

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Heidelberg  
(Direktor: Prof. Dr. E. RANDERATH)

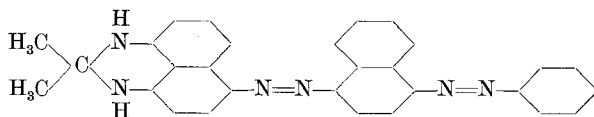
## Über den Metachromasieeffekt von Sudanschwarz B

Von

PAUL B. DIEZEL und GUNDEGA NEIMANIS

(Eingegangen am 15. Oktober 1957)

Im Rahmen der histochemischen Untersuchungen an rein dargestellten Substanzen, die der eine von uns (DIEZEL) kürzlich durchgeführt hat, sind wir auf einen Metachromasieeffekt von Sudanschwarz B aufmerksam geworden. Die folgende Mitteilung soll sich mit der Frage beschäftigen, mit welchen Substanzen Sudanschwarz B seinen Farbcharakter ändert. Die Konstitutionsformel des Farbstoffes entnehmen wir dem Handbuch der Farbstoffe von H. HARMS (II. Lieferung, S. 55). Es handelt sich um ein Dimethylnaphthalinperimidin-4-azo-(1-naphthyl)-4-azobenzol.



Schon P. GERARD teilte 1935 mit, daß Vaseline eine Rotviolett-färbung mit Sudanschwarz B gibt. LENNERT und WEITZEL untersuchten 1952 die Färbbarkeit homologer Reihen von Fettsäuren und ihren Äthylestern, von Alkoholen, gesättigten Kohlenwasserstoffen und verschiedenen Lipoiden und Wachsen auf Filterpapier und im Holundermark. Sie prüften die Substanzen gegen Sudan III, Sudanschwarz B und Nilblausulfat. Ihren Untersuchungen entnehmen wir, daß Octan, Nonan und Decan mit Sudanschwarz B eine rötlichviolette Anfärbung ergaben. Die Präparate wurden offenbar nur im durchfallenden Mischlicht betrachtet.

Nachdem uns aufgefallen war, daß die zentrale und periphere Markscheide im Gefrierschnitt (unfixiert und fixiert) bei Betrachtung im polarisierten Licht metachromatisch rot aufleuchtet, erschien es uns wertvoll, den Metachromasieeffekt von Sudanschwarz B zu untersuchen.

### Material und Methode

Zur Untersuchung gelangten aliphatische Kohlenwasserstoffe und ihre Halogen-derivate, verschiedene Alkohole, Äther, Oxydationsprodukte aliphatischer Alkohole sowie aliphatische Carbonsäuren. Aus der Gruppe der aromatischen Verbindungen untersuchten wir einkernige Kohlenwasserstoffe, ihre Halogenderivate, Oxy- und Oxoverbindungen sowie aromatische Carbonsäuren und aus der Gruppe der zweikernig aromatischen Verbindungen  $\alpha$ -Naphthol. Von den Alicyclen haben wir

