers (en 1913) à introduire la technique de TSWETT dans la Biochimie animale. En disant cela, je fais allusion aux recherches que j'ai effectuées avec G. VEGEZZI d'une part sur les pigments du foie (hépato-pancréas) de l'Escargot et d'autre part sur les pigments des œufs d'un Crustacé marin : *Maja squinado*. Les recherches sur les pigments du foie chez l'Escargot (DHÉRÉ et VEGEZZI 1916) nous ont permis, notamment, de caractériser la présence de chlorophylle *b* (à l'état de chlorophyllane) ; notons que la présence de chlorophylle *b*, ou d'un de ses dérivés, n'avait pas encore été signalée chez les animaux. Quant aux recherches sur les pigments des œufs de *Maja* (j'en reparlerai plus loin), j'ai dit expressément, en 1919 (*Journ. Physiol. Pathol. gén.*, XVIII : 241, note 2), que je les avais faites en collaboration avec G. VEGEZZI ; mais elles n'ont été publiées que dans sa *Thèse* (1916).

[2] M. HENRI MERCIER, Archiviste du Collège de GENÈVE, a bien voulu me communiquer les renseignements suivants :

MICHEL TSWETT était entré dans la 4me classe supérieure de la Section réale en 1887, à l'âge de 14 ans et 9 mois. Le registre porte : *Nationalité :* russe ; *Religion :* protestante ; *Père :* ancien Conseiller d'Etat (en Russie).

devaient, comme lui, embrasser la carrière universitaire : EDOUARD CLAPARÈDE et PAUL DUTOIT. Il resta jusqu'à la fin de sa vie un ami intime d'ED. CLAPARÈDE, qui le recevait, dans sa belle propriété du Vieux-Champel, quand il revenait à GENÈVE. Madame CLAPARÈDE-SPIR, veuve de l'éminent psychologue [1], a bien voulu me communiquer deux photographies de TSWETT dont les reproductions sont insérées plus loin. M. PAUL DUTOIT, professeur de Chimie à l'Université de Lausanne, m'écrit qu'il fut très lié avec TSWETT, dont il appréciait beaucoup le caractère original et charmant, pendant les années qu'ils passèrent ensemble au Gymnase de Genève (1889-1891).

De 1891 à 1896, TSWETT fut étudiant à la Faculté des sciences de Genève. Il y suivit surtout les cours de ROBERT CHODAT et de MARC THURY (botanique), ainsi que ceux de CHARLES SORET (physique) et de PH.-A. GUYE (chimie). Son premier travail fut exécuté dans l'Institut de Botanique dirigé par ROBERT CHODAT. Il s'agit de *Recherches d'anatomie physiologique sur le leptome intraxillaire des Solanacées, Loganiacées et Nolanacées.* Ce Mémoire obtint, en 1894, le Prix DAVY [2] (partagé). Le rapport fut publié par CARL VOGT ; les membres du jury étaient CASIMIR DE CANDOLLE, ROBERT CHODAT et MARC THURY [3]. Mais, à la suite d'incidents universitaires survenus lors de la nomination de E. YUNG à la chaire de zoologie, TSWETT quitta, en 1895, le laboratoire de R. CHODAT pour entrer au laboratoire du professeur THURY (Botanique générale), où il commença aussitôt les recherches de cytologie dont les résultats sont exposés dans la thèse (dédiée à MARC THURY) qu'il présenta en 1896, thèse intitulée : *Etudes de physiologie cellulaire. Contributions à la connaissance des mouvements du protoplasme des membranes plasmiques et des chloroplastes* [4]. Dans le laboratoire de THURY, TSWETT fit connaissance et devint bientôt l'ami de JOHN BRIQUET et de M. B.-P.-G. HOCHREUTINER. La photographie reproduite ci-contre date de cette époque.

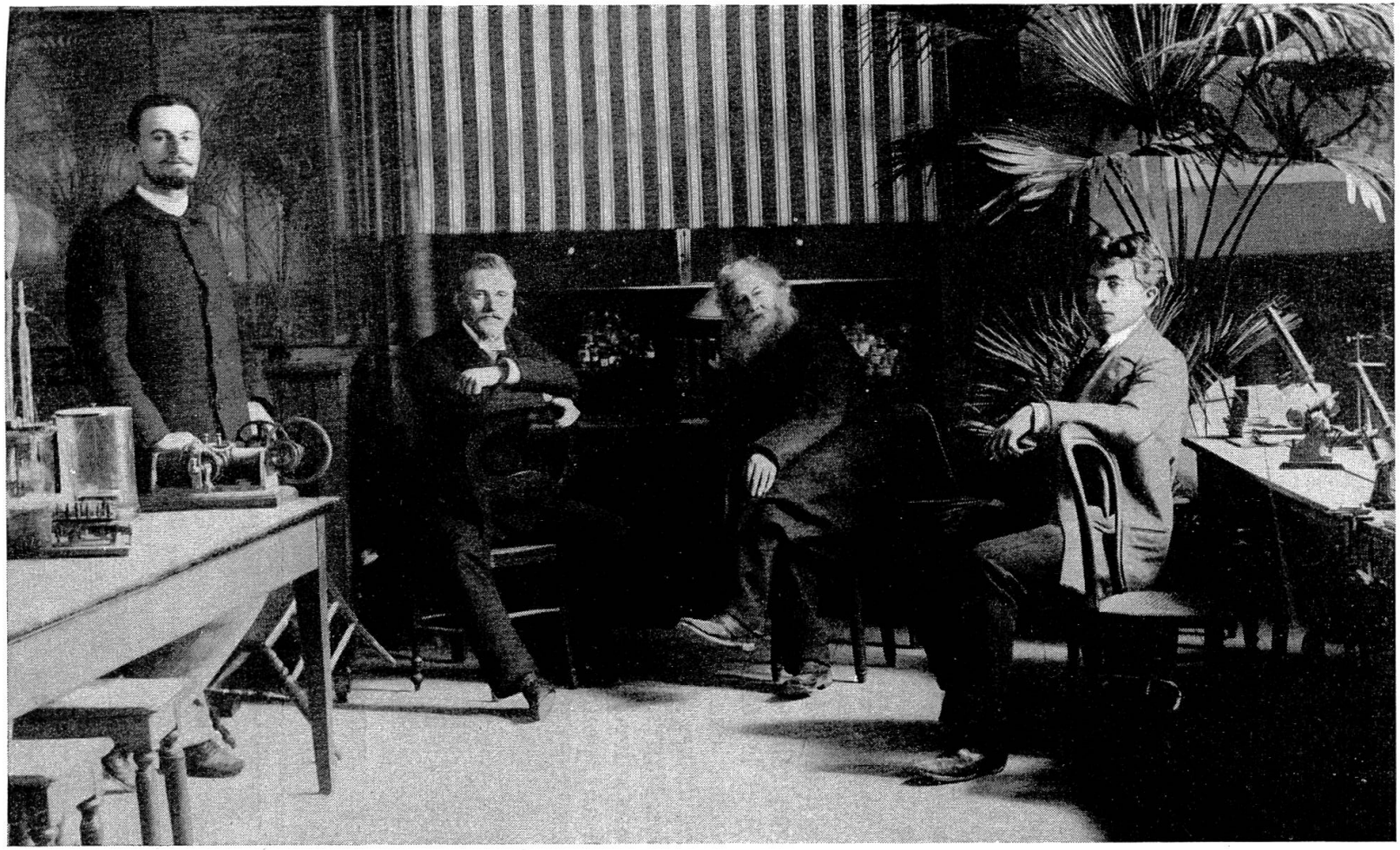
---

[1] ED. CLAPARÈDE, professeur à l'Université de Genève et correspondant de l'Institut de France, est mort en 1939. Combien je regrette de n'avoir pu causer de TSWETT avec lui ! Personnellement, je n'ai malheureusement pas connu TSWETT, et n'ai même pas correspondu avec lui.

[2] Le prix HUMPHRY DAVY fut fondé, en 1829, par Lady DAVY en mémoire de son illustre mari, décédé à Genève (où il était venu voir le grand physicien A. DE LA RIVE).

[3] Le travail n'a été publié que sous forme d'extrait, et seulement en 1899.

[4] Cette thèse a été publiée simultanément dans le *Bull. Laboratoire Bot. gén. Univ. Genève* et dans les *Arch. Sc. phys. et nat.*



Le Laboratoire de *Botanique générale* de l'Université de Genève, en 1896.

B. P. G. HOCHREUTINER candidat au doctorat — JOHN BRIQUET assistant de botanique — MARC THURY Professeur de botanique — MICHEL TSWETT candidat au doctorat

Arrêtons-nous un moment pour dire quelques mots du contenu de la thèse. Les chapitres II et III (seconde partie) sont des études portant sur les chloroplastes. Par les recherches qu'il y relate TSWETT préludait aux travaux sur les pigments chlorophylliens qui devaient le rendre si célèbre. Encore à l'heure actuelle, il est fort instructif de lire ce beau travail, d'une étonnante richesse de résultats, d'intuitions et d'idées originales. On y voit poindre cette sagacité scientifique de TSWETT qui est un des traits distinctifs les plus marqués de sa physionomie intellectuelle.

Sans faire une analyse détaillée, relevons immédiatement que TSWETT considère qu'il apporte la démonstration que le pigment chlorophyllien est exclusivement incorporé à une substance de nature protéique, la chloroplastine [1]. Et, ajoute-t-il, *notre chloroplastine ne serait-elle pas homologue des « grana » de A. Meyer ?* Examinant dans un dernier chapitre quelques questions générales, il parle d'abord du mécanisme de la décomposition du gaz carbonique par les plantes. On est frappé de voir que deux questions, qui devaient tant l'occuper par la suite, attirent déjà spécialement son attention : le rôle des phénomènes d'*adsorption* (qu'on continuait généralement alors à désigner comme absorption ou condensation [2]) et le rôle de la fluorescence. Les deux questions suivantes sont encore examinées par l'auteur : *Les chloroplastes peuvent-ils vivre en dehors du cytoplasme vivant ? Sur l'origine phylogénétique des chloroplastes.*

Nous suivrons maintenant la carrière de TSWETT hors de Genève en utilisant, pour la période de début, sa correspondance avec JOHN BRIQUET [3].

A partir de 1901, TSWETT résida à Varsovie. Il en fut chassé, dit J. BRIQUET, par l'invasion allemande et perdit dans cette catastrophe tout son bien et tous ses livres (1915). Voici quelques extraits des lettres qu'il écrivit à BRIQUET peu de temps après son départ de Genève :

ST-PÉTERSBOURG. — Le 22.II.1897. — *Je veux demander la place de correspondant pour l'étranger au Jardin botanique de St-*

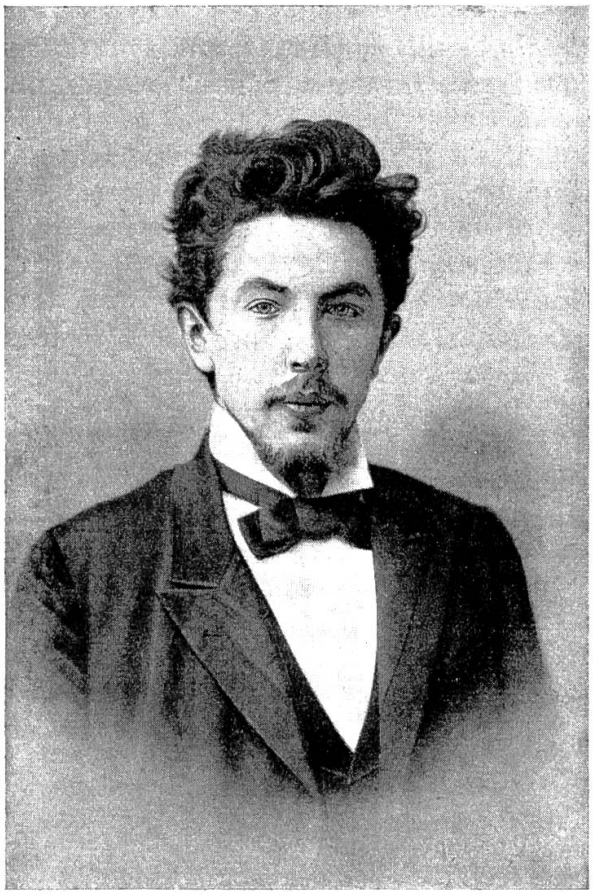
---

[1] Transcrivons une remarque intéressante qu'on lit à la p. 181 : *On n'a pas le droit de prétendre à priori que le pigment chlorophyllien, tel qu'il se trouve dans la plante, jouisse d'une constitution chimiquement aussi labile que la chlorophylle des chimistes.*

[2] Sur une carte postale adressée de Simféropol (Crimée) à J. BRIQUET, le 15 octobre 1896, TSWETT dit : On a imprimé *absorption* (p. 195 de la thèse) au lieu d'ADSORPTION. Cette coquille « absorption » est surtout fâcheuse.

[3] Elle se trouve dans les archives du Conservatoire de botanique de Genève. La collection comprend 15 lettres et 8 cartes postales de 1896 à 1917, avec une interruption de 1899 à 1915.

PLANCHE II

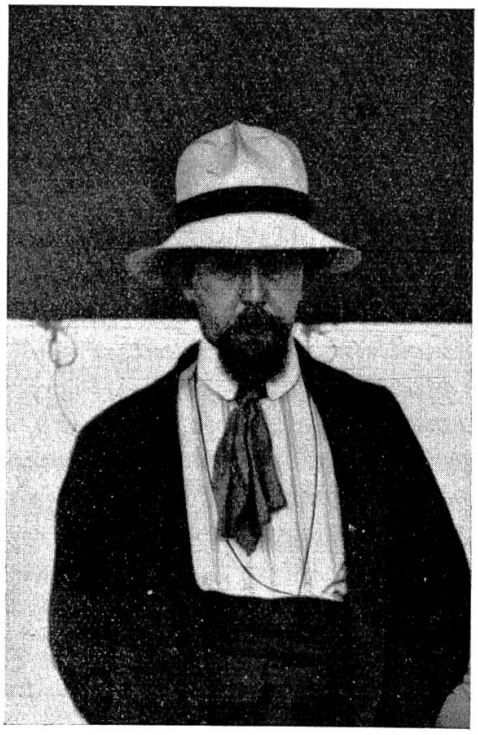


MICHEL TSWETT
à l'âge de 23 ans

Au verso de cette photographie reproduite, Tswett a écrit :

« A mon très cher ami Edouard Claparède, Souvenir de quatre mois heureux passés à Champel.

Champel, le 7 mars 1896. »



MICHEL TSWETT à l'âge de 40 ans

(Photographie d'amateur prise sur un bateau du lac Léman).

Pétersbourg. Si je réussis à me placer au Jardin, j'aurai tout le temps et toute la tranquillité d'esprit nécessaires pour m'occuper activement de travaux scientifiques.

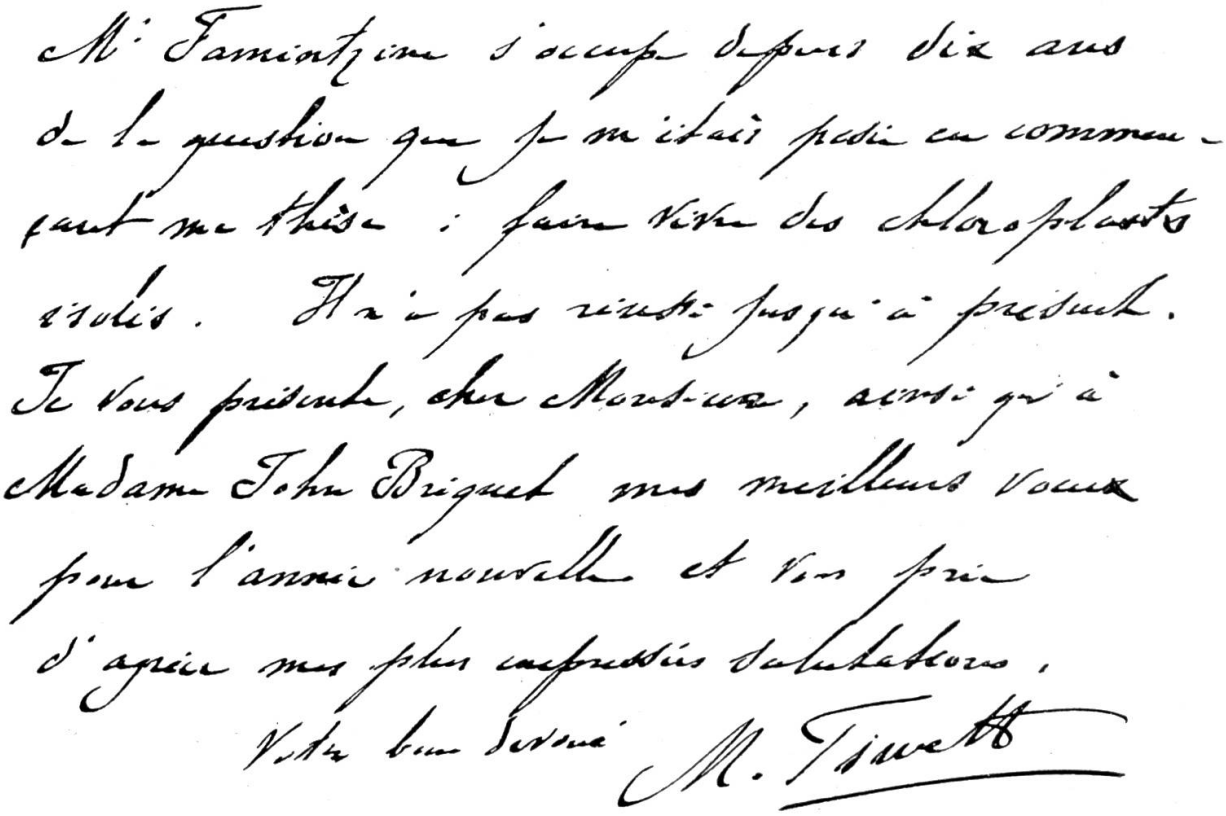

Mr Famintzine s'occupe depuis dix ans de la question que je m'étais posée en commençant ma thèse : faire vivre des chlorophylles isolées. Il n'a pas réussi jusqu'à présent.
Je vous présente, cher Monsieur, ainsi qu'à Madame John Briquet mes meilleurs vœux pour l'année nouvelle et vous prie d'agréer mes plus empressées salutations.
Votre bien dévoué M. Tswett

FIG. 7. Fac-similé des dernières lignes d'une lettre adressée de St-Pétersbourg, le 30. XII. 1896.

