

| | |
|------------------------------------|--------------------------------------|
| Rhodinol | $C_{10}H_{17} \cdot OH$ |
| Rhodinolchlorid | $C_{10}H_{17} \cdot Cl$ |
| Rhodinoljodid | $C_{10}H_{17} \cdot J$ |
| Rhodinolcyanid | $C_{10}H_{17} \cdot CN$ |
| Rhodinoläther | $C_{20}H_{34}O$ |
| Rhodiolessigsäureester | $C_{10}H_{17} \cdot O \cdot C_2H_5O$ |
| Rhodinolbenzoesäureester | $C_{10}H_{17} \cdot O \cdot C_7H_5O$ |
| Rhodinolmerkaptan | $C_{10}H_{17} \cdot SH$ |
| der Aldehyd „Rhodinal“ | $C_{10}H_{16}O$ |
| Rhodinolsäure | $C_{10}H_{16}O_2$ |
| Dipenten | $C_{10}H_{16}$ |
| Polyterpene | $(C_5H_8)_n$ |

Weiterhin entstanden:

| | |
|------------------------------------|----------------|
| Ein mehrwertiger Alkohol | $C_6H_{14}O_5$ |
| Eine Säure | $C_6H_{12}O_8$ |

und als Spaltungsprodukte:

Valeriansäure, Buttersäure, Essigsäure, Ameisensäure, Oxalsäure und Kohlensäure.

Vorstehende Untersuchungen wurden von mir in dem chemisch-pharmaceutischen Laboratorium der königlichen Universität Breslau ausgeführt und erlaube ich mir auch an dieser Stelle Herrn Geheimen Regierungsrat Professor Dr. Poleck meinen besten Dank auszusprechen für seine gütigst erteilten Ratschläge und Unterstützung.

Mitteilung aus dem pharmaceutischen Institut der Universität Dorpat.

Beiträge zur Chemie des Blütenstaubes von *Pinus sylvestris*.

Von Karl Kresling.

(Eingegangen am 1. VI. 1891.)

Die Litteratur über den Blütenstaub der gemeinen Kiefer, *Pinus sylvestris*, wie überhaupt der phanerogamen Gewächse, ist sehr gering. Nur in einer Hinsicht ist er oft Gegenstand der Besprechung gewesen. Die wichtige Rolle, die ihm im Haushalte der Bienen zukommt, lenkte nämlich die Aufmerksamkeit der Bienenzüchter auf ihn, und es sind zahlreiche Versuche ausgeführt worden, um die Frage zu entscheiden,

ob das Bienenwachs im Körper der Bienen gebildet, oder als solches schon präformiert mit dem Blütenstaub aufgenommen wird. Diese Versuche beschränken sich aber meist auf die Beobachtung, ob die Ausbildung des Waxes im gleichen Verhältnis steht zu der Pollenaufnahme oder auch sistiert wird, wenn den Bienen die Möglichkeit genommen wird, den Pollen einzutragen.

Was speziell die Kiefer betrifft, so hat man beobachtet, daß die Bienen sie nur dann befliegen, wenn Mangel an anderem Blütenstaub eintritt. A. v. Planta¹ erklärt dieses durch den relativ hohen Gehalt des Pinuspollens an unverdaulicher Cuticula und seinen niedrigen Stickstoffsubstanzegehalt. Den hohen Cuticulagehalt bringt er wiederum in Zusammenhang mit dem Vorhandensein der zu beiden Seiten des Pollens angebrachten Luftsäcke, die ihm als Luftballons dienen und ihn befähigen, sich längere Zeit schwebend zu erhalten und, weil die weiblichen Blüten der Kiefer sich an der Krone des Baumes befinden, ihm auch das Emporsteigen erleichtern.

Auf seine chemischen Bestandteile untersuchte den Pinuspollen A. v. Planta.² Das Material wurde von ihm selbst gesammelt. Seine Resultate beziehen sich auf ein Material, das, über Schwefelsäure getrocknet, nur noch 7,66 Proz. Wasser enthielt. Er fand 3,3 Proz. Asche. Eine quantitative Analyse der Asche führte er nicht aus. Den Stickstoffgehalt ermittelte er nach der Kjeldahl'schen Methode und fand ihn im Mittel zu 2,65 Proz. Seine Untersuchung auf stickstoffhaltige Bestandteile ergab kein Globulin, wohl aber Peptone, Amide, Hypoxanthin und Guanin. An Kohlehydraten fand er 11,24 Proz. Rohrzucker und 7,06 Proz. Stärke. Den Gehalt an Cuticula bestimmte er durch Kochen mit 5proz. alkoholischer Kalilösung und mit $\frac{1}{2}$ -Normal-salzsäure zu 21,97 Proz. Im ätherischen Extrakt erhielt er Cholesterinreaktionen. Ferner fand er 10,63 Proz. Fettsäuren und 3,56 Proz. eines wachsartigen Körpers, der bei 70° schmolz und 7,93 Proz. an harzartigen Bitterstoffen.

In demselben Jahre veröffentlichten E. Schulze und A. v. Planta³ eine Untersuchung „über das Vorkommen von Vernin im Blütenstaub von *Corylus avellana* und *Pinus sylvestris*“. Sie stellten diesen Körper durch Fällen aus dem durch Bleiessig geklärten Wasserauszuge mit

¹ Landw. Vers. St. Bd. XXXII, Berlin 1886.

² l. c.

³ Zeitschr. f. physiol. Chem. Hoppe-Seyler. Bd. 10, p. 326.

salpetersaurem Quecksilberoxyd dar. Aus dem durch H_2S zerlegten Quecksilberniederschlage schied sich dann aus der Wasserlösung, nach dem Neutralisieren mit Ammoniak und Eindampfen auf ein geringes Volumen, das Vernin zuerst amorph und nachher krystallinisch aus. Das daraus dargestellte Silbersalz hatte die Zusammensetzung $C_{16}H_{18}Ag_2N_8O_8$.

Die Asche des Blütenstaubes von *Pinus sylvestris* untersuchten A. Famintzin und D. S. Przybytek.¹ Ihre Resultate gebe ich nachstehend neben den von mir gewonnenen wieder.

Die hohe Bedeutung, die dem Blütenstaub im Pflanzenleben unbedingt zukommt und die Thatsache, dafs er in chemischer Hinsicht noch sehr wenig untersucht ist, war es, die mich auf Vorschlag des Herrn Professor Dr. G. Dragendorff zu dieser Arbeit veranlafte. Das Material hierzu, welches Herr Professor Dragendorff mir zu überlassen die Güte hatte, war ihm von der russischen pharmaceutischen Handelsgesellschaft zu St. Petersburg zur Verfügung gestellt.

I. Untersuchung der anorganischen Bestandteile.

Bestimmung der Feuchtigkeit. Der vorliegende Pollen hatte schon längere Zeit, vielleicht einige Jahre, gelagert, wodurch der Wassergehalt beeinflusst sein konnte; es erschien mir daher nicht ratsam, die Resultate direkt auf die lufttrockene Substanz zu beziehen. Auch durch Stehenlassen über Schwefelsäure und Calciumoxyd im Exsiccator konnte keine Gewichtskonstanz erzielt werden. Der Gewichtsverlust betrug nach etwa 3 Monaten 2,32 Proz. Die Wasserbestimmung wurde daher bei 100° C. vorgenommen und alle Resultate auf so getrocknetes Material bezogen.

Während des Trocknens verlor der Pollen seine gelbe Farbe und wurde hellbraun, und zwar schon beim längeren Stehen in einer Temperatur unter 80°. Die Bestimmungen wurden zum Teil in einem Luft- und zum Teil in einem Wassertrockenschrank vorgenommen. Die Resultate waren in beiden Fällen gleich.

| | | |
|--------------------------------|----------------|----------------------|
| Im Lufttrockenschrank verloren | 1,971 g Pollen | 0,173 g = 8,77 Proz. |
| „ Wassertrockenschrank | „ 1,522 „ „ | 0,1322 „ = 8,69 „ |
| | im Mittel | 8,73 Proz. |

¹ Bullet. de l'acad. imp. des scien. de St. Petersb. Bd. XXX, p. 358.

Aschenbestimmung. Der Pollen wurde in einer Platinschale verbrannt und der Rückstand bei schwacher Rotglut auf ein konstantes Gewicht gebracht. Es hinterblieb eine mit Sand und feinem Thon gemischte Asche von etwas rötlichem Aussehen. Wurde sie auf dem Gebläse erhitzt, so nahm sie eine grünliche Farbe an. Beim Abkühlen wurde sie aber wieder rötlich. Der Veraschungsprozess vollzog sich sehr leicht.

18,276 g Pollen lieferten 1,0165 g Asche = 5,56 Proz.
 11,5325 " " " 0,630 " " = 5,46 "
 im Mittel 5,51 Proz. Asche.

Um einerseits den Gehalt des Pollens resp. der Asche an mechanisch beigemengtem Sand und Thon und andererseits denjenigen an löslichen Bestandteilen zu ermitteln, wurde der Glührückstand zuerst mit HCl und darauf mit 5proz. Natronlauge ausgekocht und der zurückgebliebene Sand gegläht und gewogen.

1,0165 g Asche hinterließen 0,4555 g Sand = 44,81 Proz. der Asche = 2,49 Proz. des Pollens,
 0,630 g Asche hinterließen 0,2909 g Sand = 46,17 Proz. der Asche = 2,52 Proz. des Pollens.

Somit enthält der Pollen im Mittel 2,50 Proz. in Salzsäure und verdünnter Natronlauge unlösliche Beimengungen.

Durch HCl und verdünnte Natronlauge waren somit in Lösung gegangen:

von 1,0165 g Asche 0,561 g = 55,19 Proz. der Asche = 3,07 Proz. des Pollens,
 von 0,630 g Asche 0,3391 g = 53,83 Proz. der Asche = 2,94 Proz. des Pollens,
 im Mittel 3,0 Proz.

Die Kieselsäure wurde in beiden durch NaOH erzielten Lösungen gemeinsam bestimmt. Sie wurde durch HCl gallertartig abgeschieden und wog 0,0914 g. Auf 0,9001 g Asche bezogen, in Prozenten 10,15 lösliche Kieselsäure. Sie war vollkommen weiß, löste sich in schwacher Natronlauge, Natriumkarbonatlösung und Fluorwasserstoffsäure.

Analyse der Asche. Die Asche wurde durch Glühen im Platintiegel bei schwacher Rotglut in größerer Menge dargestellt. Die qualitative Analyse ergab viel Kalium und Phosphorsäure; ferner Natrium, Magnesium, Calcium, Eisen, Aluminium, Schwefelsäure, Chlor und Mangan in Spuren.

Zur quantitativen Analyse wurden 15,520 g Asche in Arbeit genommen. Sie enthielt 6,8445 g Sand und Thon, folglich lagen 8,6755 g Reinasche zur Analyse vor.

Bei der Zusammenstellung der Resultate, welche ich bei der Aschenanalyse erzielte,¹ gebe ich auch die von A. Famintzin und D. Przybytek erhaltenen wieder. Die Asche enthält:

| | | nach Famintzin und Przybytek: |
|--------------------------------|-----------|----------------------------------|
| K ₂ O | 37,16 | 34,95 Proz. |
| Na ₂ O | 1,62 | 3,62 " |
| MgO | 4,94 | 6,99 " |
| CaO | 4,63 | 0,88 " |
| P ₂ O ₅ | 28,70 | 28,56 " |
| SO ₃ | 4,38 | 14,83 " |
| Cl | 1,35 | 0,99 " |
| Fe ₂ O ₃ | 4,08 | } 5,30 " |
| Al ₂ O ₃ | 1,86 | |
| SiO ₂ | 10,51 | nicht bestimmt |
| Mn ₂ O ₃ | in Spuren | |

Der Gehalt der Asche an SO₃ erreichte bei mir nie eine höhere Zahl als 4,38 Proz., auch wenn ich die Asche unter allen Vorsichtsmafsregeln und in ganz kleinen Portionen darstellte. Wohl aber erhielt ich über 15 Proz. SO₃ (im Mittel 15,50 Proz.), wenn ich den Pollen mit Soda und Salpeter verpuffte und die Asche gleich 3 Proz. setzte. Somit enthält der Pollen nicht allen Schwefel in Form von Schwefelsäure, sondern etwa 0,13 Proz. als unoxydierten Schwefel.

II. Untersuchung der organischen Bestandteile.

Um einen vorläufigen Einblick in die Zusammensetzung des Pollens qualitativ und quantitativ zu erlangen, schlug ich die von G. Dragendorff² empfohlene Untersuchungsmethode ein.

Zur erfolgreichen Anwendung dieser Methode mufste die Substanz fein gepulvert sein. Wenn auch die Pollenkörner von mikroskopischer Kleinheit sind, so besitzen sie doch eine so starke Hülle, dafs einzelne

¹ Über die Details der Aschenanalyse siehe meine Inauguraldissertation, Dorpat 1891.

² Die qualitative und quantitative Analyse von Pflanzen und Pflanzenteilen. Göttingen 1882.