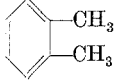

Tabelle 1

Substanzen		Konsistenz bei Zimmer- temperatur	Makro- sko- pisch	Mikroskopisch	
Name	Formel			Misch- licht	polari- siertes Licht
(Alk.)					
Pentan, isomerenfrei <sup>1</sup>	$C_5H_{12}$	flüchtige Flüssigkeit	++	++	
Hexan, isomerenfrei	$C_6H_{14}$	flüssig	++	++	
Heptan, isomerenfrei	$C_7H_{16}$	flüssig	++	++	
Octan, isomerenfrei	$C_8H_{18}$	flüssig	++	++	
Nonan, isomerenfrei	$C_9H_{20}$	flüssig	++	++	
Decan, isomerenfrei	$C_{10}H_{22}$	flüssig	++	++	
(Alk. Hal.)					
Chloroform	$CHCl_3$	flüssig	++	++	
Tetrachlorkohlenstoff	$CCl_4$	flüssig	++	++	
Äthylendichlorid	$Cl \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot Cl$	flüssig	++	++	
Bromoform	$CHBr_3$	flüssig	++	++	
(Alk. OH)					
Methylalkohol	$CH_3 \cdot OH$	flüssig	+ -	+ -	
Äthylalkohol	$CH_3 \cdot CH_2 \cdot OH$	flüssig	Ø	Ø	
n-Propylalkohol	$CH_3 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH$	flüssig	Ø	Ø	
Isopropylalkohol	$CH_3 \cdot CH \cdot (OH) \cdot CH_3$	flüssig	Ø	Ø	
n-Butylalkohol	$CH_3 \cdot (CH_2)_2 \cdot CH_2 \cdot OH$	flüssig	Ø	Ø	
n-Amylalkohol	$CH_3 \cdot (CH_2)_3 \cdot CH_2 \cdot OH$	flüssig	Ø	Ø	
sec. Isoamylalkohol	$(CH_3)_2 \cdot CH \cdot CH(OH) \cdot CH_3$	flüssig	Ø	Ø	
n-Hexylalkohol	$CH_3 \cdot (CH_2)_4 \cdot CH_2 \cdot OH$	flüssig	Ø	Ø	
n-Octylalkohol	$CH_3 \cdot (CH_2)_6 \cdot CH_2 \cdot OH$	flüssig	Ø	Ø	
Nonylalkohol	$CH_3 \cdot (CH_2)_7 \cdot CH_2 \cdot OH$	flüssig	Ø	+ -	
Trimethylcarbinol	$(CH_3)_3 \cdot C \cdot OH$	flüssig	Ø	+ -	
[Alk. (OH) <sub>2</sub> ]					
Äthylenglykol	$HO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot OH$	flüssig	Ø	+ -	
[Alk. (OH) <sub>3</sub> ]					
Glycerin	$HO \cdot CH_2 \cdot CH(OH) \cdot CH_2 \cdot OH$	flüssig	Ø	Ø	
(Alk. Hal. OH)					
Tribromäthylalkohol	$Br_3C \cdot CH_2 \cdot OH$	gelöst in Äthylalkohol	Ø	Ø	
(Alk. CHO)					
Formaldehyd	$HCHO$	40 % in Wasser	Ø	Ø	
Acetaldehyd	$CH_3 \cdot CHO$	flüssig	Ø	Ø	
Chloralhydrat	$CCl_3 \cdot CH : (OH)_2$	fest, gelöst in 70 % Alkohol	++	++	

<sup>1</sup> Die isomerenfreien Alkane verdanken wir dem Koninklijke/Shell-Laboratorium, Amsterdam.













*Bemerkung.* (+) blaßrosa im polarisierten Licht; + rotviolett; ++ intensiv rotviolett; +— vorübergehende Rotfärbung unter dem Mikroskop während der Lösung der Farbstoffteilchen; Ø blauschwarz.

