

Der Nachweis von Phytochromogenen mit Hilfe der EM-Reaktion : zugleich ein Beitrag über die Oxydationssysteme der Pflanze

Autor(en): **Müller, Arno**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Berichte der Schweizerischen Botanischen Gesellschaft = Bulletin de la Société Botanique Suisse**

Band (Jahr): **54 (1944)**

PDF erstellt am: **21.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-38531>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Der Nachweis von Phytochromogenen mit Hilfe der EM-Reaktion.

Zugleich ein Beitrag über die Oxydationssysteme der Pflanze.

Von *Arno Müller*, Genf.

Eingegangen am 25. Oktober 1944.

Im Jahre 1938 wurde von mir zum Nachweis von *Terpenchromogenen* die sogenannte «EM-Reaktion» eingeführt (1). Das hierfür erforderliche Reagens setzt sich wie folgt zusammen :

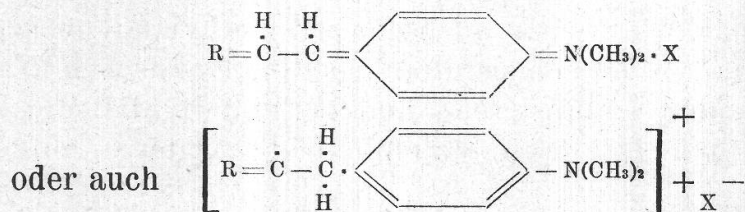
Lösung A : 10 g H₃PO₄ (D₁₅⁰ = 1,76) + 90 g Eisessig.

Lösung B : 5 g p-Dimethylaminobenzaldehyd + 95 g Eisessig.

Werden 0,1—0,5 g Substanz in 5 ccm Eisessig gelöst und je 1 ccm der Lösungen A und B hinzugefügt, so treten nach längstens 48 Stunden Färbungen auf, die besonders für Verbindungen des *Azulenogen-* bzw. *Bisabolen-*Typus charakteristisch sind.

Wichtig ist auch die Anwendung der Reaktion geworden zur Unterscheidung von *Jononen* der α- und β-Reihe, wobei nur die letzteren Verbindungen Farbsalze zu bilden vermögen.

Diese Farbstoffe besitzen schematisch folgende Konstitution :



R = Rest des Terpenchromogens, X = Säurerest.

Nach den gemachten Erfahrungen war es nun naheliegend, daß sich auch Chromogene der Pflanzenfarbstoffe mit diesem Reagens nachweisen lassen sollten. Zu diesem Zweck wurden zunächst ohne besondere Auswahl Blätter, Blüten und grüne Früchte verschiedener Pflanzen auf ihr Verhalten gegen das «EM-Reagens» untersucht. — Es stellte sich dabei bald heraus, daß in zahlreichen Pflanzen ein Chromogen vorhanden ist, welches mit dem genannten Reagens eine schön rotorange-violettstichige Färbung gibt.

Gewöhnlich wird hierbei in den Blättern der Farbstoff fixiert; bei durchschnittenen Früchten geht er zum Teil in Lösung. Man führt am

besten die Reaktion so aus, daß man einen Teil des Blattes oder die *zerschnittenen* Früchte in ein Reagenrohr bringt, diese mit der erforderlichen Menge Eisessig ganz oder teilweise (etwa 5—10 ccm) übergießt und je 1—2 ccm der EM-Lösungen A und B zugibt.

Man läßt das Ganze unter öfterem Umschütteln bis zu 48 Stunden einwirken. Zuerst wird mehr oder weniger schnell das Chlorophyll zum schmutziggelbgrünen *Phäophytin* zersetzt und gewöhnlich zum größten Teil aus dem Pflanzenstoff herausgelöst. Erst dann kann man am besten die Bildung des neuen Farbstoffes beobachten.

Bei wasserreichen Früchten schneidet man nur kleinere Pflanzenstücke heraus, damit kein Überschuß an Wasser die Schärfe der Reaktion durch Hydrolyse beeinflussen kann. Auch kleinere Früchte müssen zerschnitten und die Blätter immer angerissen werden, da zuweilen das Reagens nur unvollständig hineindiffundiert. Bei Blättern zeigen sich in solchen Fällen dann immer nur die Reißstellen farbig.

Bei der Untersuchung von *Blüten* wird das Verfahren etwas abgeändert: Man trägt das Blütenmaterial in Eisessig ein und setzt die erforderliche Menge Phosphorsäure hinzu. Schon nach etwa 15 Minuten werden bei sonst weiß erscheinenden Blüten Spuren von *Anthocyanen*, sofern sie in Form farbloser Pseudobasen vorhanden sind, durch ihre stärker farbigen und löslichen Salze sichtbar gemacht.

Liegen *gelbe Blüten* vor, so kann es sich um *Carotinoide* bzw. *Flavon-* und *Chalkon-*Farbstoffe handeln. Erstere geben nach meinen Beobachtungen unter den genannten Bedingungen nach einigen Stunden eine deutliche Grünfärbung, die bei vorherigem Zusatz der Lösung B und bei Abwesenheit anderer Farbstoffe stabilisiert werden können. Wie ich schon früher (2) nachwies, wirkt auch der p-Dimethylaminobenzaldehyd auf gewisse oxydative Zwischenstufen der Gmelinschen Nachweisreaktion von Bilirubin stabilisierend und verhindert, daß die farbigen Bilirubinoide zu den farblosen Maleiminiden oxydativ aufgespalten werden.

Ein starker Gehalt an Anthocyanen, wobei die Bildung orangeroter Salze eintritt, macht naturgemäß die Beobachtung schwieriger. Immerhin kann man in diesen Fällen versuchen, die *Anthocyanidin-*Salze vorher mit Essigsäure auszuwaschen.

Manche Blüten, wie die von *Hypericum polyphyllum*, enthalten von dem reagierenden *Chromogen* soviel, daß der gelbe Farbstoff völlig von dem schön rotvioletten Farbstoff überdeckt wird.

Das « EM-Reagens » ist also in verschiedener Hinsicht wertvoll, denn es ermöglicht unabhängig voneinander den Nachweis von *Carotinoiden*, *Anthocyanen* und *spezifischen Chromogenen*. Dabei wird in wasserarmer Lösung gearbeitet, wobei die Essigsäure für die bei Gegenwart von Wasser gebildeten Hydroxoniumionen als Puffer wirkt (3).