Flüssigkeiten nur eine äußerst geringe Einwirkung auf dieselben ausüben. Besonders Petroläther, Äther, Benzol und Chloroform entzogen dem unzertrümmerten Pollen nur ganz minime Mengen eines wachsartigen Körpers, dessen Schmelzpunkt zwischen 55 und 58° C. lag. Wasser und Alkohol wirkten dagegen ziemlich energisch auf denselben ein, besonders Alkohol, der, in der Wärme angewandt, ihm am meisten entzog.

Es war schwierig, die Pollenkörner durch mechanische Mittel zu zertrümmern. Einfaches Verreiben in ganz kleinen Mengen im Achatmörser war so gut wie nutzlos; fast alle Körner blieben dabei intakt. Etwas bessere Resultate erhielt ich durch Verreiben mit grobem Glaspulver. Zu diesem Zweck wurde der Pollen mit gleichem Gewicht reinen, getrockneten Glaspulvers gemischt und dann in einem glatten Porzellanmörser in ganz kleinen Quantitäten so lange verrieben, bis das Glaspulver staubfein war und nicht mehr unter dem Pistill knisterte. Zu qualitativen Versuchen und zur Darstellung des Fettes wurde so bearbeitetes Material benutzt, zu quantitativen Bestimmungen wurde es nochmals im Achatmörser in Bruchteilen eines Grammes verrieben. Aber auch dann noch waren unter dem Mikroskop Körner zu finden, die ganz intakt erschienen, während andere wiederum nur gespalten waren.

Das so vorbereitete Material behandelte ich dann successiv mit verschiedenen Lösungsmitteln. Jede Flüssigkeit wurde 10 bis 15 Tage bei Zimmertemperatur und häufigem Umschütteln mit dem Pollen in Berührung gelassen. Auf jedes Gramm sand- und wasserfreien Pollens wurden 10 ccm des Extraktionsmittels genommen. Die Extraktion geschah in einem graduierten Cylinder mit eingeschliffenem Glasstöpsel. Zur quantitativen Bestimmung der in Lösung gegangenen Stoffe hob ich dann die klar abgesetzte Flüssigkeit mit einer Pipette in gemessener Quantität ab, filtrierte durch ein kleines Filter in eine tarierte, parallelwandige Glasschale, wusch das Filter mit dem betreffenden Lösungsmittel gut nach und wog den Rückstand nach dem Verdunsten und Trocknen bei 110° C. Der Rest des Auszuges wurde ebenfalls eingedampft und zu qualitativen Versuchen benutzt. Der Rückstand, der auf einem starken Filter gesammelt und gut ausgewaschen wurde, wurde bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur getrocknet, möglichst vollständig vom Filter genommen und zur weiteren Extraktion benutzt. Das Filter wurde für die folgenden Versuche aufgehoben.

Bei successiver Behandlung hinterließen an Trockenrückstand:

| | |
|------------------------------------|-------------|
| Petroläther ¹ | 10,15 Proz. |
| Äther | 1,86 „ |
| Alcohol absolutus | 4,73 „ |
| Wasser | 19,97 „ |

Hierauf folgte eine Extraktion mit verdünnter (4 pr. Mille) Natronlauge und 1 proz. Salzsäure.

Der Petrolätherauszug bestand aus fetten Ölen und wachsartigen Körpern. Ätherische Öle waren in ihm nicht, oder doch nur spurweise erkennbar. Der Ätherauszug bestand aus ähnlichen Fettkörpern und aus Lecithinen. Der Alkoholauszug enthielt noch Spuren von Fett und Lecithin, dann einen harzigen, sehr bitter-schmeckenden Körper, Rohrzucker und eine Substanz, die einige Gruppenreaktionen für Alkaloide gab. Gerbstoffe waren in ihm nicht nachweisbar. Der Wasserauszug bestand aus Zucker, Schleim, Eiweiß und Extraktivstoffen. Auch er gab einige Alkaloidreaktionen. Organische Säuren ließen sich ebenfalls nachweisen. Der mit verdünnter Natronlauge dargestellte Auszug enthielt ebenfalls Eiweißkörper. Ebenso auch der Salzsäureauszug.

Um zu sehen, welches Lösungsmittel für die Gewinnung der Fettsubstanz am geeignetsten wäre, behandelte ich den verriebenen Pollen nur mit je einem Lösungsmittel im Soxhlet'schen Extraktionsapparat. Dabei wurden ihm entzogen durch

| | |
|-----------------------------|-------------|
| Petroläther | 10,27 Proz. |
| Äther | 11,43 Proz. |
| Benzol | 10,30 Proz. |
| Chloroform | 11,57 Proz. |
| Alcohol absolutus | 22,49 Proz. |

Der Alkoholauszug war sehr reich an Zucker und prozentisch, im Verhältnis zu dem durch dieses Lösungsmittel bei successiver Behandlung erhaltenen Rückstande, viel beträchtlicher, wahrscheinlich deshalb, weil bei der Extraktion im Soxhlet'schen Apparat der Alkohol warm auf den Pollen einwirkte.

Diese Versuche zeigen, daß die 4 ersten Lösungsmittel ziemlich gleich auf den Pollen einwirken und ihm bis 11,57 Proz. Fette und

¹ Der hierzu benutzte Petroläther wurde zuerst über Fett rektifiziert und dann durch fraktionierte Destillation von den über 45° siedenden Anteilen befreit.

wachsartiger Körper entziehen. Wenn auch *Alcohol absolutus* am energischsten auf den Pollen einwirkt und die Extraktion mit ihm rascher erfolgt, so benutzte ich ihn dennoch nicht zur Darstellung des Fettes, weil er mit ihm auch den Zucker und andere aus dem Fett schwer zu entfernende Extraktivstoffe aufnimmt und so ein unreines Präparat liefert. Es schien mir am vorteilhaftesten, zuerst Petroläther und dann Äther anzuwenden. Petroläther, weil er ein vollkommen reines Fett, frei von jeglicher Beimengung, lieferte und Äther, weil er das in Petroläther unlösliche Lecithin zum Teil aufnahm und überhaupt die Erschöpfung vervollständigte. Trotzdem konnte ich durch diese Lösungsmittel nur etwa die Hälfte der Fettsubstanz gewinnen, weil größere Mengen eine so sorgfältige Extraktion nicht gestatteten, wie sie bei den quantitativen Versuchen ausgeführt wurde und weil es vor allen Dingen unmöglich war, das Material in größeren Quantitäten so fein zu pulvern.

Fette und wachsartige Bestandteile.

Das durch Petroläther und Äther gewonnene Fett gelangte in gesonderten Portionen zur Analyse. Wenn ich den Pollen mit Petroläther nach Möglichkeit erschöpfte, so erhielt ich ein Fett von hellgelber Farbe und frischem, aromatischem Geruche. Es hatte Butterkonsistenz und schmolz bei ca. 40°. Frisch dargestellt, roch es nicht ranzig, ein Beweis dafür, daß der Pollen im höchsten Grade die Fähigkeit besitzt, seine Bestandteile Jahre hindurch vor äußeren Einflüssen zu schützen, denn das mir zur Verfügung stehende Material war entschieden kein frisches. Auch während eines Zeitraumes von über einem Jahr war keine weitere Veränderung an dem Fett zu bemerken, wenn es im Pollen verblieb, welcher im Laboratorium lufttrocken aufbewahrt wurde. Das Fett war leichtlöslich in Chloroform, schwerer löslich in Äther, Benzol und Alkohol. Beim längeren Stehen an der Luft verminderte sich seine Löslichkeit in Petroläther, und aus der heifs gesättigten Lösung schied sich beim Erkalten ein körniger Bodensatz ab, der sich nur schwer wieder löste und aus den höher schmelzenden Bestandteilen des Fettes bestand.

Diese Thatsache veranlafte mich, eine vorläufige Scheidung des Fettes in ein hoch- und ein niedrigschmelzendes vorzunehmen. Zu diesem Zweck löste ich es in leichtsiedendem Petroläther und stellte die warm gesättigte Lösung dann auf einige Tage an einen kühlen Ort.

Es bildete sich ein ziemlich bedeutender Niederschlag, der in der Kälte abfiltriert, mit kaltem Petroläther nachgewaschen und auf porösen Thonplatten getrocknet, eine weißse körnige Masse lieferte, die nochmals aus Petroläther umkrystallisiert, bei $68,50^{\circ}$ C. schmolz. Diesen Teil des Fettes bezeichne ich als Wachs. Das in Petroläther gelöst gebliebene Fett stellte nach dem Abdestillieren desselben eine sehr weiche, gelbe Masse dar, die bei ca. 25 bis 28° schmolz.

Auf diese Weise zerlegte ich das durch Petroläther extrahierte Fett in zwei verschiedene Körper von ungleichem Schmelzpunkt und ungleicher Konsistenz, und untersuchte sie gesondert.

I. In Petroläther leichtlösliches Fett.

30 g dieses Fettes wurden mit 35 g Bleioxyd verseift, die Bleiseife mit warmem Wasser ausgekocht und das Waschwasser eingedampft. Es hinterblieb eine bräunlich-gelbe Flüssigkeit, die mit Ätheralkohol aufgenommen und in einer tarierten Platinschale so lange verdunstet wurde, bis sie in gleichen Zeiten gleichen Gewichtsverlust hatte. Sie betrug nach Abzug der Aschensubstanz 1,585 g und bestand aus reinem Glycerin. Sie gab mit Kaliumbisulfat erwärmt Akrolein und hatte im Abbé'schen Refraktometer bei 20° C. den Brechungsindex 1,477.¹

Nach Addition des für diese Glycerinbestimmungsmethode gefundenen Korrektionswertes² (6 Proz. vom gefundenen Glycerin) betrug der Glyceringehalt dieses Fettes 5,6 Proz. Dafs diese Substanz in der That reines Glycerin war, ergab auch ihre Elementaranalyse.

0,368 g lieferten, über Kupferoxyd im Sauerstoffstrome verbrannt,
 0,5295 g $\text{CO}_2 = 39,21$ Proz. C und 0,2900 g $\text{H}_2\text{O} = 8,75$ Proz. H.

Berechnet aus $\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$:

C 39,13 Proz.

H 8,69 „

Der Versuch, das Bleipflaster auf Ölsäuren zu untersuchen, mißglückte vollständig. Zur Entfernung der unverseifbaren Bestandteile behandelte ich das Pflaster zuerst mit Petroläther. Hierbei wurde die Masse sehr voluminös, und der abgegossene Petroläther filtrierte fast gar nicht, löste aber auch einen Teil der Bleiseifen.

¹ Nach Strohmer hat reines Glycerin bei $17,5^{\circ}$ C. den Brechungsindex 1,4727, nach Lange bei 13° 1,4758.

² Arbeiten aus d. kaiserl. Gesundheitsamt. Berlin 1889. V. 5, p. 349.

Äther verhielt sich ebenso, löste aber doch den größten Teil des Bleipflasters auf. Beide Auszüge hinterließen Rückstände, die für das ölsäure Bleioxyd zu wenig Blei enthielten.

Diese Lösungsmittel hatten somit neben ölsäurem Bleioxyd auch Fettalkohole, die ich später nachwies, gelöst.

Der Ätherauszug lieferte, mit Salzsäure zersetzt, eine bräunlich gefärbte Säure, die bei 25° C. schmolz und mit Fettalkoholen verunreinigt war.

Dieser Versuch zeigte, daß durch direktes Verseifen des Fettes mit Bleioxyd die Analyse nicht ausführbar war, und liefs ich daher bei den späteren Analysen immer eine Verseifung mit Natronlauge vorausgehen.

100 g des Fettes wurden zu diesem Zwecke mit 25 proz. Natronlauge verseift, welcher Prozentsatz ziemlich leicht vor sich ging. Nach dem Erkalten konnte die gelbe Seife von der braungefärbten Lauge leicht abgehoben werden. Zur vollständigen Entfernung des Glycerins löste ich sie in siedendem Wasser, füllte sie mit gesättigter Chlornatriumlösung und trocknete sie bei 40 bis 50°.

Die beiden Mutterlaugen benutzte ich zur Bestimmung des Glycerins und zum Nachweis von flüchtigen Fettsäuren, deren Natronsalze auch bei Gegenwart von Kochsalz noch in Lösung bleiben. Zu diesem Zweck wurden die Laugen gemischt und in zwei gleiche Teile geteilt. In der einen Hälfte bestimmte ich das Glycerin, indem ich die Lauge mit Schwefelsäure genau neutralisierte, dann eindampfte und das Glycerin mit Ätheralkohol aufnahm. Dasselbe war noch mit den Natronsalzen verunreinigt, konnte aber durch wiederholtes Lösen mit Ätheralkohol davon befreit werden. Die Menge desselben, wie vorhin bestimmt, betrug 2,5135 g somit $[(2 \times 2,5135) + 6,0 \text{ Proz.}] = 5,33 \text{ Proz. Glycerin}$. Daß bei dieser Bestimmung etwas weniger Glycerin erhalten wurde, erklärt sich durch die kompliziertere Abscheidungsmethode.

