

Ueber die beim Umsatz der Proteinstoffe in den Keimpflanzen einiger Coniferen-Arten entstehenden Stickstoffverbindungen.

Von

E. Schulze.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich h.)
(Der Redaction zugegangen am 1. October 1896.)

In den von meinen Mitarbeitern und mir früher untersuchten Keimpflanzen waren Asparagin und Glutamin stets die in grösster Quantität auftretenden krystallisirbaren Stickstoffverbindungen. Anders fand ich es bei den Keimpflanzen zweier Coniferen-Arten¹⁾; in denselben prävalirte der Menge nach das Arginin.

Die erste Coniferen-Art, deren Keimpflanzen ich untersuchte, war die Fichte (*Picea excelsa*). Bei Ausführung einer Untersuchung, durch welche ich Aufschluss über die Verbreitung des Glutamins in den Pflanzen zu gewinnen wünschte, wurde ein wässriger Extract aus frischen Keimpflanzen der genannten Coniferen mit Hülfe von Bleiessig von Eiweissstoffen etc. befreit und sodann mit Mercurinitrat-Solution versetzt. Es entstand ein starker weisser Niederschlag, welcher abfiltrirt, ausgewaschen hierauf in Wasser vertheilt und durch Schwefelwasserstoff zerlegt wurde. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten Krystalle von Argininnitrat. Dass diesen Krystallen Asparagin oder Glutamin beigemischt war, ver-

¹⁾ Die für diese Versuche erforderlichen Coniferen-Samen erhielt ich in vortrefflicher Qualität von der Schweizerischen forstlichen Versuchsstation in Zürich.

mochte ich nicht nachzuweisen, möglich ist es aber, dass die Mutterlauge, deren Quantität freilich nur eine geringe war, ein wenig Glutamin eingeschlossen hat¹⁾.

Bei Verarbeitung einer zweiten Kultur solcher Keimpflanzen versetzte ich den zuvor mittelst Bleiessig gereinigten wässerigen Extract mit Phosphorwolframsäure. Ich erhielt einen sehr starken Niederschlag, aus welchem ich nach dem in dieser Zeitschrift²⁾ früher von mir beschriebenen Verfahren leicht Arginin in Form seines Nitrats isoliren konnte. Die von diesem Niederschlag abfiltrirte Flüssigkeit wurde zur Entfernung der darin noch enthaltenen Phosphorwolframsäure mit Barytwasser neutralisirt, die dabei entstandene starke Fällung abfiltrirt, das Filtrat noch mit etwas Bleiessig vermischt und nach nochmaliger Filtration mit Mercurinitrat in schwachem Ueberschuss versetzt. Aus dem durch dieses Reagens erzeugten Niederschlage konnte ich nach bekanntem Verfahren³⁾ Asparagin und ein wenig Glutamin zur Abscheidung bringen. Die Gesamtausbeute an diesen Amidn betrug aber weniger als die Hälfte der aus dem gleichen Keimpflanzen-Quantum gewonnenen Arginin-Menge.

Die Fichten-Keimpflanzen, auf welche die im Vorigen gemachten Mittheilungen sich beziehen, waren in einem verdunkelten Zimmer in Sand gezogen worden, sie hatten während ihrer ungefähr 2 wöchentlichen Vegetationszeit eine Länge von ca. 70 mm. erreicht. Ich untersuchte später auch noch Keimpflanzen der gleichen Art, welche in fruchtbarem Boden im Freien gewachsen waren. Aus denselben konnte ich nach dem im Vorigen beschriebenen Verfahren (Ausfällung

¹⁾ Dass in manchen Fällen das Glutamin durch Beimengungen an Aukrystallisiren verhindert wird, ist von uns beobachtet worden; ein auffallendes Beispiel dafür bieten z. B. die Ergebnisse, welche wir bei Untersuchung des glutaminhaltigen Saftes der Steckrüben (*Brassica Napus*, var. *napo brassica*) erhielten; m. vgl. Landw. Versuchsstationen, Bd. 48, S. 42.

²⁾ Bd. 11, S. 45.

³⁾ M. vgl. die über dies Verfahren, sowie über die zur Trennung von Asparagin und Glutamin verwendbare Methode in den Berichten der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 29, S. 1881, sowie in den landw. Versuchsstationen, Bd. 48, S. 35 ff. von mir gemachten Mittheilungen.

mit Phosphorwolframsäure und mit Mercurinitrat) Arginin und Glutamin gewinnen. Asparagin vermochte ich aus diesem Material nicht abzuscheiden.