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Substanzen		Konsistenz bei Zimmer- temperatur	Makro- sko- pisch	Mikroskopisch	
Name	Formel			Misch- licht	polari- siertes Licht
Paraldehyd	$  \begin{array}{c}  \text{CH}_3 \\    \\  \text{O}-\text{CH} \\  / \quad \backslash \\  \text{CH}_3 \cdot \text{CH} \quad \text{O} \\  \backslash \quad / \\  \text{O}-\text{CH} \\    \\  \text{CH}_3  \end{array}  $	flüssig	Ø	Ø	
Formamid	$\text{HCO} \cdot \text{NH}_2$	flüssig	Ø	Ø	
Dimethylformamid	$\text{HCO} \cdot \text{N}(\text{CH}_3)_2$	flüssig	Ø	Ø	
(Alk. CO. Alk.)					
Aceton	$\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$	flüssig	Ø	Ø	
Chloraceton	$\text{CH}_3 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_2\text{Cl}$	flüssig	+ -	+ -	
(Alk. O. Alk.)					
Äthyläther	$\text{C}_2\text{H}_5 \cdot \text{O} \cdot \text{C}_2\text{H}_5$	flüssig	Ø	Ø	
(Alk. CO <sub>2</sub> H)					
Ameisensäure	$\text{HCO}_2\text{H}$	flüssig	Ø	Ø	Ø
Essigsäure	$\text{CH}_3 \cdot \text{CO}_2\text{H}$	flüssig	Ø	Ø	Ø
Palmitinsäure	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{14} \cdot \text{CO}_2\text{H}$	fest, gelöst in 70% Alkohol	Ø	Ø	Ø
Stearinsäure	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{16} \cdot \text{CO}_2\text{H}$	desgl.	Ø	Ø	Ø
Erucasäure	$\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{17} \cdot \text{CH}_3$	„	Ø	++	++
	$\text{CH} \cdot (\text{CH}_2)_{11} \cdot \text{CO}_2\text{H}$				
<i>Lipoide</i>					
Lecithin		fest	+ -	++	++
Sphingomyelin		fest	Ø	Ø	+
Gangliosid		fest	Ø	Ø	(+)
Cerebrosid		fest	Ø	Ø	Ø
Cholesterin		fest	Ø	Ø	Ø
(Ar. H)					
Benzol	$\text{C}_6\text{H}_6$	flüssig	++	++	
Toluol	$\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_3$	flüssig	++	++	
o-Xylol		flüssig	++	++ <sup>1</sup>	
(Ar. Hal.)					
Chlorbenzol	$\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{Cl}$	flüssig	++	++	
o-Dichlorbenzol		flüssig	++	++	
Benzylchlorid	$\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}$	flüssig	+ -	+	

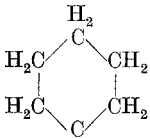
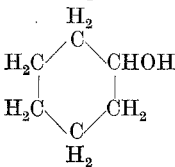
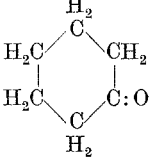

<sup>1</sup> Farbe unter dem Mikroskop betrachten!

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Substanzen		Konsistenz bei Zimmer- temperatur	Makro- sko- pisch	Mikroskopisch	
Name	Formel			Misch- licht	polarisi- ertes Licht
(Ar. Oxy) Phenol	$C_6H_5 \cdot OH$	flüssig	++	++	
					
o-Kresol		flüssig	+	+ <sup>1</sup>	
					
Thymol		fest, gelöst in 70% Alkohol	++	++	
					
Resorcin		desgl.	++	++	
					
Pyrogallol		„	++	++	
p-Chlorphenol		flüssig	++	++	
(Ar. Oxo) Benzaldehyd	$C_6H_5 \cdot CHO$	flüssig	Ø	Ø	
Dimethyl- aminobenzaldehyd		flüssig	Ø	Ø	
(Ar. CO <sub>2</sub> H) Benzoesäure	$C_6H_5 \cdot CO_2H$	flüssig	Ø	Ø	
p-Chlorbenzoesäure		flüssig	Ø	+ - <sup>2</sup>	
Benzoesäuremethylester		flüssig	Ø	+ - <sup>2</sup>	
α-Naphthol		fest, gelöst in: 70% Alkohol	++	++	

<sup>1</sup> Farbe unter dem Mikroskop betrachten!<sup>2</sup> Sehr flüchtige rote Zwischenstufe.

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Substanzen		Konsistenz bei Zimmer- temperatur	Makro- sko- pisch	Mikroskopisch	
Name	Formel			Misch- licht	polari- siertes Licht
Alicyclen Cyclohexan		flüssig	++	++	
Cyclohexanol		fest, gelöst in 70% Alkohol	Ø	+ - <sup>1</sup>	
Cyclohexanon		flüssig	Ø	+ - <sup>1</sup>	
Pyridin		flüssig	Ø	Ø	Ø

Cyclohexan und Verwandte sowie Pyridin aus der Gruppe der Heterocyclen getestet. Darüber hinaus kamen einige Fettsäuren und rein dargestellte Lipide zur Prüfung.