Zur Untersuchung auf flüchtige Fettsäuren wurde die andere Hälfte der Lauge auf ein geringes Volumen eingedampft und nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure der Destillation unterworfen. Das Destillat roch zwar stark nach flüchtigen Fettsäuren, besaß jedoch kaum eine saure Reaktion und machte aus kohlensaurem Natron keine Kohlensäure frei. Der Geruch deutete auf Baldrian- und Buttersäure. Die letztere liefs sich auch mit Bestimmtheit nachweisen. Das Destillat, mit Natronlauge alkalisch gemacht und eingedampft, gab auf Zusatz von Alkohol und Schwefelsäure beim Erwärmen den angenehmen Ananasgeruch des Buttersäureäthyläthers. Das charakteristische Verhalten des

Kalksalzes der Buttersäure, sich in der Kälte leicht zu lösen und beim Kochen auszufallen, konnte nur sehr undeutlich beobachtet werden. Essigsäure war nicht zugegen. Die Anwesenheit anderer flüchtigen Fettsäuren blieb unentschieden. Silbernitrat verursachte im Destillat nur eine sehr geringe Fällung, so daß das Silbersalz nicht näher untersucht werden konnte.

Die trockene Natronseife gab an Äther geringe Mengen der unverseifbaren Bestandteile des Fettes ab und wurde daher, gepulvert, mit diesem Lösungsmittel erschöpft und das in Lösung Gegangene zur Bestimmung der Fettalkohole aufgehoben. Die restierende Natronseife wurde durch Kochen mit verdünnter Salzsäure zersetzt.

Die freien Fettsäuren bildeten eine bräunliche, bei gewöhnlicher Temperatur weiche Masse. Diese wurde mit einem größeren Überschufs von Bleioxyd verseift. Das aus Bleiseifen und Bleioxyd bestehende Gemenge stellte nach dem Erkalten und Austrocknen eine sehr harte Masse dar, die sich vermöge ihrer Porosität vorzüglich zur Extraktion mit Äther eignete. Sie wurde zerkleinert und so lange mit Äther behandelt, bis nichts mehr davon aufgenommen wurde. Wenn auch jetzt, trotz des Überschusses von Bleioxyd, die Massen aufquollen, so erwies es sich doch als vorteilhaft, den Rückstand nach dem Entfernen des Äthers nochmals mit wenig Wasser zu digerieren, wodurch wieder eine poröse Masse erhalten wurde, die die Extraktion in hohem Grade begünstigte. Nach vollendeter Extraktion wurden sowohl der Rückstand als auch der durch Äther gelöste Teil der Bleiseife mit Salzsäure zersetzt und die abgeschiedenen Fettsäuren näher untersucht.

Ölsäure des ätherlöslichen Bleisalzes.

Die frisch abgeschiedene Säure war braun gefärbt, bei gewöhnlicher Temperatur flüssig und besaß keinen ranzigen Geruch. Ich löste sie in Äther und entfärbte die Lösung durch Tierkohle. Nach dem Abdestillieren des Äthers hinterblieb die Säure als klare, nur hellgelb gefärbte Flüssigkeit; als solche wurde sie direkt zu den Analysen verwandt.

Die Elementaranalyse gab bei der Verbrennung über Kupferoxyd im Sauerstoffstrom folgende Resultate:

0,2705 g Substanz lieferten 0,755 g CO_2 = 76,15 Proz. C und
0,284 g H_2O = 11,66 Proz. H.

0,1765 g Substanz lieferten 0,494 g CO_2 = 76,35 Proz. C und
0,1905 g H_2O = 12,00 Proz. H.

| Mittel: | Berechnet für $C_{18}H_{34}O_2$: |
|---------|-----------------------------------|
| C 76,25 | 76,59 Proz. |
| H 11,83 | 12,06 „ |

Analyse des Silbersalzes. Die Ölsäure wurde mit alkoholischer Natronlauge gekocht und zur Entfernung des überschüssigen Ätznatrons mit Kohlensäure gesättigt, filtriert, zur Trockne verdampft und mit 97 volumproz. Alkohol aufgenommen. Diese Operation wurde so oft wiederholt, bis alles überschüssige Ätznatron entfernt war und der Verdampfungsrückstand sich im heißen Alkohol vollständig klar löste. Das Silbersalz wurde aus der alkoholischen Natronsalzlösung durch Fällen mit alkoholischer Silbernitratlösung dargestellt. Der entstandene weisse, voluminöse Niederschlag wurde mit Hilfe der Wasserluftpumpe abfiltriert, mit Alkohol ausgewaschen und ohne Anwendung von Wärme im Exsiccator getrocknet. Das Salz stellte ein grauweisses Pulver dar, war amorph und konnte längere Zeit an einem dunklen Ort aufbewahrt werden, ohne daß eine merkliche Reduktion eintrat.

0,2435 g des Salzes gaben: 0,4955 g CO_2 = 55,50 Proz. C;
 0,1825 g H_2O = 8,32 Proz. H und 0,0680 g Ag = 27,92 Proz. Ag.
 0,2085 g des Salzes gaben: 0,4185 g CO_2 = 54,82 Proz. C;
 0,149 g H_2O = 7,94 Proz. H und 0,058 g Ag = 27,86 Proz. Ag.

| Mittel: | Berechnet für $C_{18}H_{38}AgO_2$: |
|----------|-------------------------------------|
| C 55,16 | 55,53 Proz. |
| H 8,13 | 8,48 „ |
| Ag 27,89 | 27,76 „ |

Somit ergeben die vorstehenden Analysen für die isolierte Ölsäure die empirische Formel $C_{18}H_{34}O_2$.

Zur weiteren Bestimmung der Molekulargröße wurde die Säure mit überschüssiger alkoholischer $1/3$ -Normalnatronlauge in der Wärme verseift und der Überschufs der Lauge mit alkoholischer $1/3$ -Normalsalzsäure zurücktitriert. Als Indikator diente Phenolphthaleïn.

0,519 g Ölsäure erforderten zu ihrer Sättigung 5,45 ccm $1/8$ -Normalnatronlauge = 0,07266 NaOH. Hiernach berechnet sich das Molekulargewicht der Ölsäure auf 285,7.

0,721 g Ölsäure = 7,65 ccm $1/8$ -Normalnatronlauge = 0,102 g NaOH; Molekulargewicht = 283,3.

Somit betrug das ermittelte Molekulargewicht für die Ölsäure im Mittel 284,5 gegenüber dem berechneten 282 für $C_{18}H_{34}O_2$.

Zur weiteren Charakterisierung der Ölsäure ermittelte ich die Hübl'sche Jodzahl.

Die Ölsäure wurde in Chloroformlösung mit einem Überschufs der Hübl'schen Jodlösung versetzt, deren Jodgehalt unmittelbar vor dem Versuch ermittelt war. Nach 4stündigem Einwirken wurde der Überschufs mit Natriumhyposulfitlösung zurücktitriert. Die hierzu verwandte Jodlösung enthielt 0,022933 g Jod im Kubikcentimeter. Die Natriumhyposulfitlösung war nach der Volhard'schen Methode auf Jod eingestellt und zeigte mit 15 ccm 0,2 g Jod an. Als Indikator diente Stärkelösung.

0,397 g Ölsäure entfärbten 15,75 ccm Jodlösung = 0,3612 g Jod = 90,90 Proz.

0,379 g Ölsäure = 14,55 ccm Jodlösung = 0,333675 g Jod = 88,04 Proz.

Somit addierte die Ölsäure im Mittel 89,47 Proz. Jod. Die Theorie verlangt für $C_{18}H_{34}O_2$ = 90,07 Proz.

Die vorhergehenden Versuche zeigen, dafs die flüssige Ölsäure zur Akrylsäurereihe gehört und die Formel $C_{18}H_{34}O_2$ besitzt.

Feste Fettsäuren.

Die durch Salzsäure aus dem Gemisch von Bleisalz der Fettsäuren und Bleioxyd abgeschiedenen Säuren schmolzen bei 44° C. Wie es sich später herausstellte, enthielten sie noch etwas Ölsäure beigemischt, die nach dem Ausfällen der festen Fettsäuren zurückblieb und als solche erkannt werden konnte. Das Säuregemisch wurde nach der Heintz'schen Methode in so viel 97 volumproz. Alkohol gelöst, dafs die Lösung auch in der Kälte klar blieb und dann der fraktionierten Fällung mit Magnesiumacetat in alkoholischer Lösung unterworfen.

Da Magnesiumacetat nur eine sehr geringe Fällung verursachte, so wurde ein kleiner Ammoniakzusatz gemacht. Sobald Magnesiumacetat keinen Niederschlag mehr hervorbrachte, wurde mit Baryumacetat und zuletzt mit Bleiacetat gefällt. Die Niederschläge wurden mit Salzsäure zerlegt.

Die Fällungen hatten folgende Schmelzpunkte:

| | | |
|-----------|-----------|------------|
| I. 59,5° | II. 58,5° | III. 58,0° |
| IV. 56,5° | V. 50,5° | VI. 43,0° |

Als selbst essigsaures Blei keine Fällung mehr gab, wurde der Alkohol abdestilliert, und es hinterblieb nach dem Abscheiden der überschüssig zugesetzten Basen eine fast flüssige Ölsäure. Sie enthielt nur ganz geringe Mengen fester Fettsäuren.

Die Fällung I hatte den höchsten Schmelzpunkt. Ich löste sie in warmem Alkohol, filtrierte den in der Kälte entstandenen Niederschlag ab und vereinigte die Lösung mit den Fällungen II bis IV. Nach dreimal wiederholtem Füllen mit essigsaurer Magnesia blieb der Schmelzpunkt der resultierenden Säure konstant und lag bei 62° C. Da sie bräunlich gefärbt war, löste ich sie in Äther und entfärbte mit Tierkohle. Die so erhaltene Säure war im geschmolzenen Zustande vollkommen klar, nur gelblich gefärbt und wurde direkt zu den Analysen benutzt. Die Fällungen V und VI waren quantitativ sehr gering und enthielten Ölsäure, neben der durch die ersten vier Fällungen abgeschiedenen Säure.

Analyse der bei 62° schmelzenden Säure.

0,297 g der Säure gaben: 0,8125 g CO_2 = 74,61 Proz. C und 0,3425 g H_2O = 12,81 Proz. H.

0,256 g gaben: 0,702 g CO_2 = 74,80 Proz. C und 0,2905 g H_2O = 12,60 Proz. H.

0,310 g gaben 0,8535 g CO_2 = 75,10 Proz. C und 0,350 g H_2O = 12,54 Proz. H.

| Mittel: | Berechnet für $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$: |
|-----------|--|
| C = 74,84 | 75,00 Proz. |
| H = 12,65 | 12,50 „ |

Das Silbersalz wurde ganz analog wie das der Ölsäure dargestellt.

0,4535 g des Salzes gaben: 0,8785 g CO_2 = 52,92 Proz. C;
0,341 g H_2O = 8,35 Proz. H und 0,135 g Ag = 29,77 Proz. Ag,
für Formel $\text{C}_{16}\text{H}_{31}\text{AgO}_2$ berechnet:

C 52,86 Proz., H 8,54 Proz., Ag 29,75 Proz.

Bei der Ermittlung des Molekulargewichts verbrauchten 0,6255 g der Fettsäure 7,5 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge = 0,10 g NaOH. Hieraus berechnet sich das Molekulargewicht auf 250,2, gegen 256 für $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$. Sie addierte kein Jod.

Somit ergeben die Analysen für die isolierte feste Fettsäure die Formel $\text{C}_{16}\text{H}_{32}\text{O}_2$ und Identität mit der Palmitinsäure.

II. Wachs.

Der durch Auskrystallisieren aus Petroläther erhaltene wachsartige Körper war von spröder, brüchiger Beschaffenheit und hellgelber Farbe. Sein Schmelzpunkt lag bei 68 bis 69° C. Er löste sich leicht in Chloroform und warmem Alkohol, schwerer in Äther und Petroläther, addierte noch 3,36 Proz. Jod und verbrauchte zur Verseifung

53,2 mg Kalihydrat auf 1 g Substanz. Die nach Merz¹ ermittelte Menge an freien Fettsäuren war sehr gering. 1 g Wachs verbrauchte zur Neutralisation 7 mg Kalihydrat.

Zur Verseifung des Waxes benutzte ich die von A. Kossel und K. Obermüller² empfohlene Verseifungsmethode. Wegen seiner Schwerlöslichkeit in Äther, löste ich es in absolutem Alkohol und setzte dann Natriummetall in kleinen Stücken hinzu. Die Natronseife der Fettsäuren schied sich aus und konnte durch Absaugen mit der Wasserluftpumpe und Auswaschen mit Äther von den unverseifbaren Fettalkoholen vollständig befreit werden. Nach der Zersetzung der Natronseife mit Salzsäure wurde eine Fettsäure erhalten, die bei 61° C. schmolz und sich in kaltem Alkohol fast gar nicht löste. Die warm gesättigte Lösung schied beim Erkalten den größten Teil der Säure wieder aus. Eine fraktionierte Fällung mit Magnesiumacetat konnte daher nicht vorgenommen werden. Dagegen liefs sie sich durch mehrfaches Umkrystallisieren aus Alkohol leicht reinigen und auf einen konstanten Schmelzpunkt bringen. Schliesslich erhielt ich eine Säure, deren Schmelzpunkt trotz wiederholten Umkrystallisierens nicht über 78,2° erhöht werden konnte.