Ueber die Art und Weise, in welcher die im Vorigen genannten Stickstoffverbindungen identificirt wurden, werde ich w. u. noch Mittheilungen machen.

In den Keimpflanzen der Weisstanne (*Abies pectinata*) prävalirte das Arginin noch mehr, als in denjenigen der Fichte. Ich untersuchte zwei Kulturen solcher Keimpflanzen, von denen die eine in einem verdunkelten Zimmer in Sand, die andere im Freien in fruchtbarem Boden gezogen worden war. In beiden Fällen lieferte der durch Bleiessig von Eiweissstoffen etc. befreite Extract mit Phosphorwolframsäure einen starken Niederschlag, aus welchem leicht Arginin isolirt werden konnte. Die vom Phosphorwolframsäure-Ueberschuss in oben beschriebener Weise befreiten Filtrate gaben mit Mercurnitrat nur ganz schwache Fällungen, aus denen ich weder Asparagin noch Glutamin zu isoliren vermochte. Diese beiden Amide fehlten also hier entweder vollständig oder waren doch nur in sehr geringer Menge vorhanden. Diesem Befunde entspricht auch das Resultat der w. u. mitgetheilten quantitativen Bestimmungen.

Endlich untersuchte ich noch Keimpflanzen der Kiefer (*Pinus silvestris*), welche in einem verdunkelten Zimmer in Sand gezogen worden waren; ihre Vegetationsdauer hatte ungefähr 2 Wochen betragen. Bei der Verarbeitung nach dem oben beschriebenen Verfahren lieferten sie Arginin und Asparagin; die Mutterlauge von den Asparaginkristallen schien ein wenig Glutamin zu enthalten, dessen Quantität aber zu gering war, um es isoliren zu können. Die Ausbeute an Asparagin war in diesem Falle grösser, als bei den vorher genannten Keimpflanzenarten.

Im Folgenden mache ich zunächst Angaben über die Art und Weise, in welcher die im Vorigen genannten Stickstoffverbindungen identificirt wurden. Das Arginin isolirte ich in Form seines Nitrats; letzteres wurde dann in die in kaltem Wasser schwer lösliche Kupferverbindung

= $(C_6H_{14}M_4O_2)_2Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$ übergeführt, welche bei langsamer Ausscheidung aus wässriger Lösung dunkelblaue, meist zu Gruppen vereinigte prismatische Krystalle von ziemlich characteristicem Aussehen bildet. Die Analyse dieser Kupferverbindung gab folgende Resultate:

Präparat I, aus *Picea excelsa*.

0,3915 gr. Substanz gaben 0,0373 gr. H_2O und 0,0530 gr. CuO .
 0,2475 » » 0,0230 » » » 0,0330 » »

Präparat II, aus *Abies pectinata*.

0,2735 gr. Substanz gaben 0,0250 gr. H_2O und 0,0378 gr. CuO .

Präparat III, aus *Pinus silvestris*.

0,1834 gr. Substanz gaben 39,5 cbcm. feuchtes Stickstoffgas bei 18° und 725 mm. Druck = 0,043539 gr. N.

	Berechnet für	Gefunden:		
		1.	2.	3.
	$(C_6H_{14}N_4O_2)_2Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$:			
H_2O	9,16	9,53	9,29	9,17 — %
Cu	10,76	10,80	10,64	11,03 — »
N	23,77	—	—	— 23,74 »

Das aus der Kupferverbindung abgeschiedene Nitrat stimmte in allen Fällen im Aussehen und im Verhalten mit dem Argininnitrat anderer Herkunft überein; es bildete kleine weisse Krystalle, welche sich ziemlich leicht in kaltem Wasser, dagegen nicht in einer gesättigten wässrigen Lösung eines aus Keimpflanzen von *Lupinus luteus* dargestellten Argininnitratpräparats lösten. Ihre wässrige Lösung gab folgende Reactionen:

Mit Phosphorwolframsäure: voluminösen weissen Niederschlag.

Phosphormolybdänsäure: gelblichen Niederschlag, löslich im Ueberschuss des Reagens.

Mercurinitrat: weissen Niederschlag.

