

Ueber das wechselnde Auftreten einiger krystallinischen Stickstoffverbindungen in den Keimpflanzen und über den Nachweis derselben.

Von
E. Schulze.

Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.
(Der Redaction zugegangen am 20. October 1894.)

Die in etiolirten Keimpflanzen auftretenden krystallinischen Stickstoffverbindungen sind der Gegenstand einer Anzahl von Arbeiten gewesen, welche unter Mitwirkung von J. Barbieri, E. Bosshard und E. Steiger von mir ausgeführt wurde. In den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* fanden wir Asparagin, Phenylalanin (Phenyl- α -Amidopropionsäure) Amidovaleriansäure, Arginin, Cholin und Xanthinstoffe¹⁾, in den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* Glutamin, Asparagin, Leucin, Tyrosin, Arginin, Cholin, Vernin und Xanthinstoffe²⁾, in denen von *Vicia sativa* Asparagin, Phenylalanin, Leucin, Amidovaleriansäure, Guanidin, Betain und Cholin³⁾. Von

¹⁾ Journal für prakt. Chemie, N. F., Bd. 27, S. 337; diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 43 und 365 (kürzere Mittheilungen finden sich in d. Ber. d. d. chem. Gesellschaft).

²⁾ Journal f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 20, S. 385 und Bd. 32, S. 433; diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 43 und 365 (kürzere Mittheilungen finden sich in d. Ber. d. d. chem. Gesellschaft).

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 193. Die Keimpflanzen von *Vicia sativa* sind bekanntlich früher schon durch v. Gorup-Besanez (Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 146 und 569, Bd. 10, S. 780) untersucht worden.

diesen Stoffen sind drei, nämlich das Phenylalanin, das Arginin und das Vernin, neu entdeckte Substanzen; drei andere, nämlich das Tyrosin, die Amidovaleriansäure und das Guanidin waren früher noch nicht aus Pflanzen abgeschieden worden.

Hinsichtlich der zur Abscheidung dieser Stickstoffverbindungen aus den Keimpflanzen von uns verwendeten Methoden sei hier daran erinnert, dass zur Darstellung der Amidosäuren die alkoholischen Extracte aus den getrockneten Keimpflanzen am geeignetsten waren und dass das Glutamin, das Arginin, das Guanidin, das Cholin, das Betain und die Xanthinstoffe nur mit Hülfe von Fällungsmitteln (Mercurinitrat, Phosphorwolframsäure etc.) sich aus den Säften und Extracten gewinnen liessen. Nur wenige von den oben genannten Stickstoffverbindungen vermochten wir durch Krystallisation aus den Säften direct zu gewinnen, sei es nun, dass wir letztere nur von den coagulirbaren Eiweissstoffen befreiten und sodann zur Syrupconsistenz eindampften oder dass wir sie, nach vorheriger Concentration im Wasserbade, mit Alkohol versetzten, die dadurch hervorgebrachten Fällungen beseitigten und nur die alkoholischen Filtrate weiter eindunsteten.

Die Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und *Cucurbita pepo* sind von uns aus Beweggründen verschiedener Art¹⁾ wiederholt auf ihre stickstoffhaltigen Bestandtheile untersucht worden. In den ersteren fanden wir in allen Fällen die gleichen Bestandtheile vor. Für die Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* gilt nicht ganz das Gleiche; einige Culturen

¹⁾ Die Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* sind Anfangs von uns nach unvollkommenen Methoden untersucht worden; es schien daher angezeigt, die dabei erhaltenen Resultate später durch neue Versuche zu controliren (die Ergebnisse dieser Untersuchung sind im 32. Bande des Journ. f. prakt. Chemie publicirt worden). Bei den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* lag ein anderer Grund für die Wiederholung der Untersuchung vor. Von den in letzteren entdeckten Stickstoffverbindungen konnten zwei, nämlich das Phenylalanin und das Arginin, in mehrfacher Beziehung Interesse beanspruchen, so dass eine möglichst eingehende Untersuchung derselben wünschenswerth war. Um das dazu erforderliche Material zu gewinnen, haben wir mehrmals Präparate dieser Stoffe dargestellt, nachdem lange schon die ersten Publikationen über

