

Ueber einige stickstoffhaltige Bestandtheile der Keimlinge von *Vicia sativa*.

Von

E. Schulze.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)
(Der Redaction zugegangen am 7. Juli 1892.)

In den etiolirten Keimlingen von *Vicia sativa*, einem zur Gewinnung von Asparagin bekanntlich sehr geeigneten Material¹⁾, sind schon vor einer Reihe von Jahren durch von Gorup-Besanez²⁾ neben diesem Amid andere Stickstoffverbindungen aufgefunden worden, welche man gleichfalls als Producte der mit dem Keimungsvorgang verbundenen Eiweisszersetzung ansehen kann. Aus dem durch Aufkochen vom Eiweiss befreiten und sodann noch durch Versetzen mit Weingeist und darauf folgende Filtration gereinigten Saft der Keimlinge³⁾ gewann der genannte Forscher durch Krystallisation neben Asparagin einen Körper, welcher nach seinem Verhalten für Leucin erklärt werden konnte (eine Analyse desselben ist nicht ausgeführt worden). Da das Roh-Leucin die für Tyrosin charakteristische Reaction mit Mercurinitrat und salpetriger Säure gab, so war anzunehmen, dass auch diese letztere Amidosäure in den Keimlingen sich vorfand,

¹⁾ Aus den Wickenkeimlingen haben Piria, Pasteur, Dessaignes und Chautard, Cossa und Piutti Asparagin dargestellt (vgl. Gmelin's Handbuch der Chemie, Bd. 5, S. 360, Supplementband, S. 899, ferner Landw. Versuchsstationen, Bd. 15, S. 182, und Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 19, S. 1691).

²⁾ Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 146 u. 569, Bd. 10, S. 780.

³⁾ In einigen Versuchen kam Saft zur Verwendung, welcher durch Aufkochen vom Eiweiss befreit und sodann durch Dialyse gereinigt worden war.

wenn auch nur in sehr geringer Quantität. Die nach dem Auskrystallisiren des Asparagins und Leucins übrig gebliebene Mutterlauge lieferte, nachdem sie zuvor mit Salzsäure gekocht worden war, eine geringe Menge von Glutaminsäure. Aus diesen Versuchsergebnissen schloss v. Gorup-Besanez, dass in den Wickenkeimlingen, wahrscheinlich als Producte des Eiweisszerfalls, Asparagin, Glutamin, Leucin und Tyrosin neben einander entstehen.

Dass aber die Reihe der in keimenden Wicken sich bildenden Stickstoffverbindungen damit noch nicht geschlossen ist, können die nachfolgenden Mittheilungen lehren.

Ueber die Gründe, welche mich veranlassten, die Wickenkeimlinge einer erneuten Untersuchung zu unterwerfen, sei hier Folgendes mitgetheilt: Im XI. Bande dieser Zeitschrift¹⁾ beschrieb ich eine in Lupinen- und Kürbiskeimlingen von mir aufgefundene stickstoffreiche Base, das Arginin = $C_6H_{14}O_4N_2$. Schon damals konnte ich es für sehr wahrscheinlich erklären, dass diese Base während des Keimungsvorgangs auf Kosten von Eiweissstoffen sich bildet. Der sichere Beweis dafür ist später von mir beigebracht worden²⁾. Diese Thatsache kann aber um so mehr Interesse beanspruchen, als wir jetzt durch die Arbeiten Drechsel's³⁾ wissen, dass auch bei der Spaltung der Eiweissstoffe durch Salzsäure neben den länger schon bekannten Producten Kohlenstoffverbindungen von basischem Charakter sich bilden, von denen zwei, nämlich das Lysatin = $C_6H_{13}N_3O_2$ und das Lysin = $C_6H_{11}N_2O_2$ ⁴⁾, bis jetzt isolirt werden konnten. Ein weiteres Interesse knüpft sich an die Thatsache, dass gleich dem Lysatin auch das Arginin beim Erhitzen mit Barytwasser Harnstoff liefert⁵⁾.

¹⁾ S. 43—65. Die Untersuchung des Arginins habe ich in Verbindung mit E. Steiger ausgeführt.

²⁾ Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 1098.

³⁾ Archiv für Anatomie und Physiologie, 1891, physiologische Abtheilung, S. 248.

⁴⁾ Nach einer neueren Publication Drechsel's ist der letztere Körper wahrscheinlich Diamidocaprinsäure.

⁵⁾ Nach einer von A. Likiernik und mir (Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 24, S. 2701) ausgeführten Untersuchung.

Es erschien mir nun wünschenswerth, noch einige andere Keimpflanzen in dieser Richtung zu untersuchen und zu prüfen, ob dieselben Arginin oder andere Basen, deren Entstehung auf den Zerfall von Eiweissstoffen zurückgeführt werden kann, enthalten. Als ein geeignetes Object für eine solche Untersuchung konnten die bei Lichtabschluss erwachsenen Keimlinge der Wicke betrachtet werden, da von früher her schon bekannt war, dass dieselben beträchtliche Quantitäten von Eiweisszersetzungsproducten enthalten.

Ausser den in diesen Keimlingen enthaltenen organischen Basen habe ich auch die darin sich vorfindenden Amidosäuren einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Denn es war nicht unwahrscheinlich, dass neben den durch von Gorup-Besanez aufgefundenen Amidosäuren in den Wickenkeimlingen noch andere Glieder dieser Stoffgruppe enthalten seien und dass der Nachweis derselben mit Hilfe der bei den Lupinen- und Kürbiskeimlingen von mir angewendeten Methoden gelingen werde — Vermuthungen, deren Richtigkeit durch die im Nachfolgenden gemachten Mittheilungen denn auch bewiesen wird.

Zur Klarstellung der bei meiner Arbeit verfolgten Ziele will ich endlich noch darauf hinweisen, dass man nach den von mir und meinen Mitarbeitern ausgeführten Untersuchungen in verschiedenen Keimpflanzen nicht immer die gleichen stickstoffhaltigen Stoffwechselproducte vorfindet und dass man demnach, um einen Ueberblick über die während des Keimungsvorganges sich bildenden Stickstoffverbindungen zu erhalten, mehrere Arten von Keimpflanzen untersuchen muss. Es war daher von Interesse, neben den früher schon von mir untersuchten Lupinen- und Sojakeimlingen auch noch diejenigen der Wicke einer möglichst eingehenden Untersuchung zu unterwerfen.

Die Keimpflanzen, welche zu den im Folgenden beschriebenen qualitativen Untersuchungen dienten, wurden in grossen mit Flusssand gefüllten Zinkblechkästen bei fast vollständigem Lichtabschluss und bei einer Temperatur von 20—22° gezogen; sie wurden theils in frischem Zustand ver-

wendet, theils vor der Untersuchung getrocknet. Letzteres geschah in einem geräumigen Trockenschranke bei einer beträchtlich unter 100° liegenden Temperatur. Die für analytische Bestimmungen verwendeten Keimlinge zog ich auf paraffinirten Gazenetzen, welche über flache, mit destillirtem Wasser gefüllte Glasschalen gespannt waren. Soweit nicht ausdrücklich etwas Anderes angegeben ist, hatten die als Untersuchungsmaterial benutzten Keimlinge drei Wochen lang bei Lichtabschluss vegetirt.