Kaliumwismuthjodid: rothen Niederschlag.

Kaliumquecksilberjodid: keine Fällung, setzt man aber Natronlauge zu, so entsteht ein weisser Niederschlag.

Die gleichen Reactionen gibt Argininnitrat anderer Herkunft.

Das Asparagin wurde in gut ausgebildeten Krystallen erhalten, welche im Aussehen mit Asparaginkrystallen anderer

Herkunft übereinstimmten; es wurde durch seine Reactionen und durch Krystallwasserbestimmungen identifizirt; diese Bestimmungen lieferten folgende Resultate:

Präparat I, aus *Picea excelsa*:

0,3605 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0432 gr. an Gewicht.

Präparat II, aus *Pinus silvestris*.

0,4682 gr. Substanz verloren bei 100° 0,0560 gr. an Gewicht.

	Berechnet für $C_4H_8N_2O_3 + H_2O$:	Gefunden:	
		1.	2.
H ₂ O	12,00	11,98	11,96%

Das Glutamin krystallisirte in feinen Nadeln, welche sowohl beim Betrachten mit unbewaffnetem Auge wie unter dem Mikroskop das gleiche Aussehen zeigten wie Glutaminkrystalle anderer Herkunft. Sie lösten sich ziemlich leicht in Wasser, aber nicht in einer gesättigten wässerigen Lösung eines aus Rüben dargestellten Glutaminpräparats. Die Lösung zeigte beim Verdunsten starke Neigung zum Effloresciren. Beim Erhitzen mit verdünnter Alkalilauge und mit stark verdünnter Salzsäure wurden die Krystalle unter Ammoniakabspaltung zersetzt. Ihre wässerige Lösung lieferte beim Erhitzen mit Kupferoxydhydrat eine lasurblaue Flüssigkeit, aus welcher sich nach einiger Zeit eine Kupferverbindung ausschied, deren Kupfergehalt der Formel des Glutaminkupfers = $(C_5H_9N_2O_3)_2Cu$ entsprach:

0,2168 gr. Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0490 gr. CuO.

	Berechnet:	Gefunden:
Cu	17,89	18,03%

In Uebereinstimmung mit dem im Vorigen mitgetheilten Ergebnisse der qualitativen Untersuchung, nach dem in den Keimpflanzen von *Abies pectinata* das Arginin in weit grösserer Quantität sich vorfand als Asparagin oder Glutamin, stehen die Resultate einiger quantitativen Bestimmungen¹⁾. Als Object

¹⁾ Für die Ausführung dieser und der w. u. folgenden Bestimmungen bin ich den Herren Dr. E. Winterstein und Dr. M. Merlis zu Dank verpflichtet. Die analytischen Belege sind am Schluss der Abhandlung zusammengestellt.

für die letzteren dienten Keimpflanzen der eben genannten Coniferenart, welche im Freien gezogen worden waren und eine Länge von 85—90 mm. erreicht hatten. In diesen Keimpflanzen wurde neben dem Gesamtstickstoff die auf Proteinstoffe fallende Stickstoffmenge nach der Vorschrift von Stutzer bestimmt; ferner wurde das bei Ausführung der letzteren Bestimmung resultirende eiweissfreie Filtrat mit Phosphorwolframsäure versetzt, der dadurch erzeugte Niederschlag auf ein Filter gebracht, mit verdünnter Schwefelsäure ausgewaschen, und sodann zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode verwendet. Die Resultate, berechnet in Procenten der schalenfreien Keimpflanzen-Trockensubstanz, waren die folgenden:

a) Gesamtstickstoff	4,04 %
b) Stickstoff in Proteinstoffen	2,98 »
c) Stickstoff im Phosphorwolframsäure-Niederschlag	0,87 »

Subtrahirt man die Summe der unter b und c aufgeführten Zahlen vom « Gesamtstickstoff », so bleibt als Rest die auf andere Verbindungen (Amidosäuren etc.) fallende Stickstoffmenge. Sie beträgt nur 0,19% der Keimpflanzen-Trockensubstanz.

Berechnet man aus diesen Zahlen die Vertheilung des Gesamtstickstoffs auf die einzelnen Stoffgruppen, so ergibt sich Folgendes:

Von 100 Th. des Gesamtstickstoffs fallen		
auf Proteinstoffe	auf die aus eiweissfreiem Extract durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen	auf andere Verbindungen (Diff.)
73,8 Th.	21,5 Th.	4,7 Th.