Unter diesen Bedingungen dürfte auch zum größten Teil die *Glukosidbindung* der Chromogene oder der Chromoverbindungen aufgespalten werden.

Für Demonstrationszwecke und für das weitere Studium dieser Reaktion möchte ich besonders die jungen (gelbgrünen) Blätter von *Robinia Pseudacacia* L. und *Ginkgo biloba* empfehlen. Zu diesem Zweck bringt man die frisch gepflückten Blätter vorher in 96prozentigen Alkohol, wobei über Nacht das Chlorophyll und die Carotinoide ohne Schwierigkeiten herausgelöst werden. Danach spült man die jetzt gelblich weiß erscheinenden Blätter (im folgenden kurz «aktive» Blätter genannt) mit Alkohol ab, läßt einen Augenblick an der Luft trocknen und behandelt sie mit dem EM-Reagens.

Schon nach 15 Minuten ist für gewöhnlich das ganze Blatt prachtvoll rotviolett gefärbt. Diese Erscheinung ist so frappant, besonders bei jungen Blättern von *Ginkgo biloba*, daß man glaubt, jetzt ein farbiges Blütenblatt vor sich zu haben.

Der gebildete Farbstoff läßt sich weder mit Chloroform noch mit Isoamylalkohol herauslösen; von Eisessig werden nur Spuren davon aufgenommen.

Bei älteren Blättern von *Ginkgo biloba* war die Entfernung des Chlorophylls mit Alkohol weitaus schwieriger; auch die EM-Reaktion war stark abgeschwächt und verzögert.

Werden die «aktiven» Blätter von *Robinia Pseudacacia* 10 Minuten in kochendes Wasser gebracht, so ist keine Verminderung der EM-Reaktion erkennbar.

Mit alkoholischer Ammoniaklösung färben sie sich nach kurzer Zeit dunkel, und zwar zuerst gelbbraun, dann fast schmutziggelb bis schwarz. Solche auf diese Art behandelten Blätter geben keine EM-Reaktion mehr. Das beweist, daß das Chromogen im alkalischen Medium durch den Luftsauerstoff leicht verändert wird, und zwar unter wahrscheinlicher Chinonbildung. — Mit einer Auflösung von *p-Chinon* in Eisessig war nach 12 Stunden das Blatt rotbraun geworden.

Aber auch in alkoholischer Chlorophylllösung, wie sie sich bei der Behandlung der ursprünglichen Blätter ergibt, verlieren sie merklich ihre «Aktivität» gegenüber dem EM-Reagens. Man sieht es ihnen auch schon rein äußerlich an, daß sie eine Veränderung erlitten haben, denn sie haben jetzt mehr eine graue Farbe angenommen.

Von weiteren Teilen der *Robinia* geben die Blüten, sehr stark die Triebe, aber auch die bis auf Orangegelb ausgebleichten Blätter, eine ausgesprochene EM-Reaktion. — Aufgeschnittene Zweige und Wurzeln verhalten sich dagegen negativ. Bei den Schoten lagen bereits mehr oder weniger fertiggebildete Anthocyane vor, die sich allein schon auf Zusatz von Essigsäure zu erkennen gaben.

Von weiteren Reaktionen der « aktiven » Blätter sind folgende bemerkenswert: Weder in wäßriger noch in essigsaurer Lösung vermögen sie *Methylenblau* oder *Laktoflavin* zu Leukobasen zu reduzieren. Es liegt also kein Hydrierungsgefälle vor. Möglicherweise ist hierfür die geringe Permeabilität der äußeren Zellschicht von Bedeutung, denn nach längerem Verweilen der Blätter in den Farbstofflösungen wird der Farbstoff auf der Oberfläche adsorbiert.

Anders verhält sich eine wässrige Lösung von *2,6-Dichlorphenol-indophenol* (E_0 bei pH 7 = + 0,23 Volt, $H = 20-22,5$). In 12 Stunden werden von diesem Farbstoff merkliche Mengen durch die « aktiven » Blätter hydriert. In essigsaurer Lösung dagegen wird der Farbstoff von denselben ausgeflockt.

Unter filtriertem UV-Licht zeigen die « aktiven » Blätter keine auffallende Lumineszenz.

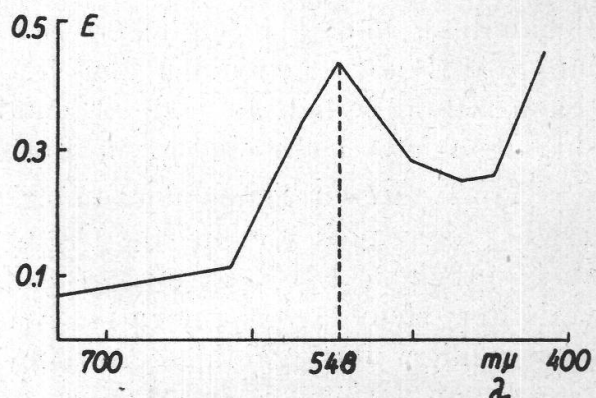
Das mit dem EM-Reagens rotviolette Farbstoffe liefernde Chromogen scheint nun in der Natur relativ häufig vorzukommen. In zwei Fällen erhielt ich eine andersfarbige, nämlich kongoblaue Farbstofflösung, und zwar bei den Blättern und Früchten von *Aucuba japonica* und bei der Untersuchung der Blütenstaube von *Plantago major* L. Dieser Farbstoff ist leicht löslich und intensiv blauschwarz. Die behandelten Blätter von *Aucuba japonica* erscheinen danach ganz schwarz.

Die Bildung dieses dunklen Farbstoffes setzt auch schon allein mit Säuren ein, nur werden hierbei mehr grünschwarze Lösungen erhalten. Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich bei diesen Phytochromogenen um Verbindungen, die freie Aminogruppen enthalten.

Die Lösung des nach der EM-Reaktion erhaltenen rotvioletten Farbstoffes in Eisessig läßt sich vorteilhaft aus jungen, grünen Früchten der Roßkastanie von *Aesculus Hippocastanum* L. präparieren. Eine solche frisch bereitete Farbstofflösung wurde in ein Rohr eingeschmolzen und tags darauf auf ihr *Absorptionsspektrum* untersucht.