Zum Beschluss der einleitenden Bemerkungen sei noch erwähnt, dass bei Ausführung der im Folgenden aufgeführten analytischen Bestimmungen die Herren Dr. E. Winterstein und S. Frankfurt mir Hilfe geleistet haben, wofür ich ihnen an dieser Stelle meinen Dank ausspreche.

A. Organische Basen.

Es gelang mir nicht, Arginin in den Wickenkeimlingen nachzuweisen. Wie aus der oben citirten Abhandlung zu ersehen ist, kann man diese Base sowohl durch Mercurinitrat als durch Phosphorwolframsäure aus den Extracten ausfällen. Bei Zerlegung des durch das erstere Reagens im Saft der Keimlinge hervorgebrachten Niederschlags erhielt ich nur Krystalle von Asparagin. Auch aus dem Niederschlag, welchen Phosphorwolframsäure in einem wässerigen Extract aus getrockneten, zuvor mit Weingeist extrahirten, Wickenkeimlingen hervorbrachte, konnte ich nach dem früher beschriebenen Verfahren¹⁾ kein Arginin erhalten.

Dagegen vermochte ich aus den Wickenkeimlingen Cholin, Betain und eine meines Wissens bisher noch nicht in einer Pflanze nachgewiesene Base, nämlich Guanidin, zur Abscheidung zu bringen²⁾. Das Nähere ist aus den nachfolgenden Mittheilungen zu ersehen.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 44 und 45.

²⁾ Eine kurze Mittheilung über die Auffindung von Guanidin in den Wickenkeimlingen ist in den Berichten der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 25, S. 658 von mir gemacht worden.

a) Guanidin.

Die Abscheidung dieser Base gelang in folgender Weise: Die getrockneten, fein zerriebenen Wickenkeimlinge wurden in der Wärme mit 91—92procentigem Weingeist extrahirt. Den durch Filtration vom Ungelösten getrennten Extract unterwarfen wir der Destillation, behandelten den dabei verbleibenden Rückstand mit Wasser, versetzten die so erhaltene trübe Flüssigkeit mit etwas Gerbsäure, hierauf mit Bleiessig und brachten sie nun auf's Filter. Aus der vom Bleiniederschlag abgelaufenen Flüssigkeit wurde durch Schwefelsäure das Blei ausgefällt; dann wurde eine wässerige Phosphorwolframsäure-Lösung hinzugefügt. Es entstand ein starker Niederschlag, welcher abfiltrirt, mit verdünnter Schwefelsäure gewaschen, zwischen Fliesspapier stark abgepresst und sodann durch Behandlung mit kalter Kalkmilch¹⁾ zerlegt wurde. Die von den unlöslichen Kalkverbindungen abfiltrirte alkalische Lösung wurde, nachdem Kohlensäure eingeleitet und der durch letztere hervorgebrachte Niederschlag durch Filtration beseitigt worden war, mit Salpetersäure möglichst genau neutralisirt²⁾ und sodann im Wasserbade bei gelinder Wärme zum dünnen Syrup eingedunstet. Aus letzterem schieden sich nach einiger Zeit blätterige Krystalle aus. Dieselben wurden von der Mutterlauge getrennt, zur Reinigung zunächst in heissem 95procentigen Weingeist gelöst, aus der filtrirten Lösung durch Eindunsten wieder gewonnen und sodann aus Wasser umkrystallisirt.

Das so gewonnene Product, welches sich als ein salpetersaures Salz erwies, zeigte folgendes Verhalten: Beim Erhitzen im Glasröhrchen zersetzte es sich in ziemlich heftiger Reaction ohne Kohleabscheidung unter Entwicklung von stark ammoniakalischen Dämpfen. Beim Erhitzen mit Kupferoxyd lieferte es Kohlensäure. In kaltem Wasser war es ziemlich schwer löslich; die neutral reagirende Lösung gab folgende

¹⁾ Es wurde etwas Barytwasser zugefügt, um die vorhandene Schwefelsäure in eine ganz unlösliche Verbindung überzuführen.

²⁾ Während des Eindunstens wurde die Flüssigkeit von Zeit zu Zeit auf ihre Reaction geprüft.

Reactionen: Mit Phosphorwolframsäure gab sie einen weissen fein pulverigen Niederschlag. Durch Phosphormolybdänsäure und Jodquecksilber-Jodkalium wurde nichts gefällt¹⁾. Eine mit Kalilauge versetzte Lösung von Jodquecksilber-Jodkalium (das sog. Nessler'sche Reagens) erzeugte einen starken weissen Niederschlag. Auf Zusatz von Oxalsäure schieden sich nach kurzer Zeit kleine farblose Krystalle, auf Zusatz von Goldchlorid tiefgelbe kleine Nadeln aus. Pikrinsäure brachte eine gelbe krystallinische Fällung hervor.

Genau das gleiche Verhalten zeigt salpetersaures Guanidin.

Unter den oben aufgeführten Guanidin-Reactionen befindet sich eine von mir neu aufgefundene²⁾, welche durch ihre Empfindlichkeit ausgezeichnet ist; sie besteht darin, dass die Guanidin-Lösungen mit Nessler'schem Reagens einen weissen oder schwach gelblichen Niederschlag geben; derselbe ist Anfangs voluminös, wird aber nach einiger Zeit dichter. Von dem Niederschlag, welchen das gleiche Reagens in Ammoniak-Lösungen hervorbringt, unterscheidet er sich durch seine Farbe. Von dieser Reaction habe ich auch später noch Gebrauch gemacht.

Durch F. Emich³⁾ ist nachgewiesen worden, dass Guanidin durch Natriumhypobromit zersetzt wird, und zwar gehen bei dieser Reaction $\frac{2}{3}$ vom Stickstoff des Guanidins in freien Zustand über. Auch das bei Verarbeitung der Wickenkeimlinge von mir erhaltene salpetersaure Salz wurde durch das genannte Reagens unter Gasentwicklung zersetzt. Ich bestimmte die Gasmenge in der von P. Wagner⁴⁾ beschriebenen Modification des Azotometers und erhielt dabei folgendes Resultat:

0,100 gr. Substanz gaben 18,8 cbcm. Gas bei 731 mm. Quecksilberdruck und 15° C.

¹⁾ Beim Eindunsten der mit Phosphormolybdänsäure versetzten Lösung schied sich aber eine schwer lösliche Verbindung aus.

²⁾ Vgl. Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 25, S. 661.

³⁾ Monatshefte für Chemie, Bd. 12, S. 23.

⁴⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 13, S. 383. Auch die für den Versuch verwendete bromirte Natronlauge war nach Wagner's Angabe hergestellt.