ST-PÉTERSBOURG. — Le 19.III.1897. — Annonçant à BRIQUET la mort d'une des anciennes élèves de celui-ci, TSWETT ajoute : *Ainsi s'en vont les amis des beaux jours de jeunesse ; combien vous oublient, et des quelques vrais et fidèles qui vous restent, la mort enlève les meilleurs. On se sent si seul, si seul. Il est des minutes ou l'âme la plus incrédule voudrait croire qu'« auprès des sources éternelles le cœur un jour doit rajeunir », comme le dit un de vos beaux chants zofingiens*[1]... *Vous devez me considérer plutôt comme un compatriote que comme le Russe que je ne suis pas. Ce que je vous dis là n'est pas une phrase : ce n'est que trop vrai.*

[1] M. HOCHREUTINER me dit que la qualité d'étranger de TSWETT l'empêchait de faire partie de la Société de Zofingue ; il y fut néanmoins reçu à titre d'*hospes perpetuus*, tant il était estimé et aimé.

ST-PÉTERSBOURG. — Le 10.X.1897. — *Le tableau que vous me faites de votre activité durant cet été me fait considérer la mienne d'un œil un peu mélancolique. Ce n'est pas que j'aie été paresseux ou dissipé, mais je me suis attelé à un travail qui a absorbé le meilleur de mon temps et de mes forces. C'est bien effectivement une suite à ma thèse, mais ce n'est pas celle que je comptais lui donner tout d'abord, me proposant de m'occuper de cultures plasmolytiques. Il s'agit de la chimie des chloroplastes et particulièrement de l'hypochlorine, feu l'hypochlorine qui ressuscite sous mon objectif. Oh, rassurez-vous, il s'agit d'une métempsychose plutôt que d'une résurrection. Le fait est que l'hypochlorine, substratum immédiat (dissolvant) de la chlorophylle existe réellement... Je fais en outre, cet hiver, un cours d'anatomie et de physiologie végétales au « Laboratoire biologique de* ST-PÉTERSBOURG *», une jeune institution intéressante. Le cours, en russe, bien entendu, me donne bien du travail et me rapporte... tout sauf des ducats. Et puis, pour couronner le tout, la préparation de ce maudit examen de « magister »* [1].

ST-PÉTERSBOURG. — Le 27.VIII.1898. — *Maintenant je vais reprendre mes doubles fonctions qui consistent d'une part à enseigner la « scientia amabilis » dans une institution féminine et d'autre part à diriger les exercices pratiques de botanique au « Laboratoire biologique », une institution d'origine privée. Je n'oublie pas l'Université sans doute, mais je dois préalablement faire un examen et présenter une thèse.*

Voici enfin quelques lignes extraites de la dernière lettre reçue par BRIQUET :

VLADIKAVKAZ. — Le 8.VII.1917. — CLAPARÈDE *m'écrit que vous n'avez point renoncé à mettre ma bibliographie dans votre livre. J'en suis très flatté et regrette infiniment de ne pas pouvoir vous donner la liste complète telle que vous la désirez, avec tomaison et pagination.*

---

[1] TSWETT obtint le grade de « magister » après soutenance d'une thèse originale et à la suite d'un examen, portant sur huit questions spéciales (thèses) de botanique, passé le 21 septembre 1901 (session de la Faculté physico-chimique de l'Université de Kazan). De cet examen, il y a un compte rendu, d'une trentaine de lignes, dans les *Acta Horti bot. Univ. imper. Jurjevensis* 1901, II, IV : 267. Je dois ce renseignement (et plusieurs autres) à la grande obligeance de M. le professeur C. DE REGEL.

La thèse (en russe) porte comme date d'achèvement le 1er mai 1901. Elle a pour titre : *Recherches sur la constitution physico-chimique du grain de chlorophylle.* Elle a été insérée dans les *Travaux de la Société des sciences naturelles de l'Université de Kazan.* C'est un travail considérable (268 p. in-8, avec planche hors-texte). TSWETT (1902 a : 120-123) en a donné lui-même une bien intéressante analyse dans le *Botanisches Centralblatt.*

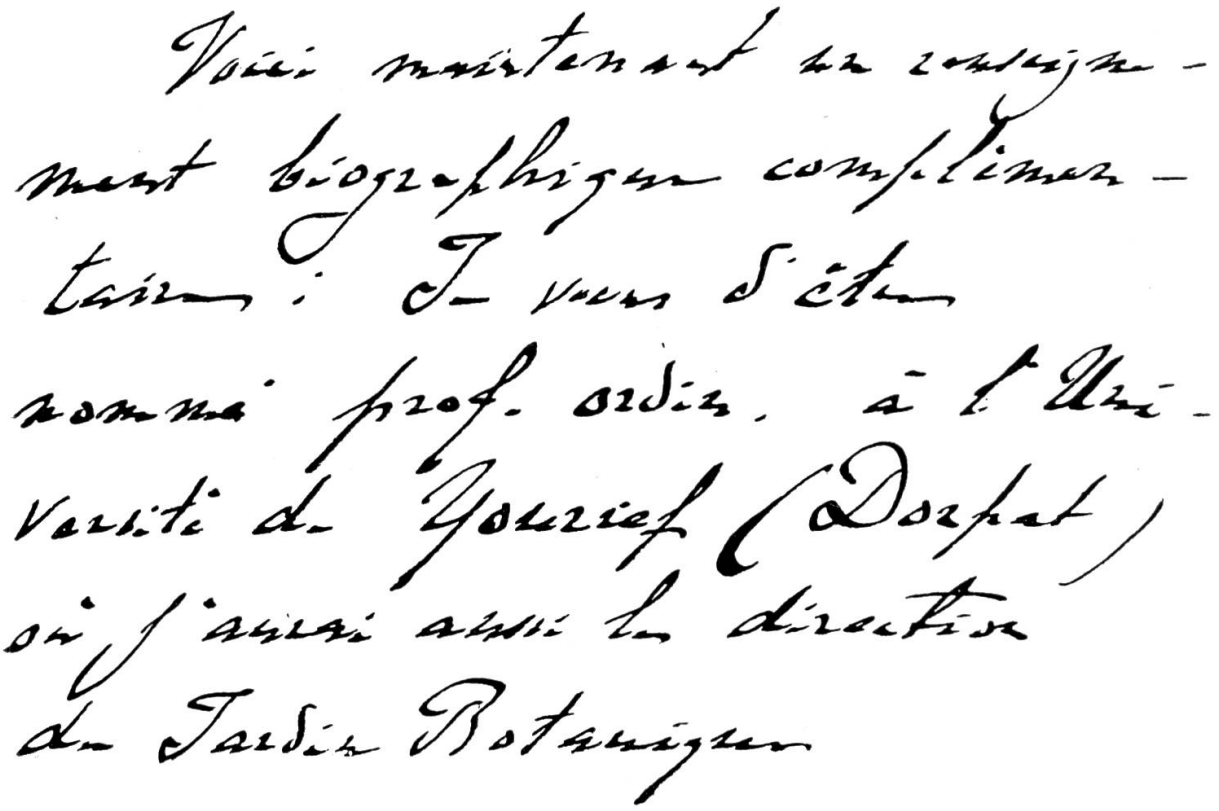

Voici maintenant un renseigne-
ment biographique complémen-
taire : J'ai venu d'être
nommé prof. ordin. à l'Uni-
versité de Yourieff (Dorpat)
où j'aurai aussi la direction
du Jardin Botanique

FIG. 8. Fac-similé d'un passage d'une lettre adressée à J. BRIQUET, le 8. VII. 1917.

TSWETT fut assistant (1901-1908) et privat-docent (depuis 1902) à l'Université de Varsovie. En 1907, il avait été nommé professeur de botanique et d'agronomie à l'Institut vétérinaire de VARSOVIE, puis professeur de botanique et de microbiologie à l'Institut polytechnique de cette ville (1908). Il rédigea alors l'admirable livre intitulé *Les chromophylles dans les mondes végétal et animal,* œuvre qui fut couronnée par l'Académie des sciences de ST-PÉTERSBOURG. Ce livre avait été présenté comme thèse pour un second doctorat en botanique (1910). Dans la préface, TSWETT dit qu'il a pu faire face aux dépenses de cette publication grâce à des subsides obtenus 1° de l'Université de VARSOVIE ; 2° de l'Institut polytechnique (VARSOVIE) ; 3° de la Société des sciences naturelles de VARSOVIE.

Après son départ forcé de VARSOVIE (1915), TSWETT se réfugia à MOSCOU, puis à NIJNI-NOVGOROD, où devait être transférée l'Ecole polytechnique de VARSOVIE. En 1917, TSWETT était en convalescence à VLADIKAVKAZ, après une grave maladie. C'est là qu'il reçut

son appel comme professeur de botanique et comme directeur du Jardin botanique de l'Université de JOURJEFF (DORPAT chez les Allemands, TARTU chez les Esthoniens).

Je transcris maintenant ce qu'a bien voulu m'écrire M. le professeur C. DE REGEL qui, après avoir été deux années privat-docent à l'Université de TARTU, fut pendant 18 ans professeur ordinaire et Directeur du Jardin botanique à l'Université de KAUNAS (LITHUANIE). TSWETT *fut nommé à* JOURJEFF *comme successeur du professeur* KOUZNETZOFF. *Mais, à cause de sa maladie, il n'y est venu que vers la fin de 1917 ou au début de 1918, et je ne sais pas s'il a pu commencer son cours. Au mois de février 1918,* JOURJEFF *fut occupé par les troupes allemandes et l'Université fut fermée quelques mois plus tard et transférée à* VORONÈJE, *en* RUSSIE. *M.* TSWETT *s'y est rendu en automne 1918 avec le dernier train qui transportait en Russie les fonctionnaires russes et les professeurs de l'Université. Lors de mon séjour à* JOURJEFF, *j'ai vu M.* TSWETT *plusieurs fois, la dernière fois à la gare quand il se rendait vers le train. Il portait une barbe grisonnante. On le disait souffrant (phthisie ?). Le professeur* J. LAPPO, *actuellement en* LITHUANIE, *a vu* TSWETT *lors de son séjour à* VORONÈJE. *C'est par lui que j'avais appris la mort de* TSWETT *(mai 1920).*

II. — TRAVAUX SUR LES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS

Elaboration de la méthode d'Analyse chromatographique par adsorption

C'est en vue d'isoler d'une façon parfaite les divers pigments prenant part à la constitution de la chlorophylle (chlorophylle brute) que TSWETT a élaboré, en 1906, sa merveilleuse méthode d'analyse chromatographique par adsorption. En 1908, il publiait un article intitulé : *La substance verte nommée chlorophylle existe-t-elle ?* (1908 e). Et il disait en terminant : *A la question posée dans le titre du présent article, nous répondrons donc par la négative.* C'est qu'en effet, ce qu'on appelle par abréviation chlorophylle (*in vivo*) est un mélange pigmentaire des deux chlorophylles *a* et *b* (chlorophyllines α et β de Tswett) — la première[1] se trouvant *généra-*

[1] En solution dans l'éther, la chlorophylle *a*, bien pure, est bleue (TSWETT).

lement, dit TSWETT, en quantité 4 à 5 fois plus forte que la seconde [1] — et de pigments de couleur orangée ou jaune (carotines et xanthophylles) ; ces derniers pigments ont été désignés globalement par TSWETT sous le nom de *carotinoïdes* (caroténoïdes), dénomination qui a fait fortune [2].

Dans sa thèse, et surtout dans plusieurs travaux postérieurs, TSWETT s'est demandé à quel état ces divers pigments préexistent dans les chloroplastes. Nous avons déjà dit qu'en 1896, il était arrivé à la conclusion que les pigments chlorophylliens sont exclusivement incorporés à la chloroplastine (désignation introduite par FRANK SCHWARZ), substance de nature protéique [3]. Il est revenu sur cette question dans ses publications sur la « chloroglobine » ; il y a précisé l'idée qu'il se faisait de cette combinaison en disant qu'elle est plus ou moins comparable à celle qui se trouve réalisée dans la molécule de l'hémoglobine [4] : protéide constitué par la combinaison d'un groupement prosthétique pigmentaire (l'hématine, comme on disait alors) avec un groupement protéique appelé globine. (On ne manquera pas de remarquer le parallélisme de formation des noms : hémo-globine, chloro-globine).

Quant à la combinaison protéique du carotène, TSWETT estime qu'elle pourrait même être plus forte [5]. — Cette question doit être brièvement examinée et discutée ici :

---

[1] On connaît même, depuis longtemps, des végétaux où la chlorophylle *a* n'est pas accompagnée de chlorophylle *b*. Le cas inverse n'a jamais été constaté ; et A. SEYBOLD (1941), d'après le rôle qu'il assigne respectivement à chacune de ces deux chlorophylles, considère que l'existence de la chlorophylle *b* en l'absence de chlorophylle *a* n'aurait pas de signification physiologique, et n'est donc pas concevable.

« L'abondance relative des composantes (α et β) est sujette à variation », a écrit TSWETT, en 1912, dans sa Conférence Mendéléieff. Conclusion confirmée par les recherches récentes de A. SEYBOLD (1941).

[2] Cf. l'importante Monographie de L. ZECHMEISTER : *Carotinoide* (1934) ; ainsi que le livre de H. WILLSTAEDT : *Carotinoide, Bakterien- und Pilzfarbstoffe* (1934).

La carotine, étant un carbure d'hydrogène, est maintenant appelée *carotène* et ses dérivés *caroténoïdes*, conformément aux règles de la nomenclature actuelle.

[3] Cf. A. STOLL et E. WIEDEMANN. (1939). Dans ce travail, il s'agit de l'extrait total des pigments chlorophylliens ; cet ensemble pigmentaire est obtenu en solution colloïdale, à l'état de « symplexe » possédant une teneur très élevée en protéine (68,7%, d'après une communication faite par STOLL, WIEDEMANN et RÜEGGER, 1941).

[4] TSWETT parle à ce sujet des expériences de resynthèse de l'hémoglobine faites par BERTIN-SANS et MOITESSIER, expériences reprises avec tant de succès, assez récemment, par HILL et HOLDEN, par ANSON et MIRSKY, par J. ROCHE et par HAUROWITZ.

[5] *Die Bindung des Carotins dagegen ist eine festere* (TSWETT, 1900 : 86).

J'ai observé avec VEGEZZI, en 1913-14, que les pigments caroténoïdes, dont le mélange constitue la « tétronérythrine » contenue dans les œufs de *Maja squinado* (Crustacé décapode), passent (après dessiccation) en solution aqueuse à la faveur de la présence de protéines. Notons tout de suite que, grâce à la technique d'analyse chromatographique de TSWETT, nous avions pu constater alors que ce mélange de pigments caroténoïdes est constitué en partie par du carotène typique (résultat confirmé par R. KUHN et LEDERER 1933). Mais le point à considérer maintenant est le suivant : En comparant les spectres d'absorption en solution aqueuse et en solution éthérée (ou alcoolique), nous avions constaté que, pour la solution aqueuse, les bandes sont fortement déplacées vers le rouge, déplacement que nous avions attribué à l'état colloïdal des pigments. Ce n'est que d'une façon assez dubitative que nous avions parlé d'une combinaison protéique des pigments caroténoïdes des œufs de *Maja*, ayant plutôt en vue d'ailleurs [1] un phénomène d'adsorption (complexes d'adsorption) que l'existence de combinaisons au sens strict [2]. Mais l'opinion qu'il s'agit, dans ce cas et dans d'autres cas plus ou moins semblables, de carotène-albumine (ou de carotène-globuline), par exemple, qui serait un chromoprotéide défini, a trouvé aussi ses partisans [3]. C'est cette dernière manière de voir qui, d'après la comparaison avec l'hémoglobine, cadrerait seule, semble-t-il, avec la conception de TSWETT. Que faut-il en penser à l'heure actuelle ? Dans un travail récent, R. KUHN [4] a expérimenté l'action d'un réactif appelé « Invertseifen » (désignation collective), d'une part sur des chromoprotéides typiques (hémoglobine, hémocyanine, etc.), et d'autre part sur les présumés « symplexes » naturels de divers caroténoïdes et des deux chlorophylles *a* et *b*. Or, tandis qu'aucun chromoprotéide typique n'a été dédoublé, l'on constatait la mise en liberté du pigment (groupement prosthétique) aussi bien dans le cas des chlorophylles que dans celui des caroténoïdes. Le cas de l'ovoverdine, existant chez certains Crustacés, se présente comme exceptionnel : on a affaire à une combinaison protéique d'un caroténoïde oxygéné (astaxanthine), — véritable chromoprotéide, comme l'admet R. KUHN, — dédoublable pourtant sous l'action des « Invertseifen ».

Sur ce point, il semble donc bien que TSWETT, tout en ayant vu en grande partie ce qu'il en est, a été trop loin (notamment pour ce qui est du carotène comparé à l'hémoglobine dans son union avec une

---

[1] Dans le cas particulier : nous tenons à le spécifier expressément.

[2] Impliquant des proportions déterminées pour les constituants. Voir la thèse de mon élève VEGEZZI (1916 : 94, 100 et 101).