Wenn es auch wahrscheinlich ist, dass die im Phosphorwolframsäure-Niederschlag vorgefundene Stickstoffmenge nicht ausschliesslich dem Arginin angehörte, so darf doch andererseits aus den bei Verarbeitung dieses Niederschlags erhaltenen Ergebnissen wohl geschlossen werden, dass in demselben neben Arginin andere organische Stickstoffverbindungen nur in ganz zurücktretender Quantität sich vorfanden. Denn die bei Zerlegung dieses Niederschlags mittels Kalkmilch erhaltene Flüssigkeit trocknete, als sie nach der Neutralisation mit Salpeter-

säure zunächst im Wasserbade concentrirt und dann zur weiteren Verdunstung in den Exsiccator über Schwefelsäure gestellt wurde, zu einer Krystallmasse ein, aus welcher ich ausser einer geringen Kaliumnitratmenge nur Argininnitrat zu isoliren vermochte.

Die Ergebnisse der qualitativen und der quantitativen Untersuchung führen also übereinstimmend zu der Schlussfolgerung, dass unter den löslichen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen der Keimpflanzen von *Abies pectinata* das Arginin der Quantität nach sehr stark prävalirte. Ob unter diesen Stickstoffverbindungen auch Asparagin und Glutamin sich vorfanden, muss auf Grund der bei der qualitativen Untersuchung erhaltenen Resultate für fraglich erklärt werden; doch liegt es im Bereich der Möglichkeit, dass diese Amide in sehr geringer Quantität vorhanden waren und dass es bei Anwendung grosser Materialmengen gelungen wäre, sie zu isoliren.

Keimpflanzen von *Picea excelsa*, welche in einem verdunkelten Zimmer in Sand gezogen worden waren und eine Länge von ca. 70 mm. erreicht hatten, gaben bei der in oben beschriebener Weise ausgeführten Analyse folgende, in Procenten der schalenfreien Keimpflanzen-Trockensubstanz berechnete Resultate:

a) Gesamtstickstoff	5,73 %
c) Stickstoff in Proteinstoffen.	3,13 »
e) Stickstoff im Phosphorwolframsäure-Niederschlag	1,68 »

Für die Vertheilung des Gesamtstickstoffs berechnen sich aus diesen Daten folgende Zahlen:

Von 100 Th. des Gesamtstickstoffs fallen		
auf Proteinstoffe	auf die aus eiweiss-freiem Extract durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen	auf andere Verbindungen (Diff.)
54,6 Th.	29,3 Th.	16,1 Th.

Dass in diesen Keimpflanzen auf die in der 3. Columne aufgeführten Stickstoffverbindungen ein weit grösserer Theil des Gesamtstickstoffs fiel, als in den Keimpflanzen von

Abies, steht in Uebereinstimmung mit den oben mitgetheilten Resultaten der qualitativen Untersuchung; denn aus den Keimpflanzen von Picea konnte ich ja ausser Arginin auch Asparagin und Glutamin abscheiden. Es ist wahrscheinlich, dass auch in diesem Falle die im Phosphorwolframsäure-Niederschlag vorgefundene Stickstoffmenge, welche 29,3% des Gesamtstickstoffs und mehr als 60% der im Ganzen auf nichtproteinartige Verbindungen fallenden Stickstoffquantität ausmachte, grösstentheils dem Arginin angehörte¹⁾.

Eine nicht unbeträchtliche Abweichung von den vorstehenden Zahlen zeigen die Resultate, welche bei der Analyse einer in fruchtbarem Boden im Freien gezogenen Cultur von Keimpflanzen der gleichen Coniferen-Art (*Picea excelsa*) erhalten wurden; es ergaben sich hier folgende Zahlen:

Von 100 Th. des Gesamtstickstoffs fallen

auf Proteinstoffe	auf die aus eiweiss- freiem Extract durch Phosphorwolframsäure fällbaren Verbindungen	auf andere Verbindungen (Diff.)
64,4 Th.	14,9 Th.	20,7 Th.