Zum Vergleich untersuchte ich ein aus käuflichem Guanidincarbonat von mir dargestelltes Präparat von salpetersaurem Guanidin und erhielt dabei folgende Zahlen:

0,100 gr. Substanz gaben 18,8 cbcm. Gas bei 731 mm. Quecksilberdruck und 15° C.

0,100 gr. Substanz gaben 19,0 cbcm. Gas bei 731 mm. Quecksilberdruck und 15° C.

Die Uebereinstimmung der für die beiden Präparate erhaltenen Ergebnisse war also eine fast vollständige¹⁾.

Einen Theil des aus den Wickenkeimlingen erhaltenen Nitrats verwandelte ich nun in das Carbonat, indem ich die wässerige Lösung des ersteren mit Phosphorwolframsäure versetzte, den dabei erhaltenen Niederschlag (nach dem Abfiltriren und Auswaschen) durch Kalkmilch zerlegte und die von den unlöslichen Kalkverbindungen abfiltrirte Flüssigkeit im Wasserbade eindunstete, nachdem sie zuvor mit Kohlensäure gesättigt und hierauf noch einmal filtrirt war. Das so erhaltene Carbonat krystallisirte leicht und war unlöslich in Weingeist. Mit demselben wurden noch zwei Guanidin-Reactionen angestellt. Die eine Reaction beruht auf der von E. Baumann²⁾ entdeckten Synthese von Guanylharnstoff (Dicyandiamidin) aus Guanidincarbonat und Harnstoff und besteht darin, dass man ein Gemenge dieser Substanzen eine Zeit lang vorsichtig erhitzt, das Product sodann in Wasser löst und dieser Lösung zuerst Natronlauge, hierauf eine geringe Menge von Kupfersulfat zusetzt; es entsteht dann ein rosenrother Niederschlag. Die zweite Reaction ist von E. Bamberger³⁾ angegeben und beruht auf dem Verhalten des cyanursauren Guanidins. Man setzt einer kochenden

¹⁾ Bringt man an obigen Zahlen auf Grund der Dietrich'schen Tabelle eine Correction für die von der bromirten Natronlauge absorbirte Stickstoffmenge an, so ergibt sich, dass 0,100 gr. salpetersaures Guanidin im Mittel 19,41 cbcm. Stickstoff bei 731 mm. Quecksilberdruck und 15° C. = 0,0219 gr. N geliefert hat. Es sind also nahezu $\frac{2}{3}$ des im Guanidin enthaltenen Stickstoffs in Freiheit gesetzt worden.

²⁾ Berichte der D. Chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 446. M. vgl. auch die in der nachfolgenden Anmerkung citirte Abhandlung Bamberger's.

³⁾ Ebendasselbst, Bd. 20, S. 68.

Cyanursäure-Lösung Guanidincarbonat bis zum Aufhören der Kohlensäure-Entwicklung zu. Bald nach dem Erkalten scheiden sich dann lange feine Nadeln des cyansauren Salzes aus. Das von mir dargestellte Carbonat gab beide Reactionen.

Schliesslich wurde noch das Chloraurat der Base, welches sich nach Versetzen einer wässerigen Lösung des Nitrats mit Goldchlorid in tiefgelben Nadeln ausschied, der Analyse unterworfen. Dabei ergaben sich folgende Resultate:

- a) 0,2405 gr. Substanz (bei 95° getrocknet) gaben 0,1180 gr. Gold und 0,344 gr. Chlorsilber¹⁾.
- b) 0,3220 gr. Substanz gaben 0,159 gr. Gold.
- c) 0,3350 gr. Substanz gaben nach der Methode von Kjeldahl 0,03367 gr. Stickstoff in Ammoniakform.

Diese Zahlen entsprechen der Formel des salzsauren Guanidin-Goldchlorids = $\text{CH}_5\text{N}_3\text{HCl} \cdot \text{AuCl}_3$, wie folgende Zusammenstellung zeigt:

Berechnet:		Gefunden:		
		a)	b)	c)
C	= 3,01	—	—	—
H	= 1,50	—	—	—
N	= 10,53	—	—	10,05
Au	= 49,37	49,06	49,38	—
Cl	= 35,59	35,38	—	—

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse machen es zweifellos, dass die aus den Wickenkeimlingen abgeschiedene Base Guanidin = CH_5N_3 war.

Aus drei nach einander zur Untersuchung gelangten Culturen von Wickenkeimlingen vermochte ich in der beschriebenen Weise Guanidin zu isoliren. Die Ausbeute war nur gering; um ein Gramm salpetersaures Guanidin zu erhalten, musste ich ungefähr 3 Kilogramm lufttrockner Keimlinge verarbeiten. Es unterliegt aber keinem Zweifel, dass das Guanidinnitrat nur ganz unvollständig auskrystallisirte. Der Beweis

¹⁾ Bei Ausführung dieser Bestimmungen wurde aus der Auflösung des Golddoppelsalzes in heissem Wasser das Gold durch Schwefelwasserstoff ausgefällt. Das Filtrat vom Schwefelgold befreite ich durch Eintropfen von Kupfersulfat-Lösung vom Schwefelwasserstoff, filtrirte und fällte sodann die Salzsäure mittelst Silbernitrats.

dafür liegt u. A. darin, dass die von den ersten Krystallisationen abfiltrirten Mutterlaugen bei weiterem Verdunsten keine Krystalle des genannten Salzes mehr lieferten; dagegen liess sich aus ihnen noch Guanidin gewinnen, indem man sie mit Oxalsäure versetzte; nach Verlauf von einigen Tagen schied sich dann oxalsaures Guanidin aus.

Aus ungekeimten Wickensamen konnte ich kein Guanidin abscheiden.

Wenn es auch von vornherein nicht für wahrscheinlich erklärt werden konnte, dass das von mir erhaltene Guanidin erst während der Verarbeitung der Keimlinge aus irgend einem Bestandtheil der letzteren sich gebildet hatte, so erschien es mir doch wünschenswerth, diese Frage noch experimentell zu prüfen. Für einen der zu diesem Zweck angestellten Versuche verwendete ich frische Wickenkeimlinge. Dieselben wurden grob zerkleinert und dann sofort in Wasser geworfen, welches fast bis zum Sieden erhitzt war. Den so erhaltenen Extract reinigte ich mittelst Gerbsäure und Bleiessigs und versetzte ihn sodann mit Phosphorwolframsäure. Der durch letzteres Reagens hervorgebrachte Niederschlag wurde in der früher beschriebenen Weise behandelt, die bei seiner Zerlegung (mittelst Kalkmilch) erhaltene alkalische Flüssigkeit mit Salpetersäure neutralisirt und hierauf im Wasserbade eingedunstet.