Sie lieferte aus 0,228 g: 0,6635 g CO₂ = 79,27 Proz. C und 0,270 g H₂O = 13,16 Proz. H,

aus 0,352 g: 1,0195 g CO₂ = 79,0 Proz. C und 0,4190 g H₂O = 13,23 Proz. H.

| Mittel | Berechnet für C ₂₇ H ₅₄ O ₂ : |
|---------|--|
| C 79,13 | 79,02 Proz. |
| H 13,20 | 13,17 „ |

Zur Sättigung wurden verbraucht auf 1,12 g Säure 8,5 ccm ¹/₃-Normalnatronlauge = 0,113305 g NaOH. Hiernach das Molekulargewicht = 395,4. Die Säure C₂₇H₅₄O₂ hat das Molekulargewicht 410.

Das Silbersalz dieser Fettsäure konnte ich aus Mangel an Material nicht mehr darstellen. Schmelzpunkt und Elementaranalysen lassen jedoch an der Identität dieser Säure mit der Cerotinsäure, C₂₇H₅₄O₂, nicht wohl zweifeln.

Es ist leicht möglich, dafs neben den gefundenen festen Fettsäuren noch eine in dem Fett vorhanden war, deren Schmelzpunkt zwischen dem der Cerotin- und der Palmitinsäure liegt. Aus den Mutterlängen der Cerotinsäure konnten nämlich mit Magnesiumacetat noch geringe Fällungen erhalten werden, die eine bei ca. 67 bis 70° schmelzende

¹ Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 17, p. 390.

² Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14, p. 599.

Säure lieferten. Ich erhielt sie aber in einer für die Untersuchung ungenügenden Quantität.

Unverseifbare Bestandteile.

Die durch Äther den Natronseifen entzogenen Bestandteile hatte ich gesammelt und befreite sie durch wiederholtes Auskochen mit Natronlauge von den anhängenden Fettsäuren. Es resultierte ein weißer, spröder Körper, der bei 59° C. schmolz und leicht löslich in Chloroform, heißem Alkohol, Äther und Petroläther war. Die qualitative Analyse, besonders das Verhalten gegen das polarisierte Licht, ergab, neben den Fettalkoholen der Reihe $C_nH_{2n} + 2O$, auch Cholesterin.

Eine 10proz. Lösung in Chloroform drehte in einem 20 cm langen Rohr im Jellet-Cornu'schen Halbschattenapparate die Ebene des polarisierten Lichts um 1° 20' nach links.

Das Cholesterin war somit nur in geringer Menge vorhanden. Ich versuchte es durch wiederholte Extraktion mit Ätheralkohol (1:3) von den anderen Alkoholen zu trennen, was mir aber nur zum Teil gelang. Der Schmelzpunkt des Rückstandes erreichte allerdings Konstanz, indem er bei 71° C. stehen blieb, während derjenige der durch Ätheralkohol aufgenommenen Bestandteile anfangs 64° und nach zweimaligem Umkrystallisieren aus Ätheralkohol gegen 68° betrug. Da das Cholesterin bei 130 bis 137° C. schmilzt, so war der von mir isolierte Körper mit niedriger schmelzenden Substanzen stark verunreinigt, vermutlich mit Cetylalkohol, der bei 50° schmilzt und ebenfalls in Ätheralkohol leicht löslich ist.

Die geringe Quantität der mir zur Verfügung stehenden Substanz liefs keine Isolierung des Cholesterins in chemischer Reinheit erwarten, und ich beschränkte mich darauf, die für dasselbe charakteristischen Reaktionen anzustellen.

Eine konzentrierte Lösung in Chloroform gab, mit einem gleichen Volumen starker Schwefelsäure durchschüttelt, die für das Cholesterin charakteristischen Färbungen. Auch konnte ich die von Hesse¹ beobachteten Farbenunterschiede bei wechselnder Konzentration, sowohl der Schwefelsäure, als auch der Cholesterinlösung, beobachten. Eine Schwefelsäure vom spez. Gewicht 1,84 gab, mit gleichem Volumen einer konzentrierten Cholesterinlösung in Chloroform, sehr bald eine

¹ Annalen d. Chem. u. Pharm. 211, p. 284.

rote Färbung der Chloroformschicht, die allmählich in Violett überging, während die Schwefelsäure dunkelgelb gefärbt wurde. Eine Fluoreszenz der Schwefelsäure konnte ich nicht beobachten. Bei Anwendung einer Schwefelsäure vom spez. Gewicht 1,75 trat die Rotfärbung erst nach längerem Stehen ein und hielt sich einige Tage, bevor sie ins Violette überging. Mit einer verdünnten Cholesterinlösung gab diese Säure fast gar keine Färbungen.

Ein Körnchen der Substanz in einem Schälchen mit wenig konzentrierter Salpetersäure zur Trockne verdampft, gab einen gelblichen Fleck, der mit Ammoniak eine rote Färbung annahm.

Die Färbungen, welche die ungelöst gebliebenen Partikelchen beim Eindampfen der Substanz mit einem Gemisch aus 3 Teilen konzentrierter Salzsäure und 1 Teil Eisenchlorid annehmen, konnte ich nicht deutlich genug erkennen, und wage ich daher nicht zu entscheiden, ob sie durch die anhängende Substanz nur verdeckt wurden, oder überhaupt nicht eintraten. Nach Schulze¹ bleibt bei Isocholesterin diese Reaktion aus. Die von mir beobachteten Färbungen bei der Reaktion mit konzentrierter Schwefelsäure waren ebenfalls nicht sehr scharf begrenzt. Eine gelblich-braune Färbung, welche sie stets begleitete, machte die Unterscheidung recht schwer. Nach Reinke und Rodewald² hat das Paracholesterin die Eigenschaft, sich in Chloroformlösung mit Schwefelsäure anfangs gelblich-braun zu färben und dann erst in Blau und Violett überzugehen. Ich muß es dahingestellt sein lassen, welches von den drei Isomeren des Cholesterins im Pinuspollen enthalten ist, besonders da ich die Substanz nicht in chemischer Reinheit zu den Reaktionen benutzt habe.

Nach der Extraktion der unverseifbaren Bestandteile mit Ätheralkohol blieb ein Körper zurück, der bei 71° C. schmolz und in Chloroform, Äther und heißem Alkohol leicht löslich war. Durch wiederholtes Umkrystallisieren aus warmgesättigten Alkohollösungen konnte sein Schmelzpunkt auf 83,5° erhöht werden. Es krystallisierte in kleinen, seideglänzenden Nadeln und gab bei der Elementaranalyse folgende Resultate:

0,195 g der Substanz gaben: 0,586 g CO₂ = 82,05 Proz. C und
0,2505 g H₂O = 14,27 Proz. H.

0,2725 g der Substanz gaben: 0,818 g CO₂ = 81,87 Proz. C und
0,3455 g H₂O = 14,09 Proz. H.

¹ Journ. f. prakt. Chem. 7, p. 173.

² Annalen d. Chem. u. Pharm. 207, p. 231.

| Mittel: | Berechnet für $C_{30}H_{62}O$: |
|---------|---------------------------------|
| C 81,96 | 82,19 Proz. |
| H 14,18 | 14,15 „ |

Wenn auch der Körper um $1,5^0$ niedriger schmolz als Myricylalkohol, so sprechen doch die Elementaranalysen und die nadelförmigen Krystalle für die Identität mit diesem. Cerylalkohol schmilzt schon bei 79^0 und krystallisiert nicht in Nadeln.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß auch noch ein niedriger schmelzender Alkohol zugegen war, denn die Mutterlaugen des Myricylalkohols hinterließen einen Körper, der bei etwa 60^0 schmolz und keine Cholesterinreaktionen gab. Das ohnehin schon geringe Material war durch die vielen Fraktionen so zusammengeschmolzen, daß ich von der näheren Untersuchung dieses Rückstandes absehen mußte. Darum konnten auch die Alkohole nicht in die korrespondierenden Säuren übergeführt werden, um mit größerer Sicherheit auf ihre Molekulargröße schließen zu können.

III. Durch Äther extrahiertes Fett.

Nach der Extraktion mit Petroläther wurde dem Pollen durch Äther ein Fett entzogen, das von dunkelbrauner Farbe und Butterkonsistenz war. Bevor der Äther noch ganz verflüchtigt war, war die konzentrierte Fettlösung vollkommen klar und nur gelblich gefärbt. Erst beim Abdampfen des Äthers in der Wärme bräunte es sich und schied Flocken aus, die sich in diesem Lösungsmittel nicht mehr auflösten. Beim Kochen mit starker Natronlauge entwickelten sich ammoniakalische, nach Trimethylamin riechende Dämpfe. Beim Zusammenschmelzen mit Soda und Salpeter lieferte es eine phosphorsäurehaltige Schmelze. Ebenso enthielt die Seifenmutterlauge Phosphorsäure neben Cholin, das als salzsaures Platindoppelsalz daraus abgeschieden werden konnte.

Alle diese Körper sind Zersetzungsprodukte des Lecithins, dessen Nachweis bekanntlich auf demjenigen seiner Zersetzungsprodukte beruht. Das durch Äther gewonnene Fett war somit lecithinhaltig. Es addierte 55,35 Proz. Jod.

Zu seiner Verseifung benutzte ich eine wässrige 15proz. Natronlauge, weil sie dieselbe in dieser Konzentration vollständig bewirkt, ohne dabei eine starke Zersetzung des Cholins zu veranlassen. Die nach dem Erkalten auf der Lauge schwimmende Seife wurde abgehoben, in heißem Wasser gelöst und mit Chlornatrium ausgesalzen, getrocknet

und mit Äther von den unverseifbaren Bestandteilen befreit. Die Seifenmutterlauge wurde zur Gewinnung des Cholins mit Salzsäure genau neutralisiert, filtriert, auf dem Wasserbade zur Sirupkonsistenz verdampft und mit Alkohol ausgekocht. Das salzsaure Cholin wurde aus der alkoholischen Lösung mit Platinchlorid ausgefällt. Von einer Glycerinbestimmung wurde abgesehen. Das Platindoppelsalz wurde mit Wasser behandelt, worin es leicht löslich ist, während ein ganz geringer Teil eines ähnlich aussehenden Salzes ungelöst blieb. Nach dreimaligem Umkrystallisieren aus Wasser, beim langsamen Verdunsten im Exsiccator, benutzte ich das Salz zu folgenden Analysen:

0,256 g des Salzes verbrauchten bei der Verbrennung mit Natronkalk zur Sättigung 7,8 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalschwefelsäure = 0,01092 N = 4,27 Proz.

0,191 g = 6,0 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalschwefelsäure = 0,0084 N = 4,40 Proz.

0,311 g des Salzes wurden mit Natriumkarbonat zusammengeschmolzen, die Schmelze gelöst, das metallische Platin abfiltriert und im Filtrat das Chlor bestimmt. Es wurden erhalten: 0,0995 g Pt = 31,99 Proz. und 0,4215 g AgCl = 0,1043 Cl = 33,54 Proz.

| Mittel: | Berechnet für $[N(CH_3)_3(C_2H_4OH)Cl]_2PtCl_4$: |
|----------|---|
| N 4,34 | 4,55 Proz. |
| Pt 31,99 | 31,63 " |
| Cl 33,54 | 34,55 " |

Bei einer anderen Analyse hatte ich das mit Äther extrahierte Fett mit Barytwasser verseift und nach dem Eliminieren des Baryts mit Kohlensäure, aus der mit Salzsäure eingedampften alkoholischen Lösung das Cholin mit Quecksilberchlorid ausgefällt. Nach dem Abfiltrieren des salzsauren Cholinquecksilberchlorids gab die Mutterlauge beim Erwärmen mit Natronhydrat kein Trimethylamin. Somit ist in dem Fett nur das Cholin als die Quelle des Trimethylamins zu betrachten.

Das Quecksilberdoppelsalz, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, gab ein Filtrat, das, eingedampft, folgende Reaktionen gab:

Mit Phosphorantimonsäure einen weißen Niederschlag.
 „ Phosphormolybdänsäure „ gelblichen „
 „ Phosphorwolframsäure „ körnigen „
 „ Kaliumquecksilberjodid „ gelben „
 „ Tanninlösung keine Reaktion.

Diese Versuche ergeben die Anwesenheit des Cholins resp. des Lecithins. Von seiner quantitativen Bestimmung wird nachher die Rede sein.