derselben enthielten eine so beträchtliche Asparaginnmenge, dass die Annahme, es sei in ihnen das Glutamin durch Asparagin ersetzt, als eine berechnete angesehen werden konnte¹⁾. Im Uebrigen schien auch der Stoffgehalt dieser Keimpflanzen stets der gleiche zu sein. Allerdings aber sind alle von uns untersuchten Culturen sowohl der Lupinen- wie der Kürbiskeimlinge je unter den gleichen Bedingungen gezogen worden; durch die von uns gemachten Beobachtungen ist also die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass mit den äusseren Verhältnissen auch der Stoffgehalt der Keimpflanzen sich ändert.

Während aber die verschiedenen Culturen der gleichen Keimpflanzenart, erwachsen unter den gleichen Versuchsbedingungen, in der Regel den gleichen Stoffgehalt besaßen, zeigten sich in dieser Hinsicht beträchtliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Keimpflanzen-Arten. So haben wir z. B. zwei in den Kürbiskeimlingen vorkommende Stickstoffverbindungen, nämlich Tyrosin und Glutamin, trotz aller darauf verwendeten Mühe aus Lupinenkeimlingen nicht gewinnen können; auch Leucin liess sich in den letzteren nicht mit völliger Sicherheit nachweisen, während es sowohl aus Kürbis- wie aus Wickenkeimlingen abgetrennt werden konnte. Andererseits vermochten wir zwei in den Lupinen- und in den Wickenkeimlingen aufgefundenen Substanzen, nämlich Phenylalanin und Amidovaleriansäure, nicht aus den Kürbiskeimlingen darzustellen. Während ich Arginin dieselben erschienen waren. Von den dabei erhaltenen Phenylalanin-Präparaten hat z. B. eines für die Versuche gedient, welche E. Nägeli und ich (diese Zeitschr., Bd. 11, S. 201) zur Aufklärung der Constitution des genannten Körpers ausführten; ein anderes dieser Präparate verwendete E. Baumann (diese Zeitschrift, Bd. 7, S. 282) für den Nachweis, dass aus dem Phenylalanin bei der Fäulniss Phenylpropionsäure sich bildet. Auch das Arginin ist nach Abschluss der ersten Arbeit noch weiter von uns untersucht worden; so haben z. B. A. Likiernik und ich (Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 24, Septemberheft) später nachgewiesen, dass dasselbe beim Erhitzen mit Barytwasser Harnstoff liefert.

¹⁾ In der Regel erhalten die Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* nur eine sehr geringe Asparaginnmenge neben einer weit grösseren Quantität von Glutamin.

sowohl in den Lupinen- wie in den Kürbiskeimlingen fand, versuchte ich vergebens diesen Stoff in den etiolirten Wickenkeimlingen nachzuweisen; statt dessen fand ich in den letzteren Guanidin vor.

Soll man nun auf Grund dieser Thatsachen annehmen, dass der Eiweisszerfall in den verschiedenen Keimpflanzen in ungleicher Weise verläuft und dass der einen Keimpflanzenart diese, der anderen jene Eiweisszersetzungsproducte eigenthümlich sind? Diese Annahme ist mir stets unwahrscheinlich gewesen und ich habe mich schon vor vielen Jahren gegen dieselbe ausgesprochen¹⁾. Viel wahrscheinlicher ist es mir, dass es stets die gleichen Producte sind, welche beim Eiweisszerfall in den Keimpflanzen sich bilden und dass die in verschiedenen Keimpflanzen sich vorfindenden Gemenge von Eiweisszersetzungsproducten sich weniger durch ihre qualitative als durch ihre quantitative Zusammensetzung unterscheiden, der Art, dass gewisse Producte dieser Gattung, wie z. B. Leucin, Phenylalanin und Tyrosin, in manchen Fällen in grösserer Quantität, in anderen dagegen nur in so geringer Menge sich vorfinden, dass man sie nicht isoliren kann. Verschiedenheiten solcher Art können entweder dadurch entstehen, dass beim Eiweisszerfall das gleiche Product bald in grösserer, bald in geringerer Menge sich bildet, oder sie können ihre Ursache darin haben, dass solche Stoffe bei den in den Keimpflanzen stattfindenden Stoffumwandlungen bis auf einen geringen Rest wieder verbraucht werden, wobei es möglich ist, dass der Verbrauch in der einen Keimpflanze dieses, in der anderen jenes Product vorzugsweise trifft.