Dass aus dieser Flüssigkeit das Guanidinnitrat schwieriger zu isoliren sein werde, als aus den früher untersuchten Lösungen, war von vornherein zu erwarten; denn jene Flüssigkeit schloss sowohl die in Wasser, als die in Weingeist löslichen basischen Bestandtheile der Wickenkeimlinge ein, insoweit dieselben durch Phosphorwolframsäure fällbar waren. Der Erfolg entsprach dieser Erwartung; aus jener Flüssigkeit krystallisirte zunächst nur salpetersaures Kali aus¹⁾. Ich behandelte daher die bis zur Syrupconsistenz eingedunstete Flüssigkeit in der Wärme mit 95procentigem Weingeist, filtrirte den Extract nach dem Erkalten vom Ungelösten ab, dunstete ihn sodann ein, löste

¹⁾ Da in einer angesäuerten Kali-Lösung durch Phosphorwolframsäure ein Niederschlag hervorgebracht wird, so ist es leicht erklärlich, dass in jener Flüssigkeit Kalisalpeter sich vorfand.

den Verdampfungsrückstand in wenig Wasser und setzte Oxalsäure-Lösung zu. Nach ungefähr 24 Stunden begann die Abscheidung von Krystallen, welche nach mehrtägigem Stehen von der Flüssigkeit getrennt und sodann mit Kalkmilch behandelt wurden. Es resultirte eine alkalische Lösung, welche durch Einleiten von Kohlensäure vom überschüssigen Kalk befreit, sodann mit Salpetersäure neutralisirt und eingedunstet wurde. Es krystallisirte nun salpetersaures Guanidin aus. Dasselbe wurde mit Hilfe der oben beschriebenen Reactionen identificirt.

Auch aus den frischen Keimlingen liess sich also Guanidin gewinnen — ein Beweis dafür, dass dasselbe nicht erst während des Trocknens der Keimlinge entstanden war.

In einem zweiten Versuch wurden frische Keimlinge, nachdem sie $4\frac{1}{2}$ Wochen lang bei Lichtabschluss vegetirt hatten, unmittelbar nach der Ernte in absoluten Alkohol geworfen und in letzterem ungefähr einen Monat lang belassen. Der durch das Vegetationswasser der Keimlinge verdünnte Alkohol zog aus den letzteren eine ziemlich beträchtliche Substanzmenge aus. Im Hinblick auf die Löslichkeit sehr vieler Guanidinsalze in Weingeist war zu erwarten, dass auch diese Base aus den Keimlingen in den alkoholischen Extract übergegangen war. Ich dunstete nun den letzteren unter Zusatz von Magnesia (zum Verjagen etwa vorhandenen Ammoniaks) bei 50° zum Syrup ein, verdünnte den letzteren mit Wasser und filtrirte die Lösung nach Zusatz von etwas Thierkohle. Das Filtrat gab nicht nur mit Nessler'schem Reagens einen starken gelblichen Niederschlag¹⁾, sondern auch beim Schütteln mit Natriumhypobromit eine lebhafte Gasentwicklung — Reactionen, welche für das Vorhandensein von Guanidin sprechen. Ein Theil des Filtrats wurde nun, nachdem es mittelst Bleiessigs gereinigt worden war, mit Phosphorwolframsäure gefällt, der so erhaltene Niederschlag mit Kalkmilch zerlegt, die dabei resultirende Flüssigkeit mit Salpetersäure neutralisirt und im Wasserbade auf ein geringes Volumen eingedunstet. Auch diese Flüssigkeit

¹⁾ Jodquecksilber-Jodkalium ohne Zusatz von Kalilauge gab keine Fällung.

gab mit Nessler'schem Reagens einen nur schwach gelb gefärbten Niederschlag und eine lebhafte Gasentwicklung mit Natriumhypobromit. Als ich ferner den beim Verdunsten dieser Flüssigkeit verbleibenden Syrup, aus welchem salpetersaures Kalium auskrystallisirte, mit heissem Weingeist behandelte, den vom Ungelösten durch Filtration getrennten alkoholischen Extract eindunstete, den Verdampfungsrückstand in wenig Wasser löste und der Lösung Oxalsäure zufügte, schieden sich nach etwa 24 Stunden kleine farblose Krystalle aus.

Diese Versuchsergebnisse können wohl als ein genügender Beweis dafür betrachtet werden, dass das aus den Wickenkeimlingen von mir abgeschiedene Guanidin schon in den frischen Keimlingen sich vorfand und demnach nicht ein post-mortales Product war. Das Vorkommen dieser bekanntlich dem Harnstoff sehr nahe stehenden Stickstoffverbindung im Pflanzenorganismus ist aber eine Thatsache, welche in physiologischer Hinsicht Interesse beanspruchen kann.

Ueber die Entstehungsweise des Guanidins in den Keimlingen lässt sich zur Zeit etwas Bestimmtes nicht aussagen; doch sei hier daran erinnert, dass F. Lossen¹⁾ bei der Oxydation von Eiweissstoffen mittelst Kaliumpermanganats eine geringe Menge von Guanidin erhalten hat. Es dürfte demnach wohl im Bereich der Möglichkeit liegen, dass auch in den Keimpflanzen diese Base durch Oxydation von Eiweissstoffen entstanden ist.

Unter Benutzung des Umstandes, dass die Keimlinge an Weingeist das Guanidin abgaben, habe ich noch zu ermitteln gesucht, wie viel Guanidin in maximo in den Keimlingen enthalten sein konnte. Frische 4 $\frac{1}{2}$ wöchentliche Keimlinge wurden in absoluten Alkohol geworfen, nach 4 wöchentlichem Verweilen unter letzterem herausgenommen, in gelinder Wärme getrocknet, fein zerrieben, wieder in die alkoholische Flüssigkeit gebracht und unter häufigem Umschütteln noch einige Tage darin gelassen. Einen abgemessenen Antheil des so gewonnenen alkoholischen Extracts verdunstete ich sodann unter Zusatz

¹⁾ Ann. d. Chem., Bd. 201, S. 366.

von Magnesia, löste den Verdampfungsrückstand in Wasser, füllte die Lösung auf ein bestimmtes Volumen auf und filtrirte sie sodann. Einen abgemessenen Antheil des Filtrats brachte ich im Azotometer mit bromirter Natronlauge zusammen und bestimmte die dabei sich entwickelnde Gasmenge. Unter der Voraussetzung, dass dieses Gas ausschliesslich durch Zersetzung von Guanidin entstanden war, berechnet sich aus den bezüglichen Zahlen, welche ich hier nicht einzeln mittheilen will, für die trocknen Keimlinge ein Guanidin-Gehalt von ungefähr 0,23%. Diese Zahl kann zu hoch sein; denn es ist möglich, dass die im Azotometer erhaltene Gasmenge nicht ausschliesslich vom Guanidin geliefert worden war. Dass die aus den Keimlingen abscheidbare Guanidin-Quantität eine viel geringere war, kann übrigens nicht auffallen. Denn es machen sich ja ohne Zweifel bei der Abscheidung der genannten Base nach dem oben beschriebenen Verfahren mannigfache Verlustquellen geltend; auch ist darauf aufmerksam zu machen, dass die vorstehende Gehaltsangabe sich auf 4 $\frac{1}{2}$ wöchentliche Keimpflanzen bezieht, während für die oben beschriebene Darstellung des Guanidins 3 wöchentliche Keimlinge verwendet wurden.

b) Cholin und Betain.