Die aus der Natronseife abgeschiedenen Fettsäuren wurden, wie vorhin, von der Ölsäure in Form ihres Bleisalzes befreit. Die flüssige Ölsäure habe ich nicht mehr näher untersucht, vielmehr beschränkte ich mich auf die Untersuchung der festen Fettsäuren und unterwarf sie zu diesem Zwecke wieder der fraktionierten Fällung mit Magnesiumacetat. Den größten Teil machte auch hier die Palmitinsäure aus. Cerotinsäure war nur in sehr geringer Menge vorhanden. Es wurden folgende Fraktionen erhalten:

| | | | |
|-----------------|-------|------------------|-------|
| I. Schmelzpunkt | 65,0° | II. Schmelzpunkt | 61,5° |
| III. „ | 54,0° | IV. „ | 50,0° |
| V. „ | 35,0° | | |

Die zwei ersten Fraktionen versuchte ich, durch Umkrystallisieren aus Alkohol, auf den Schmelzpunkt der Cerotinsäure zu bringen, was mir aber nicht gelang; ich erhielt nur einen geringen Niederschlag und berücksichtigte daher nur die Mutterlauge, die ich, zusammen mit den Fraktionen III. und IV., zum Abscheiden der Palmitinsäure benutzte. Die Säure hatte dieselben Eigenschaften wie die aus dem durch Petroläther extrahierten Fett isolierte Palmitinsäure. Sie schmolz bei 62° und lieferte bei der Elementaranalyse aus

0,215 g Säure: 0,5890 g CO₂ = 74,71 Proz. C und 0,2460 g H₂O = 12,71 Proz. H,

aus 0,3295 g: 0,9075 g CO₂ = 75,11 Proz. C und 0,3705 g H₂O = 12,49 Proz. H.

| | |
|---------|--|
| Mittel: | berechnet für C ₁₆ H ₃₂ O ₂ : |
| C 74,91 | 75,0 Proz. |
| H 12,60 | 12,5 „ |

Somit lag auch hier Palmitinsäure vor.

Die quantitative Analyse des Fettes.

Das hierzu benutzte Fett war durch Extraktion mit Petroläther und Äther aus ein und demselben Pollen dargestellt.

10,0 g davon wurden mit alkoholischer Natronlauge verseift, mit heißem Wasser aufgenommen und die Seife mit Chlornatrium ausgefällt. Die getrocknete Seife wurde mit Äther erschöpft und die darin gelösten

(Fortsetzung im Heft VI.)

Bestandteile durch Kochen mit Natronlauge von den etwa mitgelösten Seifen befreit. Die gut ausgewaschene und bei 110° bis zur Konstanz getrocknete Substanz wog 0,616 g. Somit betrug die Menge der unverseifbaren Bestandteile im Fett 6,16 Proz.

Die Mutterlauge wurde zur Bestimmung des Glycerins benutzt. Seine Menge betrug nach Abzug der Aschensubstanz 0,521 g. Unter Berücksichtigung der Korrektionszahl lieferte das Fett somit 5,24 Proz. Glycerin. Die Menge der Fettsäuren wog 8,785 g = 87,85 Proz.

Sie wurden auch hier mit einem größeren Überschuss von Bleioxyd verseift und mit wasserfreiem Äther extrahiert. Wenn beim längeren Behandeln mit Äther das mechanisch beigemenzte Bleioxyd sich von der Masse löste und als lockeres Pulver die Extraktion erschwerte, so wurde auch hier, um die Masse für Äther zugänglicher zu machen, nochmals bei Gegenwart von Wasser verseift und nach dem Austrocknen die Extraktion fortgesetzt. Auf diese Weise konnte alles ölsäure Bleioxyd in Lösung gebracht werden. Die abgeschiedene Ölsäure wog 6,795 g, betrug somit 67,95 Proz. des Fettes. Die Menge der festen Fettsäuren berechnet sich hiernach zu 19,9 Proz. Diese bestehen zum größten Teil aus Palmitinsäure, während die höher schmelzenden Säuren, wie die Cerotinsäure, nur in geringer Menge vorhanden sind.

Das Fett enthält somit:

| | |
|--------------------------------|------------|
| Glycerin | 5,24 Proz. |
| Alkohole | 6,16 „ |
| Ölsäure | 67,95 „ |
| Feste Fettsäuren | 19,90 „ |
| Flüchtige Fettsäuren | Spuren. |

Lecithin.

Die quantitative Bestimmung des Lecithins geschah durch diejenige des Phosphors im Äther- und Alkoholextrakt. Es liefs sich voraussehen, daß die Äthermethode zu niedrige Werte geben würde, da Äther verhältnismäfsig nur schwach auf den Pollen einwirkt. Auch hierzu wurde mit Glaspulver verriebener Pollen benutzt. Die Extraktion geschah im Soxhlet'schen Apparat. Von jeder Portion Pollen wurden 80 bis 100 Ätherauszüge gemacht. Das so erhaltene Fett wurde mit der etwa 30fachen Menge eines Gemisches aus Natriumkarbonat und Kalinitrat gemengt und geschmolzen. Nach dem Auflösen der Schmelze in Salpetersäure wurde die Phosphorsäure zuerst mit molybdänsaurem Ammon und dann mit Magnesiamixtur ausgefällt. Das Magnesiumpyrophosphat mit dem Faktor 7,2703 multipliziert, gab die Menge des Lecithins.

25 g des Pollens lieferten 0,013 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,0945$ g Lecithin
= 0,38 Proz.

10 g des Pollens lieferten = 0,00525 $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,0381$ g Lecithin
= 0,381 Proz.

15,0 g Pollen lieferten 0,0095 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,069$ g Lecithin
= 0,46 Proz.

20 g Pollen lieferten 0,00905 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,0658$ g Lecithin
= 0,329 Proz.

Durch Äther wurde dem Pollen somit im Mittel entzogen 0,387 Proz. Lecithin.

E. Schulze und E. Steiger¹ haben bereits nachgewiesen, daß durch Extraktion mit Äther schon einem weniger widerstandsfähigen Material wie dem Pollen, den Pflanzensamen, nicht alles Lecithin entzogen werden kann. Die genannten Forscher wiesen ferner nach, daß den Pflanzensamen durch nachheriges Ausziehen mit absolutem Alkohol noch Lecithin entzogen wird und benutzten deshalb die beiden Lösungsmittel zur quantitativen Bestimmung derselben. Zuerst verwandten sie das Alkoholextrakt nicht direkt, sie extrahierten es mit Äther, fanden aber, daß der Rückstand keine Phosphorsäure enthielt und bestimmten dann den Phosphor direkt im Alkoholextrakt, ohne dieses zuerst in ein ätherlösliches und darin unlösliches zu zerlegen.

Ich folgte bei der Bestimmung dem Beispiel dieser Forscher, extrahierte den Pollen zuerst im Soxhlet'schen Apparate mit Äther, brachte ihn dann, ohne die Papierhülle zu zerreißen, in einen Kolben, behandelte ihn noch 2- bis 3 mal bei Rückfluskkühlung mit absolutem Alkohol auf dem Dampfbade, wusch den Rückstand gut nach, destillierte den Alkohol ab, vereinigte den Alkoholrückstand mit dem Ätherrückstande und verpuffte sie mit Soda- und Salpetermischung. In der Schmelze wurde die Phosphorsäure ganz wie vorhin bestimmt. Dieses Verfahren liefert gute Resultate, da Phosphate in Äther und in Alkohol unlöslich sind. Ebenso ist nach Hoppe-Seyler² die Glycerinphosphorsäure weder in Alkohol noch in Äther löslich. Auch ich überzeugte mich, daß der Alkoholauszug nach dem Erschöpfen mit Äther keinen Phosphor mehr enthielt und verwandte ihn daher direkt zur Bestimmung. Durch dieses Verfahren erhielt ich für das Lecithin viel höhere Werte als durch die Extraktion mit Äther allein.

20 g Pollen gaben 0,0265 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,19266$ Lecithin = 0,963 Proz.

10 g " " 0,0125 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,0908$ " = 0,908 "

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 13, p. 365.

² Handb. d. physiol.- und path.-chem. Analyse. 5. Aufl., p. 82.

20 g Pollen gaben 0,02225 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,162$ Lecithin = 0,81 Proz.
 16,25 g „ „ 0,020 g $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7 = 0,1454$ „ = 0,895 „
 Im Mittel 0,895 Proz. Lecithin.

Aus 150 g Pollen wurden, durch Extraktion mit Äther und Alkohol abs., und Ausziehen des Alkoholextraktes mit Äther, 15,815 g Fett gewonnen. Hiernach enthält das Fett aus dem Pollen 8,49 Proz. Lecithin beigemischt.

Kohlehydrate.

Rohrzucker und Stärke sind im Pinuspollen durch A. v. Planta schon unzweifelhaft nachgewiesen und der erstere auch von C. Haushofer kristallographisch bestimmt worden. Wenn ich trotzdem bei meiner Arbeit diese Körper berücksichtigte, so geschah es, um die Abwesenheit von Glykose auch durch andere Reaktionen als durch die von A. v. Planta ausgeführten zu bestätigen und um eine möglichst vollständige quantitative Analyse meines Objekts auszuführen.

Der frisch bereitete alkoholische Auszug des Pollens enthielt in der That keine Glykose. Nach dem Abdestillieren des Alkohols bei Luftverdünnung und Aufnehmen des Zuckers mit Wasser gab die Lösung, unmittelbar untersucht, mit Fehling'scher Lösung beim einmaligen Aufkochen keine Reaktion. Soldaini'sche Kupferlösung verhielt sich auch beim längeren Kochen indifferent. Kalilauge wurde in der Kälte nicht gebräunt. Wenn man aber die wässrige Lösung eindampfte, oder sie längere Zeit stehen liefs, so enthielt sie stets Glykose. Die quantitative Bestimmung des Zuckers durch Polarisierung ergab in der frisch bereiteten Lösung ebenfalls keine Glykose. Der Wasserauszug besafs ein ganz geringes Reduktionsvermögen für beide Kupferlösungen.

Zur quantitativen Bestimmung wurde der durch 90proz. Alkohol gewonnene Zucker mit $\frac{1}{2}$ -Normalsalzsäure invertiert und die entstandene Glykose mit Fehling'scher Lösung bestimmt.

Zur Stärkebestimmung wurde der Pollenrückstand mit $\frac{1}{2}$ -Normalsalzsäure 3 bis 4 h. gekocht und aus der durch Fehling'sche Lösung ermittelten Glykose die Stärke berechnet. Die Bestimmungen geschahen nach der von Ernst Schmidt¹ modifizierten Methode.

¹ Lehrb. d. pharm. Chem., Bd. II, 1890, p. 757.

Rohrzucker.

I. 4,081 g Pollen lieferten 250 ccm einer Glykoselösung, deren 11,2 ccm 5 ccm Fehling'scher Lösung reduzierten. Darnach berechnet sich die Glykose zu 0,558 g = 0,53 Rohrzucker = 12,98 Proz.

II. 5,184 Pollen = 200 ccm. Glykoselösung. 7 ccm = 5 ccm Fehling'scher Lösung. Darnach Glykose = 0,7143 g = 0,6886 Rohrzucker = 13,09 Proz.

III. 3,67 g Pollen = 200 ccm Glykoselösung. 10,1 ccm Fehling'scher Lösung = 0,495 Glykose = 0,47 Rohrzucker = 12,80 Proz.

IV. 5,0 g Pollen wurden zur optischen Zuckerbestimmung ebenfalls mit 90 proz. Alkohol ausgezogen und unter Zusatz von 2 Tropfen Natronlauge (zur Neutralisation der organischen Säuren) durch Destillation bei Luftverdünnung von Alkohol befreit. Der Destillationsrückstand wurde dann mit Wasser aufgenommen, mit etwas Bleiessig und so viel Essigsäure versetzt, daß die Reaktion neutral war, auf 50 ccm genau angefüllt, filtriert und in einem 200 mm langen Rohr sofort zur Polarisation verwandt. Auch hier benutzte ich den Jellet-Cornu'schen Halbschattenapparat. Die Ablenkung betrug $1^{\circ} 42' = 1,61^{\circ}$ nach rechts. Die Berechnung geschah nach der Formel

$$C = \frac{1505,6 \times a}{L},$$

in welcher C die gesuchte Zuckermenge, 1505,6 die Drehungskonstante des Rohrzuckers für Natronlicht, a die beobachtete Ablenkung und L die Länge des die Zuckerlösung enthaltenden Rohres in Millimetern bedeutet. Die Rechnung ergibt 12,12 Proz. Rohrzucker.

Im Mittel aus 4 Bestimmungen enthält der Pollen 12,75 Proz. Rohrzucker.

Stärke.

I. 4,081 g Pollen wurden nach der Extraktion mit Alkohol mit $\frac{1}{2}$ -Normalsalzsäure invertiert und auf 250 ccm angefüllt. 7,5 ccm. reduzierten 5 ccm Fehling'scher Lösung. Daraus berechnet sich der Glykosegehalt zu 0,8333 g = 0,750 Amylum = 18,38 Proz.