Folgendes Ergebnis wurde erhalten:

Extinktionskurve
(aufgenommen mit dem Pulfrich-
Photometer). Schichtdicke 1 cm.
Konzentration unbekannt.



Das ermittelte *Absorptionsmaximum* hat auffallende Ähnlichkeit mit einigen von mir früher gemessenen EM-Farbstofflösungen aus *β-Jonon* und *Indol*.

Natürlich kann allein auf diese Weise kein Identitätsbeweis erbracht werden. Ich glaube vielmehr, daß es sich um sehr sauerstoffempfindliche *Polyphenole* handelt, die möglicherweise einen Teil der B a c h schen « *Oxygenasen* » bilden (4).

Ein vorläufiger Beweis, daß es sich u. a. um einen komplexen enzymatischen Prozeß handelt (Dehydrogenase), lassen folgende Versuche erkennen :

Werden die vom Chlorophyll und den Carotinoiden befreiten jungen Blätter von *Ginkgo biloba* einerseits mit Isoamylalkohol und andererseits mit Chloroform 12 Stunden sich selbst überlassen und danach aufgekocht, so macht sich bei dem mit Chloroform behandelten Blatt eine starke Verzögerung der EM-Reaktion bemerkbar, während das in Isoamylalkohol eingetauchte Blatt nach Abgießen des Lösungsmittels sofort mit dem EM-Reagens den Farbstoff bildet. — Es ist bekannt, daß Chloroform alle Enzyme schädigt, aber in sehr verschiedenem Maße.

Das hierbei in Frage kommende Enzym (Apodehydrase) scheint kein Enzym der Eisenporphyringruppe, wie etwa die Katalase oder auch Peroxydase, zu sein, da es nach meinen Versuchen mit HCN nicht geschädigt wird.

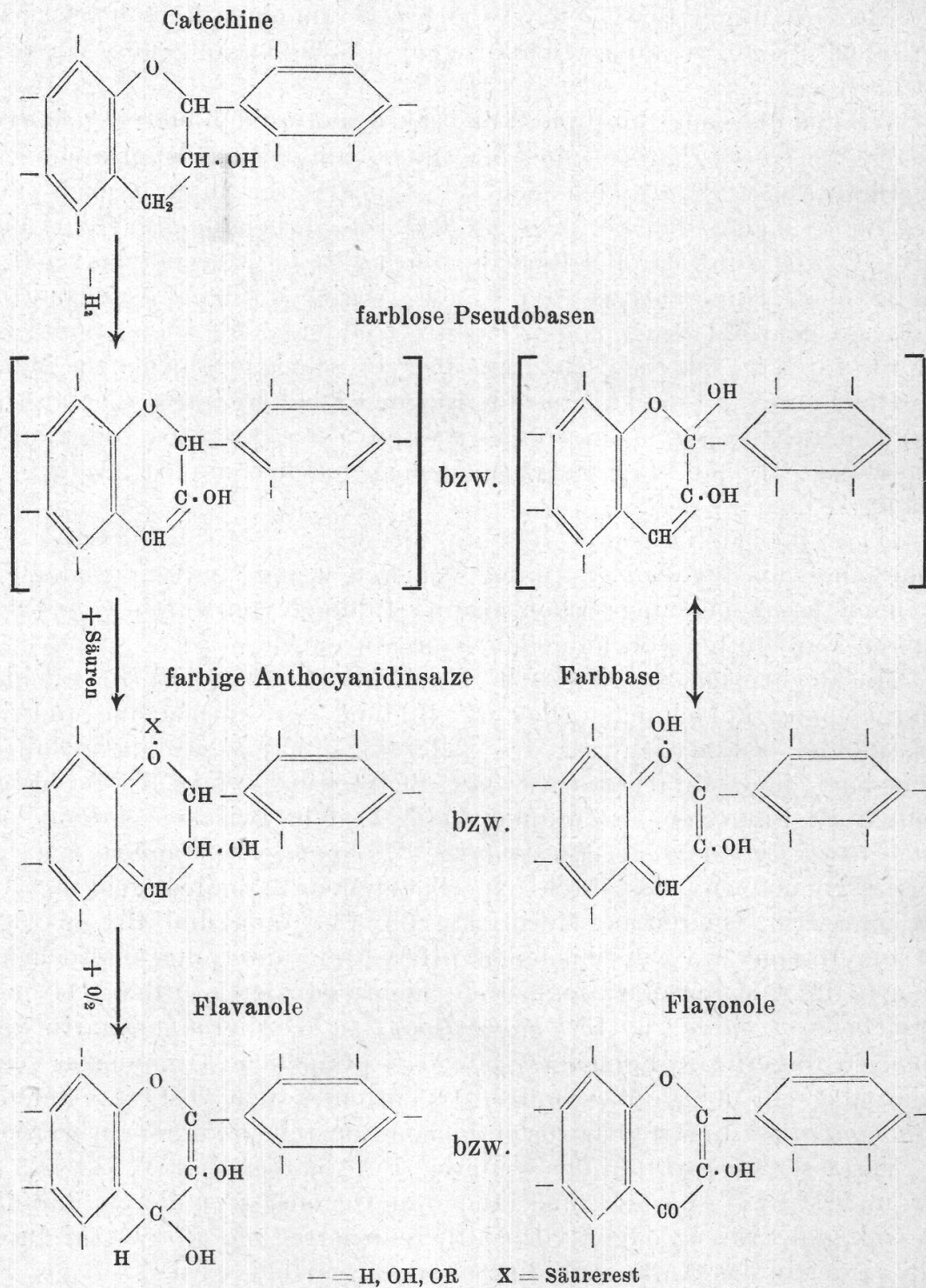
Diese Beobachtungen werfen die alte Frage auf, ob derartige Systeme einerseits für die Zellatmung von Bedeutung sind und andererseits im engen Zusammenhang stehen mit der Bildung von *Anthocyanen* und anderen Farbstoffen von ähnlicher Konstitution.