Diese beiden Basen, welche auch in den ungekeimten Wickensamen von mir nachgewiesen wurden¹⁾, liessen sich aus der nach dem Auskrystallisiren des salpetersauren Guanidins (vgl. oben) übrig gebliebenen Mutterlauge zur Abscheidung bringen. Ich behandelte diese Mutterlauge bei Wasserbadhitze mit 95procentigem Weingeist, filtrirte den weingeistigen Extract vom Ungelösten ab und versetzte ihn mit einer alkoholischen Quecksilberchlorid-Solution²⁾. Es schieden sich Quecksilberdoppelsalze aus, welche nach einigen Wochen von der überstehenden Flüssigkeit getrennt und aus heissem Wasser umkrystallisirt wurden. Ich zerlegte sie dabei durch fractionirte

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 140.

²⁾ M. vgl. in Betreff dieses zur Abscheidung der oben genannten Basen angewandten Verfahrens die in der vorstehenden Anmerkung citirte Abhandlung, S. 142.

Krystallisation in mehrere Theile. Die am schwersten in Wasser lösliche Fraction zeigte das Aussehen der bezüglichen Cholinverbindung und lieferte bei der Zerlegung mittelst Schwefelwasserstoffs ein in langen zerfliesslichen Nadeln krystallisirendes, in kaltem absolutem Alkohol lösliches Chlorhydrat, welches die Reactionen des salzsauren Cholins gab¹⁾. Dass in der That das letztere Salz vorlag, wird noch durch die Eigenschaften des in bekannter Weise aus dem Chlorhydrat dargestellten Chloroplatinats bewiesen. Dasselbe glich im Aussehen vollkommen dem salzsauren Cholin-Platinchlorid; es krystallisirte bei langsamem Verdunsten seiner wässerigen Lösung in orangerothern, meist sechsseitigen Tafeln; bei rascher Ausscheidung aus einer in der Wärme stark concentrirten Lösung entstanden lange prismatische Krystalle. Die Bestimmung des Platiningehalts in dem bei 100° getrockneten Salz gab folgende Resultate:

1. 0,3015 gr. Substanz gaben 0,0950 gr. Platin.

2. 0,3750 » » » 0,1190 » »

Berechnet für		Gefunden:	
$(C_5H_{14}NOCl)_2PtCl_4$:		1.	2.
Pt	= 31,61	31,51	31,73%

Die im Vorstehenden mitgetheilten Versuchsergebnisse können wohl als ein genügender Beweis dafür angesehen werden, dass Cholin, eine sowohl in den ungekeimten Wicken-samen als auch in den bei Lichtabschluss erwachsenen Keimlingen von *Lupinus luteus*, *Soja hispida* und *Cucurbita pepo* von mir²⁾ nachgewiesene Base, auch in den etiolirten Wickenkeimlingen sich findet.

Aus dem in Wasser leichter löslichen Theil der in oben beschriebener Weise erhaltenen Quecksilberdoppelsalze liessen sich durch fractionirte Krystallisation breite Prismen isoliren, welche bei der Zerlegung mittelst Schwefelwasserstoffs salzsaures Betain lieferten. Das letztere Salz, durch Behandlung mit kaltem absolutem Alkohol von etwa vorhandenem salzsaurem Cholin befreit, schied sich aus der wässerigen

¹⁾ Vgl. in Betreff dieser Reactionen diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 144.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 365, Bd. 12, S. 411.

Lösung in grossen luftbeständigen Krystallen aus; es gab die früher von mir für salzsaures Betain angegebenen Reactionen¹⁾. Das Golddoppelsalz krystallirte in gelben Blättern; bei Analyse desselben wurden folgende Zahlen erhalten²⁾:

1. 0,3590 gr. Substanz gaben 0,1550 gr. Au und 0,4510 gr. AgCl.
2. 0,2800 gr. Substanz gaben 0,1205 gr. Au.

		Berechnet für	Gefunden:	
		$C_5H_{12}NO_2AuCl_4$:	1.	2.
Au	=	43,10	43,19	43,04%
Cl	=	31,08	31,07	— »

Ausser den beim Umkrystallisiren der Quecksilberdoppelsalze erhaltenen Krystallfractionen, welche bei der Zerlegung einerseits salzsaures Cholin, andererseits salzsaures Betain lieferten, wurden andere Fractionen gewonnen, bei deren Zerlegung ein Gemenge der genannten beiden salzsauren Salze entstand; dieses Gemenge liess sich durch Behandlung mit absolutem Alkohol in der früher von mir beschriebenen Weise trennen. In sehr geringer Quantität wurden ferner zwei Krystallfractionen von eigenthümlichem Aussehen erhalten, über deren Natur ich zur Zeit keinen Aufschluss geben kann, da die Menge derselben für eine genauere Untersuchung nicht ausreichte. Schliesslich blieb eine dickflüssige Mutterlauge übrig, aus welcher auch bei längerem Stehen nichts mehr auskrystallirte. Ich verdünnte dieselbe mit Wasser, leitete Schwefelwasserstoff ein und verdunstete die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Flüssigkeit zum Syrup. Aus letzterem krystallirte ein Salz aus, welches sich bei der Untersuchung noch als salzsaures Betain erwies.

Wie schon oben von mir erwähnt wurde, habe ich Cholin und Betain auch in den ungekeimten Samen nachweisen können. Doch vermochte ich aus den letzteren weit weniger Cholin zu gewinnen, als aus den Keimlingen. Bei Verarbeitung von 3—3 $\frac{1}{2}$ Kilogramm der Keimlinge erhielt ich ungefähr 5 gr. salzsaures Cholinplatinchlorid, also pro Kilo-

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 145.

²⁾ Die Bestimmungen wurden in der gleichen Weise ausgeführt, wie beim salzsauren Guanidin-Goldchlorid (vgl. S. 200).

gramm ca. 1,5 gr. (= 0,6 gr. Cholin). Bei Verarbeitung von 20 Kilogramm ungekeimter Wickensamen habe ich früher 8—9 gr. des Chloroplatinats erhalten, also pro Kilogramm nur 0,4—0,45 gr. Aus denjenigen Wickensamen, welche bei Darstellung der Keimlinge zur Verwendung kamen, vermochte ich aber nach demselben Verfahren nur eine ungleich geringere Cholin-Quantität zur Abscheidung zu bringen (ein Beweis dafür, dass der Cholin-Gehalt verschiedener Wickensamen-Muster beträchtlichen Schwankungen unterliegen kann). Es ist daraus zu schliessen, dass während des Keimungsvorgangs das Cholin eine bedeutende Vermehrung erfahren hat. Es darf wohl für fast zweifellos erklärt werden, dass diese Zunahme des Cholins mit der während des Keimungsvorgangs stattfindenden Abnahme des Lecithins zusammenhängt. Dass etiolirte Lupinenkeimlinge viel weniger Lecithin enthalten, als die ungekeimten Lupinensamen, ist früher schon von mir nachgewiesen worden; das Gleiche gilt auch für die bei Lichtabschluss erwachsenen Wickenkeimlinge im Vergleich mit den ungekeimten Wickensamen. Den Beweis dafür lieferten Lecithin-Bestimmungen, welche in der von E. Steiger und mir¹⁾ beschriebenen Weise ausgeführt wurden. Dieselben lieferten folgende, auf die Trockensubstanz des Untersuchungsmaterials sich beziehende Zahlen²⁾:

	Ungekeimte Wickensamen:	4wöchentliche Wickenkeimlinge:
Lecithin	= 0,74	0,19%

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 13, S. 378.