Es gibt Thatsachen, welche mit diesen Annahmen in Uebereinstimmung stehen. So fehlte z. B. das Tyrosin, welches aus den etiolirten Kürbiskeimlingen ohne Schwierigkeit zur Abscheidung gebracht werden konnte, allem Anschein nach in den Lupinenkeimlingen nicht vollständig, obwohl ich es aus letzterem nicht zu isoliren vermochte; denn die aus

¹⁾ Landwirthsch. Jahrbücher, Bd. 9, S. 716, sowie auch ebendasselbst Bd. 17, S. 708, und Bd. 21, S. 119.

diesen Keimlingen dargestellten Phenylalanin- und Amiovaleriansäure-Präparate gaben mit Millon'schem Reagens Tyrosin-Reaction, so lange sie nicht durch Umkrystallisiren in reinen Zustand übergeführt worden waren. Das Gleiche gibt v. Gorup-Besanez (loc. cit.) für das von ihm aus Wickenkeimlingen dargestellte Roh-Leucin an. Man darf also annehmen, dass Tyrosin in allen diesen Keimlingen sich vorfand, aber nur in den Kürbiskeimlingen in so grosser Menge vorhanden war, dass man es isoliren konnte. Ebenso fehlte das Phenylalanin, welches ich sowohl aus den Lupinen- wie aus den Wickenkeimlingen isoliren konnte, höchstwahrscheinlich in den Kürbiskeimlingen nicht vollständig; denn die Mutterlauge, welche beim Umkrystallisiren des aus diesen Keimlingen abgeschiedenen Leucins übrig blieb, gab beim Eindunsten einen Rückstand, der beim Erhitzen mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat den Geruch des Benzaldehyds entwickelte und nach längerem Kochen eine im Verhalten der Benzoësäure gleichende Substanz lieferte¹⁾. Das Entstehen dieser Producte spricht aber für das Vorhandensein einer geringen Menge von Phenylalanin. Endlich wird nicht nur das Glutamin in den Kürbiskeimlingen von einer geringen Menge von Asparagin begleitet, sondern es findet sich auch nach den Untersuchungen von v. Gorup-Besanez (loc. cit.) in den Wickenkeimlingen neben Asparagin ein wenig Glutamin vor.

Es würde eine noch bessere Stütze für die oben von mir ausgesprochenen Ansichten sein, wenn sich nachweisen liesse, dass gewisse als Eiweisszersetzungsproducte anzusehende Stickstoffverbindungen in der gleichen Keimpflanzenart bald in beträchtlicher, bald nur in sehr geringer Menge sich finden. Ein Fall solcher Art ist nun in der That schon vor langer Zeit von uns beobachtet worden; während nämlich die etiolirten Kürbiskeimlinge in der Regel neben Glutamin nur eine sehr geringe Asparaginnmenge enthalten, fand sich in einigen Culturen solcher Keimlinge, wie oben schon erwähnt wurde, eine sehr beträchtliche Quantität von Asparagin vor.

¹⁾ Vgl. Journ. f. prakt. Chemie. N. F., Bd. 32, S. 446.

Das Gleiche ist vor Kurzem auch von S. Frankfurt¹⁾ in meinem Laboratorium bei den etiolirten Keimlingen der Sonnenblume (*Helianthus annuus*) beobachtet worden. Diese Keimlinge enthielten ein Gemenge von Asparagin und Glutamin; in einigen Culturen prävalirte der Quantität nach sehr stark das Glutamin, in anderen dagegen das Asparagin. Offenbar konnten in den Keimpflanzen von *Helianthus annuus* das Asparagin und das Glutamin sich vertreten, und das Gleiche wird man auch für die Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* anzunehmen haben.