Mit Recht bemerkt kürzlich B a n c r o f t (5), daß das Fehlen tiefergehender Forschungen über die Bildung der Anthocyane und der Carotinoide bedauerlich sei. — Allerdings hat vor einigen Jahren R e i c h e l und Mitarbeiter (6) die Bearbeitung eines Teilproblems, nämlich die Frage, ob ein Zusammenhang besteht zwischen *Anthocyanidinen* bzw. *Anthocyanen*, *Flavonolen*, *Flavonen*, *Flavanonen* u. a., in Angriff genommen. Aus ihren experimentellen Befunden geht hervor, daß Quercetin, Quercitrin, Morin, Flavon, Flavanon und Butein (3,3', 4'-Trioxyflavon) bei verschiedenen pH-Werten unter der phytochemischen Reduktion durch gärende Hefe nicht reduziert wurden. Da auch Versuche, *Catechine* zu *Anthocyanidinen* zu oxydieren, negativ verliefen, so folgern die Forscher, daß der pflanzliche Organismus entweder über ein noch unbekanntes Oxydationssystem verfügt, oder die *Anthocyanidine* unmittelbar aus einfachen Bausteinen aufgebaut werden.

Verfasser überprüften des weiteren die Angaben von W i l l s t ä t t e r und M a l l i s o n (7) und fanden im Gegensatz zu diesen, daß das mit Zink und Eisessig oder Hydrosulfit reduzierte *Cyanidinchlorid* durch Luft wieder in das Anthocyanidin zurückverwandelt wird.

Ergänzende qualitative Versuche mit der Aldehydrase der Pferdeleber brachten den Beweis, daß die Anthocyanidine in der Zelle dieselbe Rolle als Redox-System spielen dürften wie z. B. die *Flavine*.

Werden erstere nicht mehr gebraucht, so soll ein Übergang in die *Catechine* stattfinden, die sich besonders im absterbenden Blatt als *Gerbstoffrote* (Phlobaphene) vorfinden.



Diese Beweisführung, daß die *Catechine* gewissermaßen allein aus den *Anthocyanidinen* entstehen sollen, ist m. E. aber anfechtbar.

Man kann vielmehr das Umgekehrte voraussetzen, zumal nach den Untersuchungen von *Freundenberg* (8) die *Catechine* sehr zahlreich im Pflanzenreich vorgebildet werden.

Nach meinen Versuchen ergibt sich, daß das sogenannte « *Catechu* » von *Acacia Catechu* (Handelsprodukt) eine eindeutige, orangerot-violette *EM-Reaktion* gibt, und daß auch in braunen Blättern von *Tilia platyphyllos* an vereinzelt Stellen das Chromogen noch nachweisbar war.

Solche *Catechine* könnten m. E. im ternären Komplex

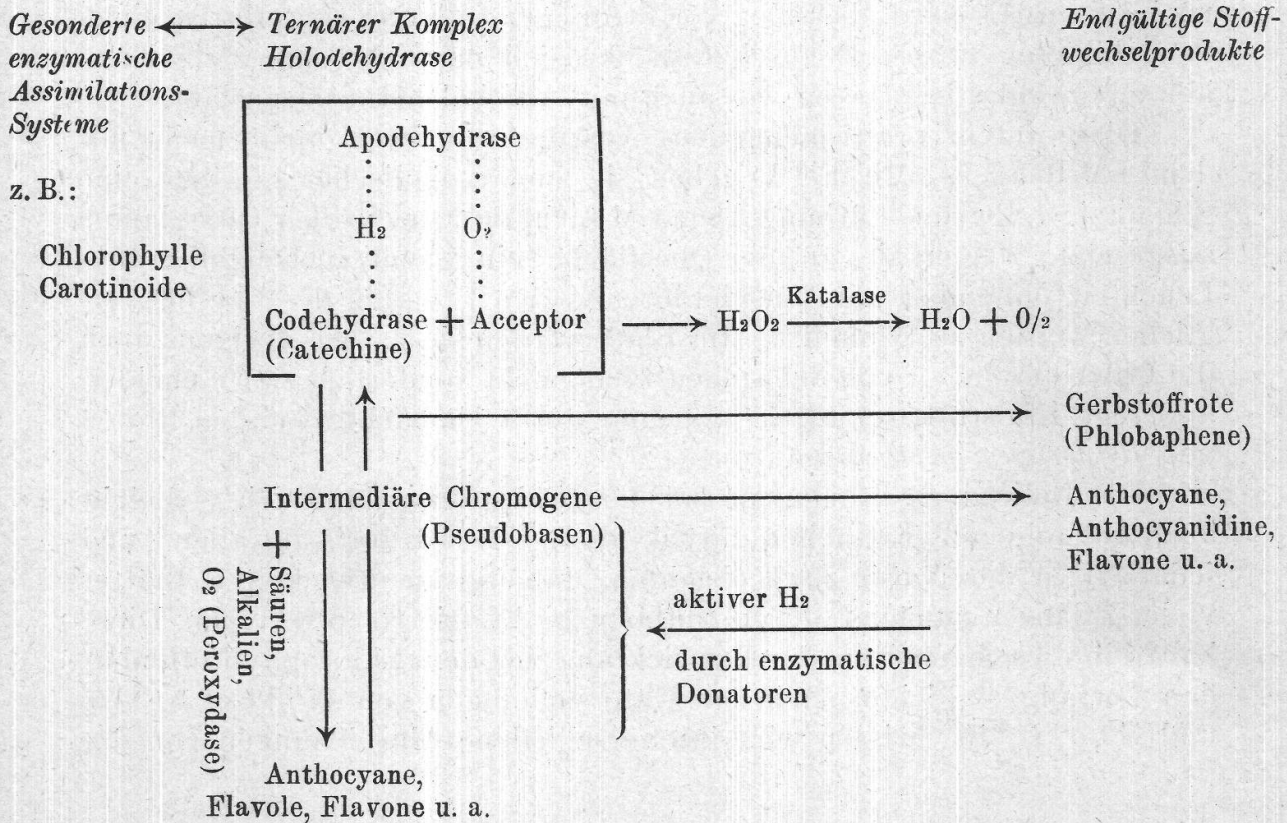
Catechin (Donator) - *Apoenzym* - *Acceptor* (Co-Enzym)

eine Rolle spielen, die noch nicht genügend beachtet worden ist.