*Methodischer Hinweis.* Die flüssigen Substanzen wurden auf einen Objektträger gegeben und mit wenig Sudanschwarz B in Substanz zusammengebracht. Waren die Farbstoffteilchen in der betreffenden Substanz nicht löslich, dann wurde eine gesättigte Sudanschwarz B-Lösung im 70%igen Äthylalkohol zugegeben. Die festen Stoffe wurden ebenfalls auf dem Objektträger mit einer gesättigten Sudanschwarz B-Lösung im 70%igen Äthylalkohol geprüft. Der Farbeffekt wurde mit dem bloßen Auge und unter dem Mikroskop im Mischlicht und im polarisierten Licht betrachtet.

In der Tabelle 1 sind die einzelnen untersuchten Substanzen und ihr Verhalten gegen Sudanschwarz B zusammengestellt.

### Ergebnisse

Aus der Tabelle 1 geht hervor, daß in allen geprüften aliphatischen Kohlenwasserstoffen und in ihren Halogenderivaten Sudanschwarz B unter Bildung einer rotvioletten Farblösung gelöst wird. Gleichartig

<sup>1</sup> Vorübergehende Rotfärbung.

verhalten sich folgende aromatische Verbindungen: Benzol, Toluol, Xylol, Oxyverbindungen des Benzols (Phenol, o-Kresol, p-Chlorphenol). Darüber hinaus gibt auch Cyclohexan eine Rotfärbung mit Sudan-schwarz B in Substanz. Aus der Gruppe der Oxydationsprodukte aliphatischer Alkohole verhält sich im Gegensatz zu Formaldehyd, Acetaldehyd, Paraldehyd, Formamid und Dimethylformamid das Chloralhydrat gleichfalls wie die oben genannten Substanzen, die mit Sudan-schwarz B eine rotviolette Farblösung geben. Wir vermuten, daß hier die Substitution der H-Atome durch Cl für die Metachromasie nach rot verantwortlich zu machen ist. WHELAND hat darauf aufmerksam gemacht, daß durch Einführung eines Chloratoms in ein aliphatisches Kohlenwasserstoffmolekül das benachbarte C-Atom relativ positiv wird. Es erfolgt eine polare Ausrichtung des Moleküls. Dieses Verhalten wird am Beispiel von Aceton und Chloraceton besonders deutlich. Während Aceton Sudanswarz B unter Bildung blauschwarzer Farbe löst, ändert sich in Chloraceton der Farbton nach rot. Das Phänomen der Polarisierung aliphatischer Kohlenwasserstoffe wird durch Halogensubstitution besonders deutlich.

Bemerkenswert erscheint uns der Befund an der Erucasäure, die als einfach ungesättigte Fettsäure nur im polarisierten Licht, aber nicht im Mischlicht eine Rotfärbung zeigt. Es ist dabei zu erwähnen, daß der Roteffekt im polarisierten Licht nach Behandlung der Erucasäure mit im 70%igen Äthylalkohol gelöstem Sudanswarz B an den Fettsäureteilchen zur Beobachtung kommt. Im Mischlicht erscheinen die Fettsäureteilchen schwachgrau gefärbt.

Diese bei Zimmertemperatur feste Fettsäure leitet über zu den Substanzen, die in fester Form mit im 70%igen Äthylalkohol gelöstem Sudanswarz B behandelt wurden und dann eine Änderung des Farbcharakters herbeiführten. Die festen Benzolabkömmlinge Thymol, Resorcin, Pyrogallol und  $\alpha$ -Naphthol verursachen den genannten Farbumschlag.

Unter den geprüften Lipoiden sind es Lecithin und Sphingomyelin, die sich bei Behandlung mit im 70%igen Äthylalkohol gelöstem Sudanswarz B rotviolett anfärben. Während dieser Effekt bei Sphingomyelin und Gangliosid nur im polarisierten Licht erkennbar ist, ist der Farbumschlag bei Lecithin so intensiv, daß er auch bei Betrachtung im durchfallenden Mischlicht deutlich wird. Cholesterine und Cerebroside werden nur grauschwarz angefärbt. Wie durch die Untersuchungen von LENNERT und WEITZEL bekannt, verhalten sich die aliphatischen Alkohole negativ, das heißt, Sudanswarz B wird in ihnen unter Beibehaltung der schwarzen Farbe gelöst. Dies können wir für folgende Alkohole bestätigen: Äthylalkohol, n-Propylalkohol, Isopropylalkohol, n-Butylalkohol, n-Amylalkohol, Isoamylalkohol, prim. n-Hexylalkohol,