Dass auch das Tyrosin in der gleichen Keimpflanzenart bald in grösserer, bald nur in sehr geringer Quantität auftreten kann, geht aus einem Vergleich der von mir erhaltenen Versuchsergebnisse mit den Beobachtungen E. Belzung's²⁾ hervor. Der Letztere hat aus den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* eine Substanz abgeschieden, welche im Aussehen und in den Reactionen mit Tyrosin übereinstimmte. Mir ist es dagegen bis jetzt niemals gelungen, aus den genannten Keimpflanzen Tyrosin zur Abscheidung zu bringen, obwohl aus den w. o. auf S. 324 mitgetheilten Beobachtungen zu schliessen ist, dass es in denselben nicht ganz vollständig fehlte. Da nun das Tyrosin wegen seiner Schwerlöslichkeit in Wasser die am leichtesten zu isolirende Amidosäure ist, da ich ferner grosse Quantitäten von etiolirten Lupinenkeimlingen verarbeitet und aus denselben nach verschiedenen Methoden die Amidosäuren darzustellen gesucht habe³⁾, so kann ich mit Bestimmtheit behaupten, dass die von mir untersuchten Keimpflanzen

¹⁾ Inaugural-Dissertation, Zürich 1893, S. 27, sowie auch Landwirthsch. Versuchsstationen, Bd. 43, S. 145.

²⁾ E. Belzung, recherches chimiques sur la germination et les cristallisations intracellulaires artificielles, Annales des sciences naturelles, septieme série, Botanique, T. XV, p. 203—262.

³⁾ So habe ich z. B. auch die Niederschläge untersucht, welche Mercurinitrat in dem Saft der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* hervorbringt. Aus diesen Niederschlägen habe ich niemals Tyrosin darstellen können, obwohl nach den von uns an verschiedenen Objecten gemachten Erfahrungen in dieselben beim Vorhandensein von Tyrosin stets ein Theil dieser Amidosäure eingeht.

dieser Art Tyrosin höchstens in äusserst geringen Quantitäten enthalten haben. In den von E. Belzung untersuchten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* muss dagegen das Tyrosin in beträchtlicher Menge enthalten gewesen sein; denn es gelang dem genannten Forscher, dasselbe schon bei Anwendung von nur 250 ccm. Saft in einer zur Prüfung auf seine Reactionen genügenden Quantität zur Abscheidung zu bringen. Daraus ist also zu schliessen, dass in den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* das Tyrosin bald in grösserer, bald nur in äusserst geringer Quantität auftritt.

Während ich nun aus den etiolirten Lupinenkeimlingen kein Tyrosin isoliren konnte; ist es dagegen mir und meinen Mitarbeitern leicht gelungen, diese Amidosäuren aus den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* zur Abscheidung zu bringen. E. Belzung (loc. cit.) vermochte dagegen aus dieser Keimpflanzenart kein Tyrosin zu gewinnen. Er sucht diese Differenz zwischen unseren und seinen Beobachtungen durch die Annahme zu erklären, dass die von ihm untersuchten Keimlinge nicht der gleichen Pflanzen-Art angehört haben, wie diejenigen, mit welchen wir experimentirten¹⁾. Jene Differenz zwischen den von ihm und den von uns angestellten Beobachtungen kann aber mit grösserem Rechte durch die Annahme erklärt werden, dass auch in den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* das Tyrosin zuweilen in grösserer, zuweilen nur in äusserst geringer Quantität sich findet.

Eine ähnliche Differenz zwischen den von E. Belzung und den von mir gemachten Beobachtungen ist auch in Bezug

¹⁾ Belzung meint, dass von J. Barbieri und mir nicht genau genug angegeben sei, mit welcher Pflanzenspecies wir bei Ausführung unserer Untersuchung über die stickstoffhaltigen Bestandtheile der Kürbiskeimlinge experimentirten. Darauf habe ich Folgendes zu erwidern: Ob man in der französischen Sprache unter der Bezeichnung «Courge» verschiedene Pflanzenarten zusammenfasst, ist mir nicht bekannt; in der deutschen Sprache aber bezeichnet man meines Wissens mit dem Namen «Kürbis» nur diejenige Pflanze, welche der Botaniker als *Cucurbita pepo* bezeichnet. Jedenfalls kann es keinem Zweifel unterliegen, dass dieser Species die Keimpflanzen, mit denen wir experimentirten, angehört haben.

auf die Keimpflanzen von *Lupinus albus* hervorgetreten. E. Belzung fand die letzteren so reich an Leucin, dass dasselbe aus dem durch Erhitzen von den Eiweissstoffen bereiten Saft schon vor dem völligen Erkalten in Krystallen sich abschied, während ich in einer durch Belzung's Angaben veranlassten Untersuchung aus den Keimpflanzen der gleichen *Lupinus*art kein Leucin, wohl aber andere Amidosäuren zur Abscheidung bringen konnte.