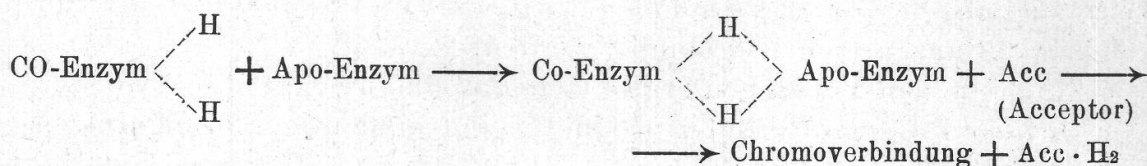
Die *Catechine* enthalten bekanntlich zwei Benzolkerne, von denen der eine *Phloroglucin*, der andere ein *Polyphenol* (häufig *Brenzcatechin*) ist. — Der Zusammenhang mit den *Flavonen* und *Anthocyanidinen* ergibt sich wie vorstehend. (Vgl. S. 630.)

Nehmen wir nun an, daß die *Catechine* mit großer Wahrscheinlichkeit die *Protochromogene* der Flavone und Anthocyanidine sind, so können sie den Atmungspigmenten *Palladins* (9) zugrunde gelegt werden, die ähnlich dem *Leukomethylenblau* und ähnlich den *SH-Systemen* wirken. Ein derartiges Oxydationssystem ließe sich folgendermaßen veranschaulichen :

Redox-System der natürlichen Catechine



Nach vorstehendem Schema werden sie dadurch zu wahren Atmungspigmenten, daß sie ihren Wasserstoff unter der Aktivierung des Apoenzym, gemäß



an O₂ als Acceptor abgeben, worauf sie von anderen Stoffen der Zelle Wasserstoff wieder aufnehmen; also eine Dislokation des Wasserstoffs im Sinne *Boesekens* stattfindet.

Somit sind sie zweifellos echte Oxydationskatalysatoren. Ihre dazugehörigen Apodehydrasen sind gruppenspezifisch und scheinen in sauren Medien gut wirksam zu sein. Wie bekannt, besitzen sie auch ausgesprochene Donatorspezifität.

Außerhalb der Zelle präpariert, bleibt mit der Dehydrierung der Chromogene an der Luft der Prozeß stehen; oder m. a. W. : die hauptsächlichsten endgültigen Stoffwechselprodukte sind die gebildeten Pigmente. Hierfür gibt nach meinen Beobachtungen wiederum das Blatt der *Robinia Pseudacacia* ein Beispiel :

In den frischen, noch gelbgrünen Blättern, die also einen relativ geringeren Chlorophyllgehalt aufweisen als die älteren Blätter, findet sich das mit dem EM-Reagens reagierende Chromogen in großer Menge. Aber auch in den kurz vor dem Abfall völlig chlorophyllfreien und orangegelben Blättern läßt sich dasselbe Chromogen ebenfalls reichlich nachweisen. Es wird aber hier vor sofortiger Inaktivierung durch einen neugebildeten Farbstoff geschützt, der sich nämlich ohne Schwierigkeiten sowohl mit Eisessig wie auch mit Alkohol herauslösen läßt.

Diese intensiv zitronengelben Auszüge reagieren nicht mehr mit dem EM-Reagens. Mit FeCl₃ geben sie (in alkoholischer Lösung) eine schmutzig gelbgrüne Färbung. Dem UV-Licht der Quecksilber-Quarzlampe ausgesetzt, zeigen sie an der Oberfläche ein ziemlich hellgelbgrünes Leuchten, ohne aber mit den viel intensiveren Effekten des Flavins verglichen werden zu können. — Im Blatt werden sie — wie übrigens auch die Chlorophylle — von demselben Licht nicht sonderlich zum Leuchten angeregt. Ein stärkerer Effekt dagegen wurde beobachtet bei den Blüten von *Hypericum perforatum*.

Die Rolle der Chromogene bei der *Assimilation* läßt sich vielleicht auch auf folgende Tatsachen zurückführen : Es ist doch auffallend und jederzeit in der Natur zu beobachten, daß die unentwickelten Blätter vieler Pflanzen zunächst durch Anthocyane kräftig rot erscheinen. Diese haben in diesem Stadium der Entwicklung vor dem Chlorophyll offenbar den Vorrang. — Schon nach den Untersuchungen von *Willstätter* und *Stoll* (10) wissen wir, daß verschiedene Abweichungen von der

Norm bei der *Assimilation* von CO₂ bei Blättern auftreten; d. h. der Verbrauch von CO₂ steht nicht im direkten Verhältnis zur vorhandenen Menge Chlorophyll. — Die von den Verfassern ermittelten *Assimilationszahlen*, das sind

in 1 Std. assimil. CO₂ (in g)

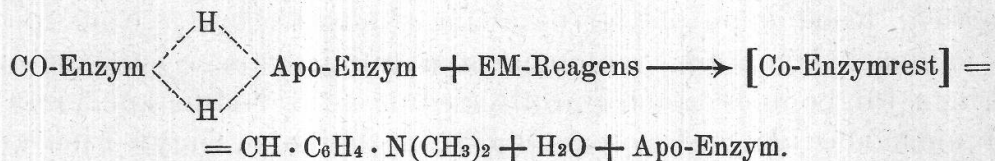
Chlorophyll in g

ergaben für herbstliche und völlig grüne Blätter sehr niedrige Werte, hingegen bei chlorophyllarmen Blättern gelber Varietäten und auch bei ergrünenden « etiolierten » Blättern sehr hohe Assimilationszahlen. Des weiteren wurde solches auch bei den chlorophyllarmen Fruchthäuten, z. B. bei der Erbse, beobachtet.

Willstätter und Mitarbeiter kamen daher zum Schluß, daß außer Chlorophyll noch ein « *enzymatischer (innerer) Faktor* » vorhanden sein müsse, der an der Berührungsschicht der Chloroplasten mit dem Plasma in Erscheinung tritt. Hier sollte auch der Sitz der von mir beobachteten und gegen das EM-Reagens positiv ansprechenden Enzyme sein.