Diese Abweichungen können darin ihren Grund haben, dass die bezüglichen Keimpflanzen unter anderen Versuchsbedingungen (im Freien) gewachsen waren; indessen deuten die bei der qualitativen Untersuchung erhaltenen Ergebnisse darauf hin, dass auch in verschiedenen Culturen der unter gleichen Bedingungen im verdunkelten Zimmer gezogenen Keimpflanzen von Picea das Mengenverhältniss zwischen Arginin und den Amidn ziemlich starken Schwankungen unterlag.

Dass wir das in den Keimpflanzen der Coniferen vorgefundene Arginin als ein während des Keimungsvorgangs auf Kosten von Proteinstoffen entstandenes Product anzusehen haben, kann einem Zweifel nicht unterliegen; denn in den

¹⁾ Für diese Annahme sprechen auch in diesem Falle, ebenso wie bei den Keimpflanzen von Abies, die Beobachtungen, welche bei der qualitativen Untersuchung gemacht wurden.

ungekeimten Samen fiel nur ein sehr geringer Bruchtheil des Gesamtstickstoffs auf nichtproteinartige Verbindungen, wie aus folgenden Zahlen zu ersehen ist:

	Samen von Abies pectinata.	Samen von Picea excelsa.	Samen von Pinus silvestris.
Gesamtstickstoff	1,61 %	3,31 %	5,98 %
Stickstoff in Proteinstoffen	1,55 »	3,27 »	5,95 »
Stickstoff der nichtproteinartigen Verbindungen (Diff.)	0,05 »	0,04 »	0,03 »

Die in den ungekeimten Samen auf nichtproteinartige Verbindungen fallende Stickstoffmenge bildet nur einen kleinen Bruchtheil der Stickstoffquantität, die nach längerer Dauer des Keimungsvorgangs in Form von Arginin sich vorfand; der dem Arginin angehörende Stickstoff muss also früher Bestandtheil von Proteïn-molekülen gewesen sein. Dieses Versuchsergebniss liefert eine Bestätigung der schon vor längerer Zeit aus meinen Untersuchungen von mir abgeleiteten Schlussfolgerung, dass in den Keimpflanzen das Arginin ein Product des Umsatzes der Proteïn-stoffe ist¹⁾.

Nachdem S. G. Hedin²⁾ das Arginin unter den beim Erhitzen der Proteïn-stoffe mit Salzsäure entstehenden Producten aufgefunden hat, darf man es aber auch für höchstwahrscheinlich erklären, dass die genannte Stickstoffverbindung in den Keimpflanzen als primäres Spaltungsproduct der Proteïn-stoffe sich bildet; man hat sie demnach als eines der Bruchstücke anzusehen, die bei der Zertrümmerung von Proteïn-molekülen während des Keimungsvorgangs entstehen — eine Schlussfolgerung, durch welche selbstverständlich die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden soll, dass Arginin auch durch einen synthetischen Process in den Pflanzen sich bilden kann³⁾.

¹⁾ Vgl. die von mir in den Berichten der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 1098, sowie in dieser Zeitschr., Bd. 11, S. 62 gemachten Mittheilungen.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. 21, S. 155.

³⁾ Es ist also denkbar, dass von dem in den Keimpflanzen der Coniferen vorgefundenen Arginin ein Theil bei der Spaltung von Proteïn-molekülen, ein anderer durch einen synthetischen Process entstanden ist.

Da Hedin aber aus Proteinstoffen höchstens 2,75% Arginin erhielt¹⁾, so muss es als auffallend bezeichnet werden, dass in den Keimpflanzen von *Abies* das Arginin in weit grösserer Menge auftrat, als irgend ein anderes isolirbares Zersetzungsproduct der Proteinstoffe.

Diese Erscheinung würde sich am leichtesten erklären, wenn die Proteinsubstanz, der Samen von *Abies pectinata*, auch beim Kochen mit Salzsäure als Hauptproduct Arginin gäbe. Letzteres musste im Hinblick auf die an den Proteinsubstanzen anderer Pflanzensamen gemachten Beobachtungen von vornherein für sehr unwahrscheinlich erklärt werden; doch schien es angezeigt, das Experiment darüber entscheiden zu lassen. Ich habe daher 10 gr. eines aus entfetteten *Abies*-Samen nach dem Ritthausen'schen Verfahren dargestellten Proteinsubstanz-Präparats mit ca. 60 ccm. 20 proc. Salzsäure und einer geringen Zinnchlorür-Menge ungefähr 84 Stunden lang am Rückflusskühler erhitzt. Nachdem die so erhaltene Lösung vom Zinn und vom grössten Theil der Salzsäure befreit worden war, wurde sie auf ein bestimmtes Volumen gebracht; abgemessene Antheile dieser Flüssigkeit dienten sodann zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs, der in den Phosphorwolframsäure-Niederschlag eingehenden Stickstoffmenge und des Ammoniaks. Aus den Bestimmungen ergab