II. 5,184 g Pollen = 200 ccm. Hiervon 5,1 ccm = 5 ccm Fehling'scher Lösung. Glykose = 0,98 = 0,882 Amylum = 17,01 Proz.

III. 3,67 g Pollen = 200 ccm. Hiervon 6,3 ccm = 5 ccm Fehling'scher Lösung. Glykose = 0,80 = 0,720 Amylum = 19,61 Proz.

Diese Resultate stimmen nicht gut überein und ließen vermuten, daß durch die Hydrolyse auch andere Körper außer Amylum in Glykose umgewandelt waren. Die mikroskopische Untersuchung zeigte in der That, daß auch die inneren Zellwände teilweise in Lösung gegangen waren. Die Pollenkörner waren allerdings auch völlig stärkeleer, während bei Anwendung schwächerer Salzsäure die Lösung der Stärke nur schwierig ganz erreicht werden konnte.

Um die die Stärke begleitenden Substanzen unschädlich zu machen, führte ich die Bestimmung nach der von Dragendorff¹ empfohlenen Methode aus. Der Pollen wurde mit ca. 30 Teilen einer 4proz. alkoholischen Kalilauge in einem Autoklaven 1 bis 2 Tage bei 100° erwärmt, hierauf filtriert und so lange mit Alkohol ausgewaschen, bis dieser nicht mehr alkalisch ablief. Der Rückstand wurde dann noch mit kaltem Wasser erschöpft, dann, wie vorhin, mit $\frac{1}{2}$ -Normalsalzsäure invertiert und schliesslich aus der Glykose das Amylum berechnet.

I. 2,322 g Pollen = 100 ccm. Hiervon 13,5 ccm = 5 ccm Fehling'scher Lösung. Glykose = 0,185 = 0,1665 Amylum = 7,17 Proz.

II. 1,432 g Pollen = 75 ccm. Hiervon 15,2 ccm = 5 ccm Fehling'scher Lösung. Glykose = 0,12335 = 0,111015 Amylum = 7,6 Proz.

Zur summarischen Bestimmung der Kohlehydrate wurde der Pollen direkt mit $\frac{1}{2}$ -Normalsalzsäure gekocht.

1,6425 g Pollen = 200 ccm Lösung. Hiervon 9,2 ccm = 5 ccm Fehling'scher Lösung. Glykose = 0,5435 g = 33,1 Proz.

Wenn man von dieser Glykose die der gefundenen Stärke und dem Rohrzucker entsprechende Menge abzieht, so bleiben 11,7 Proz. Glykose, die bei der Inversion mit Salzsäure aus anderen Körpern entstanden ist.

12,75 Rohrzucker = 13,40 Glykose.

7,40 Amylum = 8,00 „

für Zucker + Amylum . . . 21,40 Proz. Glykose.

Zur Untersuchung der spezifischen Drehung des Zuckers konnte er durch einfaches Ausziehen mit Alkohol und Aufnehmen des Alkoholrückstandes mit Wasser nicht dargestellt werden, weil beim Umkristallisieren und Reinigen die im Pollen enthaltenen Säuren und Fermente invertierend auf den Zucker einwirkten. Zur Reindarstellung des Rohrzuckers benutzte ich die von E. Schulze² empfohlene Methode, welche die Extraktion mit Alkohol, bei Zusatz von 0,3 Proz. der Substanz Kalk, und die Fällung des Zuckers mit Strontiumhydroxyd vorschreibt. Die zuletzt erhaltene, mit Tierkohle entfärbte und nach dem Eindampfen zur Sirupkonsistenz mit 20 Proz. absoluten Alkohols versetzte Zuckerlösung schied beim Stehen über Schwefelsäure schöne, weisse Zuckerkrystalle aus, die zwischen Fließpapier geprefst, zuerst im Exsiccator und dann bei 100° getrocknet, in 10proz. Wasserlösung, im Jellet-Cornu'schen Halbschattenapparat sofort untersucht wurden.

Die beobachtete Ablenkung bei Anwendung einer 20 cm langen Röhre betrug $12^{\circ} 43' = 12,71^{\circ}$ nach rechts. Der Drehungswinkel wurde nach der Formel:

$$(\alpha)D = \frac{v \cdot a}{l \cdot p}$$

berechnet.

¹ Dragendorff. Pflanzenanalyse (1882), p. 93 und Pharm. Zeitschr. f. Rußl. Jg. I, p. 41.

² Landw. Vers. Stat. 34, p. 408.

In derselben bedeuten $(\alpha)D$ = Drehungswinkel für Natronlicht, a = beobachtete Ablenkung, v = Volumen der Lösung in Kubikcentimetern, p = Gewichtsmenge der zu untersuchenden Substanz, l = Länge der Flüssigkeitssäule in Decimetern.

$$(\alpha)D = +63,55^{\circ}.$$

Bei der Extraktion des Zuckers mit Alkohol wurde auch ein bitterer, harzartiger Körper gelöst, der nach dem Abdestillieren des Alkohols durch Wasser vom Zucker befreit werden konnte und zusammen mit dem durch Alkohol aufgenommenen Fett zurückblieb. Der bittere Geschmack teilte sich auch der wässerigen Zuckerlösung mit. Dieses Harz war in Chloroform leicht löslich.

Cellulose.

Die Cellulose bestimmte ich nach dem von Franz Schulze¹ empfohlenen Verfahren.

| | | | | | |
|----------------------------------|--------|-----------|----------|-----------|---------------|
| 1,146 g | Pollen | lieferten | 0,2149 g | Cellulose | = 18,75 Proz. |
| 3,160 " | " | " | 0,612 " | " | = 19,37 " |
| 2,155 " | " | " | 0,4227 " | " | = 19,07 " |
| im Mittel 19,06 Proz. Cellulose. | | | | | |

Pflanzenschleim.

Wenn man den Wasserauszug mit 2 Volumteilen absoluten Alkohols versetzte, so mußte mit dem Eiweiß auch der Pflanzenschleim ausfallen. Durch die quantitative Stickstoffbestimmung im Niederschlage versuchte ich diesen Körper nachzuweisen resp. quantitativ zu bestimmen. Die Fällung geschah aus einem 1 : 10 dargestellten Wassereextrakt.

Der Niederschlag wurde auf einem tarierten Filter gesammelt, bei 110° C. getrocknet und in ihm unter Berücksichtigung des Filterstickstoffs eine Stickstoffbestimmung vorgenommen.

1. 30 ccm des Extrakts gaben 0,0355 g Niederschlag. Dieser gab wiederum 0,00497 g N (3,55 ccm $\frac{1}{10}$ -Normal- H_2SO_4) = 0,03106 g Eiweiß.

2. 20 ccm Extrakt = 0,025 g Niederschlag = 0,00322 g N (2,3 ccm $\frac{1}{10}$ -Normal- H_2SO_4) = 0,020125 g Eiweiß.

Wenn man das durch Multiplikation des Stickstoffs mit dem Faktor 6,25 erhaltene Produkt gleich Eiweiß setzt und dieses von dem Niederschlage abzieht, so erhält man als Rest den Pflanzenschleim.

Er betrug bei 1. 0,00444 g = 0,148 Proz. } der ursprünglichen
2. 0,004875 g = 0,2437 " } Substanz.

Im Mittel 0,196 Proz. Pflanzenschleim.

¹ Chem. Centralbl. 1857, p. 321 und Dragendorff, Pflanzenanalyse, p. 94 u. 260.

Organische Säuren.

Dafs der Pollen Pflanzensäuren enthalten mufste, war schon nach der sauren Reaktion seines frisch bereiteten Wasserauszuges zu vermuten. Wenn man den Wasserauszug mit 2 Teilen absoluten Alkohols versetzte und 24 h. stehen liefs, so entstand ein voluminöser Niederschlag, der neben Schleim und Eiweifs auch Krystalle von saurem weinsaueren Kali enthielt. Die Asche des Niederschlages war sehr reich an Kali. Eine geringe Menge Kalk konnte ebenfalls nachgewiesen werden. Nach dem Filtrieren und Abdestillieren des Alkohols gab der mit neutralem Bleiacetat versetzte wässerige Rückstand einen weissen, amorphen Niederschlag, der bei längerem Stehen einige Krystalle enthielt und daher neben Weinsäure auch Äpfelsäure vermuten liefs. Nach dem Zerlegen des Bleiniederschlages mit Schwefelwasserstoff hinterblieb eine saure Flüssigkeit. Zur Isolierung der beiden Säuren wurde der wässerige Auszug, ohne zuerst mit Alkohol geklärt zu werden, welcher einen Teil der Weinsäure in Form ihres Kalisalzes abschied, mit neutralem Bleiacetat versetzt, der Niederschlag nach 24 h. abfiltriert und mit H_2S zerlegt. Die so erhaltene saure Lösung gab auf Zusatz von essigsaurem Kali und Alkohol eine Ausscheidung von saurem weinsaueren Kali, welches in Wasser gelöst und mit Bleiacetat versetzt wurde. Nach dem Zerlegen dieses Bleiniederschlages war in der wässerigen Lösung reine Weinsäure, die eingedampft und mit Ätheralkohol aufgenommen, beim Verdunsten des Lösungsmittels einen krystallinischen Rückstand lieferte, welcher die von Ed. Mohler¹ entdeckte Weinsäurereaktion (Violettfröbung mit Resorcinschwefelsäure) gab. Die wässerige Lösung gab auch mit Kalksalzen Niederschläge, ebenso mit Kaliacetat.

Nach dem Abscheiden der Weinsäure durch Kaliacetat wurde die noch vorhandene Äpfelsäure abermals mit Bleiacetat gefällt. Der Bleiniederschlag zeigte die Eigenschaften des Bleimalats, er wurde aber nicht vollständig krystallinisch. Ein Teil blieb auch bei tagelangem Stehen amorph. Ebenso löste er sich auch nicht beim Kochen ganz auf. Wurde die heisse Flüssigkeit filtriert, so resultierte ein klares Filtrat, welches beim Erkalten sich trübte und beim Stehen Krystalle lieferte. Die ausgeschiedenen Krystalle hatten die Form des Bleimalats, kurze Nadeln, die oft kreuzweis über einander gelagert waren. Es ist

¹ Pharm. Zeitschr. f. Rufsl. 1891, No. 1, p. 8.

sehr möglich, daß neben diesen zwei Säuren auch noch andere vorhanden waren, besonders weil die von Weinsäure befreite Lösung auch mit Kalksalzen noch einen Niederschlag gab. Bei der quantitativen Bestimmung sättigten die aus 5 g Pollen isolierten Säuren 17,6 ccm $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge.

Stickstoffhaltige Bestandteile.

Die summarische Stickstoffbestimmung wurde nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführt. Die zur Zerstörung benutzte Schwefelsäure war nach Arnold's Vorschlag mit 25 g Phosphorsäureanhydrid auf 75 ccm reiner Schwefelsäure versetzt. Das Abdestillieren des Ammoniaks geschah aus einem geräumigen Glaskolben mit vorgelegtem Liebig'schen Kühler. Zum Auffangen des Ammoniaks diente eine Peligot'sche Röhre, die eine gemessene Quantität $\frac{1}{10}$ -Normalschwefelsäure enthielt. Der Überschufs der Säure wurde mit $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge, bei Anwendung von Phenolphthalein als Indikator, zurücktitriert. Zur Sättigung wurden verbraucht bei:

| | | |
|----------------------------------|---|--------------------------|
| I. 0,3655 g Pollen | 6,8 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H ₂ SO ₄ | = 0,00952 N = 2,60 Proz. |
| II. 0,801 g „ | 14,45 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H ₂ SO ₄ | = 0,02023 N = 2,52 „ |
| III. 0,472 g „ | 8,8 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H ₂ SO ₄ | = 0,01232 N = 2,61 „ |
| IV. 1,2235 g „ | 21,5 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H ₂ SO ₄ | = 0,0301 N = 2,46 „ |
| V. 0,769 g „ | 13,65 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H ₂ SO ₄ | = 0,01911 N = 2,49 „ |
| im Mittel 2,54 Proz. Stickstoff. | | |

A. v. Planta fand 2,65 Proz. Stickstoff im Pollen, den er in Zürich untersuchte und 2,72 Proz. im norddeutschen Pollen, der mehrere Jahre über Schwefelsäure gestanden hatte. Da v. Planta seine Resultate auf einen Pollen bezieht, der noch 7,66 Proz. Wasser enthielt, während ich sie auf wasserfreies Material berechne, so ergibt sich in dem von mir verarbeiteten Pollen ein Mindergehalt an Stickstoff von 0,31 Proz. (2,65 Proz. entsprechen 2,85 Proz. für wasserfreies Material).

Eiweißkörper.

Der zur Untersuchung auf Eiweißkörper benutzte Pollen war mit Glaspulver zu gleichen Teilen verrieben und dann mit Petroläther erschöpft worden. Nach der Petrolätherextraktion wurde er bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur getrocknet, gewogen und der Gewichtsverlust berücksichtigt. Zu qualitativen wie zu quantitativen

Bestimmungen benutzte ich meist einen Auszug von der von Dragendorff¹ empfohlenen Konzentration, 10 ccm des Lösungsmittels auf 1 g Substanz.