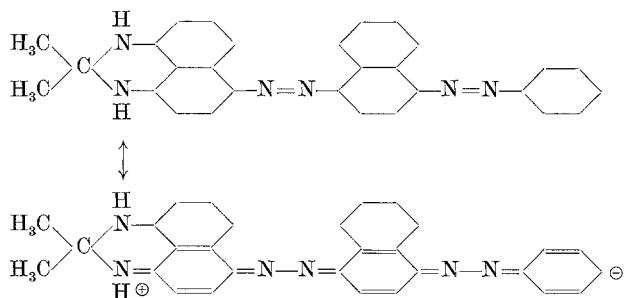
Octylalkohol sowie Äthylenglykol und Glycerin. Methylalkohol, Trimethylalkohol und n-Nonylalkohol nehmen bezüglich ihrer Reaktion mit Sudanschwarz B eine Zwischenstellung ein. Während das Sudanschwarz B mit diesen Stoffen auf dem Objektträger unter Bildung einer blauschwarzen Farbe in Lösung geht, sieht man unter dem Mikroskop um die Farbstoffteilchen, die vom Rand her in Lösung gehen, rote Schlieren entstehen, die sich nach kurzer Zeit schwarz färben. Sind die Farbstoffteilchen vollständig gelöst, dann imponiert auch unter dem Mikroskop die Farblösung als schwarz. Es scheint so zu sein, daß während des Lösungsvorganges eine kurz dauernde Anregung der Farbstoffteilchen erfolgt.

Dieser Befund leitet über zu dem Verhalten einer großen Gruppe von Substanzen, die gleichfalls während der Lösung des Farbstoffes rote Schlieren zeigen, die später verschwinden. Wir haben diese Stoffe in der Tabelle 1 besonders hervorgehoben.

Die systematische Untersuchung von Sudanschwarz B gegen verschiedene organische Substanzen hat ergeben, daß der Farbstoff unter besonderen Bedingungen imstande ist, seinen Farbcharakter zu ändern.

Wir haben in dem Wechsel von blauschwarz nach rot einen echten Metachromasieeffekt vor uns, der bei bestimmten Lipoiden im polarisierten Licht besonders deutlich in Erscheinung tritt, aber prinzipiell auf den gleichen Effekt zurückzuführen ist. Eine Gegenüberstellung der metachromatisch rot reagierenden Substanzen mit den orthochromatischen ergibt an diesem Modell einen Hinweis auf die Bedingungen, die die Voraussetzung des Farbumschlages bilden.

Will man das beobachtete Phänomen der Farbtonänderung erklären, so bietet sich uns folgende Vorstellung an. Der Farbstoff ist in sich neutral, d. h., er liegt in nicht ionisierter Form vor. Wir vermuten als Grundlage der Farbtonänderung eine Änderung im Zustand des Moleküls, die vom Lösungsmittel her erfolgt. Diese Anregung wird wohl an der endständigen Azogruppe erfolgen, indem eine Änderung in der Lage der Doppelbindung eintritt, die im Rahmen der Mesomeriemöglichkeiten in folgender Weise denkbar wäre:



Die beiden Formeln sollen nur als ein Beispiel unserer Vorstellung dienen. Welche der mesomeren Formen für den aufgehellten Farbton des Sudanschwarz verantwortlich ist, können wir nicht sagen.

WHELAND führt für neutrale Farbstoffe aus, daß ihre Farbstoffeigenschaft nicht von einer Überführung in ionisierten Zustand abhängig ist. Für diese Eigenschaft ist vielmehr ein Resonanzvorgang im Molekül von Bedeutung. Wird das Farbstoffmolekül in seiner Resonanz beeinflusst, daß vermehrt konjugierte Doppelbildungen auftreten, dann soll eine Verschiebung der Absorption zum langwelligen Teil des Spektrums eintreten. Dieser Vorgang könnte bei der chinoiden Form unseres Farbstoffes vorliegen. Demnach wird die Wellenlänge und die Intensität der Absorption eines Farbstoffes von der Resonanz bestimmt, und diese ist wiederum von der Zahl der konjugierten Doppelbildungen abhängig.