¹⁾ Dagegen fand A. Kossel (Sitzungsberichte der Akademie der Wissenschaften in Berlin, 1896, Bd. 18, sowie diese Zeitschr., Bd. 22, S. 176), dass ein aus dem Sperma des Störs dargestellter eiweissartiger Stoff, das Sturin, bei der Spaltung durch Schwefelsäure fast nur Basen (nämlich Arginin, Histidin und eine dritte, noch nicht näher untersuchte Base), aber keine Amidosäuren gibt. Kossel bezeichnet das Sturin und das aus dem Lachssperma darstellbare Salmin als «Protamine». Er hat gezeigt, dass die Protamine sich mit Eiweisskörpern zu vereinigen vermögen. «Durch eine solche Anfügung von Protamin an Eiweiss müssen natürlich neue Eiweisssubstanzen entstehen, welche mehr Arginin oder überhaupt mehr Basen liefern. Nimmt man an, dass diese Anfügung auch in der Zelle vor sich geht, so ergibt sich eine Erklärung für die von Hedin gefundene Thatsache, dass die verschiedenen Eiweisskörper bei der Hydrolyse verschiedene Mengen von Arginin ergeben».

sich, dass ungefähr 40% des Gesamtstickstoffs organischen Verbindungen, welche durch Phosphorwolframsäure fällbar waren, angehörte. Da ich dieses Resultat durch einen neuen Versuch mit längerer Kochdauer zu controliren und auch über die Beschaffenheit der durch die Phosphorwolframsäure gefällten Stickstoffverbindungen eine Untersuchung anzustellen gedenke, so theile ich die obige Zahl hier nur unter Vorbehalt mit¹⁾. Es ist aber nicht anzunehmen, dass aus einem neuen Versuch mit längerer Kochdauer für den Stickstoffgehalt des Phosphorwolframsäure-Niederschlags eine höhere Zahl sich ergeben wird; aus den oben mitgetheilten Versuchsergebnissen lässt sich daher die Schlussfolgerung ableiten, dass in der bei Zersetzung der Proteïnsubstanz der Weisstannen-Samen durch Salzsäure erhaltenen Lösung mehr als die Hälfte des Gesamtstickstoffs den durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Verbindungen (Amidosäuren etc.) angehörte. Das Mengenverhältniss zwischen den Basen (Arginin etc) und den anderen Stickstoffverbindungen war also in dieser Lösung ohne Zweifel ein ganz anderes, als in den von Proteïnstoffen befreiten Extracten aus den Keimpflanzen der Weisstanne.

Im Hinblick auf die Resultate, welche die Proteïnsubstanz der Weisstannen-Samen bei der Zersetzung durch Salzsäure gegeben hat, muss es für unwahrscheinlich erklärt werden, dass beim Zerfall der Proteïnmoleküle in den Keimpflanzen der Weisstanne neben Arginin nur eine sehr geringe Menge anderer Stickstoffverbindungen entstanden ist; man muss vielmehr annehmen, dass die starke Anhäufung des

¹⁾ Die obige Zahl ist auffallend hoch. Wie oben erwähnt wurde, erhielt Hedin aus Proteïnstoffen höchstens 2,75% Arginin. Gesetzt, dass 100 Th. Proteïnsubstanz à 16% Stickstoff 2,75 Th. Arginin à 32,2% Stickstoff liefern, so würde das Arginin nur 5,5% vom Stickstoff der zersetzten Proteïnsubstanz einschliessen. Freilich entstehen bei der Zersetzung neben Arginin auch noch andere organische Basen. Nehmen wir aber an, dass letztere ebensoviel Stickstoff einschliessen, wie das Arginin, so würde die Gesamtmenge doch nur 11% vom Stickstoff der Proteïnsubstanz betragen.