Leguminartige Substanzen schienen in diesem Auszuge nicht zugegen zu sein. Auf Zusatz von 2 bis 3 Tropfen Normalsalzsäure auf 25 ccm der Lösung entstand allerdings eine ganz geringe Trübung, die aber beim weiteren Salzsäurezusatz wieder verschwand. Normalnatronlauge verhielt sich ganz ebenso.

Globuline waren sowohl im einfachen Wasserauszuge, als auch in einem solchen mit 10proz. Kochsalzlösung nachweisbar. Der Wasserauszug gab beim Einleiten von Kohlensäure einen geringen flockigen Niederschlag. Dieser Niederschlag war bedeutender, wenn man die Extraktion mit 10proz. Kochsalzlösung vornahm und in diese dann Kohlensäure einleitete, oder sie mit einem unter gewöhnlichem Druck mit Kohlensäure gesättigten Wasser verdünnte. Von der quantitativen Globulinbestimmung mußte abgesehen werden, weil die Extraktion nie vollständig war, jeder weitere Auszug gab noch immer Globulinreaktionen. Ebenso entzog eine 5 pro Mille Natronhydratlösung noch Globulin.

Nukleine. Ein mit starker Salzsäure bereiteter Auszug trübte sich beim Verdünnen mit Wasser. Beim Stehen schied sich ein gut filtrierbarer Niederschlag ab, der stark phosphorhaltig war. Somit waren Nukleine zugegen.

Pepton. Der mit heißem Wasser dargestellte Auszug lieferte, nach dem Ausfällen der Eiweißkörper mit Bleiessig und Entfernen des überschüssigen Bleis, nach dem Einengen, mit Phosphorwolframsäure einen Niederschlag, der mit salzsäurehaltigem Wasser gewaschen, noch feucht mit Barythydrat verrieben und schwach erwärmt, nach dem Abscheiden des Baryts, die Biuretreaktion gab. Nach Zusatz von Natronlauge und etwas Kupfersulfatlösung entstand eine schwache violettrote Färbung, wie sie auch in reiner Peptonlösung erhalten werden konnte.

Da auch Albumosen die Biuretreaktion geben und durch Bleiessig nicht abgeschieden werden, mußte ich, um sicher zu sein, daß diese Reaktion wirklich vom Pepton herrührte, die eventuell anwesenden Albumosen eliminieren. Hierbei verfuhr ich nach Kühne's² Vorschrift. Ich salzte die Albumosen durch Sättigen der Peptonlösung mit gepulvertem Ammoniumsulfat bei 20° aus. Die filtrierte Lösung wurde nun mit 40proz. Natronlauge (2 1/2 Volumen Lauge auf 1 Volum Peptonlösung) versetzt und dann erst so viel von einer verdünnten Kupfersulfatlösung hinzugefügt, daß eine Färbung bemerkt wurde. Sie war ganz analog der ersteren. Somit enthält der Pollen wirkliches Pepton. Die Anwesenheit dieses Körpers veranlaßte mich auch, nach derjenigen eines pepto-

¹ Pflanzenanalyse, 1882, p. 77.

² Zeitschr. f. Biolog. N. F. Bd. II, p. 424.

nisierenden Ferments zu suchen. Die Versuche ergaben aber ein negatives Resultat. Ein Wasserauszug mit Salzsäure bis zu 0,5 Proz. versetzt, blieb bei 40° C. ohne Einwirkung auf koaguliertes Hühnereiweiß.

Albumine. Die quantitative Bestimmung der wasserlöslichen Eiweißstoffe bot sehr viele Schwierigkeiten. Erstens war es nicht möglich, alles Eiweiß in Lösung zu bringen, weil das Pollenkorn dem Wasser sehr gut widersteht und seine Zertrümmerung, durch Verreiben mit Sand und Glas, nie vollständig ist, und zweitens erlitten die Eiweißlösungen schon nach etwa 24 h. Zersetzungen. Thymol konservierte sie einigermaßen, und benutzte ich daher, wo eine längere Extraktion stattfinden mußte, stets mit Thymol gesättigte Flüssigkeiten.

Die Versuche, das Eiweiß als solches zur Wägung zu bringen, gaben sehr abweichende Werte. Ich bestimmte es durch die Ermittlung des N-Gehaltes in den Niederschlägen und Multiplikation mit dem Faktor 6,25.

Mit Essigsäure ließen sich, auch bei Gegenwart von NaCl, keine Fällungen ausführen, da der geringste Überschufs dieser Säure die Fällung ganz verhinderte (sogar beim Kochen), resp. den Niederschlag wieder auflöste. Einfaches Aufkochen der Lösung, besonders bei Gegenwart von NaCl, gab schon bessere Resultate. Am besten erwies sich die Fällungsmethode¹ mit der Tanninmischung².

Diese Bestimmungen führte ich so aus, dafs ich 1 bis 2 g des Pollens dreimal mit der 10fachen Menge Wasser je 3 bis 4 h. macerierte, die klar abgestandenen Flüssigkeiten durch ein und dasselbe Filter filtrierte und schliesslich den Rückstand auch aufs Filter brachte. Das Filtrat wurde nun mit dem halben Volumen einer gesättigten Kochsalzlösung und mit einem Überschufs der Tanninlösung versetzt, einige Zeit bei Seite gestellt und dann in dem gut abgestandenen Niederschlage der Stickstoff nach der Kjeldahl'schen Methode bestimmt. Der Pollenrückstand wurde nach dem Austrocknen, um keine Verluste zu haben, in dasselbe Rundkölbchen zurückgebracht, in welchem die Extraktion mit Wasser stattfand und ebenfalls zur Stickstoffbestimmung nach derselben Methode benutzt. Der Stickstoffgehalt der hierzu verwandten Filter war durch Versuche festgestellt und wurde bei der Berechnung berücksichtigt.

Der Stickstoff des Tanninniederschlages lieferte, mit 6,25 multipliziert, die durch Wasser gelöste Eiweißmenge. Durch Subtraktion des im Rückstande und im Tanninniederschlage gefundenen von dem Gesamtstickstoff wurden die durch Wasser gelösten und durch Tannin nicht fällbaren Stickstoffsubstanzen ermittelt. Diesen Stickstoff direkt zu bestimmen, war nicht möglich, auch wenn die Kochsalzlösung durch eine Magnesiumsulfatlösung ersetzt wurde, weil die Salzmassen die Zerstörung mit Schwefelsäure sehr erschwerten.

¹ Dragendorff, Pflanzenanal. 1882, 78.

² 20 g Tannin, 37,5 ccm Eisessig, 400 ccm Alkohol und Wasser b. z. Liter.

Der Stickstoffgehalt der durch Tannin aus der Wasserlösung fällbaren Substanzen betrug bei:

- I. 1,536 g Pollen 0,00385 g (2,75 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 0,25 Proz. N = 1,5625 Proz. Eiweifs.
- II. 1,713 g Pollen 0,00392 g (2,8 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 0,2285 Proz. N = 1,43 Proz. Eiweifs.
- III. 2,504 g Pollen 0,00644 g (4,6 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 0,26 Proz. N = 1,625 Proz. Eiweifs.
- IV. 1,5 g Pollen 0,00392 g (2,8 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 0,261 Proz. N = 1,63 Proz. Eiweifs.
- V. 1,044 g Pollen 0,00301 g (2,15 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 0,29 Proz. N = 1,81 Proz. Eiweifs.

Im Mittel: 0,258 Proz. N = 1,61 Proz. Eiweifs.

Der Stickstoffgehalt des Pollenrückstandes nach der Wasserextraktion betrug bei:

- I. 0,0245 g (17,5 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 1,60 Proz.
- II. 0,02597 g (18,55 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 1,52 „
- III. 0,03717 g (26,55 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 1,48 „
- IV. 0,0225 g (16,10 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 1,50 „
- V. 0,01414 g (10,10 ccm $\frac{1}{10}$ -N.-H₂SO₄) = 1,35 „

Im Mittel 1,49 Proz. von der ursprünglichen Substanz.

Somit betrug der N-Gehalt der durch die Tanninlösung nicht fällbaren Stickstoffsubstanzen in der Wasserlösung bei

| | | |
|------|------------|------------------------|
| I. | 0,69 Proz. | } im Mittel 0,79 Proz. |
| II. | 0,79 „ | |
| III. | 0,80 „ | |
| IV. | 0,77 „ | |
| V. | 0,90 „ | |

Diese Zahlen zeigen, daß Wasser dem Pollen verhältnismäßig wenig Eiweiskörper entzieht. Die meisten Stickstoffsubstanzen blieben im Pollen zurück, während der Stickstoff der durch Tannin nicht fällbaren amidischen und peptonartigen Körper denjenigen des fällbaren ums Dreifache überträgt. Der Ammoniakgehalt des Pollens war nach Schloefsing zu 0,094 Proz. bestimmt.

Wenn die 3 Wasserauszüge mit Thymolwasser hergestellt waren, so konnte der so erschöpfte Pollen auch noch mit verdünnter Salzsäure und Natronlauge extrahiert werden, ohne daß eine Zersetzung eintrat, besonders wenn auch diese Lösungsmittel Thymol enthielten. Die Salzsäure wurde in einer Konzentration von 0,0212 g HCl im Kubikcentimeter¹

¹ Dragendorff, Pflanzenanalyse, p. 244.

und die Natronlauge 3 bis 5 pro Mille Natronhydrat, zu je 10 ccm auf je 1 g der ursprünglichen Substanz, angewandt und etwa 24 h. maceriert. Nach dem Abfiltrieren der Salzsäure wurde der Rückstand mit Wasser ausgewaschen, dann die Natronlauge angewandt und durch dasselbe Filter filtriert. Beide Auszüge wurden vereinigt, mit Natronlauge genau neutralisiert und dann, nach Zusatz eines halben Volums gesättigter Kochsalzlösung, mit der Tanninmischung versetzt. Es entstand ein ziemlich bedeutender Niederschlag, der gut abfiltriert werden konnte. Der auf diese Weise erschöpfte Pollen gab an keines der angewandten Lösungsmittel nachweisbare Mengen Eiweifs mehr ab, die Extraktion kann somit als eine vollständige betrachtet werden. Im Rückstande wie in dem durch Tannin erzeugten Niederschlage wurde der Stickstoffgehalt unter Berücksichtigung des Filterstickstoffs bestimmt. Der Stickstoffgehalt der mit Tannin aus dem Salzsäure- und Natronhydratauszuge gefällten Substanzen betrug bei:

- I. 1,833 g Pollen 0,00525 g ($3,75 \text{ ccm } \frac{1}{10}\text{-N.-H}_2\text{SO}_4$) = 0,286 Proz.
= 1,79 Proz. Eiweifs.
 - II. 2,56 g Pollen 0,00574 g ($4,10 \text{ ccm } \frac{1}{10}\text{-N.-H}_2\text{SO}_4$) = 0,224 Proz.
= 1,40 Proz. Eiweifs.
 - III. 1,985 g Pollen 0,00504 g ($3,6 \text{ ccm } \frac{1}{10}\text{-N.-H}_2\text{SO}_4$) = 0,255 Proz.
= 1,594 Proz. Eiweifs.
- Im Mittel 0,255 Proz. N = 1,595 Proz. Eiweifs.

Der Stickstoffgehalt des Rückstandes betrug bei

- 1,833 g Pollen 0,01071 g ($7,65 \text{ ccm } \frac{1}{10}\text{-N.-H}_2\text{SO}_4$) = 0,584 Proz.
 - 2,56 g " 0,01946 g ($13,9 \text{ ccm } \frac{1}{10}\text{-N.-H}_2\text{SO}_4$) = 0,76 "
 - 1,985 g " 0,01386 g ($9,9 \text{ ccm } \frac{1}{10}\text{-N.-H}_2\text{SO}_4$) = 0,7 "
- Im Mittel 0,681 Proz. N.

Amide. Dafs der Pollen reich an amidischen Körpern ist, ergibt sich schon aus der Thatsache, dafs Wasser ihm viele Stickstoffsubstanzen entzieht, die durch Tanninlösung nicht fällbar sind. Ausserdem liefsen sich die Amide sehr leicht nachweisen. Ein mit heifsem Wasser dargestellter Auszug gab, nach dem Klären mit Bleiessig, mit Quecksilberoxydnitrat einen Niederschlag, der mit Schwefelwasserstoff zerlegt ein Filtrat lieferte, das mit Kupferoxydhydrat sich blau färbte.

Beim Erhitzen des Pollens mit Natronlauge oder Kalkmilch entwickelten sich ammoniakalische Dämpfe, die Phenolphthaleinpapier stark röteten.

Etwa 50 g Pollen wurden mit Natronlauge der Destillation unterworfen und das Destillat im Wasser aufgefangen. Diese Lösung reagierte stark alkalisch und hatte den Geruch nach substituiertem Ammoniak. Beim Kochen mit alkoholischer Kalilauge und Chloroform

trat Isonitrilgeruch auf. Mit Salzsäure eingedampft, hinterblieben deutliche Krystalle. Mit Platinchlorid entstand hier ein gelber, krystallinischer Niederschlag.