[3] Cf. J. VERNE. (1921 ; 1926 : 26 et 1930 : 77).

[4] KUHN et BIELIG (1940 : 1085).

protéine) [1]. Il est instructif, en outre, de remarquer avec KUHN : *Mit Ausdrücken wie « spezifische Molekülverbindung », « Symplex » und dgl. können wir der zur salzartigen Bindung hinzukommenden wunderbaren Eigenschaft der Trägerproteine wohl einen Namen geben. Begreifen und erklären können wir sie noch nicht* [2].

Quoi qu'il en soit, il est incontestable que TSWETT a été le premier (*chloroplastine*, 1896 ; *chloroglobine*, 1899 a et 1900) à exprimer d'une façon nette et précise l'idée d'une « incorporation » des pigments chlorophylliens à une substance protéique ; cela résulte évidemment de la comparaison — sur laquelle il a insisté — avec la constitution de l'hémoglobine [3]. Sans doute, il ne disposait pas alors d'arguments bien probants à l'appui de cette manière de voir, et sa conception restait en partie spéculative ; toujours est-il qu'il l'a défendue avec force [4] ; et, pour cette question si importante, il apparaît vraiment comme un précurseur.

Sauf erreur, il fallut attendre les travaux de LUBIMENKO (1921 et 1927) pour que l'idée de TSWETT fût reprise et soumise à vérification. Depuis dix ans, cette conception s'est imposée de plus

---

[1] W. STRAUS dit que les maximums des trois bandes d'absorption du carotène (de la carotte), *en solution colloïdale*, sont respectivement : λ 537, λ 490, λ 455 mμ. D'après MENKE (1940), le maximum pour la bande I est sur 540 (préparation de chloroplastes). Nous ferons remarquer que ces chiffres coïncident sensiblement avec ceux des axes pour le carotène à l'état solide : λ 540, λ 586,5 et λ 455 mμ. (D'après F. K. KOHL, 1902 : 38 et 116). Cf. W. STRAUS, 1942 : 181 et 187. — On peut du reste, comme je l'ai vu, déterminer directement le spectre du carotène *in vivo* en opérant sur des tranches, bien choisies, de carotte.

[2] KUHN et SÖRENSEN, 1938 a : 466.

[3] TSWETT a fait paraître en 1898 (*Bull. Lab. biol. St-Pétersbourg*) une Note intitulée : Hémoglobine et Chlorophylle. Nous n'avons pas pu en prendre connaissance.

En 1902, G.-F. KOHL, après avoir examiné diverses conceptions des auteurs, écrivait : *Eine total abweichende Auffassung hat neuerdings* TSWETT *geltend gemacht, indem er Chlorophyll und Carotin für « chromophore Theilmolekel einer complicirteren eiweissartigen Substanz » erklärt, welche er vorläufig Chloroglobin nennt* (l.c. : 31). L'intérêt de cette manière de voir a, d'ailleurs, complètement échappé à KOHL.

[4] Répondant à une critique de N.-A. MONTEVERDE, TSWETT a dit (1900 c) : *Les méthodes de contrôle que nous avons employées prouvent surabondamment que la chloroglobine ne saurait être un produit chimique artificiel et que d'autre part les réactions albuminoïdes, ou plutôt colloïdes, qui lui sont propres ne sont dues en aucune façon aux substances albuminoïdes banales du protoplasme... La chloroglobine est une combinaison lâche (une sorte de solution), facilement décomposable, même par des solvants tels que l'alcool. Dans un extrait alcoolique, la chloroglobine se trouve donc à l'état dissocié.*

en plus [1] ; et, grâce surtout aux persévérantes et amples recherches de A. STOLL (1938-1941), on peut admettre qu'elle est devenue une acquisition définitive (voir l'APPENDICE).

Il ne faudrait pas croire que ces constatations offrent uniquement de l'intérêt pour la cytologie et pour la chimie végétales. Leur importance n'est pas moindre pour la physiologie. C'est ce qu'affirmaient récemment SPOEHR et ses collaborateurs [2] : *The intimate association of pigments with protein in the living cell suggests that the proteins may be of importance in the transfer and utilization of light energy by the plant.*

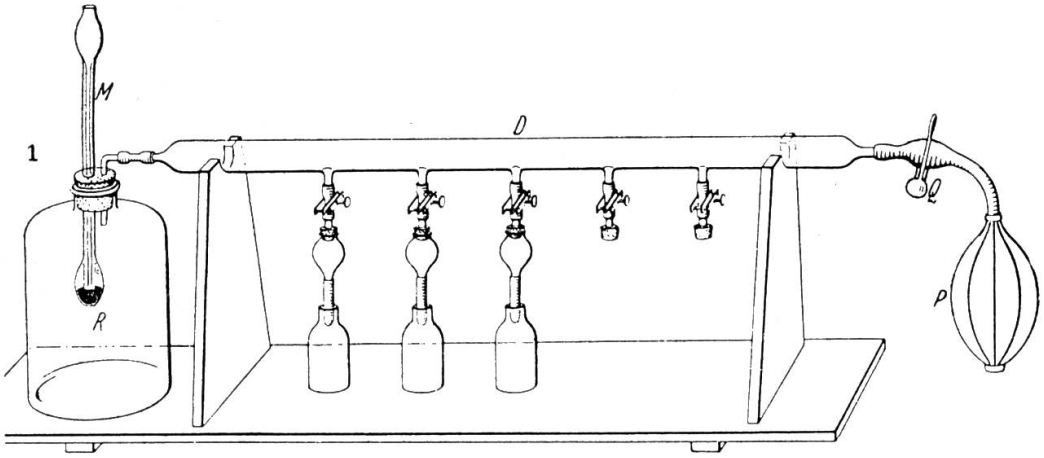


FIG. 9. Analyse chromatographique par compression d'air (TSWETT, 1906).

Arrivé à ce point, nous devons exposer succinctement la méthode d'*Analyse chromatographique par adsorption* dans ses principes et dans sa technique (TSWETT 1906 a ; 1906 b ; 1910 ; 1912 a).

La méthode la plus propre à nous renseigner exactement sur le nombre et la nature des composantes de la chlorophylle paraît être, a dit TSWETT (1912), *celle que j'ai élaborée depuis quelque dix ans sous le nom de méthode d'*analyse chromatographique par adsorption. *Elle met en jeu l'un des caractères physiques les plus nuancés des composés chimiques, leur action sur la tension superficielle des solutions. Conformément au théorème thermodynamique de* GIBBS,

[1] Consulter à ce sujet le livre de HANS FISCHER et ADOLF STERN (1940 : 376). — On trouvera des indications bibliographiques complémentaires à l'APPENDICE de notre article (Note 1).

[2] Voir aussi un article de A. STOLL (1936) où le *rôle enzymatique* de la « chloroplastine » est envisagé.

une substance qui déprime la tension superficielle du solvant tend à s'accumuler à la surface, à y être adsorbée, et cela de telle sorte que, suivant la concentration et la nature des corps en présence, le coefficient de partage entre la solution et la surface peut devenir infiniment petit. La filtration d'une solution appropriée d'un pigment mixte au travers d'une colonne de substance pulvérulente neutre pourra conduire conséquemment à la séparation des composantes suivant l'ordre décroissant de leurs activités respectives sur la tension superficielle. [1] *De fait, la chlorophylle, dissoute dans le sulfure de carbone, le benzol, ou la benzine, et filtrée sur du carbonate calcique, de l'inuline ou du sucre, donne lieu à une élégante stratification pigmentaire que j'ai comparée à la dispersion des radiations lumineuses par le prisme. C'est le* chromatogramme, *dont il nous est loisible de séparer et d'étudier les diverses couches en libérant les pigments* (c'est ce qu'on appelle maintenant l'*élution*) *par l'alcool et l'éther. Un pigment pourra passer d'ailleurs sans être adsorbé : c'est la* carotine. *Quatre autres pigments jaunes, les* xanthophylles, *demeurent dans le chromatogramme, ainsi que deux pigments de tonalité verte, les* chlorophyllines.

Le dispositif que j'ai adopté avec DE ROGOWSKI, en 1911, permet de faire sortir facilement le chromatogramme, sans le briser : la colonne de craie est chassée [2] au moyen du piston de bois (avec perforations pour l'échappement de l'air) qui avait servi à remplir le tube. Chaque zone colorée est sectionnée transversalement dès sa sortie du tube et recueillie immédiatement dans un flacon à large ouverture contenant le solvant. Avec VEGEZZI (en 1913), j'ai donné une plus grande hauteur au manchon extérieur, de façon à pouvoir mieux suivre sur toute la hauteur (sans être gêné par le bouchon) la marche de l'adsorption.

Passons à l'exposé des résultats ainsi obtenus.

A. — *Chlorophylles* a *et* b (*chlorophyllines* α *et* β *de* TSWETT)

Tout au début (p. 1) du gros livre sur la chimie de la chlorophylle qu'ont publié HANS FISCHER et AD. STERN en 1940, il est dit : M. TSWETT *konnte das Vorhandensein von zwei grünen Komponenten mittels der von ihm begründeten Adsorptionsanalyse exakt*

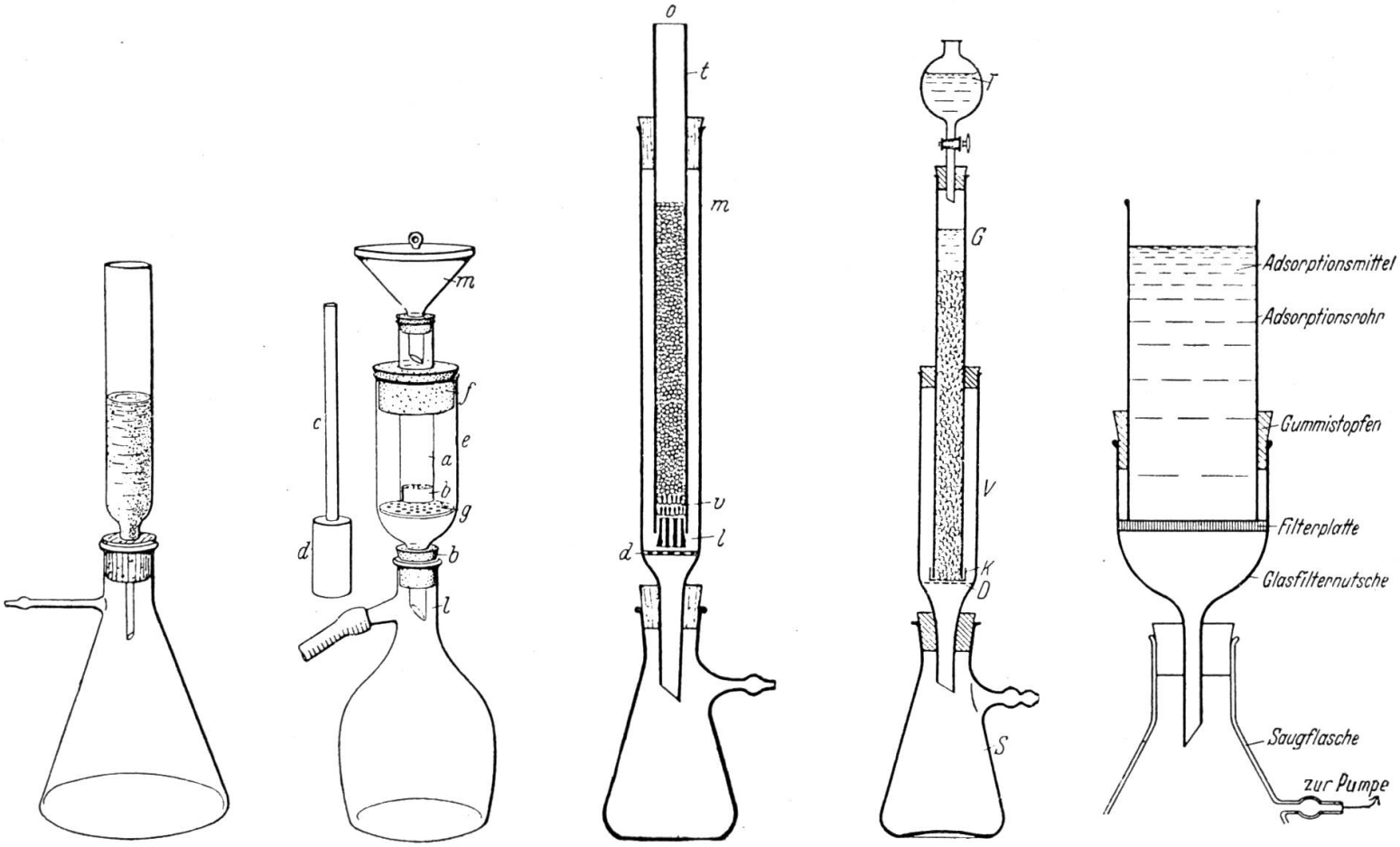
---

[1] J. NORTON WILSON (1940) a publié sur la question une étude théorique (et mathématique) très poussée.

Cf. aussi : CASSIDY et WOOD (1941).

[2] Après avoir été desséchée suffisamment. Avec VEGEZZI (1916 : 59), nous mettions l'orifice supérieur en communication avec un sac contenant CO^2 pur pour éviter toute oxydation. — Des précautions semblables (emploi de N^2 ou simplement de gaz d'éclairage, déjà utilisé par TSWETT) furent prises dans d'autres opérations.

Analyse chromatographique par aspiration d'air.
Modèles divers. (Les 4 premiers modèles d'après le livre de ZECHMEISTER et v. CHOLNOKY.)



TSWETT, 1906.

DHÉRÉ et DE ROGOWSKI, 1911-12.

DHÉRÉ et VEGEZZI, 1913-16.

WINTERSTEIN et STEIN, 1933.

SPOHN (et SEYBOLD), 1935.

beweisen und die Spektren der Farbstoffe ausführlich beschreiben. Diesen Versuchen wurde jedoch in der Folgezeit heftig widersprochen, und sie gerieten in Vergessenheit, obwohl M. TSWETT — *wie wir heute wissen — zuerst wirklich reines Chlorophyll — allerdings nur in Lösung — in Händen hatte* [1]. *Erst* CH. DHÉRÉ und W. DE ROGOWSKI (1912) *stellten wiederum reine Chlorophyll-Lösungen nach* M. TSWETT *dar und beschrieben die Fluoreszenzspektren der beiden Komponenten* [2].

En appliquant la technique de TSWETT à l'étude des chlorophylles *a* et *b*, bien d'autres chimistes ou botanistes obtinrent, par la suite, mais beaucoup plus tard, des résultats intéressants. Il faut au moins citer les recherches approfondies de A. WINTERSTEIN et G. STEIN (1933), de A. SEYBOLD et K. EGLE (1938), de G. MCKINNEY (1940).

Les chiffres suivants [3] (soit axe, soit maximum) concernent a bande d'absorption caractéristique dans le rouge :

Chlorophylle a (solution dans l'éther éthylique)	TSWETT (1907)	λ (mμ)	661	*axe*	(spectroscopie)
	DHÉRÉ (1913)	» »	661	*axe*	(spectrographie)
	WINTERSTEIN (1933)	» »	663	*max.*	(spectroscopie)
	EGLE (1939)	» »	662,2	*axe*	(spectroscopie)
	MACKINNEY (1940)	» »	660	*max.*	(spectrophotométrie)
	WILLSTAETTER et STOLL (1913)	» »	662	*axe*	(spectroscopie)
		» »	661,5		
Chlorophylle b (solution dans l'éther éthylique)	TSWETT (1907)	λ (mμ)	641	*axe*	(spectroscopie)
	DHÉRÉ (1913)	» »	642,5	*axe*	(spectrographie)
	WINTERSTEIN (1933)	» »	644	*max.*	(spectroscopie)
	EGLE (1939)	» »	644,6	*axe*	(spectroscopie)
	MACKINNEY (1940)	» »	642,5	*max.*	(spectrophotométrie)
	WILLSTAETTER et STOLL (1913)	» »	643	*axe*	(spectroscopie)

---

[1] Pour apprécier correctement la valeur des résultats de TSWETT sur ce point capital, on ne saurait trop recommander de lire son article : *Zur Geschichte der Chlorophyllforschung* (1907 a).

[2] Mon élève et collaborateur W. DE ROGOWSKI a quitté mon laboratoire (et probablement la Suisse) tout de suite après avoir passé son examen de doctorat à Fribourg en 1912.

[3] TSWETT, 1907 b : 139. (N.B. — TSWETT dit que ses déterminations, faites avec un microspectroscope, doivent être exactes avec une approximation de 1 à 2 mμ.)

Tous ces chiffres confirment donc, en somme, l'exactitude des premières déterminations de TSWETT [1]. (N.B. Les chiffres concordants de WILLSTAETTER et STOLL ont été obtenus avec des chlorophylles préparées en utilisant une technique différente : aussi ne sont-ils donnés que pour la comparaison [2].)

En instituant sa méthode chromatographique, TSWETT poursuivait deux buts : En premier lieu, obtenir à l'état de pureté optique, et en les séparant aussi quantitativement, chacune des chlorophylles *a* et *b* ; en second lieu, obtenir des chlorophylles qui (après leur mise en liberté et dissolution) fussent isolées sans la moindre altération [3]. Examinons jusqu'à quel point chacun de ces buts a été atteint :

Le premier but a été atteint d'une façon, peut-on dire, irréprochable. Tout le monde est d'accord aujourd'hui pour reconnaître, à ce point de vue, la supériorité de la méthode chromatographique.

D'après mes constatations personnelles, il est relativement facile d'obtenir ainsi de la chlorophylle *a* non souillée de chlorophylle *b*. On peut obtenir aussi de la chlorophylle *b* exempte pratiquement de chlorophylle *a*, mais cet isolement, pour être parfait, est beaucoup plus difficile à réaliser, même en procédant à la purification par chromatographies répétées. A vrai dire, c'est seulement par l'examen du spectre de fluorescence, épreuve bien plus sensible que l'examen du spectre d'absorption, qu'on peut se convaincre de l'élimination des dernières traces de chlorophylle *a* dans un échantillon de chlorophylle *b* [4].