Zuletzt möchte ich für die Bildung der Farbstoffe aus solchen Komplexen noch folgende Erwägungen in Betracht ziehen :

Im unversehrten, gekuppelten *Redox-Prozeß* (Wielandsches *Oxydationssystem*) treten primär durch den Einfluß der Dehydrogenase keine für das Auge ausgesprochen sichtbare Farbstoffe in Erscheinung. Kommt aber als zellfremder Acceptor das EM-Reagens zur Einwirkung, so werden die aktiv vorhandenen H-Atome aus dem Co-Enzym von diesem im Zuge der Kondensation herausgenommen und das letztere in echter chemischer Bindung mit dem Reagens gebracht, wonach erst dann die Farbsalze in Erscheinung treten. — Man kann dies besser auch so ausdrücken :



Somit ergibt sich : *daß die Natur, je nach ihren Assimilationsbedürfnissen, das eine oder andere Redox-System bevorzugen dürfte.*

Allgemeiner Versuchsteil. Untersuchte Pflanzen.

A. Pflanzenteile, die mit dem EM-Reagens farbig reagieren (wenn nicht anders vermerkt, mit orangeroter-violettstichiger Farbe.

1. *Blüten von* : Agrimonia Eupatoria, Althaea pallida (Blütenknospe aufgeschnitten : nur Teile der Narbe und des Fruchtknotens angefärbt), Betula verrucosa, Cannabis sativa (*schwach, fortlaufend als « s. » bezeichnet*), Coronilla varia, Crataegus oxyacantha, Dactylus glomerata, Helleborus viridis, Hypericum perforatum, Hypericum polyphyllum, Li-

gustrum vulgare, Magnolia umbrella, Pirus communis, Plantago major L. (blauschwarze Färbung), Pinus Bungeana Zucc (hauptsächlich die Pollen), Primula officinalis, Robinia Pseudacacia, Scirpus Holoschoenus, Sedum acre, Sedum spurium, Tilia platyphyllos (auch das Flugblatt).

2. *Blätter von*: Acer japonicus, Acer Negundo, Acer platanoides, Aesculus Hippocastanum, Agrimonia Eupatoria, Albizzia julibrissio, Araucaria imbricata (*nur die Reißstelle des Blattes, fortlaufend mit « R. » bezeichnet*), Aspidium Filix mas, Aucuba japonica (blauschwarze Färbung), Betula alba, Betula verrucosa, Campylotropis chinensis (auch Sproß), Cannabis sativa (s.), Caesalpinia japonica (R.), Castanea sativa, Ceanothus azureus, Cedrela sinensis (s.), Cedrus libanotica, Celastrus angulata v. latifolia, Cercis canadensis, Cephalotaxis Fortunei, Ceterach officinarum, Chamaecyparis Boursierii, Cinnamomum camphora, Cocoloba platyclada, Coronilla varia, Convolvulus sepium (hauptsächlich der Stiel), Cupressus Coulteri, Daphne Mezereum (s.), Desmodium cinarescens (auch Sproß), Diervilla venosa (auch Sproß), Diosphyros Lotus, Ephedra sikkimensis, Eunonymus atropurpurea, Gentiana Parry (s.), Grewia biloba, Ginkgo biloba, Helleborus viridis, Hamamelis virginiana, Heliotropium Peruvianum (mehr schmutzige Färbung), Hypericum Ascyrion, Hypericum perforatum, Hypericum polyphyllum, Indigofera Josua Nepaul (auch Sproß), Juglans americana (s.), Lilium incomparabile, Liquidambar styraciflua (weiße Blätter), Liriodendron tulipifera (nur die Triebe), Nelumbo nucifera, Orobus lathyroides (R. = s.), Pentstemon labrosus (s.), Platanus orientalis, Philadelphus Californicus, Picea excelsa, Pinus uncinata Ram. (auch Sproß), Phellodendron Lavalley, Podocarpus nucifera, Polystichum Filix mas, « Polygonum de l'Himalaya », Primula officinalis, Prunus Persica, Prunus spinosa, Ptelea Isophylla, Quercus Robur, Reseda lutea (Übergang vom Stiel zum Blatt), Rhamnus cathartica, Rhododendron ferrugineum, Rhus Cotinus, Rhus pumila, Rosa canina, Salix alba, Scolopendrium officinarum, Secuanga nitida, Securinga fluggeoides (auch Sproß), Sedum acre, Sedum spurium, Sempervivum modestum, Sorbus scandica, Taxus baccata, Thuya orientalis L., v. stricta (s.), Tilia platyphyllos, Thuja globosa, Tsuga canadensis (sehr s.), Ulmus campestris fol. var., Verbascum floccosum, Viburnum nepalense v. Hanceanum, Virgilia lutea Michx., Vitis sp. Frankental (nur der Sproß), Wistaria sinensis, Zanthoxylum piperitum (nur einzelne Stellen).

3. *Unentwickelte (grüne) Früchte von*: Acer platanoides, Aesculus Hippocastanum, Amelanchier sanguinea, Ampelopsis heterophylla (neben Anthocyanidinen), Arum maculatum, Aucuba japonica (blauschwarze Färbung), Camassia Fraseri, Caesalpinia japonica, Carica quercifolia, Catalpa ovata, Ceanothus azureus, Colutea cruenta, Cornea sanguinea, Crataegus macrantha, Cupressus Coulteri Forbes, Cydonia japonica, Cydonia vulgaris, Dictamnus albus, Eremurus rofructus Regel, Fragaria

vesca, Hypericum Ascyron, Hypericum polyphyllum, Juglans americana, Juglans regia, Juniperus chinensis, Mahonia aquifolia (nur die innere Kernhülle), Mespilus germanica, Negundo californicum, Nelumbo nucifera, Philadelphus californicus, Pinus uncinata, Pirus communis, Prunus avium, Prunus domestica, Prunus Persica Stokes, Prunus spinosa, Ptelea Isophylla, Quercus Robur, Robinia Pseudacacia (neben Anthocyanidinen), Rosa canina, Ribis rubrum, Rubus bifrons (s.), Sophora japonica, Staphylea trifolia, Tamus communis, Tilia platyphyllos, Thuya globosa, Thuya orientalis v. stricta, Viburnum nepalense v. Hancockianum, Virgilia lutea Michx., Vitis amutensis, Vitis sp. Frankental, Wistaria sinensis.

4. *Wurzeln von* : Primula officinalis.