Andere stickstoffhaltige Bestandteile.

Die Anwesenheit des Nukleins liefs auch diejenige seiner Zersetzungsprodukte, der N-reichen Pflanzenbasen, vermuten. Nach A. Kossel¹ ist das Hypoxanthin beteiligt an den wichtigsten chemischen Umwandlungen N-haltiger Körperbestandteile und ein notwendiges Produkt derjenigen Lebensprozesse, welche Tieren und Pflanzen gemeinsam sind. Ferner sagt Kossel², dafs diese N-reichen Körper in denjenigen Geweben, deren Zellen ihre ursprüngliche Beschaffenheit bewahrt haben, nicht als chemische Individuen vorkommen, sondern in Vereinigung mit anderen Atomgruppen, insbesondere mit Phosphorsäure und Eiweifs, als Teile einer höheren Verbindung, des Nukleins. Aus solchen Zellen können sie durch Wasser allein nicht extrahiert werden, daher schreibt seine Methode ihre Extraktion mit verdünnter Schwefelsäure vor. In Zellen dagegen, die ihre ursprüngliche Beschaffenheit eingebüfst haben, finden sie sich als Zersetzungsprodukte des Nukleins wieder, die chemische Verbindung zwischen denselben ist gelöst. Die Phosphorsäure ist nicht in organischer Verbindung, sondern als Salz vorhanden, ebenso sind Hypoxanthin und Xanthin in freiem Zustande durch Wasser extrahierbar.

Kossel meint ferner, dafs die Umwandlung von Adenin und Guanin in Hypoxanthin und Xanthin auch in den Geweben, vielleicht in jedem Zellkerne, vor sich gehe, und dafs diese Umwandlung im Zusammenhang stehe mit der Wanderung der Amidogruppe, die dabei abgespalten wird, unter Aufnahme von Sauerstoff, von Eiweifs zum Harnstoff.

v. Planta³ hatte schon nach dem Kossel'schen Verfahren Hypoxanthin und Guanin nachgewiesen. Er berechnet ihre Menge auf 0,04 Proz. Mir kam es darauf an, auch nach anderen Pflanzenbasen zu suchen und sie womöglich nebeneinander quantitativ zu bestimmen. Um den Pollen für die Einwirkung des Wassers leichter zugänglich zu

¹ Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. V, p. 270.

² Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. X, p. 248.

³ Landw. Vers. St. Bd. XXXII, p. 220.

machen, wurde er nach dem Verreiben mit Glaspulver zuerst mit Petroläther erschöpft und dann erst die Basen extrahiert. Auch ich legte dem summarischen Abscheidungsverfahren die bekannte, stets angewandte Methode der Fällung mit Silbernitrat zu Grunde.

250 g Pollen wurden nach dem Kossel'schen Verfahren¹ in einem Kolben bei Rückfluskkühlung, mit 2500 ccm einer 2proz. Schwefelsäure, 12 Stunden lang auf dem Wasserbade erhitzt. Aus dem Filtrat wurde die Schwefelsäure durch Baryhydrat im geringen Überschuß entfernt. Der Baryt wurde wiederum durch Einleiten von Kohlensäure beseitigt, die filtrierte Flüssigkeit dann zur Ausfällung von Eiweiß, Pflanzenschleim etc., unter Vermeidung eines Überschusses, mit Bleiessig versetzt und nach dem Absetzen filtriert. Das in Lösung gegangene Blei wurde durch Einleiten von H_2S entfernt. Nun wurde die ganze Flüssigkeit auf ein Fünftel des ursprünglichen Volumens eingeeengt, nochmals filtriert, mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, mit einer ebenfalls ammoniakalischen Silberlösung versetzt und die Basen bei Wasserbadtemperatur ausgefällt. Nach 24 stündigem Stehen wurde filtriert, der Niederschlag mit ammoniakhaltigem Wasser gut ausgewaschen, noch feucht vom Filter genommen und Niederschlag und Filter, jedes für sich, nach der Neubauer'schen² Methode, mit einer Salpetersäure von 1,1 spez. Gewicht, auf dem Wasserbade ausgezogen. Um die Bildung von salpetriger Säure zu vermeiden, die zersetzend auf die Basen einwirkt, wurde diese Operation unter Zusatz von Harnstoff ausgeführt. Die heiße filtrierte Lösung blieb, nach Zusatz von etwas Silbernitrat, 12 h. lang an einem kühlen Ort stehen. Der entstandene, krystallinische Niederschlag wurde dann auf einem kleinen Filter gesammelt und mit kaltem Wasser in kleinen Quantitäten ausgewaschen. Das im Filtrat gebliebene Xanthinsilbernitrat wurde durch Ammoniak als Xanthinsilber ($C_5H_2Ag_3N_4O_2$) abgeschieden, auf einem tarierten Filter gesammelt, mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen. Seine Menge betrug 0,0885 g = 0,0367 Xanthin = 0,015 Proz.

Dieser Körper zeigte alle Reaktionen des Xanthins. Die salpetersaure Lösung gab mit Silbernitrat einen weißen Niederschlag, der aus feinen, zu kugeligen Aggregaten vereinigten Nadeln bestand. Die freie Base gab, mit Salpetersäure eingedampft, auf Zusatz von Ammoniak keine Purpurfärbung.

Die abgeschiedenen salpetersauren Silberverbindungen der Basen wurden mit schwacher Ammoniakflüssigkeit vom Filter in eine Schale gespült, auf dem Wasserbade digeriert, wodurch die Salpetersäure ab-

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. V, p. 269.

² Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. VI, p. 33.

gespalten und die ursprüngliche Silberverbindung wieder hergestellt wurde. Nach dem Hinzufügen einer kleinen Quantität Silbernitrat wurde erkalten gelassen, filtriert und der rein weisse, krystallinische Rückstand so lange mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis im Filtrat keine Silberreaktion mehr erhalten wurde. Die Silberverbindung wurde nun im Wasser suspendiert und das Silber mit einer frischen, sehr stark verdünnten Schwefelammoniumlösung, unter Vermeidung eines Überschusses, bei Wasserbadtemperatur abgeschieden. Das Filtrat war völlig klar und farblos. Ein Teil des Guanins war hierbei in den Silberniederschlag übergegangen, der andere befand sich mit den übrigen Basen im Filtrat, die darin ganz übergingen. Um die Menge des Guanins festzustellen, wurde es sowohl aus dem Niederschlage, als auch aus dem Filtrat abgeschieden. Das Filtrat schied, mit Ammoniak schwach übersättigt (ein grosser Überschuss verzögert die Abscheidung), beim Erwärmen auf dem Dampfbade nach einiger Zeit das Guanin aus. Dasselbe wurde auf einem trockenen kleinen Filter gesammelt, mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen und das Filtrat aufgehoben. Zur Abscheidung des Guanins aus dem Silberniederschlage wurde dieser mit verdünnter Salzsäure ausgekocht und das in Lösung gegangene Guanin ebenfalls mit schwachem Ammoniak in der Wärme ausgefällt, auf dem ersten Guaninfilter gesammelt, gut ausgewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen. Die Menge des Guanins betrug 0,0535 g = 0,021 Proz.

Die salzsaure Lösung des Guanins gab auf Zusatz einer verdünnten Pikrinsäurelösung die bekannte Capranica'sche¹ Guaninreaktion. Es entstand ein gelber, seideglänzender Niederschlag, der unter dem Mikroskop pinselförmige Krystalle, oft zu kugeligen Krystallgruppen vereinigt, zeigte.

Das vom Guanin befreite ammoniakalische Filtrat wurde in einer gewogenen Platinschale verdunstet, in Wasser heiss gelöst und abermals verdunstet, bei 110° getrocknet und gewogen. Seine Menge betrug 0,2125 g = 0,085 Proz. Hypoxanthin.

Um mich zu überzeugen, ob der als Hypoxanthin gewogene Rückstand auch nicht Adenin enthielt, benutzte ich zu seinem Nachweis resp. seiner Abscheidung das von Bruhns² empfohlene Verfahren. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und mit einer Pikrinsäurelösung versetzt. Es entstand kein Niederschlag. Nach Bruhns ist das Adeninpikrat sehr schwer löslich im Wasser (1:3500), während das Hypo-

¹ Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. IV, p. 233.

² Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. XIV, p. 533 und auch Ber. d. d. chem. Ges. XXIII, p. 225.

xanthinipikrat darin sehr leicht löslich ist. Ein anderer Versuch, das Adenin nachzuweisen, ergab ebenfalls ein negatives Resultat.

In der durch salpetersaures Silber von den Stickstoffbasen befreiten Flüssigkeit konnte kein Asparagin und Glutamin nachgewiesen werden, weder durch Auskrystallisierenlassen, noch durch den Versuch, diese Körper in die entsprechenden Säuren überzuführen. Wohl entstand aber mit Quecksilberoxydnitrat ein Niederschlag, der nach dem Abspalten des Quecksilbers aus der Wasserlösung teils amorph, teils in oktaëdrischen Krystallen sich abschied. Dieser Körper ist von A. v. Planta¹ mit dem von E. Schulze und Bofshard in den wässerigen Extrakten aus jungen Rotklee- und Wickenpflanzen gefundenen Vernin identifiziert und in einer von ihm und E. Schulze publizierten Abhandlung² kurz beschrieben worden.

Aus 2500 g Pollen erhielt ich ca. 1 g dieser Substanz im unreinen Zustande. Nach dem Umkrystallisieren aus wenig Wasser erhielt ich eine weiße Masse, die einige oktaëdrische Krystalle enthielt, während die von A. v. Planta und E. Schulze beobachteten Krystalle äußerst dünne Prismen waren. Mit Silbersalz versetzt, schieden sich Krystalle aus, die einige Ähnlichkeit mit denjenigen des Hypoxanthinsilbernitrats hatten. Pikrinsäure erzeugte ebenfalls einen Niederschlag, in dem die für das Guanin charakteristischen pinselförmigen Krystalle enthalten waren.

Fasse ich die Resultate meiner Untersuchung noch einmal kurz zusammen, so ergeben sie in dem sand- und wasserfreien Pollen:

3,0 Proz. Asche, die sehr reich an Kalium und Phosphorsäure ist.

11 bis 12 Proz. eines bei ca. 40° C. schmelzenden Fettes. Dieses enthält 5,24 Proz. Glycerin, 6,16 Proz. unverseifbarer Bestandteile, die aus Cholesterin, Myricylalkohol und wahrscheinlich auch aus einem niedriger schmelzenden Fettalkohol aus der Reihe des letzteren bestehen, und 87,85 Proz. Fettsäuren. Diese bestehen wiederum aus 77,35 Proz. Ölsäure und 22,65 Proz. fester Fettsäuren, deren Hauptbestandteil die Palmitinsäure ist, während die Cerotinsäure quantitativ sehr zurücktritt. Säuren, deren Schmelzpunkt zwischen dem der Palmitin- und der Cerotinsäure liegen, scheinen ebenfalls vorhanden zu sein. Flüchtige Fettsäuren sind nur in Spuren enthalten, von diesen wurde nur Buttersäure mit Bestimmtheit nachgewiesen.

¹ l. c.

² Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. X, p. 326.

0,895 Proz. Lecithin,
12,75 „ Rohrzucker,
7,4 „ Amylum und keine Glykose.

Beim Kochen des Pollens mit $\frac{1}{2}$ -Nomalsalzsäure liefert er 33,1 Proz. Glykose, also 11,7 Proz. mehr als der gefundenen Stärke und dem Rohrzucker entspricht, welche aus einem die innere Zellwand bildenden Kohlehydrat stammt.

19,06 Proz. Cellulose.
Wenig Pflanzenschleim.
Weinsäure und Äpfelsäure.
2,54 Proz. Stickstoff.

Die Stickstoffsubstanzen bestehen aus Globulin, Nukleinen, Pepton, Albuminen, substituierten Ammoniaken und Ammoniak (0,094 Proz.). Peptonisierende Fermente sind nicht vorhanden.

Die durch Wasser gelösten und durch Tannin fällbaren Eiweißstoffe betragen 1,61 Proz.

Durch nachherige Extraktion mit verdünnter Salzsäure und Natronlauge werden gelöst und durch Tannin gefällt 1,595 Proz. Eiweißstoffe. Nach diesen Extraktionen enthält der Pollen noch 0,681 Proz. der ursprünglichen Substanz Stickstoff, während der Stickstoff der durch diese Lösungsmittel gelösten und durch Tannin nicht fällbaren Substanzen etwa die Hälfte des Gesamtstickstoffs, nämlich 1,34 Proz., beträgt.

Von amidischen Körpern wurden isoliert: 0,015 Proz. Xanthin, 0,021 Proz. Guanin, 0,085 Proz. Hypoxanthin, außerdem eine kleine Menge einer stickstoffreichen Verbindung, des Vernins.

Obige Arbeit wurde im pharmaceutischen Institut zu Dorpat ausgeführt, und ich bitte meinen hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. G. Dragendorff, für die freundliche Unterstützung meinen aufrichtigsten Dank entgegen zu nehmen.