Es handelt sich somit um ein vom Lösungsmittel abhängiges Phänomen. Wir haben einen Teil der untersuchten Substanzen mit dem  $p_H$ -Meter Type E 196 S der Firma Metrohm AG in Herisau (Schweiz) geprüft. Dabei ergab sich, daß alle diese Stoffe, die eine Aufhellung der Farbe am Sudanschwarz B-Molekül herbeiführen können, einen Ausschlag nach der sauren Seite zeigten. Im Gegensatz dazu schlug das  $p_H$ -Meter bei Lösungsmitteln, die ohne Einfluß auf den Farbcharakter von Sudanschwarz B sind, nach der alkalischen Seite aus oder verhielt sich neutral.

Auf Grund dieser Beobachtungen möchten wir annehmen, daß hier von Substituenten abhängige elektrostatische Vorgänge eine Rolle spielen. Metachromasie würde dann auftreten, wenn durch das Lösungsmittel innerhalb des Farbstoffmoleküls eine Verschiebung und polare Ausrichtung der Ladungen bewirkt wird. Der Wechsel zwischen Schwarzblau und Rot wäre dann durch verschiedene Mesomerieformen bedingt.

Bei den geprüften Lipoiden ist bemerkenswert, daß die Lipide einen intensiven Metachromasieeffekt des Sudanschwarz B hervorrufen, die als Dipole bekannt sind (Lecithin, Sphingomyelin). Es sei damit nicht gesagt, daß der amphotere Charakter dieser Stoffe für den oben genannten Vorgang verantwortlich ist, geben doch andere polare Stoffe (z. B. Formamid) keinen Metachromasieeffekt. Der Farbstoff wird an die genannten Phosphorlipide (Lecithin und Sphingomyelin), die als Myelinbildner bekannt sind, offenbar geordnet angelagert.

Unseres Erachtens vermittelt die Beobachtung einer Farbtonänderung an einem neutralen Farbstoff Einblick in den Vorgang der Metachromasie der Azofarbstoffe. Sie kann als Modell für neutrale Lipoidfarbstoffe dienen: Die Metachromasie kommt zustande, wenn im Farbstoffmolekül durch elektrostatische Vorgänge im Lösungsmittel eine Verschiebung der Ladungen im oben erwähnten Sinne erfolgt.



Die Forderung von SYLVÉN, daß für die Metachromasie die Anwesenheit von Wasser erforderlich ist, gilt nicht für Sudanschwarz B. Bei der Metachromasie ionisierter Farbstoffe scheint es sich um einen anderen Vorgang zu handeln.

Der Farbstoff wurde im aufsteigenden Papierchromatogramm gegen verschiedene Lösungsmittel untersucht. Äther, Isoamylalkohol, Cyclohexanol und Methylbenzoat zeigen eine einheitliche Wanderung des Farbstoffes in blauschwarzer Farbe. Auch an der Grenze des Farbstoffes gegen das weiterwandernde Lösungsmittel kommt es zu einer sauberen schwarzen Front. In Äthylalkohol und Aceton zeigt der Farbstoff an der Front gegen das allein weiterwandernde Lösungsmittel eine schmale rote Zone. Eine solche Zone ist besonders stark ausgeprägt, wenn der Farbstoff in Methylalkohol läuft. Wir beziehen diesen Effekt auf eine geringe Anregung des Farbstoffmoleküls durch diese Lösungsmittel (Aceton, Äthylalkohol, Methylalkohol). In Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform und Benzol läuft der Farbstoff als dunkelrote Säule, die mit einem schwarzen Rand gegen das allein weiterwandernde Lösungsmittel abschließt. Hier kristallisiert der Farbstoff aus. In Decan tritt ein einheitlicher rotvioletter Farbton auf. Nach Abtrocknung ändert sich wie auf dem Objektträger der rote bzw. rotviolette Farbton wieder nach blauschwarz. Es besteht kein Grund für die Annahme einer Verunreinigung des Farbstoffes im Sinne einer roten Beimischung.