B. Pflanzenteile, die mit dem EM-Reagens keine Farbreaktion ergeben.

1. *Blüten von* : Achillea Millefolium, Alliaria officinalis, Anemone nemorosa, Althaea pallida, Berberis vulgaris, Bryonia alba, Caltha palustris, Carex acuta, Centaurea Jacea (Pollenstaub), Cheiranthus Cheiri, Clematis Vitalba, Convallaria majalis, Cornus sanguinea, Cynodon Dactylon, Euphorbia esula, Galium cruciatum, Galium Mollugo, Geranium Robertianum, Grewia biloba, Gynerium argenteum, Hablitzia tamnoides, Helichrysum tianschanicum, Juglans regia, Kerria japonica, Lilium candidum, Lilium incomparabile, Ligustrum vulgare, Liriodendron tulipifera, Lonicera caprifolium, Lonicera Periclymenum, Melilotus albus (auch Knospen), Nasturtium silvestre, Opuntia Delenii, Phaseolus vulgaris, Polygonatum officinalis, Sambucus niger, Saponaria officinalis, Sarothamnus Scoparius, Sempervivum modestum, Scabiosa Columbaria, Scilla bifolia, Sophora japonica (auch Knospen), Tecoma grandiflora, Trifolium pratense, Tragopogon pratensis, Triticum sativum, Viola alba Besser, Viola lutea, Zea Mays.

2. *Blätter von* : Acanthus longifolius, Achillea Millefolium, Aconitum Napellus, Ailanthus glandulosa, Allium Cepa, Althaea pallida, Amygdalis Georgica, Asparagus officinalis (auch Stengeltrieb), Astragalus alopecuroides, Astragalus Tragantha, Aristolochia rotunda, Artemisia Dracunculus, Atropa Belladonna, Bambusa Fortunei, Baccharis halimifolia (auch Sproß), Bryonia alba, Buxus sempervirens v. marginata Hort., Calycanthus Florida, Camarix africana, Caragana pygmaea, Carex acuta, Carpinus Betulus, Catalpa ovata, Celtis australis, Centaurea Jacea, Cerastium tomentosum, Cichorium Intybus, Citrus aurantia, Citrus myrtifolium, Citrus trifoliata (Japan) (auch Dorn), Clematis songorica, Clematis Vitalba, Coriaria nepalensis, Cornus sanguinea, Cornus sanguinea fol. var. (Spuren Anthocyanidinen), Crataegus macrantha, Curcubita perennis, Cydonia vulgaris, Cynodon Dactylon, Cytisus Laburnum, Datura inermis, Dictamnus albus, Echium vulgare, Equisetum arvense, Eucalyptus globulus, Eulalia japonica, Evonymus

europaeus, Fagus silvatica, Ficus carica, Fraxinus coriacea, Fraxinus nana, Fraxinus pensylvanica, Galium Mollugo, Galium cruciatum, Gentiana acaulis, Geranium Robertianum, Gleditschia japonica, Globularia nudicaulis, Gyneryum argenteum, Hablitzia thamnoides, Hedera Helix, Helichrysum tianschanicum, Heracleum trachyloma, Heracleum brevivittatum, Heracleum sphondylium v. elegans, Hibiscus puniceus Hort., Humulus japonicum, Hutchinsia alpina, Hyoscyamus niger, Ilex Aquifolium, Iris pallida, Jasminum humulis, Juglans cinera, Juglans regia (schwach rötlichbraun), Juniperus chinensis, Lagerstroemia indica, Lactuca sativa, Leucanthemum arcticum, Ligustrum vulgare, Linum alpinum, Liriodendron tulipifera, Magnolia umbrella, Mahonia aquifolia, Malva silvestris, Medicago sativa, Melilotus albus, Morus nigra, Nasturtium silvestris, Negundo californicum, Nerium Oleander, Nicotiana gigantea, Olea europea, Pirus Malus, Polygala vulgaris, Pueraria Thunbergiana (beim Sproß die Bruchstellen rötlichviolett), Phaseolus vulgaris, Populus angulata cordata robusta, Rhus succedanea, Ruta graveolens, Ricinus communis, Sambucus niger, Saponaria officinalis, Scilla bifolia, Silene nutans, Sisyrinchium montana, Solanum Lycopersicum, Solanum nigrum, Solanum tuberosum, Sophora japonica, Staphylea trifolia, Syringa vulgaris, Tragopogon pratensis, Tradescantia viridis, Trifolium pratense, Tropaeolum speciosum, Viola alba Besser, Viola lutea, Vitis amutensis, Vitis sp. Frankental, Urtica urens.

3. *Unentwickelte (grüne) Früchte von:* Allium ascalonicum, Allium Cepa, Amygdalus Georgica, Aristolochia rotunda, Atropa Belladonna, Bryonia alba, Capsicum annum, Catalpa ovata, Clematis songorica, Cytisus Laburnum, Daucus Carota (junge und ältere farbige Karotten), Datura Bernhardii, Datura tatula, Datura tatula v. enermis, Evonymus europaeus, Ficus carica, Fraxinus coriacea, Fraxinus pensylvanica, Galium Aparine, Humulus japonica, Hyoscyamus niger, Mahonia aquifolia, Morus nigra, Opuntia tortispina, Papaver orientalis, Platanus orientalis, Polygonatum multiflorum, Raphanus Radiola, Ricinus communis, Ruta graveolens, Sambucus niger, Secuanga nitida, Sisyrinchium montana, Solanum nigrum, Solanum tuberosum (auch alte Frucht und Keime), Syringa vulgaris, Tamus communis, Triticum vulgare.

4. *Wurzeln von:* Robinia Pseudacacia, Allium Cepa.

Pilze:

Der Untersuchung waren vorläufig folgende Arten zugänglich:

Agaricus: azureus, -albellus, -coccineus, -piperatus, -rufus, -viscidus, *Boletus edulis*, *Cantarellus aurantiacus*, *Cratellus cornucopoides*, *Clavaria cinerea*, *Coprinus comatus*, *Hydnum:* imbricatum, -repandum, *Hypholoma fasciculare*, *Lactarius:* deliciosus, -volemus, *Paxillus involutus*, *Pholiota squarrosa* Müll., *Polyporus giganteus*, *Psalliota campestris*, *Tuber:* Borchii u. -aestivum.