Arginins erst eine Folge der Umwandlungen ist, denen die beim Proteinzerfall zuerst entstandenen Producte im Stoffwechsel der Keimpflanzen unterlagen. Dass für das Stattfinden solcher Umwandlungen, welche selbstverständlich auch mit der Regeneration von Eiweissstoffen im Zusammenhang stehen können, auch die an anderen Keimpflanzen gemachten Beobachtungen sprechen, ist aus der vorhergehenden Abhandlung zu ersehen; ausführlicher gedenke ich den gleichen Gegenstand später in einer anderen Publikation zu behandeln.

Analytische Belege.

Vor Mittheilung der analytischen Belege seien einige Angaben über die Methoden der Analyse gemacht. Die im Folgenden zusammengestellten Stickstoffbestimmungen wurden nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführt. Beim Abdestilliren des Ammoniaks wurde verdünnte Schwefelsäure vorgeschlagen; zum Zurücktitriren derselben diente $\frac{1}{10}$ Normal-Ammoniakflüssigkeit (1 ccm. = 0,0014 gr. N).

Da die Coniferen-Samen sehr fettreich sind, sich in Folge davon nicht zu einem Pulver zerreiben lassen, so wurden sie zunächst mittelst Aether nahezu entfettet. Der entfettete Rückstand wurde auf das Feinste zerrieben, nachdem er zuvor gewogen und nachdem sein Trockensubstanzgehalt bestimmt worden war; das so erhaltene Pulver, in welchem wiederum der Trockensubstanz-Gehalt bestimmt wurde, diente für die Stickstoffbestimmungen ¹⁾. Um die Resultate in Procenten der ganzen fetthaltigen Samen berechnen zu können, musste noch der Trockensubstanzgehalt des ätherischen Auszugs bestimmt werden. Zu diesem Zweck wurde dieser Auszug auf ein bestimmtes Volumen gebracht; abgemessene Antheile desselben wurden dann der Destillation unterworfen, die Destillationsrückstände bei 100° im Wasserstoffstrom getrocknet und gewogen ²⁾. Durch Addition der so erhaltenen Fett-Quantität und der im entfetteten Rückstand vorgefundenen Trockensubstanzmenge ergab sich das Gewicht der in den ganzen Samen vorhanden gewesenen Trocken-

¹⁾ Bei der Berechnung des Stickstoffgehalts der Samen wurde angenommen, dass der Aetherextract stickstofffrei sei. Allerdings enthält derselbe etwas Lecithin; doch ist die Menge desselben so gering, dass sein Stickstoffgehalt unberücksichtigt bleiben konnte.

²⁾ Beim Erhitzen im Wasserstoffstrom verflüchtigt sich ätherisches Oel (Terpen). Die Procentzahlen, welche oben angegeben werden, beziehen sich also auf die von Feuchtigkeit und von ätherischem Oel befreite Trockensubstanz.

substanz. Für das Mengenverhältniss dieser Trockensubstanz zum entfetteten Rückstand ergaben sich folgende Zahlen:

100 Th. Samentrockensubst. von *Abies* gaben 69,75 Th. entfett. Rückst. (wasserfrei).

100 Th. Samentrockensubst. von *Picea* gaben 72,25 Th. entfett. Rückst. (wasserfrei).

100 Th. Samentrockensubst. von *Pinus* gaben 74,07 Th. entfett. Rückst. (wasserfrei).

Der «entfettete Rückstand» war nicht völlig fettfrei, weil die Samen vor der Behandlung mit Aether nur zerstoßen, aber nicht fein zerrieben werden konnten; die darin noch enthaltene Fettmenge wurde daher bestimmt, um unter Zuhülfenahme der dabei erhaltenen Resultate den Fettgehalt der Samen berechnen zu können. Es ergaben sich folgende Zahlen:

Die Samen von <i>Abies</i>	enthielten	32,88 %	Fett.
» » » <i>Picea</i>	»	29,95 »	»
» » » <i>Pinus</i>	»	28,12 »	»

Die Keimpflanzen wurden vor der Analyse von den Schalen befreit. Sie liessen sich ohne Schwierigkeit in einer Reibschale zerreiben, da das fette Oel während der Keimung grösstentheils aufgezehrt war. Da es nicht gelungen war, sie vor dem Zerreiben durch Abspülen mit Wasser vollständig vom anhängenden Sand zu befreien; so wurde eine approximative Bestimmung ihres Sandgehalts in der Weise ausgeführt, dass eine abgewogene Quantität eingäschert, die Asche mit Salzsäure behandelt, der dabei verbleibende unlösliche Rückstand als «Sand» in Rechnung gestellt wurde. Die nachfolgenden Angaben beziehen sich auf sandfreie Substanz (d. h. Trockensubstanz nach Abrechnung des Sandgehalts).