²⁾ Analytische Belege:

A. Ungekeimte Wickensamen.

Angewendet je 10 gr. lufttrockne Substanz = 8,725 gr. wasserfrei.

Erhalten: a) 0,0091 gr. Magnesiumpyrophosphat.

b) 0,0080 » »

c) 0,0090 » »

d) 0,0092 » »

B. 4wöchentliche Wickenkeimlinge.

Angewendet je 10 gr. lufttrockne Substanz = 9,424 gr. wasserfrei.

Erhalten: a) 0,0025 gr. Magnesiumpyrophosphat.

b) 0,0024 » »

Nach diesen Zahlen haben während 4 wöchentlicher Vegetation der Keimlinge bei Lichtabschluss mindestens $\frac{3}{4}$ des in den Samen enthaltenen Lecithins sich zersetzt¹⁾. Da 100 Theile Lecithin beim Zerfall 15 Theile Cholin geben können, so reicht die zerfallene Lecithinmenge aus, um das in den Keimlingen vorgefundene Cholin zu liefern²⁾.

Betain schien sich in den Keimlingen ungefähr in der gleichen Menge vorzufinden, wie in den ungekeimten Samen. Das Betain gehört also nicht zu den Stoffen, welche in den bei Lichtabschluss vegetirenden Wickenkeimlingen aufgezehrt werden. Dass während des Keimungsvorgangs eine Vermehrung des Betains stattfindet, ist nicht anzunehmen.

B. Amidosäuren.

Zur Gewinnung der Amidosäuren wurden die getrockneten, fein zerriebenen Keimlinge mit 91—92 procentigem Weingeist ausgekocht, der filtrirte Extract der Destillation unterworfen, der dabei verbleibende Rückstand mit Wasser behandelt, die trübe Flüssigkeit mit etwas Gerbsäure, dann mit Bleiessig versetzt und nun auf das Filter gebracht. Das Filtrat dunstete ich, nachdem es zuvor mittelst Schwefelwasserstoffs vom Blei befreit worden war, im Wasserbade zum Syrup ein. Die aus letzterem nach und nach sich ausscheidenden, noch sehr unreinen Amidosäuren bildeten eine gefärbte, dem unbewaffneten Auge amorph erscheinende Masse. Sie wurden mittelst eines Zeugfilters von der Mutterlauge getrennt, zwischen Fliesspapier stark abgepresst und sodann bei Wasserbadhitze mit absolutem Alkohol unter Zusatz von etwas Ammoniakflüssigkeit behandelt. Es entstand eine Lösung³⁾, welche beim Verdunsten über concentrirter Schwefelsäure eine weisse, im Aussehen dem unreinen Leucin gleichende Ausscheidung lieferte.

¹⁾ Da während des Keimungsvorgangs die Trockensubstanz der Samen eine Abnahme erfährt, so übersteigt der Lecithinverlust die Differenz der obigen Gehaltszahlen.

²⁾ Wobei zu beachten ist, dass schon die ungekeimten Wickensamen etwas Cholin enthalten.

³⁾ Zurück blieb eine geringe Menge von Asparagin.

Dieses Product, welches zweifellos aus einem Gemenge mehrerer Amidosäuren bestand, behandelte ich, nachdem es abfiltrirt und mit Weingeist gewaschen worden war, mit so viel alkoholischer Ammoniakflüssigkeit, dass nur ungefähr die Hälfte davon sich auflöste; der Rest wurde dann durch eine zweite Portion des gleichen Lösungsmittels in Lösung gebracht. Beide Lösungen lieferten beim Verdunsten über Schwefelsäure weisse krystallinische Ausscheidungen. Ich will die letzteren als Substanz A und Substanz B bezeichnen.

Ehe ich die bei näherer Untersuchung dieser Producte erhaltenen Resultate mittheile, will ich an das eigenthümliche Verhalten erinnern, welches die schwer löslichen Kupferverbindungen der Amidosäuren zeigen. Sättigt man eine reine Leucin-Lösung in der Wärme mit Kupferoxydhydrat oder kocht man sie mit Kupferacetat, so scheidet sich rasch Leucinkupfer aus. Eine unreine Leucin-Lösung, insbesondere aber eine neben Leucin noch andere Amidosäuren enthaltende Lösung, liefert bei gleicher Behandlung entweder gar keine oder doch nur eine der Quantität nach geringe Ausscheidung. Es scheint, dass die Kupferverbindungen der Amidosäuren sich gegenseitig in Lösung zu halten vermögen¹⁾. Indessen gilt dies nicht für alle diese Verbindungen in gleichem Grade. So fand ich z. B., dass aus unreinen Lösungen die Kupferverbindung des Phenylalanins (der Phenyl- α -Amidopropionsäure) sich weit leichter ausscheidet, als diejenigen des Leucins und der Amidovaleriansäure — ein Verhalten, welches ich in mehreren Fällen zur Isolirung der ersteren Amidosäure benutzt habe²⁾.

Auch aus dem bei Verarbeitung der Wickenkeimlinge erhaltenen Gemenge von Amidosäuren vermochte ich nach dem gleichen Verfahren Phenylalanin zu isoliren, und zwar aus der oben mit A bezeichneten Substanz. Ich sättigte die wässerige Lösung der letzteren in der Wärme mit Kupferoxydhydrat. Es schieden sich Kupferverbindungen aus, welche abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen und sodann durch Schwefel-

¹⁾ Vgl. die Mittheilungen Hofmeister's, Ann. d. Chem., Bd. 189, S. 6.