Von diesen gaben nur die beiden *Lactarius*-Arten eine deutliche grüne Färbung, was auf einen Gehalt von *Azulenogenen* zurückzuführen ist, wie dies bereits Willstaedt (11) für diese Gruppe von Pilzen nachgewiesen hat. — Eine schwach grüne Färbung ließen erkennen: *Paxillus involutus*, *Agaricus coccineus* und die beiden *Tuber*-Arten, so daß möglicherweise *Azulenogene* in Pilzen häufiger vorkommen, als dies bisher angenommen wurde.

Die übrigen untersuchten Pilze gaben mit dem EM-Reagens keine merkbare Farbreaktion. Es scheint sonach, daß das bei Pflanzen vorkommende, mit dem EM-Reagens rotorange-violettstichige Farbsalze liefernde *Protochromogen* in Pilzen nicht vorhanden ist.

EM-Reaktionen und UV-Lumineszenzen eindeutiger chemischer Verbindungen.

Im Zusammenhang mit dieser Arbeit waren noch folgende Versuche dienlich:

A. EM-Reaktionen.

1. Keine Reaktion ergaben: l-Ascorbinsäure, Adermin, l-Dioxyphenylalanin, Glucosaminhydrochlorid, Guanin, Histidinmonochlorhydrat, β -Carotin (später durch Oxydation grün), Kynurensäure, Lactoflavin, Nucleinsäure (aus Hefe), Phytol (aus Chlorophyll), Seidenpepton, Saponin, l-Tyrosin und Tannin.
2. Mehr oder weniger gelb reagierten: Harnstoff, Kreatinin, l-Prolin, l-Oxy-Prolin und Tryptophan (in konzentrierteren Lösungen etwas rötlich).
3. Rötliche bzw. bordeauxrote Färbung zeigten: Indol-3-Essigsäure und Indol-3- β -Propionsäure.

B. UV-Lumineszenzen.

Von den bei A genannten Produkten wurden folgende Leuchtfarben beobachtet: Adermin (hellviolett), l-Ascorbinsäure (violett-weiß), Indol-3-Essigsäure (hellviolett), Indol-3- β -Propionsäure (violett-weiß), Kynurensäure (weiß), Lactoflavin (gelborange, in alkoholischer Lösung: leuchtend gelbgrün), Nucleinsäure aus Hefe (weiß), Saponin (gelbweiß), Seidenpepton (gelb), Tannin (gelblichweiß).

Die übrigen Produkte ließen nur eine schwach violette Leuchtfarbe erkennen. Vgl. hierzu umfangreiche Untersuchungen insbesondere an natürlichen und synthetischen Duftstoffen (12).

Zum Schluß habe ich vielmals zu danken: dem hiesigen *Conservatoire et Jardin botaniques* für Überlassung des Pflanzenmaterials; der Firma *Hoffmann-La Roche* für die meisten der untersuchten Spezialpräparate; Herrn Prof. *Karrer*, Zürich, für das reine β -Carotin, Herrn Priv.-Dozent *H. Mohler* für Ausführung

der Absorptionsmessung und schließlich der Direktion der Firma *Usines de l'Allondon in La Plaine* für Benützung der Quarz-Quecksilber-Lampe.

Genf (Avenue Blanc 8 V), im September 1944.

Nachtrag: Nach Abfassung der Abhandlung nahm ich Kenntnis von der kürzlich im « Chemischen Centralblatt » 1944, II., referierten Arbeit von W. Rößler, Inhalt und systematische Bedeutung der Phloroglucingerbstoffzellen in den Laubblättern europäischer *Viola*-Arten (Wiener botan. Z. 92, 97—123, Graz, 1943). Die Überprüfung der Blätter einiger *Viola*-Arten mit dem EM-Reagens führte zum negativen Ausfall der Reaktion, so daß die vom Verfasser mit dem p-Dimethylaminobenzaldehyd und Schwefelsäure nachgewiesenen Verbindungen von meinem Reagens offenbar nicht erfaßt werden.

Literaturnachweis.

1. Müller, A., J. f. prakt. Chemie (N. F.) **151**, 233—248 (1938); **153**, 77 (1939) (Spektroskopie der EM-Farbstoffe); **154**, 82 (1939) (Zur Kenntnis des Jonens); **156**, 179 (1940) (EM-Farbsalze aus Absinth- und Kamillenöl); Deutsche Parfümerie-Zeitung **27**, 239 (1941) (Die EM-Reaktion der Jonone und Irisöle); **159**, 139—146; « Der Parfümeur » **45**, 478 und 491 (1941) (Die Anwendung der EM-Reaktion).
 2. Müller, A. Klin. Wochenschr. **18**, 235 (1939).
 3. Vgl. a. Müller, A. Über die Konstitution der homogenen Säuren und die Beeinflußung ihrer Acidität durch Lösungsmittel, Zeitschr. f. anorgan. u. allgemeine Chemie **217**, 113—153 (1934).
 4. Vgl. a. Oppenheimer, C. und Kuhn, R. Lehrbuch der Enzyme, Seite 489. Leipzig **1927**.
 5. Bancroft, D. Science New York (N. S.) **98**, 98 (1943); C. 1944, II. 1393.
 6. Reichel, L. und Burkart, W. Lieb. Ann. **536**, 164 (1938); C. **1939**, I. 425; vgl. a. « Die Naturwissenschaften » **25**, 318 (1937).
 7. Willstätter R. und Mallison. Lieb. Ann. **408**, 38 (1915).
 8. Freudenberg, K. Ber. d. Deutschen Chem. Gesellschaft **53**, 1416 (1920) vgl. a. « Festschrift des 100jährigen Bestehens der Technischen Hochschule zu Karlsruhe » **1925**, S. 476—489.
 9. Palladin, Zeitschr. physiol. Chemie **55**, 207 (1908).
 10. Willstätter, R. und Stoll, A. Ber. d. Deutschen Chem. Gesellschaft **48**, 1540.
 11. Willstaedt, H. Ber. d. Deutschen Chem. Gesellschaft **69**, 997—1001 (1936).
 12. Müller, A. J. f. prakt. Chemie (N. F.) **154**, 209—218 (1940).
-