---

[1] SORBY, qui, seul avant TSWETT, avait réussi à séparer assez bien ces deux composantes chlorophylliennes (découvertes par STOKES), a publié des déterminations spectrales qui ne peuvent être considérées comme correctes.

[2] On voit que j'étais autorisé à dire (DHÉRÉ et DE ROGOWSKI 1912) que les chlorophylles *a* et *b* que nous avions isolées, disions-nous, au moyen de la méthode d'analyse chromatographique par adsorption de TSWETT (à partir de feuilles fraîches de *Taxus baccata*) possédaient des spectres d'absorption concordant, en somme, avec ceux des chlorophylles de WILLSTAETTER (la comparaison n'avait porté que sur les bandes principales). Les chiffres cités plus haut figurent dans une Note postérieure (décembre 1913).

Cf. l'article de STOLL et WIEDEMANN (1938 : 186). Les auteurs préconisent de procéder à la séparation définitive de chacune des chlorophylles *a* et *b* par la méthode de TSWETT, après les avoir préparées par la méthode classique de WILLSTAETTER et STOLL, méthode qui fournit déjà, disent-ils, d'excellents résultats.

[3] *Dans l'analyse immédiate de la chlorophylle, seules les méthodes physiques sont de mise, étant donnée l'instabilité extrême des substances en jeu* (TSWETT, 1912 a).

[4] Voir à ce sujet une Note de DHÉRÉ et BIERMACHER (1936) où est indiqué un moyen de réaliser la purification parfaite de la chlorophylle *b*.

Pour ce qui est du second but, une petite réserve doit être formulée. Si l'on ne prend pas les plus grandes précautions, on ne pourra pas éviter complètement une légère modification appelée *allomérisation* [1]. C'est un point sur lequel WILLSTAETTER et STOLL ont fortement insisté [2]. Cette modification est d'ailleurs pratiquement négligeable dans l'étude des spectres d'absorption et de fluorescence. TSWETT n'a pas contesté l'existence du phénomène en question : *Par le simple séjour prolongé en solution ou au contact des adsorbants, les chlorophyllines,* dit-il, *subissent des transformations intramoléculaires laissant les spectres intacts* [3]. D'après WINTERSTEIN (1933), pour empêcher toute altération lors de l'adsorption, il serait préférable d'employer du sucre en poudre à la place de craie en poudre. Il est certain que toutes les sortes de craie en poudre ne conviennent pas également bien [4] ; et il est particulièrement important d'opérer aussi rapidement que possible [5], en évitant surtout le passage à travers la colonne d'un courant d'air, l'oxygène intervenant dans l'allomérisation (J. B. CONANT, 1931 ; H. FISCHER, 1933).

TSWETT, étant parvenu à préparer des solutions de chlorophylle *a* et de chlorophylle *b* d'une pureté optique irréprochable, s'est trouvé dans les conditions requises pour déterminer correctement le spectre d'absorption de ces chlorophylles dans la plage la plus réfrangible (bleue-violette) du spectre visible. Ses devanciers avaient toujours opéré avec des liqueurs plus ou moins souillées par la présence des caroténoïdes que contiennent aussi les feuilles vertes, caroténoïdes qui possèdent, précisément dans cette région spectrale, des bandes d'absorption assez fortes. On pouvait donc se demander si les chlorophylles possèdent en propre les bandes d'absorption déjà observées, dans la même région, par quelques auteurs. Au mois de juin 1906, un des auteurs les plus spécialisés dans cette étude, il s'agit de F. G. KOHL, disait (p. 41) dans un discours prononcé à l'assemblée générale (Generalversammlung) des membres de la Société allemande de Botanique : *Karotinfreie Chlo-*

---

[1] Cf. H. FISCHER et AD. STERN, 1940 : 24.

[2] WILLSTAETTER et STOLL. (1912 : 357).

[3] Conférence Mendéléieff.

[4] TSWETT (1907 b : 139) a dit qu'il considérait que, pour isoler les deux chlorophylles, les autres adsorbants sont d'un emploi moins pratique ; ajoutant (p. 141) que les résultats sont les mêmes aussi bien avec le sucre en poudre qu'avec la craie.

[5] Avec W. DE ROGOWSKI (1911) nous commencions la chromatographie le matin, de très bonne heure, nous étant imposé comme règle de procéder aux déterminations optiques le jour même de la préparation des solutions de pigments.

rophylllösung zeigt in der blauen Hälfte niemals ein Band. Or les bandes dont KOHL niait si fortement l'existence surpassent en intensité les bandes caractéristiques dans le rouge qui ont été relevées sur le Tableau de la p. 40. Les déterminations parfaitement exactes de TSWETT (communiquées un mois après le discours de KOHL !) ne laissent aucun doute à cet égard : elles constituent indiscutablement une nouvelle preuve de l'extrême pureté des chlorophylles qu'il avait réussi à isoler grâce à sa méthode chromatographique [1].

TSWETT a apporté aussi une contribution importante à l'étude de la « chlorophylle cristallisée » ; on sait qu'on désigne ainsi les cristaux qui se forment dans des conditions expérimentales décrites d'abord par BORODINE (1880). En 1908, et antérieurement déjà [2], TSWETT avait admis que la chlorophylle cristallisée (cristallisable) ne préexiste pas comme chimiquement telle dans les chloroplastes, mais dérive de la chlorophylle (chlorophylline) native, d'où la dénomination de « métachlorophylline » qu'il avait proposée pour ce dérivé (de même qu'on appelle méthémoglobine le dérivé primaire de l'hémoglobine oxygénée). Dans cette conception, qui est l'expression même de la réalité, TSWETT a bien devancé WILLSTAETTER [3]. Mais laissons plutôt ce dernier s'expliquer à ce sujet. WILLSTAETTER écrivait en 1909 : *Ob das krystallisirte Chlorophyll in der Zusammensetzung, in der wir es isolirt und beschrieben haben, in der Pflanze enthalten ist, darüber haben wir noch keine Meinung geäussert und es erscheint uns ungewiss. Wenn wir z.B. aus frischen Blättern durch Ausziehen mit Alkohol und Überführen in Petroläther das Chlorophyll zum Auskrystallisiren bringen, so müssen wir die Blätter ein paar Tage lang mit dem Lösungsmittel behandeln. Es ist wohl möglich, dass dabei eine Veränderung im Molekül des Chlorophylls erfolgt, die seine Löslichkeitsverhältnisse und sein Krystallisationsvermögen beeinflusst.* Klarer und richtiger hat M. TSWETT über das Verhältnis von genuinem zu krystallisiertem Chlorophyll geurteilt. *Er spricht* [4] *mit Bestimmtheit aus, dass das krystallisierbare Chlorophyll erst durch die Behandlung der Blätter bei der Extraktion entstehe* [5]. On

---

[1] Pour les données numériques et la description complète des spectres, consulter la conférence de TSWETT (1912 a).

[2] Cf. TSWETT, 1908 c et 1910 a.

[3] Voir quelques citations dans l'Appendice (Note 2).

[4] Déjà en 1901, dans sa thèse (Kazan) pour l'obtention du grade de « Magister » et dans une note à l'Académie des sciences de Paris.

[5] WILLSTAETTER (et STOLL), 1911 : 21. — Le texte précédant, « klarer und richtiger » est cité par l'auteur d'après son travail de 1909 (p. 6). — Nous avons fait composer en romain la phrase la plus significative et complété la citation de 1909.

ne peut manquer de dire, en passant, que cette transformation (alcoolyse) fut élucidée complètement par la découverte capitale, due à WILLSTAETTER et STOLL (1910-11), d'un enzyme (estérase spécifique) appelé *chlorophyllase* qui saponifie le carboxyle originellement estérifié avec le phytol (découvert par WILLSTAETTER). Le phytyle est alors remplacé par les radicaux méthyle ou éthyle suivant que l'on opère avec l'un ou l'autre des alcools correspondants, et on obtient respectivement le méthyl- ou l'éthylchlorophyllide. Grâce à sa méthode chromatographique, TSWETT prouva en 1910 que la chlorophylle cristallisée est de composition mixte[1]. Il convient de citer textuellement les réflexions si justes et d'une portée si générale que TSWETT formulait après cette constatation: *Aus obigem Bericht ist abermals die hohe Leistungsfähigkeit der chromatographischen Adsorptionsanalyse ersichtlich, welche noch da Aufschluss gibt, wo die üblichen analytischen Mittel versagen. Und erst dürfte künftig von jedem als einheitlich angegebenen Farbstoff verlangt werden, dass er auch die chromatographische Probe — wenn dieselbe ausführbar — übersteht*[2].

Il faut bien remarquer que cette même dualité se retrouve dans les autres pigments tétrapyrroliques dérivés des chlorophylles. C'est ainsi qu'en 1911 (toujours par la chromatographie), TSWETT a établi définitivement l'existence de deux phéophytines (chlorophyllanes *a* et *b*) et de deux phéophorbides (correspondant aux chlorophyllides)[3]. Jusque dans les dérivés pigmentaires très éloignés, on a affaire à deux séries, suivant qu'on est parti de la chlorophylle *a* ou de la chlorophylle *b*. Inutile de donner plus de détails ; mais il faut bien remarquer que les résultats obtenus par WILLSTAETTER dans ce sens ne le furent que plus tard, c'est-à-dire postérieurement aux recherches décisives de TSWETT qui, là encore, fut un initiateur[4]. Pendant longtemps, l'importance à ce point

---

[1] Cela, bien entendu, quand on l'obtient à partir d'un mélange naturel des chlorophylles *a* et *b*. On a pu, en effet, obtenir aussi de ces cristaux à partir de diverses Phéophycées (LIEBALDT, 1913), dépourvues de chlorophylle *b*. La question se pose de savoir si la chlorophylle *c* (encore peu étudiée) ne prendrait pas part, dans ce cas, à la constitution du pigment cristallin.

[2] TSWETT, 1910 a : 3141.

[3] L'existence de deux chlorophyllanes avait été admise par L. MARCHLEWSKI un peu avant qu'elle ne fût établie par TSWETT au moyen de l'analyse chromatographique. Mais TSWETT (1911 : 505) a contesté la priorité de MARCHLEWSKI, celui-ci n'ayant pas du tout apporté une démonstration irréprochable.

[4] « Les recherches de WILLSTAETTER furent conduites tout d'abord dans l'esprit de la doctrine unitaire. Actuellement la plupart des dérivés obtenus sont soumis à une revision. » (TSWETT, 1912 a).

de vue des résultats de TSWETT fut contestée ou méconnue, et on comprend qu'il ait exprimé en 1911 la plainte suivante : *Man wird jedoch nicht weiter ignorieren können, wie es die Züricher Schule* (l'Ecole de WILLSTAETTER) *noch tut, dass « das Chlorophyll » eigentlich nicht existiert und einem Gemische zweier Farbstoffe entspricht, welche ich, unstreitbaren Prioritätsgründen zufolge, als Chlorophylline α und β seit 1900 bezeichnet und in optisch reinem Zustande zuerst isoliert und untersucht habe*[1]. Protestation bien motivée ! Les résultats, extrêmement intéressants, obtenus dans cette voie (de 1911 à 1915) par WILLSTAETTER furent, peu de temps après, bien étendus et précisés par les travaux, si nombreux et si pénétrants, d'HANS FISCHER. Quelques autres chimistes éminents (J. B. CONANT, P. ROTHEMUND) ont contribué aussi à nous faire mieux connaître cette question, fort difficile, de l'*origine diphylétique* (comme dit TSWETT, 1908 d : 426) des dérivés chlorophylliens.

TSWETT a désigné sous le nom de *chlorophylline* γ le pigment que SORBY (1873) avait appelé « chlorofucine », pigment qui se trouve dans les Algues brunes (Phéophycées). Il avait aussi proposé de donner le nom de *chlorophylline* δ à la protochlorophylle. Il dit (1907) avoir commencé des recherches sur ce dernier pigment ; mais, sauf erreur, il n'en a rien publié. Par contre, il a étudié avec soin (au moyen de l'analyse chromatographique, semble-t-il) la chlorophylline γ dans un travail fait en 1906, chez REINKE (à Kiel). L'existence de la chlorophyl-

---

[1] M. TSWETT, 1911 b : 1127.

A ce point de vue, l'article que publia WILLSTAETTER (1911) — après avoir fait de la chlorophylle, remarquons-le, le principal objet de ses recherches depuis cinq ou six ans, — possède une haute valeur documentaire : WILLSTAETTER, exposant la chimie des pigments chlorophylliens naturels et de leurs dérivés, s'exprime toujours comme s'il n'existait qu'une seule chlorophylle, vraiment homogène. Dans une courte introduction historique (p. 1), il dit bien que, d'après TSWETT, il existerait une chlorophylline α et une chlorophylline β (dont il ne manque pas d'indiquer les spectres d'absorption, d'après TSWETT, à la p. 2) ; mais, invoquant la facilité avec laquelle la chlorophylle s'altère en solution, il conclut : *Es ist wohl möglich, dass β sich durch eine Umwandlung von α bildet, vielleicht durch eine geringe Änderung im Molekül.* (Pour la « chlorophylle cristallisée », aucune mention de cette dualité n'est faite par WILLSTAETTER.)

En poursuivant ses recherches, WILLSTAETTER ne tarda pas à se convaincre du bien-fondé des assertions de TSWETT. Et alors, il appela les chlorophyllines α et β de TSWETT : *chlorophylles* a *et* b. L'autorité reconnue de WILLSTAETTER imposa — sans discussion, bien entendu — ce changement dans la nomenclature. Dans sa conférence Mendéléief (1912), TSWETT note que WILLSTAETTER a transféré le terme de « chlorophylline » à des dérivés obtenus par l'action des alcalis et remarque que cela crée un conflit de nomenclature regrettable.

line γ, en tant que pigment naturel, reste très controversée. Son étude est pourtant facilement accessible en recourant à la spectroscopie de fluorescence [1]. Nous nous proposons de parler de cette chlorophylline dans un autre article où nous aurons aussi à exposer les très importantes recherches de TSWETT dans le domaine de la fluorescence et dans quelques autres domaines.

Considérons maintenant les travaux de TSWETT sur les pigments caroténoïdes.

B. — *Pigments caroténoïdes (carotènes et xanthophylles)*

La distinction entre carotène et xanthophylle est très nette, nous l'avons déjà dit, quand, suivant TSWETT, on procède à l'analyse chromatographique avec le carbonate de calcium comme adsorbant : en effet, la xanthophylle, seule, est adsorbée. En examinant de près le chromatogramme formé, TSWETT (1906 b) a découvert la pluralité des xanthophylles, car il a constaté qu'à partir de l'extrait chlorophyllien brut des feuilles, on obtient toujours une série de zones jaunes plus ou moins distinctes ; il a été ainsi amené à la conclusion qu'il existe 4 xanthophylles (désignées par lui comme α, α' α'' et β). Il a admis que la xanthophylle cristallisée étudiée par WILLSTAETTER devait être constituée par deux ou trois xanthophylles différentes [2].

J'ai été probablement le premier à répéter (en 1911, avec mon élève W. DE ROGOWSKI) la séparation des divers caroténoïdes foliaires en utilisant l'analyse chromatographique de TSWETT. Comme nous l'avions constaté alors (comme l'avait déjà vu TSWETT) et comme je l'ai dit dans une communication faite à la fin de 1913, les xanthophylles ainsi obtenues ne présentent pas la moindre fluorescence rouge. Le fait mérite d'être relevé, car H. ESCHER (1909 :

---

[1] Cf. DHÉRÉ et FONTAINE, 1931, ainsi que DHÉRÉ et BACHRACH, 1931. — On peut supposer que l'état de la chlorophylline γ chez les Phéophycées est comparable à celui de la lactoflavine en combinaison protéique (flavo-protéine) : la fluorescence n'apparaissant qu'après décomposition du symplexe.

[2] Dans le « Chlorophyllbuch » de WILLSTAETTER et STOLL (1913), on lit, p. 234 : « TSWETT hält das Xanthophyll von WILLSTAETTER und MIEG für ein isomorphes Gemisch von zwei oder drei Xanthophyllen, worin α überwiegt. Es ist nicht unmöglich, dass die Annahme des verdienten Botanikers, wie so viele seiner Beobachtungen, zutrifft. »

28), collaborateur de WILLSTAETTER, a dit dans sa thèse de doctorat que la xanthophylle, en solution alcoolique, possède *eine ganz schwache, aber an grösseren Glasflächen deutlich sichtbare rote Fluoreszenz*. Si ESCHER, sur une petite fraction, avait procédé à la purification par la méthode chromatographique de TSWETT, il n'aurait pas commis cette erreur. En effet, quand on opère correctement, cette technique fournit toujours des xanthophylles de premier jet rigoureusement exemptes de toute fluorescence rouge.

Les lignes suivantes sont extraites d'une communication faite par DHÉRÉ et RYNCKI, le 22 septembre 1913 : *Nous avons déterminé les limites des bandes (visibles) et de l'extrémité ultraviolette du spectre d'absorption des xanthophylles α, α' et α'' mélangées, dissoutes dans l'éther éthylique anhydre ; ces xanthophylles avaient été préparées, à partir de feuilles de Taxus baccata, au moyen de la technique d'adsorption, due à* TSWETT.

La question, qui n'est pas sans intérêt physiologique, était examinée spécialement en vue de la comparaison avec le spectre d'absorption ultraviolet des deux chlorophylles (publié par l'un de nous en 1912) et aussi en vue de contrôler ce qu'il pouvait y avoir de fondé dans une assertion de TSCHIRCH, assez étonnante [1]. Notre conclusion générale était que *les caroténoïdes (les mêmes déterminations ayant porté sur le carotène) présentent une transparence relativement considérable pour toutes les radiations ultraviolettes jusqu'au voisinage de* λ 225 mμ. Plusieurs auteurs ont confirmé ce qu'il y a d'essentiel dans cette conclusion [2].