Das metachromatisch rote Aufleuchten der Markscheide im polarisierten Licht beruht auf einer Lösung des Farbstoffes in polaren Lipoiden. Bei Betrachtung im Mischlicht ist dieser Effekt maskiert, weil nichtpolare Lipide den Farbstoff in seiner blauschwarzen Farbe lösen. Färbt man die Markscheide nur blaß an, dann fällt ein schwarzbrauner Mischton auf.

Die Farbtonänderung von Sudanschwarz B nach rot bei Betrachtung im polarisierten Licht kann nicht durch das Auftreten von anomalen Polarisationsfarben erklärt werden. Der Farbeffekt wird durch Drehung des Präparates nicht verändert.

Die Beobachtung der Farbtonänderung von Sudanschwarz B führt in die Problematik der Metachromasie. Die an bestimmten Gewebstrukturen und im Reagensglas herbeigeführte Farbtonänderung kann als Metachromasie bezeichnet werden, weil wie bei den Thiazinfarbstoffen im histologischen Schnittpräparat und im Reagensglas mit dem reinen Farbstoff Änderungen des Farbwertes auftreten. Dabei ist die von uns wiedergegebene Vorstellung einer vom Lösungsmittel verursachten Überführung in eine mesomere Form als Grundlage der Farbtonänderung nicht bewiesen. Sie stellt den Versuch einer Erklärung dar. Wir können heute nicht entscheiden, ob die hier behandelte Metachromasie nicht doch auch wie bei den Thiazinfarbstoffen durch vom Lösungsmittel bestimmte Anordnung der Farbstoffteilchen bedingt ist.

### Zusammenfassung

Es wurde das Verhalten des Farbstoffes Sudanschwarz B gegen 65 verschiedene organische Substanzen geprüft. Sudanschwarz B ändert in einer größeren Zahl von Fettlösungsmitteln seinen Farbcharakter von blauschwarz nach rot. Alle geprüften aliphatischen und aromatischen Kohlenwasserstoffe sowie alle Oxyderivate der aromatischen Kohlenwasserstoffe einschließlich ihrer Halogenderivate und die halogenisierten Paraffine bewirken eine Aufhellung des Farbtones von blauschwarz nach rot, während die große Gruppe der aliphatischen Alkohole, Aldehyde und Ketone mit Ausnahme von Chloraceton sowie die gesättigten aliphatischen Carbonsäuren ohne Einfluß auf den Farbcharakter sind. Von den geprüften Lipoiden wurde Sudanschwarz B in Lecithin, Sphingomyelin und Gangliosid gleichfalls metachromatisch rot gelöst. Der Metachromasieeffekt ist vom Lösungsmittel abhängig im Sinne einer durch das Lösungsmittel bestimmten polaren Ausrichtung der Ladungen innerhalb des Farbstoffmoleküls.

Die Arbeit wurde mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

### Literatur

DIEZEL, P. B.: Die Stoffwechselstörungen der Sphingolipoide. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957. — GERARD, P.: Sur l'emploi du Noir Soudane B pour reconnaître les inclusions de vaseline liquide. *Bull. Histol. appl.* **12**, 92 (1935). HARMS, H.: Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie, Teil II, S. 55. Kamp-Lintfort: Staufen-Verlag 1957. — LENNERT, K., u. G. WEITZEL: Zur Spezifität der histologischen Fettfärbungsmethoden. *Z. wiss. Mikrosk.* **61**, 20 (1952). — SYLVÉN, B.: Metachromatic dye-substrate interactions. *Quart. J. Microsc. Sci.* **95**, 327 (1954). — WHELAND, G. W.: The theory of resonance and its application to organic chemistry. New York: John Wiley & Sons 1945.

Privatdozent Dr. PAUL B. DIEZEL, Pathologisches Institut der Universität  
Heidelberg, Voß-Straße 2

---