²⁾ Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 74.

wasserstoff zerlegt wurden. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Lösung wurde durch Verdampfen concentrirt und sodann mit Kupferacetat gekocht, die dabei sich ausscheidende Kupferverbindung wieder zerlegt, die nun resultirende Amidosäuren-Lösung noch einmal in der gleichen Weise behandelt (wobei ich stets nur so viel Kupferacetat zufügte, dass die in der Lösung vorhandene Amidosäuren-Quantität nicht vollständig ausgefällt wurde). So erhielt ich schliesslich eine Amidosäure, welche die Eigenschaften des Phenylalanins zeigte. Sie krystallisirte aus einer noch heissen wässerigen Lösung in kleinen glänzenden Blättchen. Beim Erhitzen im Glasröhrchen zerfiel sie, während ein geringer Theil unzerlegt sublimirte, einen gelben geschmolzenen Rückstand¹⁾ und einen leicht flüchtigen Körper, welcher im oberen Theil des Röhrchens sich in farblosen, nach dem Erkalten krystallinisch erstarrenden Tropfen sich absetzte²⁾; aus einer Auflösung der letzteren in wenig heisser verdünnter Salzsäure schieden sich auf Zusatz von Platinchlorid orangegelbe Krystallblättchen aus. Genau das gleiche Verhalten zeigt das aus Lupinenkeimlingen und aus Eiweissstoffen von mir dargestellte Phenylalanin. Beim Erhitzen der aus Wickenkeimlingen dargestellten Amidosäure mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure trat der Geruch des Benzaldehyds auf; beim Erkalten schied sich aus der Flüssigkeit eine Substanz aus, welche das Aussehen und die Eigenschaften der Benzoesäure besass. Durch Umkrystallisiren aus Wasser gereinigt, schmolz sie im Capillarröhrchen bei 120—120,5°; in höherer Temperatur sublimirte sie. Ihre wässerige Lösung gab mit Eisenchlorid einen gelblichen Niederschlag. Endlich untersuchte ich noch die Kupferverbindung der im Vorigen besprochenen Amidosäure. Dieselbe glich im Aussehen dem früher von mir dargestellten Phenylalanin-Kupfer; sie schied sich sofort in blassblauen Krystallblättchen aus, als eine heisse

1) Bei starker Steigerung der Temperatur sublimirt dieser, aus Phenyllactimid bestehende Rückstand.

2) Der Inhalt des Röhrchens zeigt nach dem Erkalten einen Geruch, welcher an denjenigen der Blüthen der Kapuzinerkresse erinnert.

wässrige Lösung der Amidosäure mit Kupferacetat versetzt wurde. Eine darin ausgeführte Kupferbestimmung gab folgendes Resultat:

0,1565 gr. Substanz gaben 0,0311 gr. CuO .

	Berechnet für	Gefunden:
	$(\text{C}_9\text{H}_{10}\text{NO}_2)_2\text{Cu}$:	
Cu	= 16,2	15,9%

Diese Versuchsergebnisse berechtigen zu der Schlussfolgerung, dass in den Wickenkeimlingen Phenylalanin (Phenyl- α -Amidopropionsäure), identisch mit der von J. Barbieri und mir aus Eiweissstoffen und Lupinenkeimlingen dargestellten Amidosäure gleichen Namens, enthalten ist.

Wie aus dem oben Gesagten zu ersehen ist, liess sich diese Amidosäure aus der Fällung gewinnen, welche in der wässrigen Lösung der Substanz A beim Kochen mit Kupferoxydhydrat entstand. Die davon abfiltrirte tiefblaue Flüssigkeit wurde zur möglichst vollständigen Beseitigung des Phenylalanin-Kupfers eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Wasser behandelt, die tiefblaue Flüssigkeit durch Filtration vom Ungelösten getrennt und sodann durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit. Das Filtrat vom Schwefelkupfer verdunstete ich zur Trockne und krystallisirte den Verdampfungsrückstand mehrmals aus alkoholischer Ammoniakflüssigkeit um. So erhielt ich ein aus kleinen, glänzenden Krystallblättchen bestehendes Präparat. Eine Probe desselben verflüchtigte sich beim Erhitzen im Glasröhrchen unter Hinterlassung eines sehr geringen Rückstands zu einem weissen Sublimat; Phenylalanin konnte also darin nur noch in unwesentlicher Menge vorhanden sein. Eine nach der Kjeldahl'schen Methode ausgeführte Stickstoffbestimmung gab folgendes Resultat:

0,4120 gr. Substanz gaben 0,046422 gr. (Stickstoff in Ammoniakform)
= 11,26% N.

Der Stickstoffgehalt des untersuchten Präparats liegt zwischen demjenigen des Leucins (= 10,69%) und der Amidovaleriansäure (= 11,96%). Mit der Annahme, dass ein Gemenge dieser beiden Amidosäuren vorlag, steht

auch die Thatsache in Uebereinstimmung, dass die wässrige Lösung des bezüglichen Präparats beim Kochen mit Kupferacetat keine Ausscheidung gab. Im Gegensatz zum Leucin wird nämlich die von J. Barbieri und mir¹⁾ aus Lupinenkeimlingen abgeschiedene Amidovaleriansäure auch aus einer reinen Lösung durch Kochen mit Kupferacetat nicht gefällt, und auch eine Lösung, welche neben Amidovaleriansäure Leucin enthält, zeigt das gleiche Verhalten.

Dass Leucin und Amidovaleriansäure neben einander in den Wickenkeimlingen sich vorfanden, lässt sich noch sicherer aus den Ergebnissen schliessen, welche bei Untersuchung des oben mit B bezeichneten Theils des Amidosäurengemenges erhalten wurden. Dieser Theil lieferte bei mehrmaligem Umkrystallisiren aus alkoholischer Ammoniakflüssigkeit ein aus glänzenden Krystallblättchen bestehendes Präparat, welches kein Phenylalanin einschloss: denn eine Probe desselben verflüchtete sich beim Erhitzen im Glasröhrchen zu einem weissen Sublimat, ohne einen Rückstand zu hinterlassen. Die wässrige Lösung dieses Präparats gab beim Kochen mit Kupferacetat keine Fällung, was auf das Vorhandensein von Amidovaleriansäure hindeutet. Doch schied sich aus dieser Lösung eine krystallinische Kupferverbindung aus, als sie in der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigt wurde. Ich trennte diese Kupferverbindung durch Filtration von der tiefblauen Mutterlauge, wusch sie anhaltend mit Wasser aus und zerlegte sie dann mittelst Schwefelwasserstoffs. Die wässrige Lösung der so gewonnenen Amidosäure gab beim Kochen mit Kupferacetat eine krystallinische Ausscheidung; die Amidosäure zeigte also das Verhalten des Leucins. Dass Leucin vorlag, wird auch durch das Resultat bewiesen, welches sich bei Analyse der in der beschriebenen Weise erhaltenen Kupferverbindung ergab:

0,1595 gr. Substanz gaben 0,0397 gr. CuO.

	Berechnet für	
	$(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$:	Gefunden:
Cu	= 19,6	19,9%

¹⁾ Journal f. pract. Chemie, N. F., Bd. 27, S. 353.

Da der Kupfergehalt ein wenig zu hoch gefunden wurde, so ist es möglich, dass das Präparat ein wenig amidovaleriansaures Kupfer (mit einem Kupfergehalt von 21,4%) einschloss.

In dem oben beschriebenen Versuch war nur ein kleiner Theil der in der wässerigen Lösung enthaltenen Amidosäuren durch das Erhitzen mit Kupferoxydhydrat ausgefällt worden; der grössere Theil blieb gelöst in der tiefblauen Flüssigkeit. Ich befreite die letztere mittelst Schwefelwasserstoffs vom Kupfer und verdunstete sie sodann zur Krystallisation. Die Analyse des so gewonnenen Präparats lieferte folgende Resultate:

1. 0,1100 gr. Substanz gaben 0,2090 gr. CO_2 und 0,0986 gr. H_2O .
2. 0,3430 gr. gaben nach der Kjeldahl'schen Methode¹⁾ 0,3971 gr. N in Ammoniakform.