La question de savoir s'il existe dans les feuilles (et ailleurs) différentes xanthophylles — si, en un mot, on doit bien admettre, avec TSWETT, la pluralité des xanthophylles — a suscité, depuis 1930, beaucoup de recherches effectuées surtout et d'abord par

---

[1] A. TSCHIRCH (1904 : 417), en utilisant un spectrographe à optique de quartz et la lumière solaire, était arrivé, en effet, au résultat suivant : *Wir haben in den Blättern nur zwei gelbe Farbstoffe gefunden. Der eine besitzt das Carotinspektrum d.h. er hat drei Bänder* (grande transparence dans l'ultraviolet jusqu'à la raie T = λ 302 mμ), *der andere besitzt nur Endabsorption des Violett und Ultraviolett.*

[2] Faute de place, nous avions dû renoncer à décrire le spectre ultraviolet des caroténoïdes, nous proposant de le faire dans un Mémoire dont nous annoncions la publication (que des circonstances imprévues ont empêchée). Cela explique que nous n'ayons pas relevé la faible bande d'absorption qui existe au voisinage de λ 270 mμ (peu nette d'ailleurs avec notre spectre d'étincelles). Une courbe très instructive de ce spectre d'absorption a été publiée dans un travail de MCNICHOLAS (1933). Cf. KARRER et WÜRGLER (1943).

P. KARRER (Zurich) et par R. KUHN (Heidelberg). Ainsi que le dit fort justement ZECHMEISTER [1] (qui a aussi bien contribué à cette étude) : *Die sichere Entscheidung, ob fallweise ein chemisches Individuum, oder ein aus sehr ähnlichen Komponenten bestehendes Gemenge vorliegt, war bis zur Einführung der chromatographischen Adsorptionsmethode von* TSWETT *in die präparative Chemie der Polyene schwierig oder unmöglich.*

L'étude la plus étendue et la plus approfondie que l'on possède actuellement sur ce sujet est due à HAROLD H. STRAIN qui, en 1938, a fait paraître une monographie intitulée *Leaf Xanthophylls*. Voici quelques-unes des conclusions de l'auteur : *The xanthophylls from the leaves of a number of different species of plants are mixtures of twelve or more pigments. These xanthophylls are mono-, di-, tri-, and tetra-oxy derivatives of carotenes. The principal constituent of the mixture is lutein* [2]. *Very small quantities of zeaxanthin and cryptoxanthin occur in all the leaves examined...* The only satisfactory method for the separation of all the leaf xanthophylls from one another is chromatographic adsorption.

WILLSTAETTER — qui pendant si longtemps n'a pas considéré comme établie l'existence d'une pluralité de xanthophylles foliaires — croyait, par contre, que la « lutéine » du jaune de l'œuf de poule, qu'il avait obtenue (avec ESCHER, 1912) à l'état cristallisé, constituait vraiment une xanthophylle particulière, pigment animal spécifique. Or, l'analyse chromatographique appliquée à cette « lutéine » par KUHN, LEDERER et WINTERSTEIN (1931) a révélé immédiatement que ce pigment n'est en réalité qu'un mélange — en proportions variables — de xanthophylle foliaire proprement dite (lutéine de KUHN) et d'un autre pigment découvert par KARRER : la zéaxanthine (formant environ ⅓ du mélange, habituellement).

Comment interpréter, au point de vue de la composition chimique des pigments, le changement de couleur que montrent les feuilles à l'automne ? Sur ce sujet, nous possédons aussi un

---

[1] L. ZECHMEISTER, Carotinoïde (1934 : 176).

[2] Lutéine = xanthophylle α de TSWETT. — En 1931, KUHN, WINTERSTEIN et LEDERER ont proposé, d'accord avec WILLSTAETTER, de donner le nom de « xanthophylles » à tous les caroténoïdes à 40 atomes de carbone dont l'oxygène a une fonction alcoolique, et de donner le nom de *lutéine* au caroténoïde $C^{40}H^{56}O^2$ (à 2 groupements OH libres) qui se trouve dans chaque feuille verte et dans beaucoup de fleurs. KARRER (1932) a proposé le terme de « phytoxanthines » pour désigner le groupe de pigments que KUHN nomme xanthophylles, et emploie le nom de xanthophylle pour la lutéine de KUHN. (D'après LEDERER, Les Caroténoïdes des Plantes. Cf. sa Thèse de doctorat ès sciences, 1938).

intéressant travail de TSWETT (1908 a), où on lit à la fin : *Die vergilbten Blätter enthalten nur Spuren von den normalen Farbstoffen des grünen Blattes. Ihre Färbung ist durch einen neuen Farbstoff (oder Farbstoffgruppe) bedingt, welcher vorläufig als Herbst-Xanthophyll bezeichnet werden kann.* TSWETT avait observé que cette xanthophylle, dissoute dans l'éther de pétrole, est complètement adsorbée par le carbonate de calcium. Ayant repris cette étude, KARRER [1] est arrivé à la conclusion suivante : *Zusammenfassend lässt sich sagen, dass mit fortschreitendem Absterben der Blätter Carotin und Phytoxanthine verschwinden, ersteres offensichtlich schneller; sie werden,* wie dies schon TSWETT vermutet hatte, *oxydativ zerstört.*

En 1911, TSWETT communiquait une Note *Sur une nouvelle matière colorante végétale, la thuyorhodine,* pigment d'un rouge foncé qu'il avait extrait, notamment, des feuilles du *Thuja orientalis,* de diverses espèces de *Cupressus* et des baies du *Taxus baccata.* TSWETT avait isolé ce pigment au moyen de son analyse chromatographique. MONTEVERDE et LUBIMENKO (1913) l'obtinrent à l'état cristallisé et lui donnèrent le nom de *rhodoxanthine.* Il s'agit d'une dicétone, de formule brute $C^{40}H^{50}O^{2}$ (KUHN et BROCKMANN, 1933).

Uniquement chez les Algues brunes (Phéophycées), se trouve un caroténoïde caractéristique, la *fucoxanthine,* particulièrement riche en oxygène. Pour orienter le lecteur à qui cette étude serait restée jusqu'à présent étrangère, nous croyons devoir indiquer ici (d'après l'excellente monographie de ZECHMEISTER 1934) les relations entre les principaux caroténoïdes, telles qu'elles résultent de la comparaison des formules brutes :

Carotène $C^{40}H^{56}$ $\rightarrow$ Cryptoxanthine $C^{40}H^{56}O$ $\rightarrow$ Xanthophylle $C^{40}H^{56}O^{2}$ $\rightarrow$ Flavoxanthine $C^{40}H^{56}O^{3}$ $\rightarrow$ Violaxanthine $C^{40}H^{56}O^{4}$ $\rightarrow$ Fucoxanthine $C^{40}H^{56}O^{6}$.

Bornons-nous à dire que TSWETT a fait également porter ses recherches sur la fucoxanthine en 1906 et que la préparation de ce caroténoïde, au moyen de la chromatographie, a été réalisée par HEILBRON et PHIPERS (1935) [2].

On vient de voir quelle confirmation éclatante des conclusions de TSWETT (1906) sur la « pluralité des xanthophylles » ont apportée les nombreux travaux effectués sur ce sujet, depuis un peu plus de dix ans, par quelques-uns des plus éminents chimistes contemporains. Et qu'en est-il du carotène ? Dans son livre publié en

---

[1] KARRER et WALKER (1934 : 48).

[2] Pour cette opération, ces auteurs utilisèrent simultanément 15 tubes de diamètre moyen (5 cm.). — Ne manquons pas de dire que la fucoxanthine avait été bien étudiée par WILLSTAETTER et PAGE en 1914.

russe (1910), TSWETT disait : *Il est fort possible que le carotène des feuilles ne constitue pas une individualité chimique, mais soit un mélange de deux ou trois carotènes homologues, que l'on parviendrait à isoler les uns des autres au moyen de l'analyse chromatographique, à condition d'utiliser des adsorbants convenables*[1]. Prodigieuse divination !

Grâce à la méthode TSWETT, on a découvert, en effet, qu'en plus du carotène déjà connu (désigné maintenant comme carotène β), il existe trois autres carotènes : α, γ et δ. Le carotène α[2] existe à côté de β dans les feuilles du Marronnier d'Inde, par exemple, mais ne se trouverait pas dans celles d'Epinard ni d'Ortie (KUHN et LEDERER)[3]. Le carotène de la Carotte renferme environ 85% de carotène β et 15% de carotène α (seulement trace de carotène γ). Dans les fruits rouges du *Gonocaryum pyriforme*, il y a les trois carotènes α, β et γ, et ce dernier est de beaucoup le plus abondant. Il représente plus de la moitié de l'ensemble. Un quatrième carotène (δ) s'y trouverait de plus en très petite quantité (WINTERSTEIN, 1933). C'est, comme toujours, l'analyse chromatographique qui a révélé sa présence. (D'après WILLSTAEDT, le carotène δ existerait aussi probablement dans les fruits du *Rubus chamaemorus*).

On sait qu'en 1929, H. VON EULER et P. KARRER ont découvert que la *vitamine A* (Axérophtol) dérive du carotène, qui est donc la provitamine correspondante[4]. Par conséquent, pour le médecin, le carotène présente maintenant un intérêt considérable. Il est évidemment très important de posséder une bonne méthode de dosage du carotène. Il résulte d'une étude de SVANHOF et DAM

---

[1] Dans un mémoire postérieur, TSWETT (1911 c: 632) est revenu sur la question en disant : *Möglicherweise existieren in der Natur verschiedene homologe Carotine und kommen in variablen Gemischen vor.* Il ajoute qu'après séparation chromatographique, il faut examiner le spectre d'absorption : *Ist die Lage der Absorptionsbänder erheblich abweichend, so hat man es möglicherweise mit einem unbekannten Carotin zu tun.* — Les carotènes présentent ordinairement trois bandes d'absorption dans la plage la plus réfrangible du spectre visible. Rappelons que THUDICHUM, dès 1869 (on l'oublie trop souvent !), avait parfaitement décrit et figuré les spectres d'absorption de plusieurs caroténoïdes.

[2] Cf. KARRER et WALKER (1933).

[3] Cette conclusion n'est que *pratiquement* exacte. En effectuant l'analyse chromatographique dans de meilleures conditions, KARRER et SCHLIENTZ ont, en effet, reconnu la présence de très petites quantités de carotène α dans les feuilles aussi bien d'Epinard que d'Ortie, Les auteurs soulignent l'intérêt théorique de cette constatation.

[4] D'une façon plus précise, les carotènes α, β et γ possèdent cette propriété provitaminique. Il en est de même pour la *cryptoxanthine* et pour l'*aphanine* (caroténoïde extrait d'une petite algue bleue : *Aphanizomenon flos aquae*).

(1941) que la méthode de WILLSTAETTER et STOLL est tout à fait recommandable, à condition de lui adjoindre l'analyse chromatographique de TSWETT [1].

Quant à la vitamine A, KARRER est parvenu, grâce à la méthode de TSWETT, à en pousser très loin la purification. Rendant compte des résultats obtenus par KARRER, ROSENTHALER (1940) a dit : *Es wäre ein Irrtum zu glauben, ein durch Kristallisation gereinigtes Präparat müsse reiner sein, als ein durch chromatographische Analyse dargestelltes. Bei allen neueren Untersuchungen hat sich die chromatographische Reinigung der durch Kristallisation erzielten weit überlegen erwiesen* [2].

Nous avons cité textuellement p. 44 les conclusions générales sur la portée de la méthode chromatographique telles qu'elles ont été formulées par TSWETT en 1910, après qu'il eut réussi de la sorte à reconnaître la constitution mixte de la chlorophylle cristallisée. Ces lignes nous avaient beaucoup frappé, et (avec VEGEZZI) nous avons été très probablement les premiers, en 1914, à mettre à profit ce conseil (on pourrait même dire : ce précepte) de TSWETT. Ayant préparé, au moyen de deux méthodes décrites par R. MALY (1881), la vitellorubine et la vitellolutéine, pigments caroténoïdes contenus dans les œufs de *Maja squinado* et les ayant dissous dans de l'éther de pétrole, *nous avions supposé, d'après les données de* MALY, *que chacune de ces liqueurs contenait respectivement, à l'état isolé, la vitellorubine ou la vitellolutéine. En réalité, il s'agit, dans les deux cas, de mélanges, comme nous avons pu nous en convaincre par l'analyse chromatographique* [3]. On comprendra que nous ayons cru devoir rappeler cet exemple, déjà bien ancien, mais fort instructif.

---

[1] WILLSTAEDT s'est beaucoup occupé de cette détermination. Consulter son livre : L'Analyse chromatographique, 1938 : 73.

[2] Dans la préparation des vitamines et des hormones (ainsi que des enzymes), l'analyse de TSWETT est de plus en plus utilisée. (Cf. *Revue Ciba*, N° du 18 juin 1942 : 124). Voir spécialement ce qui est dit dans le livre de WILLSTAEDT, pp. 86 et suivantes. — *Addition* (Juin 1943) : Répondant à une question posée, M. le Dr M. GUGGENHEIM m'écrit que (*dans les laboratoires de la Société Hoffmann-La Roche*) « la méthode de TSWETT est utilisée pour purifier et isoler les vitamines à partir d'extraits ou de mélanges obtenus lors de synthèses ainsi que pour la détermination analytique de différentes vitamines ».

[3] Passage extrait de la thèse de VEGEZZI (1916 : 92).

III. — Développement de l'analyse chromatographique jusqu'à nos jours

Comme nous l'avons déjà dit, la création (plus exactement, le premier exposé d'ensemble) de la méthode d'Analyse chromatographique par adsorption remonte à 1906 ; mais *ce ne fut qu'à partir de* 1931 *que débuta vraiment l'essor de la chromatographie de* Tswett, qui ne devait pas tarder à devenir un des procédés d'analyse et de préparation les plus en vogue. Plusieurs auteurs ont bien voulu ne pas omettre de signaler quelques-unes des applications que j'avais faites, entre-temps, de cette si précieuse méthode. On me pardonnera de relever une ou deux de ces citations : H. Willstaedt, dans un livre assez récent (1938), a dit : *Un des premiers auteurs ayant su apprécier les avantages de ce nouveau procédé fut* Dhéré, *qui en fit usage dans nombre de recherches...* Et A. Winterstein — qu'on peut considérer comme le principal promoteur de la faveur obtenue depuis une dizaine d'années par la méthode de Tswett, tant il a contribué, par ses recherches approfondies et étendues (ainsi que par la publication d'exposés d'ensemble), à faire connaître les avantages que présente l'analyse chromatographique — avait écrit, dès 1933 : *Die Bedeutung dieser Methode für biochemische Arbeiten wurde in der Folge* (c'est-à-dire après Tswett) *anscheinend nur noch von* Ch. Dhéré *und Mitarbeitern erkannt...* [1] Je ferai encore remarquer qu'en 1926, J. Verne, dans son livre bien connu sur les Pigments, attirait l'attention sur la méthode de Tswett, en reproduisant (dans le chapitre sur les Caroténoïdes) la figure de l'appareil que nous avions utilisé, Vegezzi et moi, pour l'analyse chromatographique de la tétronérythrine [2].

Comment se fait-il donc que, pendant si longtemps, la méthode de Tswett n'ait pour ainsi dire [3] pas été employée ? Cela semble à présent d'autant plus extraordinaire que Tswett, avec une perspicacité vraiment surprenante, avait prévu presque tous les services que sa méthode était appelée à rendre. On attribue parfois le peu de faveur rencontré d'abord par la méthode de Tswett au fait que son magnifique livre, publié en 1910, ne parut, malheureusement,

---

[1] A. Winterstein et G. Stein, 1933 : 247.

[2] Voir l'Appendice (Note 3).

[3] A signaler les recherches de L. S. Palmer sur les caroténoïdes du lait (1913-1914) ; celles de Coward sur les caroténoïdes tissulaires (1924) ; enfin celles de Lipmaa sur la Rhodoxanthine (1926).

qu'en langue russe. Mais TSWETT avait donné un parfait exposé de sa méthode dans un travail publié en allemand dès 1906 ; bien plus, il avait fait une démonstration de sa méthode devant la Société botanique allemande le 28 juin 1907.

Pour expliquer, dans une certaine mesure, cet insuccès prolongé, peut-être faut-il tenir compte des faits suivants : TSWETT a appliqué sa méthode essentiellement (mais non exclusivement !) à l'étude des pigments chlorophylliens ; or, dans les dix ou quinze années qui suivirent sa découverte, les deux chimistes qui étudièrent surtout ces pigments furent MARCHLEWSKI et WILLSTAETTER ; et, tous deux — pour des motifs d'ailleurs différents — firent un accueil plutôt frais à l'analyse chromatographique [1].

MARCHLEWSKI (à qui l'on doit pourtant de bien beaux travaux sur les dérivés éloignés des chlorophylles) a tout spécialement contribué à discréditer la méthode, dont il a complètement méconnu l'originalité et l'importance. A-t-il fait des essais d'analyse chromatographique ? On doit l'admettre, car il l'a dit ; mais, sauf erreur, il n'a pas publié les résultats obtenus, qu'il comptait utiliser, d'après ce qu'il laisse entendre, pour revenir sur les critiques qu'il avait formulées contre les travaux de TSWETT [2].