Gesamtstickstoff.

	Angewendet ¹⁾ :	Gefunden:
von <i>Abies</i>	0,9148 gr. entfett. Rückstand = 1,3115 gr. Samentrockensubst.	0,02128 gr. N = 15,2 ccm. Lauge.
Desgl.	Gleiche Menge.	0,02100 » » = 15,0 » »
von <i>Picea</i>	0,9198 gr. entfett. Rückstand = 1,2730 gr. Samentrockensubst.	0,0420 » » = 30,0 » »
Desgl.	Gleiche Menge.	0,04228 » » = 30,2 » »
von <i>Pinus</i>	0,9188 gr. entfett. Rückstand = 1,2404 gr. Samentrockensubst.	0,0742 » » = 53,0 » »
Desgl.	Gleiche Menge.	0,0742 » » = 53,0 » »

¹⁾ Abgewogen wurde je 1,0 gr. lufttrockene Substanz. Oben gebe ich nur die diesem Quantum entsprechende Trockensubstanzmenge an.

Gesamtstickstoff.

	Angewendet ¹⁾ :	Gefunden:
Keimpflanzen von Abies	0,8598 gr. Trockensubst.	0,03612 gr. N = 25,8 cbcm. Laug.
Desgl.	Gleiche Menge.	0,03346 » » = 23,9 »
Keimpflanzen von Picea I	0,8958 gr. Trockensubst.	0,05068 » » = 36,2 »
Desgl.	Gleiche Menge.	0,05194 » » = 37,1 »
Keimpflanzen von Picea II	0,9164 gr. Trockensubst.	0,06048 » » = 43,2 »
Desgl.	Gleiche Menge.	0,06104 » » = 43,6 »

Stickstoff in Proteinstoffen.

	Angewendet ²⁾ :	Gefunden:
Samen von Abies	1,8296 gr. entfett. Rückstand = 2,623 gr. Samentrockensubst.	0,04088 gr. N = 29,2 cbcm. Laug.
Desgl.		0,04072 » » = 28,8 »
Samen von Picea	0,9198 gr. entfett. Rückstand = 1,2730 gr. Samentrockensubst.	0,04172 » » = 29,8 »
Desgl.		0,04144 » » = 29,6 »
Samen von Pinus	0,9188 gr. entfett. Rückstand = 1,2404 gr. Samentrockensubst.	0,07392 » » = 52,8 »
Desgl.		0,07364 » » = 52,6 »
Keimpflanzen von Abies .	1,7196 gr. Trockensubst.	0,05194 » » = 37,1 »
Desgl. .	Gleiche Menge.	0,05054 » » = 36,1 »
Keimpflanzen von Picea I	1,7916 gr. Trockensubst.	0,05614 » » = 40,1 »
Desgl. .	Gleiche Menge.	0,05586 » » = 39,9 »
Keimpflanzen von Picea II	0,9164 gr. Trockensubst.	0,03948 » » = 28,2 »
Desgl. .	Gleiche Menge.	0,03864 » » = 27,6 »

Stickstoff im Phosphorwolframsäure-Niederschlag.

	Angewendet:	Gefunden:
Keimpflanzen von Abies .	1,7196 gr. Trockensubst.	0,01484 gr. N = 10,6 cbcm. Laug.
Desgl. .	Gleiche Menge.	0,01540 » » = 11,0 »
Keimpflanzen von Picea I	1,7916 gr. Trockensubst.	0,03036 » » = 21,9 »
Desgl. .	Gleiche Menge.	0,02982 » » = 21,3 »
Keimpflanzen von Picea II	0,9164 gr. Trockensubst.	0,00868 » » = 6,2 »
Desgl. .	1,8328 » »	0,01876 » » = 13,4 »

¹⁾ Abgewogen wurde je 1,0 gr. lufttrockene Substanz. Oben gebe ich nur die diesem Quantum entsprechende Trockensubstanzmenge an.

²⁾ Das abgewogene Quantum betrug je 1,0 gr. bzw. 2,0 gr. Oben gebe ich nur die darin enthaltene Trockensubstanzmenge an.