Aus diesen Daten berechnet sich für die analysirte Substanz eine Zusammensetzung, welche derjenigen eines Gemenges von 80% Amidovaleriansäure und 20% Leucin sehr nahe liegt, wie die folgende Zusammenstellung zeigt:

	Berechnet:	Gefunden:
C	52,02	51,81 %
H	9,50	9,95 »
N	11,70	11,58 »
O	26,78	— »

Mit der Annahme, dass ein Gemenge von Amidovaleriansäure und Leucin vorlag, stimmte auch das Verhalten des untersuchten Präparats beim Erhitzen im Glasröhrchen, sowie beim Kochen mit Kupferacetat überein.

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen ist also zu schliessen, dass in dem aus den Wickenkeimlingen dargestellten Amidosäuren-Gemenge Leucin, Amidovaleriansäure und Phenylalanin enthalten waren. Allem Anschein nach prävalirte in dem Gemenge die Amidovaleriansäure, während Leucin und Phenylalanin in geringerer Menge vorhanden waren. Die Gesamtausbeute an Amidosäuren war

¹⁾ Dass die Kjeldahl'sche Methode zur Bestimmung des Stickstoffgehalts der Amidosäuren sehr geeignet ist, wird durch die von E. Bosshard (Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 24, S. 199) in meinem Laboratorium ausgeführte Untersuchung bewiesen.

nicht gross; sie betrug pro Kilogramm lufttrockner Keimlinge ungefähr 3 gr.

Es liegt wohl im Bereich der Möglichkeit, dass auch die durch v. Gorup-Besanez aus den Wickenkeimlingen dargestellte und nach ihrem Verhalten für Leucin erklärte Substanz ein Gemenge von Amidovaleriansäure und Leucin war. Doch lässt sich etwas Bestimmtes über diese Frage nicht aussagen, weil erstens von dem genannten Forscher zur Abscheidung der Amidosäuren ein anderes Verfahren angewendet wurde, als von mir, und weil zweitens die gleiche Keimpflanzen-Art nicht immer genau dieselben Bestandtheile enthält.

Dass die Amidosäuren, welche man aus den Wickenkeimlingen abscheiden kann, nicht erst während der Verarbeitung der letzteren entstehen, sondern in denselben fertig gebildet sind, kann wohl schon aus den von v. Gorup-Besanez gemachten Angaben mit Sicherheit geschlossen werden. Eine Bestätigung für diese Annahme liefert auch die Thatsache, dass ich aus den frisch in absoluten Alkohol geworfenen Keimpflanzen Amidosäuren abzuscheiden vermochte.

Nach den theils von v. Gorup-Besanez, theils von mir ausgeführten Untersuchungen finden sich in etiolirten Wickenkeimlingen Asparagin, Glutamin, Leucin, Amidovaleriansäure, Phenylalanin, Spuren von Tyrosin, ferner Guanidin, Cholin und Betain vor. Was die zuerst genannten sechs Stoffe betrifft, so darf es wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass dieselben sämtlich dem Zerfall von Eiweissstoffen ihre Entstehung verdanken. Ob die gleiche Entstehungsweise für das Guanidin anzunehmen ist, lässt sich nur durch weitere Untersuchungen entscheiden. Das Cholin darf als ein Zersetzungsproduct des während der Keimung zerfallenen Lecithins angesprochen werden¹⁾. Das Betain ist schon in den ungekeimten Samen enthalten.

¹⁾ Insoweit dasselbe nicht schon in den ungekeimten Samen vorhanden war.

Von den oben genannten Substanzen prävalirt der Quantität nach das Asparagin. Nach Bestimmungen, deren einzelne Ergebnisse ich hier nicht mittheilen will, fällt in 4–5 wöchentlichen Keimlingen mehr als die Hälfte des Gesamtstickstoffs auf dieses Amid. Die Amidosäuren finden sich daneben in weit geringerer Quantität vor. Auf die aus einem eiweissfreien Extract durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen fielen in 4 wöchentlichen Keimlingen ungefähr 11% des Gesamtstickstoffs.

Schliesslich sei noch erwähnt, dass ich aus dem Niederschlag, welchen Phosphorwolframsäure in einem wässrigen Extract aus Wickenkeimlingen hervorbrachte, eine geringe Menge von Vicin isoliren konnte. Dieser an seinen Reactionen sehr leicht erkennbare Stoff¹⁾ findet sich in den ungekeimten Wickensamen in ziemlich beträchtlicher Menge vor; da ich aus den Keimlingen nur eine sehr geringe Quantität desselben erhielt, so muss man annehmen, dass er sich während des Keimungsvorgangs zum grössten Theil zersetzt hatte.

Nachtrag. Nach Versuchen, welche erst nach dem Niederschreiben der vorstehenden Abhandlung vollendet wurden, lässt sich das oben beschriebene Verfahren zur Abscheidung des Guanidins aus den Wickenkeimlingen in folgender Weise modificiren: Die bei Zerlegung des guanidinhaltigen Phosphorwolframsäure-Niederschlags mittelst Kalkmilch erhaltene Flüssigkeit wird mit Salzsäure neutralisirt und sodann zum Syrup eingedunstet. Letzteren extrahirt man in der Wärme mit Weingeist, versetzt den so gewonnenen Extract mit alkoholischer Quecksilberchlorid-Solution und lässt stehen, bis die Quecksilberdoppelsalze des Cholins und Betains sich ausgeschieden haben. Die von letzteren abgegossene Mutterlauge wird durch Eindunsten vom Weingeist, durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt. Den durch dieses

¹⁾ Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 15, S. 147, sowie die Abhandlung Ritt-
hausen's, Journ. f. pract. Chemie, N. F., Bd. 24, S. 202.

Reagens hervorgebrachten Niederschlag zerlegt man durch Kalkmilch, neutralisirt die dabei erhaltene alkalische Lösung, nachdem zuvor Kohlensäure eingeleitet und die durch letztere erzeugte Fällung abfiltrirt worden ist, mit Salpetersäure und dunstet sie im Wasserbade auf ein geringes Volumen ein. Nach dem Erkalten krystallisirt salpetersaures Guanidin aus.

In solcher Weise erhielt ich weit mehr salpetersaures Guanidin als früher¹⁾. Offenbar geht das Auskrystallisiren des genannten Salzes leichter vor sich, wenn Cholin und Betain zuvor aus der Flüssigkeit entfernt worden sind.

¹⁾ Die Ausbeute war ungefähr dreimal so gross. Allerdings hatten die für obigen Versuch verwendeten Keimlinge 1 $\frac{1}{2}$ Woche länger, als die früher benutzten, im Dunkeln vegetirt.