Diverses citations de WILLSTAETTER, que nous avons eu précédemment l'occasion de faire dans cet article, montrent qu'il a plus d'une fois reconnu les rares mérites de TSWETT ; néanmoins, d'une part à cause de la possibilité d'allomérisation lors de la séparation des chlorophylles naturelles *a* et *b*, et d'autres part parce que WILLSTAETTER avait particulièrement en vue d'obtenir ces chlorophylles sous forme de « préparations », pondéralement importantes, destinées à une étude chimique étendue (étude de la constitution, étude

---

[1] Dans les publications de ROBERT CHODAT (qui fut le premier maître de TSWETT à l'Université de Genève), je n'ai pas trouvé de citation du nom de TSWETT. Mais M. CHARLES BAEHNI (qui vient de succéder à M. HOCHREUTINER), ancien élève de ROBERT CHODAT, m'a dit spontanément que celui-ci ne manquait pas, dans ses cours, de donner un exposé de la méthode de TSWETT appliquée à l'analyse immédiate de la chlorophylle. En me confirmant la chose, M. le professeur FERNAND CHODAT m'assure que son père considérait TSWETT comme un véritable pionnier.

[2] L. MARCHLEWSKI, 1907 : 344.

Répondant à ces critiques de MARCHLEWSKI, TSWETT (1907 d : 373) fait, en note, la remarque suivante, assez piquante : *Als charakteristisch für die Art* MARCHLEWSKIS, *wissenschaftliche Kritik zu üben, sei angeführt, dass er meine ausgearbeitete adsorptions-analytische Methode als « einen Filtrationsversuch » bezeichnet hat, « mit Hilfe dessen man sich nicht auf die Höhe eines Reformators der Chlorophyllchemie schwingen kann »*. Il paraît superflu d'insister sur ces polémiques regrettables, qu'on ne peut imputer à TSWETT.

des produits de transformation, de clivage moléculaire, etc.), il n'a guère pris en considération, dans ses recherches, l'analyse chromatographique. On sait que les publications de WILLSTAETTER dans le domaine de la chlorophylle devinrent bientôt classiques (elles lui valurent le Prix Nobel en 1915) ; et, comme l'auteur n'avait pas adopté la méthode de TSWETT, on put fort bien en conclure qu'il ne lui attribuait pas une grande valeur [1]. Toujours est-il que j'ai personnellement l'impression que WILLSTAETTER ne laisse pas d'être jusqu'à un certain point responsable (sans que ce fût intentionnel de sa part) du peu de succès qu'eut la méthode d'analyse chromatographique pendant une trop longue période. Mais je m'empresse d'ajouter que, d'après ce qu'a dit R. KUHN en 1931, c'est précisément, pourtant, à WILLSTAETTER qu'on serait en partie redevable du début de la seconde période (postérieure à 1930) [2] ; car il aurait contribué à engager KUHN dans des recherches d'analyse chromatographique en lui communiquant une traduction du livre russe de TSWETT ainsi que par le fait qu'il avait indiqué, dans un ouvrage récemment paru, les services que pouvait rendre cette méthode [3].

Dans le laboratoire de R. KUHN (Heidelberg), WINTERSTEIN s'occupa de rendre la méthode utilisable pour des opérations à une autre échelle de grandeur. A vrai dire, rien n'empêchait en cas de besoin de multiplier les colonnes adsorbantes, et c'est justement ce qu'avait fait TSWETT qui figure un dispositif de cinq tubes rangés en batterie pour être actionnés simultanément (par compression

---

[1] Dans l'article que WILLSTAETTER a publié en 1924 dans le Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden, d'ABDERHALDEN (Die Blattfarbstoffe), aucune mention n'est faite de la méthode chromatographique de TSWETT (dont le nom n'est même pas cité).

[2] ZEICHMEISTER caractérise chacune de ces périodes en appelant la première « Latenzzeit » et la seconde « Blütezeit ».

[3] Il y a lieu de reproduire le texte de WILLSTAETTER (1928 : 66) auquel renvoie KUHN (il ne cite pas, à ce sujet, d'autre auteur) : *Verfolgt man die Anwendung der Adsorptionsmethode zur Fraktionierung von Gemischen einander ähnlicher organischer Stoffe, so darf man die Erfolge der « chromatographischen Adsorptionsanalyse » von M.* TSWETT *nicht ausser Acht lassen. Wenn seine Methode auch nicht für präparative Arbeit geeignet war* (!), *so gelang es doch* TSWETT *gewiss in analytischem Massstab, durch ein Adsorptionsverfahren das Gemisch der Blattpigmente in seine Komponenten zu zerlegen* (texte non publié ailleurs).

Et, à la page 295 du même ouvrage de WILLSTAETTER, on lit : *Die chromatographische Adsorptionsanalyse, die in den Händen von* M. TSWETT *zu wichtigen Resultaten hinsichtlich des Chlorophylls und seiner Derivate geführt hat, halten wir für die Arbeit in grösserem Massstab, also für präparative Zwecke nicht für brauchbar.*

d'air) [1]. Mais les modèles à très large diamètre, réalisés d'abord par WINTERSTEIN [2] ont trouvé leur emploi jusque dans l'industrie, le rendement devenant ainsi suffisamment avantageux [3].

Le champ d'application de l'analyse chromatographique par adsorption va toujours en s'élargissant, à tel point qu'il n'est sans doute pas exagéré de dire avec ZECHMEISTER : *Parmi les méthodes physiques, depuis l'introduction de la spectroscopie, c'est l'idée de* TSWETT *qui a imprimé à la chimie organique la plus grande impulsion.*

De cette extension prodigieuse de la chromatographie, A. WINTERSTEIN a été l'un des plus actifs artisans. A l'heure actuelle, l'analyse chromatographique s'est développée dans les directions les plus variées (aussi dans le domaine de la chimie minérale) et d'innombrables travaux ont été exécutés à l'aide de cette incomparable méthode d'analyse immédiate. Il suffira ici, pour finir, de mentionner quelques points particulièrement dignes d'attention.

Un des grands avantages de l'analyse chromatographique sous la forme où TSWETT l'a instituée, c'est qu'elle permet d'utiliser les adsorbants les plus divers, différant par le signe de leur charge électrique, leur structure (pulvérulente, granulaire, fibreuse), etc. TSWETT (1903 ; 1906) avait examiné l'efficacité d'une série d'adsorbants ; par la suite, on en a trouvé quelques-uns qui conviennent tout spécialement dans certains cas : Oxyde et hydroxyde de calcium (KARRER), oxyde d'aluminium (BROCKMANN), magnésie (H. v. EULER, STRAIN), terre à foulon (argile), franconite, floridine, talc, sulfure de plomb... sucre de lait (WINTERSTEIN), gluconate de calcium (WILLSTAEDT).

L'analyse par adsorption permet de procéder à la séparation de corps même incolores, ce qu'avait déjà réalisé TSWETT, puisqu'il a déterminé comment se comporte la lécithine dans cette analyse. Précisément pour certains corps biologiques incolores, l'analyse par adsorption constitue une méthode d'isolement fort subtile, adoptée par une foule d'auteurs. Tel est le cas pour les *stérols* (vitamine D et diverses hormones sexuelles comprises) : travaux de A. WINTERSTEIN ; WINDAUS ; KARRER ; H. WIELAND ; KUWADA ;

---

[1] N'est-ce pas en procédant ainsi que les deux chlorophylles *zuerst in optisch reinem Zustande und in grösseren Mengen dargestellt und untersucht worden sind ?* (TSWETT 1907 : 373). Voir l'appendice (Note 4).

[2] Cf. WINTERSTEIN et SCHÖN, 1934.

[3] A ce propos, il faut citer l'opinion de ZECHMEISTER : *In manchen Fällen ist die Verarbeitung einer Anzahl von kleineren Röhren vorteilhafter ; z.B. wurden die entsprechenden Schichten von* 380 (!) *Chromatogrammen vereinigt.* (ZECHMEISTER et v. CHOLNOKY, 1936, p. 292). Cf. aussi le travail de HEILBRON et PHIPERS cité (p. 49) à propos de la fucoxanthine.

HÜTTEL; DORÉE; K. LADENBURG; DRUMMOND; RUZICKA; TROPPE; BROCKMANN; DUSCHINSKY; HIRSCHMANN; DANE; SERINI; BUTENANDT; TALBOT; GOLDBERG; STEIGER et REICHSTEIN. Tel est encore le cas (parmi plusieurs autres) pour les *acides aminés :* travaux de TURBA; WALDSCHMIDT-LEITZ; TH. WIELAND; TISELIUS; SCHRAMM et PRIMOSIGH. — Parfois, on peut mettre à profit la fluorescence : « ultra-chromatographie » (KARRER, WINTERSTEIN).

Jusqu'à ces derniers temps, on supposait généralement que l'analyse chromatographique cesse d'être applicable quand il s'agit de corps organiques à très petites molécules. Mais un travail tout récent [1] montre que, même dans ce cas, on peut tirer un excellent parti de l'analyse de TSWETT.

Nous estimons — et ce sera notre dernier mot — qu'il faut s'associer avec empressement à l'hommage qu'on a proposé de rendre à TSWETT en appelant désormais (d'une façon abrégée) l'*analyse chromatographique par adsorption :* « Analyse de TSWETT » [2].

---

[1] Cf. HESSE et TSCHACHOTIN, 1942.

[2] Voici le texte de la lettre à laquelle je viens de faire alusion : *Sir, It appears to have been overlooked that the surname of the Russian botanist who in an inspired moment discovered the principle of chromatographic analysis, is identical with the Russian word for colour.*

TSWETT *himself, since he could not in modesty give, or appear to give the process his own name, invented that unhappy hellenism « chromatographic analysis ».*

The Russian language has now become a source of scientific terminology in subjects such as pedology and plant physiology, so that there is no reason why chemistry should not acknowledge its great debt in this case by adopting for this beautiful method a name which at once designates the process and honours the discoverer. I suggest « tsvetanalysis » or « tsvetsorb-analysis ». D. J. CAMPBELL-GAMBLE (1940 : 598).

Cette désignation (Analyse de TSWETT) a en outre l'avantage de lever les scrupules que l'on pouvait avoir à qualifier la méthode de « chromatographique » quand elle est appliquée uniquement à la séparation de corps incolores.

Il ne servirait à rien de reproduire tout ce qui a été dit en faveur de la méthode de TSWETT. Nous citerons encore, pourtant, deux témoignages particulièrement éloquents :

GERHARD HESSE (1936 : 319) a dit de ce procédé (Verfahren) : *Es ist daher zu erwarten, dass es bald bei allen präparativen Untersuchungen gleichberechtigt neben der Destillation und der Kristallisation angewandt werden wird.* Et en tête d'un article consacré à cette méthode, dans la *Chemiker-Zeitung,* la Rédaction a écrit : *Die Tswettsche Adsorptionsanalyse gehört heute zum unentbehrlichen Rüstzeug unserer Forschungslaboratorien* (1937 : 185).

IV. — Appendice : Notes complémentaires

Note 1

En 1941, une communication de Stoll a fait progresser considérablement ce qu'on savait jusqu'alors sur sa *chloroplastine* (pouvant être rattachée, dans une certaine mesure, comme on l'a vu, à la chloroplastine et surtout à la chloroglobine de Tswett). Cette chloroplastine est un chromoprotéide d'une grande complexité, possédant quatre groupements prosthétiques pigmentaires[1] (sauf erreur d'interprétation de ma part) ; elle est essentiellement constituée par une protéine (69%), des lipoïdes (21%) et des pigments (8%). Le poids moléculaire atteindrait cinq millions : valeur évidemment colossale, mais qui n'a plus rien d'inadmissible depuis la publication du travail de The Svedberg et Chirnoaga (1928) sur l'hémocyanine de l'Escargot. Comme pour l'hémoglobine, ou pour l'hémocyanine (Jean Roche), suivant l'origine (espèce systématiquement distincte), on constate une spécificité chimique due à la diversité de composition en acides aminés du groupement protéique. Avec l'hémoglobine ou avec l'hémocyanine, cette spécificité s'exprime — déjà pour les molécules intactes — lors des déterminations spectroscopiques très précises, les axes des bandes d'absorption ne coïncidant pas rigoureusement. Pour les chloroplastines aussi, il existe, probablement, de tels écarts, qui pourront apparaître quand on comparera entre elles des chloroplastines provenant de différentes espèces (genres) de plantes, écarts utilisables pour leur caractérisation spécifique.

Par rapport à la globine de l'hémoglobine, la plastine de la chloroplastine (globine de la chloroglobine) présente une différence de composition qui doit être soulignée : elle ne contient pas d'histidine. Or, on n'ignore pas que plusieurs auteurs (W. Küster, R. Hill et H.-F. Holden) ont supposé que l'histidine joue un rôle dans la combinaison de la globine avec le groupement prosthétique ferrugineux (hypothèse, d'ailleurs, très discutable, d'après ce qu'a dit F. Haurowitz en 1935). Logiquement, nous aurions maintenant à examiner d'une façon plus approfondie la question du mode d'union des pigments chlorophylliens avec le groupement protéique. Mais cette discussion ne peut, évidemment, trouver

---

[1] En admettant qu'il n'y a qu'un seul carotène et qu'une seule xanthophylle associés aux deux chlorophylles.

place dans notre article. Remarquons toutefois que le terme de « symplexe » — dont la paternité appartient à WILLSTAETTER (WILLSTAETTER u. ROHDEWALD 1934 : 109) — est d'un emploi très commode, précisément parce qu'il est très « élastique ». Il s'appliquerait, d'après WILLSTAETTER, aussi bien à des chromoprotéides typiques, chimiquement bien définis, tels que l'hémoglobine, qu'à des complexes mixtes, d'une fragilité extrême, avec proportions assez variables des deux sortes de constituants [1] ; enfin, cette étiquette ne préjugerait même rien de la nature plutôt chimique ou physique des forces unissant le groupement protéique au groupement prosthétique [2].

Etant donné que TSWETT s'est fait le défenseur convaincu (de 1896 à 1900) de l'idée que la chlorophylle préexiste dans la plante à l'état de combinaison protéique, nous tenons à donner la liste des travaux les plus récents où cette manière de voir est admise [3] :

E. H. HANSON. Some properties of the chlorophyll, etc. (1939).

C. S. FRENCH. The pigment-protein compound in photosynthetic bacteria. (2 Mémoires). (1940).

E. L. SMITH. Chlorophyll as the prosthetic group in the green leaf. (1940).

— The Chlorophyll-Protein compound of the green leaf (3 Mémoires). (1941).

M. L. ANSON. On Lubimenko extracts of Chlorophyll-protein. (1941).

M. FISHMAN et L. S. MOYER. The Chlorophyll-Protein complex. (1942).

Le travail suivant, de K.-P. MEYER, peut aussi être cité ici, bien qu'il ne se rapporte pas aussi directement à la question :

K. P. MEYER. Spektrometrische Untersuchungen des Chlorophylls in der Pflanze, in Extrakten und Reinpräparaten. (1939).

---

[1] Même pour l'hémoglobine, d'après LAPICQUE (LAPICQUE et GILARDONI 1900), la teneur en fer (hématine) n'est pas identique suivant que les cristaux ont été obtenus lentement (procédés ordinaires) ou très rapidement : la lenteur de préparation détermine un petit enrichissement en fer. Pour ce qui est de la teneur de la chloroplastine en chlorophylle (groupement prosthétique), voir quelques remarques de W. MENKE (1939 : 101).

[2] *Zwischen physikalischer und chemischer Bindung gibt es keine scharfe Grenze und keinen wesentlichen Unterschied* (LANGMUIR, WILLSTAETTER). — Cf. le Livre de K. H. MEYER (1940 : 387, 473, 512 et 608).

[3] Pour l'indication de la plupart des travaux antérieurs, consulter le livre, déjà cité, de H. FISCHER et A. STERN (p. 376).

L'exposé, fait dans notre article, de la conception d'une combinaison entre la chlorophylle et une substance protéique formulée et défendue par TSWETT (1896-1900) est assurément tout à fait exact (les citations en font foi). Mais cet exposé ne serait pas correct sans les ndications complémentaires que nous avons le devoir de donner au lecteur.

Et d'abord TSWETT — avec cette conscience scrupuleuse qui se manifeste dans tous ses écrits — n'a pas manqué, quand il a parlé, dans sa thèse de doctorat (1896 : 193), de la chloroplastine à laquelle sont incorporés, d'après lui, les pigments chlorophylliens, de dire que REINKE, dès 1883, était arrivé, par un tout autre chemin, à peu près à la même conclusion que lui.

Un point délicat reste maintenant à examiner : Il est certain qu'au cours de l'année 1900, TSWETT s'est demandé s'il n'avait pas commis une erreur. Ce substratum de la chlorophylle — désigné, sans spécification chimique, sous le nom d'*hypochlorine* (voir sa lettre à BRIQUET, passage cité, du 10 octobre 1897) — il a cru [1], *d'après ses dernières recherches, qu'il appartiendrait au groupe des lécithines et du protagon*. Après avoir lu ces lignes, on s'étonnera moins que WILLSTAETTER et STOLL (1918 : 223) aient dit uniquement : TSWETT *verstand unter* Chloroglobin *eine chemische Verbindung der Pigmente mit dem Hypochlorin und hielt es für wahrscheinlich, dass letzteres ein Lecithin sei.*

A vrai dire, les lipoïdes entrant pour plus d'un cinquième dans la constitution de la chloroplastine de STOLL, on comprend que TSWETT, par certaines réactions, ait été amené à considérer que des lipoïdes se trouvaient combinés à la chlorophylle [2]. Son seul tort, semble-t-il, c'est de s'être décidé alors pour une conclusion trop exclusive.

La question est d'ailleurs toujours discutable à certains points de vue, comme le montre bien un travail assez récent de SEYBOLD (SEYBOLD u. EGLE 1940). Dans cette discussion, la fluorescence (depuis REINKE, 1883) a été particulièrement prise en considération. J'aurais, à ce sujet, des remarques personnelles à présenter, ayant étudié, d'une part, la fluorescence de la chlorophylle dans les plantes à plusieurs reprises et avec plusieurs collaborateurs (M. FONTAINE, A. RAFFY, O. BIERMACHER) et m'étant occupé, d'autre part, dès 1911, de la fluorescence de l'hématoporphyrine

---

[1] TSWETT, 1900 : 843. (Petite note au bas de la page).

[2] Ne pas oublier que, pour l'hémoglobine également (d'après F. HOPPE-SEYLER, 1889), il y a, dans les globules rouges, de la lécithine et peut-être aussi de la cholestérine en combinaison lâche.

en solution colloïdale. Mais je me réserve de revenir sur ce sujet quand j'exposerai, dans un autre article, les importants travaux de TSWETT dans le domaine de la fluorescence.

Note 2

Il y a lieu d'exposer plus complètement la façon dont, successivement, les auteurs ont envisagé la nature de la «chlorophylle cristallisée».

WILLSTAETTER (1924: 48), faisant un historique sommaire de la question, a dit (sans parler de TSWETT) : BORODIN *hat die Frage aufgeworfen, ob die merkwürdigen Gebilde den natürlichen Farbstoff oder eine Verbindung desselben mit einem noch unbekannten Stoff darstellen.* N. A. MONTEVERDE, *der die Borodinschen Kristalle für natürliches Chlorophyll, das amorphe aber für ein Zersetzungsprodukt hielt, hat* (1893) *das kristallisierte Präparat in kleinem Massstab für die Beschreibung des Absorptionsspektrums bereitet.*

Il semble bien que cette dernière manière de voir, complètement erronée, était celle qu'admettait WILLSTAETTER en 1908, comme le faisait remarquer alors TSWETT (1908 c : 415) : WILLSTAETTER... *glaubt, dass* im «krystallisierbaren Chlorophyll» wirklich ein unveränderter genuiner Farbstoff vorliegt, *und bringt den Gegensatz zwischen «krystallisierbarem» und «amorphem Chlorophyll» im Verhältnis zu der von* STOKES, SORBY *und mir festgestellten Dualität des fluorescierenden Anteils des Chlorophylls.*

Partant de cette idée fausse, WILLSTAETTER (WILLSTAETTER et BENZ 1908) avait considéré, à tort, comme décisive contre la conception de TSWETT l'objection suivante : *Die angeführte Meinung von* TSWETT, *dass die Krystalle von* BORODIN *durch die Einwirkung von Alkohol aus dem natürlichen Chlorophyll entstanden seien, wird schon durch das ungleichartige Verhalten verschiedener Pflanzen bei dem Krystallisationsversuch von* BORODIN *widerlegt.*

Note 3

Je constate que les auteurs — même ceux bien disposés à me citer convenablement — ont donné des indications plus ou moins incomplètes (voire inexactes) pour ce qui est de l'emploi que j'ai fait, depuis 1911, de la méthode de TSWETT. Je profite donc de cette occasion, vraiment unique, pour mettre la chose une bonne fois au point.

J'ai utilisé la méthode de TSWETT dans des recherches dont les résultats ont été communiqués à l'Académie des sciences de PARIS le 7 octobre 1912, le 22 septembre 1913, le 29 décembre 1913

et le 16 octobre 1916. De plus, en 1914, j'ai appliqué cette méthode à l'analyse immédiate de la « tétronérythine » des œufs de *Maja squinado* (résultats publiés uniquement dans la thèse de mon élève et collaborateur G. VEGEZZI). Il a été démontré alors que ces œufs contiennent trois pigments caroténoïdes : 1° un pigment cramoisi extrêmement altérable et obtenu en quantité tout à fait insuffisante pour l'étude ; 2° du carotène typique ; 3° un pigment principal (se comportant dans l'adsorption comme une xanthophylle), possédant plusieurs bandes d'absorption. Il y a tout lieu de croire que ce dernier pigment n'est autre que l'*astaxanthine* (présente également chez plusieurs végétaux inférieurs, d'après KUHN, STENE et SÖRENSEN, 1939) [1]. — Enfin je mentionnerai que, sur mon conseil, M. le Dr A. VANNOTTI (actuellement professeur à l'Université de LAUSANNE) avait commencé des essais de séparation de diverses porphyrines animales par la méthode de TSWETT. Mais il a renoncé à la publication de ses résultats, ayant été devancé par J. WALDENSTRÖM (1935).

H. BROCKMANN (1939 : 74) écrivait : *Die präparative Brauchbarkeit* der in Vergessenheit geratenen chromatographischen Adsorption *wurde zuerst (1931) von* R. KUHN *und Mitarbeitern an vielen Beispielen gezeigt*. On conviendra que, pour ma part, je ne puis guère souscrire à cette assertion de BROCKMANN.

Note 4

On a vu (p. 54) que, contrairement à ce qu'avait catégoriquement affirmé WILLSTAETTER en 1928 (cité par R. KUHN u. LEDERER, 1931), la méthode de TSWETT est parfaitement utilisable pour obtenir des « préparations » [2]. Dans ce but, on s'est presque toujours servi, depuis une dizaine d'années, pour contenir la colonne adsorbante, de tubes relativement larges, d'après les indications

---

[1] *Das* Astacin *stellt vermutlich überall nur ein* Kunstprodukt *dar.* (KUHN et SÖRENSEN, 1938 a).

[2] Il est assez embarrassant de dire ce qu'il faut entendre, au juste, par ce mot. On semble ne vouloir considérer comme « préparation » que le produit isolé à l'état solide (à partir de quel poids, en grammes ou milligrammes ?). Personnellement, nous ne procédions pas (pour des raisons que nous considérons encore comme valables) à l'évaporation des solutions de chlorophylles obtenues par élution ; mais les liqueurs contenant le carotène (foliaire) étaient réunies puis évaporées, nous fournissant donc une « préparation » que nous avons utilisée pour diverses recherches (incomplètement publiées), notamment pour l'étude de la fluorescence verdâtre du carotène, que nous avons signalée (décembre 1913) bien avant K. W. HAUSER.

données par WINTERSTEIN. Le cas inverse s'est présenté. TSWETT, dès 1910, avait prévu l'emploi exceptionnel de tubes n'ayant plus que 2 mm. de diamètre ; il avait ainsi véritablement préludé à la « microchromatographie » : celle-ci a été développée récemment par BECKER et SCHÖPF ainsi que par WILLSTAEDT.

Bien d'autres modifications ont été apportées à la méthode de TSWETT, notamment pour l'adapter à des cas spéciaux : elles ne peuvent être décrites ici [1].

Note 5

Le livre, devenu classique, de ZECHMEISTER et V. CHOLNOKY, a été traduit en anglais (1941) sous le titre suivant : Principles and Practice of Chromatology.

HAROLD H. STRAIN a, de son côté, publié un livre (1941) intitulé : Chromatographic Adsorption Analysis.

En langue française, on possède l'excellent livre de H. WILLSTAEDT (1938).

Comme articles d'ensemble, il faut au moins citer (parmi beaucoup d'autres) ceux de A. WINTERSTEIN (1933 et 1938), E. LEDERER (1935), W. KOPACZEWSKI (1939), H. BROCKMANN (1940).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Tswett et les « Prix Nobel » de chimie

Si nous voulons enfin fixer d'une façon irréfragable la place que le botaniste TSWETT occupe aujourd'hui, en chimie, par ses découvertes dans le domaine de l'adsorption (1903-1910), faisons appel aux princes de la science contemporaine : les lauréats du Prix NOBEL de chimie.

---

[1] Une exception est justifiée pour les remarquables recherches que poursuit TISELIUS dans l'Institut de THE SVEDBERG à UPSALA. TISELIUS m'écrit (juin 1943) : *Meine eigenen Arbeiten auf dem Gebiet der Adsorptionsanalyse haben zum Zweck eine Verfeinerung und eine quantitative Gestaltung der* TSWETT'*schen Methode... Wir arbeiten nach dem Prinzip des* flüssigen Chromatogrammes. *Die Lösung fliesst direkt von der Adsorptionssäule in ein Mikrointerferometer, wo die Konzentration kontinuerlich registriert wird. Dadurch bekommt man eine genaue Vorstellung über die Separationsprozesse in der Säule. Wir unterscheiden dabei Frontalanalysen (Analysen der Adsorptionsfront), Elutionsanalysen und Verdrängungsanalysen.*

Tout au début de son discours (NOBEL-Vortrag, 1937), P. KARRER a dit : *Methodische Fortschritte, die aus der modernen Biochemie nicht mehr weggedacht werden können, sind die auswählenden Adsorptionsverfahren* (WILLSTAETTER), *die Scheidung durch die Ultrazentrifuge von* SVEDBERG *und die chromatographische Analyse nach* TSWETT, *mit denen es heute gelingt, Substanzgemische zu trennen, die früher unentwirrbar gewesen waren. Insbesondere die chromatographische Analyse ..... wirkt in ähnlich vollkommener Weise wie ein Prisma, das das weisse Licht in die einzelnen Spektralfarben aufteilt.*

De son côté, L. RUZICKA (lauréat de l'année 1939) a dit : *Wir haben gerade bei den Arbeiten der letzten Zeit auf dem Polyterpen- und Steroid-Gebiet die hervorragenden Dienste der chromatographischen Methode für die völlige Reinung und Trennung von Abbauprodukten kennen gelernt.*

A. BUTENANDT, dont les admirables recherches sur la chimie des hormones sexuelles ont été jugées dignes du même Prix, m'écrivait récemment : *Die Chromatographie ... findet auch in meinem Institut* (Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie, BERLIN-DAHLEM) *eine grosse Anwendung, und die Methode ist uns ganz unentbehrlich geworden.*

A ces noms illustres, il faut ajouter — dans ce concert de louanges exprimant des constatations personnelles — presque tous ceux des chimistes ayant obtenu le Prix NOBEL pour des recherches qui, par leur nature, permettent l'application de la méthode de TSWETT [1] : H. VON EULER, HANS FISCHER, RICHARD KUHN, H. WIELAND et A. WINDAUS.

---

[1] Seul, WILLSTAETTER fait probablement exception. Sans revenir sur ce qui a été dit au sujet des pigments chlorophylliens, faisons remarquer que, dans ses recherches sur les pigments *anthocyaniques* (commencées en 1912), WILLSTAETTER (qui, bien après TSWETT, a utilisé l'adsorption pour l'analyse) n'aurait pas décrit comme des individus chimiques certains mélanges pigmentaires (cas de l'althéine, par exemple), s'il avait contrôlé la pureté de ses produits par l'analyse chromatographique.

BIBLIOGRAPHIE

Pour ne pas allonger outre mesure cet index bibliographique, on a renoncé à y faire figurer certains travaux qui n'ont été mentionnés qu'incidemment.

ANSON, M. L. 1941. On Lubimenko extracts of chlorophyll-protein. *Science* XCIII : 186-187.

BRIQUET, J. 1940. Biographies des Botanistes à Genève. *Bull. Soc. bot. suisse* La : I-IX et 1-494.

BROCKMANN, H. 1939. Die Chemie der antirachitischen Vitamine. *Ergebn. Vitamin- u. Hormonforschung* II : 55-103.

— 1940. Die chromatographische Adsorption. *Angew. Chemie* LIII : 384-390.

BUTENANDT, A. u. MÜLLER, G. 1938. Ueber Pregnalon. *Ber. deutsch. chem. Ges.* LXXI : 191-197.

— u. DANNENBERG, H. 1940. Ueber das wahre Androsten, etc. *l.c.* LXXIII : 206-208.

CAMPBELL-GAMBLE, D. J. 1940. Chromatographic Analysis (Correspondence). *Chemistry and Industry* LIX : 598.

CASSIDY, H. G. and WOOD, S. E. 1941. Chromatography of solutions containing a single solute. *Journ. amer. chem. Soc.* LXIII : 2628-2630.

DHÉRÉ, C. 1914. Détermination photographique des spectres de fluorescence des pigments chlorophylliens. *C.R. Acad. Sc. Paris* CLVIII : 64-66. (Communication faite dans la séance du 29 décembre 1913).

— et SOBOLEWSKI, S. 1911. Sur quelques propriétés de l'hématoporphyrine. *C.R. Soc. Biol. Paris* LXX : 511-513.

— et ROGOWSKI, W. DE. 1912. Sur l'absorption des rayons violets et ultraviolets par les chlorophylles *a* et *b* et par la chlorophylle cristallisée. *C.R. Acad. Sc. Paris* CLV : 653-656.

— et RYNCKI, L. 1913. Sur l'absorption des rayons visibles et ultraviolets par les pigments carotinoïdes. *l.c.* CLVII : 501-503.

— et VEGEZZI, G. 1916. Sur la composition pigmentaire de l'hépatochlorophylle. *l.c.* CLXIII : 399-401.

DHÉRÉ, C. et FONTAINE, M. 1931. Recherches sur la fluorescence des Algues et de leurs constituants pigmentaires. *Annales Inst. océanogr.* X : 245-280 (tab. I-IV).

— et BACHRACH, E. 1931. Sur la fluorescence d'une Diatomée marine et sur le spectre de fluorescence de ses pigments chlorophylliens. *C.R. Soc. Biol. Paris* CVIII : 385-387.

— et BIERMACHER, O. 1936. Sur la purification et sur le spectre de fluorescence de la chlorophylle *b*. *l.c.* CXXII : 591-593.

EGLE, K. 1939. Ueber die Gültigkeit der Kundt'schen Regel bei Chlorophyllspektren. *Sitzungsber. Heidelberg. Akad. Wiss.* Jahrg. 1939 : 19-29.

SCHER, H. 1909. Zur Kenntnis des Carotins und des Lycopins. Dissert. Zürich (E.T.H.) : 1-104. 1. tab.

EULER, H. v. u. GARD, U. 1931. Adsorptionsversuche an Carotinoiden. *Ark. Kemi.* etc. Abt. B. X, 19 : 1-6.

— u. SCHLENK, F. 1936. Zusammensetzung des Co-Zymasemoleküls. *Svensk. kem. Tidskr.* XLVIII : 135-137.

FISCHER, H. u. STERN, A. 1940. Die Chemie des Pyrrols. II, 2. Hälfte, Die Chemie der Chlorophylle. *Akad. Verlagsges. Leipzig.* I-VI et 1-478 (tab. 1-3). Pour les applications de l'analyse chromatographique aux porphyrines, voir p. 327.

FISHMAN, M. and MOYER, L. S. 1942. The chlorophyll-protein complex. Electrophoretic properties. *Journ. gen. Physiol.* XXV : 755-764.

FRENCH, C. S. 1940. The pigment-protein compound in photosynthetic bacteria. *l.c.* XXIII : 469-481 ; 483-494.

HANSON, E. H. 1939. Some properties of the chlorophyll in relation to its biological function. *Recueil Trav. bot. néerl.* XXXVI : 180-267.

HEILBRON, I. M. and PHIPERS, R. F. 1935. The Algae. I. The lipochromes of Fucus vesiculosus. *Biochem. Journ.* XXIX : 1369-1373.

HESSE, G. 1936. Die chromatographische Analyse und ihre Anwendung. *Angew. Chemie* XLIX : 315-320.

— u. TSCHACHOTIN, B. 1942. Adsorptionsanalyse von Gasen und Dämpfen. *Die Naturw.* XXX : 387-392.

KARRER, P. 1937. Carotinoide, Flavine und Vitamine A und B2. Nobel-Vortrag. Les Prix Nobel en 1937. Imprimerie royale, Stockholm : 1-6.

— 1939. Zur Frage der Reinheit und Wirkungsstärke von Vitamin-A-Präparaten. *Helv. chim. Acta* XXII : 1149-1150.

KARRER, P. und SCHÖPP, K. 1932. Trennung von Vitamin A, Carotin und Xanthophyllen. *l.c.* XV : 745.

— u. WALKER, O. 1933. Pflanzenfarbstoffe (51. Mitteil.) Reines α-Carotin. *l.c.* XVI : 641-643.

— — 1934. Untersuchungen über die herbstlichen Färbungen der Blätter. *l.c.* XVII : 43-54

— u. SCHLIENTZ W. 1934. Zum Vorkommen von α- und β-Carotin in verschiedenen Naturprodukten. *l.c.* XVII : 7-8.

— u. WEBER, H. M. 1936. Zerlegung natürlicher Anthocyangemische durch chromatographische Adsorptionsanalyse II. Ueber « Althaein ». *l.c.* XIX : 1025-1027.

— u. WÜRGLER, E. 1943. Absorptionsspektren einiger Carotinoide. *l.c.* XXVI : 116-121.

KOHL, F. G. 1902. Untersuchungen über das Carotin und seine physiologische Bedeutung in der Pflanze. Borntraeger, Leipzig : I-VIII et 1-206 (2 fig. et 3 tab.).

— 1906. Kohlensäure-Assimilation und Chlorophyllfunktion. *Ber. deutsch. bot. Ges.* (Generalvers. Marburg) XXIV : (39-54).

KOPACZEWSKI, W. 1939. Analyse chromatographique. *Bull. Sc. pharmacol.* XLVI : 455-461.

KUHN, R. u. LEDERER, E. 1931. Zerlegung des Carotins in seine Komponenten. *Ber. deutsch. chem. Ges.* LXIV : 1349-1357.

— u. LEDERER, E. 1933. Ueber die Farbstoffe des Hummers und ihre Stammsubstanz, das Astacin. *Ber. deutsch. chem. Ges.* LXVI : 488-495.

— LEDERER, E. u. WINTERSTEIN, A. 1931. Zur Kenntnis der Xanthophylle. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* CXCVII : 141-160.

— — u. DEUTSCH, A. 1933. Astacin aus den Eiern der Seespinne (Maja squinado). *l.c.* CCXX : 229-234.

— u. SÖRENSEN, N. A. 1938. Ueber Astaxanthin und Ovoverdin *Ber. deutsch. chem. Ges.* LXXI : 1879-1888.

— — 1938 a. Ueber die Farbstoffe des Hummers. *Angew. Chem.* LI : 465-466.

— STENE, J. u. SÖRENSEN, N.-A. 1939. Ueber die Verbreitung des Astaxanthins im Tier- und Pflanzenreich. *Ber. deutsch. chem. Ges.* LXXII : 1688-1701.

— u. BIELIG, H. J. 1940. Ueber Invertseifen I : die Einwirkung von Invertseifen auf Eiweiss-Stoffe. *l.c.* LXXIII : 1080-1091.

LAPICQUE, L. et GILARDONI, H. 1900. Sur la teneur en fer de l'hémoglobine de Cheval. *C.R. Acad. Sc. Paris* CXXX : 1333-1335.

LEDERER, E. 1934. Les Caroténoïdes des Plantes. Herman, Paris : 1-83.

— 1935. L'adsorption chromatographique et ses applications. *Chimie et Industrie* XXXIII : 1072-1078.

— 1938. Recherches sur les Caroténoïdes des Animaux inférieurs et des Cryptogames. Dissert. Fac. Sc. Paris : 1-93.

LIEBALDT, E. 1913. Ueber die Wirkung wässeriger Lösungen oberflächenaktiver Substanzen auf die Chlorophyllkörner. *Zeitschr. f. Bot.* V : 65-113. 1 tab.

LUBIMENKO, V. 1921. De l'état de la chlorophylle dans les plantes. *C.R. Acad. Sc. Paris* CLXXIII : 365-367.

— 1926 et 1927. Recherches sur les pigments des plantes et sur la photosynthèse. *Revue gén. Bot.* XXXVIII : 307-328 ; 380-400 ; XXXIX : 547-559 ; 619-637 ; 698-710 ; 758-766 (14 fig.).

MACKINNEY, G. 1940. Criteria for purity of chlorophyll preparations. *Journ. biol. Chem.* CXXXII : 91-109.

MCNICHOLAS, H. J. 1933. The visible and ultraviolet absorption spectra of carotin and xanthophyll and the changes accompanying oxidation. *Bur. Standards, Journ. Research* VII : 171-193.

MARCHLEWSKI, L. 1907. Zur Chemie des Chlorophylls. *Biochem. Zeitschr.* V : 344-345.

MENKE, W. 1939. Untersuchungen über das Protoplasma grüner Pflanzenzellen, II. Der Chlorophyllgehalt der Chloroplasten aus Spinatblättern. *Zeitschr. physiol. Chem.* CCLXIII : 100-103.

— 1940. Ueber den Zustand der Carotinoide in den Plasten. *Die Naturw.* XXVIII : 31.

MEYER, K. H. 1940 (Meyer-Mark). Die Hochpolymeren Verbindungen. II. Akad. Verlagsges., Leipzig : 1-xx et 1-679. (1 tab., 180 fig.).

MEYER, K. P. 1939. Spektrophotometrische Untersuchungen des Chlorophylls in der Pflanze, in Extrakten und Reinpräparaten. *Helv. phys. Acta* XII : 349-393.

MÜLLER, P. B. 1942. Methode zur Standardisierung der Aktivität von Aluminiumoxyd. *C.R. Soc. Physiol. suisses*, séance du 27 juin 1942 : 29-31.

REINKE, J. 1883. Die optischen Eigenschaften der grünen Gewebe und ihre Beziehungen zur Assimilation des Kohlenstoffs. *Ber. deutsch. bot. Ges.* I : 395-425.

— 1884. Die Fluorescenz des Chlorophylls in den Blättern. *l.c.* II : 265-268.

ROGOWSKI, W. DE. 1912. Recherches sur les spectres d'absorption ultraviolets et sur les spectres d'émission par fluorescence des pigments chlorophylliens. Dissert. Fac. Sc. Fribourg (Suisse) : 1-80 (fig. 1-9).

ROSENTHALER, L. 1940 Referat : P. Karrer, Zur Frage der Reinheit und Wirkungsstärke von Vitamin-A-Präparaten. *Zeitschr. f. Vitaminforschung* X : 94.

ROWINSKI, P. 1942. Su la natura chimica della cloroplastina. *Atti Accad. Sc. Torino.* LXXVII : 282-289.

RUZICKA, L. u. REY, E. 1942. Zur Kenntnis der Triterpene. (64. Mitteil.). *Helv. chim. Acta* XXV : 171-179.

SANZ, G. 1943. Das Chromatogramm des Vitachroms und seine Isolierung. *Helv. Physiol. Acta* I : *C* 7-8.

SEYBOLD, A. 1940. Zur Physiologie des Chlorophylls. *Sitzungsber. Heidelberg. Akad. Wiss.* Jahrg. 1940 (8. Abhandl.) : 1-20.

— 1941. Ueber die physiologische Bedeutung der Chlorophyllkomponenten *a* und *b*. *Bot. Arch.* XLII : 254-288.

— 1942. Einige Probleme der Chlorophyll-Physiologie. *Scientia* XXXVI : 19-23.

— u. EGLE, K. 1938. Zur chromatographischen Methode der Blattpigmente. *Planta* XXIX : 114-118.

— — 1940. Ueber den physikalischen Zustand des Chlorophylls in den Plastiden. *Bot. Arch.* XLI : 578-603.

SMITH, E. L. 1940. Chlorophyll as the prosthetic group in the green leaf. *Science* XCI : 199-200.

— 1941. The chlorophyll-protein compound in the green leaf. *Journ. gen. Physiol.* XXIV : 565-582 ; 583-596 ; 753-764.

SPOEHR, H. A., SMITH, J. H. C., STRAIN, H. H. and MILNER, H. W. 1941. Biochemical Investigations. (The state of pigments in leaves). *Carnegie Inst. Washington, Year Book* XL : 151-157.

SPOHN, H. 1935. Eine einfache Methode zur Trennung der Blattfarbstoffe. *Planta* XXIII : 657-661.

STOLL, A. 1936. Zusammenhänge zwischen der Chemie des Chlorophylls und seiner Funktion in der Photosynthese. *Die Naturw.* XXIV : 53-59 (4 fig.).

— u. WIEDEMANN, E. 1938. Chlorophyll. *Fortschritte der Chemie organ. Naturstoffe* I : 158-254.

— — 1939. Ueber Chloroplastin. *Atti X° Congresso intern. Chimica* V : 206-213.

— — u. RÜEGGER, A. 1941. Zur Kenntnis des Chloroplastins. *Verhandl. schweiz. Naturf. Ges.* CXXI : 125-126.

STRAIN, H. H. 1938. Leaf Xanthophylls. *Carnegie Inst. Washington Publ.* 490 : I-IX et 1-147. 1 tab. col., 23 fig.

— 1941. Chromatographic Adsorption Analysis. Interscience Publishers, New York : 1-322, 37 fig., 1 tab.

STRAUS, W. 1942. Ueber Chromatophoren. Reinigung und Analyse der Farbstoffträger aus Mohrrüben und Spinatblättern. *Helv. chim. Acta* XXV : 179-188.

SVANHOF, K. u. DAM, H. 1941. Die Bestimmung von Carotin in Pflanzen. *Zeitschr. f. Vitaminforschung* XI : 361-372.

TISELIUS, A. 1943. Displacement Development in Adsorption Analysis. *Ark. Kemi,* etc. XVI A, 18 : 1-11, 5 fig.

— and CLAESSON, S. 1942. Adsorption Analysis by interferometric observation. *l.c.* XV B, 18 : 1-6 (6 fig.).

TSCHIRCH, A. 1904. Vergleichend-spektralanalytische Untersuchungen der natürlichen und künstlichen gelben Farbstoffe mit Hilfe des Quarzspektrographen. *Ber. deutsch. bot. Ges.* XXII : 414-439.

TSWETT, M. 1896. Etudes de physiologie cellulaire. Contributions à la connaissance des mouvements du protoplasme, des membranes plasmiques et des chloroplastes. Dissert. Fac. Sc. Genève : 1-84, 1 tab.
Bull. Lab. Bot. gén. Univ. Genève I : 125-206, tab. IV.
Arch. Sc. phys. nat. Genève, 4. pér., II : 228-260, 339-348, 467-486.

— 1898. Hémoglobine et chlorophylle. *Bull. Lab. biol. St. Pétersbourg* (en russe).

— 1899. Ueber die Verknüpfung des äusseren und des inneren Leptoms der Solanaceen durch markständige Leptombündel. *Ber. deutsch. bot. Ges.* XVII : 231-235.

— 1899 a. Sur la constitution de la matière colorante des feuilles. La chloroglobine. *C.R. Acad. Sc. Paris* CXXIX : 607-610.

TSWETT, M. 1900. Das Chloroglobin. *Bot. Centralbl.* LXXXI : 81-87.

— 1900 a. Sur la chloroglobine. *Trav. Soc. Natur. St. Pétersbourg* (en russe). XXX : 1-10 (Résumé en français).

— 1900 b. Chlorophyllines et métachlorophyllines. *l.c.* (en russe).

— 1900 c. Sur la constitution de la chloroglobine. (Réfutation de la critique de Monteverde). *l.c.* (en russe). XXXI : 1-8. (Résumé en fronçais).

— 1900 d. Sur la chlorophylline bleue. *C.R. Acad. Sc. Paris* CXXXI : 842-844.

— 1901. Sur la pluralité des chlorophyllines. *l.c.* CXXXII : 149-150.

— 1901 a. Recherches sur la constitution physico-chimique du grain de chlorophylle. *Trav. Soc. nat. Univ. Kazan* XXXV. (en russe) : 1-268 (1 tab.).

— 1902. Investigation physiologique de la chlorophylle. *Trav. Soc. Nat. St. Pétersbourg* (en russe).

— 1902 a (Analyse de sa Thèse de Kazan). *Bot. Centralbl.* LXXXIX : 120-123.

— 1903. Ueber eine neue Kategorie von Adsorptionserscheinungen und ihre Anwendung in der biochemischen Analyse. *Arb. naturf. Ges. Warschau* XIV.

— 1906. Zur Kenntnis der Phaeophyceenfarbstoffe. *Ber. deutsch. bot. Ges.* XXIV : 235-244.

— 1906 a. Physikalisch-chemische Studien über das Chlorophyll. Die Adsorptionen. *l.c.* XXIV : 316-323.

— 1906 b. Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls. *l.c.* XXIV : 384-393 (1 tab.).

— 1907. Zur Chemie des Chlorophylls. Ueber Phylloxanthin, Phyllocyanin und die Chlorophyllane. *Biochem. Zeitschr.* V : 6-32.

— 1907 a. Zur Geschichte der Chlorophyllforschung. (Antwort an Herrn Marchlewski). *Ber. deutsch. bot. Ges.* XXV : 71-74.

— 1907 b. Spektralanalytische Untersuchungen über die Chlorophylline und deren nächste Säurederivate (Chlorophyllane). *l.c.* XXV : 137-150, tab. III.

— 1907 c. Ueber die Spektrophorie der Chlorophylline und die Energetik des Chlorophylls. *l.c.* XXV : 388-398.

TSWETT, M. 1907 d. Nochmals über Phylloxanthin. *Biochem. Zeitschr.* VI : 373-378.

— 1908. Ueber die Verfärbung und die Entleerung des abster. benden Laubes. *Ber. deutsch. bot. Ges.* XXVI A : 88-93-

— 1908 a. Ueber das Pigment des herbstlich vergilbten Laubes. *l.c.* XXVI A : 94-100.

— 1908 b. Ueber das Phaeophytin und die Chlorophyllane nebst Schlussbemerkungen über das Phylloxanthin. *Biochem. Zeitschr.* X : 404-413.

— 1908 c. Ueber die Natur des sogenannten « Krystallisierbaren Chlorophylls » (Metachlorophyllins). *l.c.* X : 414-425.

— 1908 d. Das neue System der sogenannten Chlorophyllderivate. *l.c.* X : 426-429.

— 1908 e. La substance chimique verte nommée chlorophylle existe-t-elle ? *Rev. gén. Bot.* XX : 328-332.

— 1910. Les chromophylles dans les mondes végétal et animal. 1-380, tab. 1-5. Karlassiakoff, Varsovie (en russe).

— 1910 a. Das sogenannte « Kristallisierte Chlorophyll » ein Gemisch. *Ber. deutsch. chem. Ges.* XLIII : 3139-3141.

— 1910 b. Analyse par adsorption de la chlorophylle dite « crystallisée ». *Journ. Soc. physico-chim. russe,* XLII : 1385-1387 (en russe).

— 1911. Ueber die Dualität der Chlorophyllane. *Biochem. Zeitschr.* XXXI : 505-506.

— 1911 a. Sur une nouvelle matière colorante végétale, la thuyorhodine. *C.R. Acad. Sc. Paris* CLII : 788-789.

— 1911 b. Ueber die Löslichkeitsverhältnisse der Chlorophylline und eine neue Methode zur Isolierung derselben. *Ber. deutsch. chem. Ges.* XLIV : 1124-1127.

— 1911 c. Ueber den macro- und microchemischen Nachweis des Carotins. *Ber. deutsch. bot. Ges.* XXIX : 630-636.

— 1912. L'état actuel de nos connaissances sur la chimie de la chlorophylle. Conférence faite au Congrès Mendéléieff à St-Pétersbourg. *Journ. Soc. chim russe* 1912 (en russe).

— 1912 a. L'état actuel de nos connaissances sur la chimie de la chlorophylle. *Rev. gén. Sc. pures et appl.* XXIII : 141-148. (Conférence faite au Congrès Mendéléieff à St-Pétersbourg).

VEGEZZI, G. 1916. Recherches sur quelques pigments des Invertébrés : Hélicorubine, Hépatochlorophylle, Tétronérythrine. Dissert. Fac. Sc. Fribourg (Suisse) : 1-110, 2 fig. hors-texte.

VERNE, J. 1921. Les pigments tégumentaires des Crustacés décapodes. Dissert. Fac. Sc. Paris : 1-199 ; 2 tab.

— 1926. Les pigments dans l'organisme animal : I-XV et 1-503, 32 fig., Doin, Paris.

— 1930. Couleurs et pigments des êtres vivants. 1-219, 26 fig., Colin, Paris.

WILLSTAEDT, H. 1934. Carotinoide, Bakterien- und Pilzfarbstoffe. 1-119. Enke, Stuttgart.

— 1938. L'analyse chromatographique et ses applications. 1-108, 8 fig. Hermann, Paris.

WILLSTAETTER, R. 1911. Pflanzenfarbstoffe. A.Chlorophyll. *Biochem. Handlexikon* VI : 1-21. Springer, Berlin.

— 1924. Die Blattfarbstoffe. *Abderhalden's Handb. biol. Arbeitsmeth.* Lief. 117 :. Abt. I, Teil 11,1 : 1-70. Urban u. Schwarzenberg, Berlin.

— 1928. Untersuchungen über Enzyme. I : I-XVI et 1-860. Springer, Berlin.

— u. BENZ, M. 1908. Ueber krystallisirtes Chlorophyll. *Liebig's Ann. der Chem.* CCCLVIII : 267-287.

— HOCHEDER, F. u. HUG, E. 1909. Vergleichende Untersuchung des Chlorophylls verschiedener Pflanzen. *l.c.* CCCLXXI : 1-32.

— u. STOLL, A. 1911. Ueber Chlorophyllase. *l.c.* CCCLXXVIII : 18-72.

— — 1912. Untersuchungen über Chlorophyll (XIX). Ueber die Chlorophyllide. *l.c.* CCCLXXVII : 317-386.

— — 1913. Untersuchungen über Chlorophyll. Methoden und Ergebnisse. I-VIII et 1-424, 11 tab., 16 fig. Springer, Berlin.

— — 1918. Untersuchungen über die Assimilation der Kohlensäure. I-IV et 1-440, 1 tab., 16 fig. Springer, Berlin.

— u. ROHDEWALD, M. 1934. Zur Kenntnis der Proteinbindung physiologisch wichtiger Stoffe. *Zeitschr. physiol. Chem.* CCXXV : 103-124.

WILSON, J. N. 1940. A theory of chromatography. *Journ. Amer. chem. Soc.* LXII : 1583-1591.

WINTERSTEIN, A. 1933. Fraktionierung und Reindarstellung von Pflanzenfarbstoffen nach dem Prinzip der chromatographischen Adsorptionsanalyse. *Klein's Handb. Pflanzenanalyse* IV : 1403-1437. Springer, Wien.

— 1938. Fraktionierung und Reindarstellung organischer Substanzen nach dem Prinzip der Tswettschen Adsorptionsmethode. *Abderhalden's Handb. biol. Arbeitsmeth.*, Lief. 467 : 1393-1473 (Abt. V; Teil 10,2). Urban u. Schwarzenberg, Berlin.

— u. STEIN, G. 1933. Fraktionierung und Reindarstellung organischer Substanzen nach dem Prinzip der chromatographischen Adsorptionsanalyse. I. Mitt. : Anwendungsbereich. *Zeitschr. physiol. Chem.* CCXX : 247-263.

— — 1933. (même titre général). II. Mitt. : Chlorophylle. *l.c.* CCXX : 263-277.

— u. SCHÖN, K. 1934. (même titre général). IV. Mitt. : Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe. *l.c.* CCXXX : 146-158.

ZECHMEISTER, L. 1934. Carotinoide : I-VI et 1-338. 85 fig. Springer, Wien.

— u. CHOLNOKY, L. v. 1934. Untersuchungen über den Paprika-Farbstoff, VII. Adsorptionsanalyse des Pigments. *Liebigs Ann. d. Chem.* DIX : 269-287.

— — 1936. Dreissig Jahre Chromatographie. *Wiener Akademie-Berichte*, Abt. II b, CVL : 288-300.

— — 1937. Die chromatographische Adsorptionsmethode. I-VI et 1-231, 45 fig. Springer, Wien.

— — 1938. Même ouvrage en deuxième édition : I-XIII et 1-354, 74 fig.

— — 1941. Même ouvrage en traduction anglaise : Principles and Practice of Chromatology : 1-362. Wiley, New York.