Ueber die Details dieser Untersuchung ist Folgendes mitzutheilen: Ich verwendete Keimpflanzen von *Lupinus albus*, welche in einem nicht verdunkelten Zimmer in grossen, mit ausgewaschenem Flusssand gefüllten Blechkästen bei einer Temperatur von 22—23° erwachsen waren und ein Alter von ungefähr 10 Tagen erreicht hatten. Der durch Auspressen der zerkleinerten Pflänzchen erhaltene und unmittelbar nach seiner Gewinnung durch Erhitzen im Wasserbade von den coagulirbaren Eiweissstoffen befreite Saft lieferte weder in seiner ursprünglichen Verdünnung noch nach dem Eindunsten auf ein geringes Volumen eine Krystallisation von Leucin. Ich vermischte den durch Eindunsten concentrirten Saft nun mit Weingeist, bis eine starke Fällung entstand. Die letztere wurde durch Filtration beseitigt, das Filtrat theils über concentrirter Schwefelsäure der langsamen Verdünnung überlassen, theils im Wasserbade bis zur Syrupconsistenz eingedunstet und dann gleichfalls unter eine Glasglocke über concentrirte Schwefelsäure gestellt. Weder aus der einen noch aus der anderen Portion der Flüssigkeit habe ich Leucin erhalten können; dagegen schieden sich aus denselben Krystalle von Asparagin aus.

Die bei Untersuchung der Keimpflanzen von *Lupinus albus* von uns gemachte Erfahrung, dass die Axenorgane dieser Pflanzen das beste Material zur Darstellung der Amidosäuren bildeten, veranlasste mich nun, nur diese Theile der Keimpflanzen von *Lupinus albus* in Arbeit zu nehmen. Dieselben wurden in einem geräumigen Trockenschrank bei einer Temperatur von 60—70° ausgetrocknet, dann zerkleinert und hierauf mit Weingeist von 92—93 Volumprocent ausgekocht.

Der durch Filtration vom Ungelösten getrennte Extract wurde der Destillation unterworfen, um den Weingeist zu entfernen; den Destillationsrückstand verdünnte ich mit Wasser und versetzte die trübe Flüssigkeit zuerst mit etwas Gerbsäure, dann mit Bleiessig. Die vom starken Niederschlag durch Filtration getrennte Flüssigkeit wurde durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom gelösten Blei befreit und sodann im Wasserbade bei gelinder Wärme zum Syrup eingedunstet. Der letztere lieferte im Laufe einiger Tage eine Ausscheidung, welche neben Amidosäuren auch etwas Asparagin einschloss. Diese Ausscheidung wurde, nachdem zuvor ein wenig Weingeist zugefügt worden war, auf ein Zeugfilter gebracht, von welchem die dickflüssige Mutterlauge langsam abtropfte. Den Filterinhalt wusch ich mit ein wenig verdünntem Weingeist und presste ihn dann stark zwischen Fließpapier, um die Reste der Mutterlauge möglichst zu entfernen; dann wurde derselbe im Exsiccator getrocknet, hierauf zerrieben und mit absolutem Alcohol, welchem etwas concentrirte Ammoniakflüssigkeit zugesetzt war, bei Wasserbadhitze behandelt. Das beigemengte Asparagin blieb grösstentheils zurück¹⁾, während die Amidosäuren sich auflösten; sie schieden sich aus der unter einer Glasglocke über concentrirte Schwefelsäure gestellten Lösung beim Verdunsten des Ammoniaks langsam wieder aus. Das so gewonnene, nur noch wenig gefärbte Rohproduct wurde zur Reinigung noch einmal in ammoniakhaltigem Alcohol gelöst und aus der Lösung wieder in der gleichen Weise zur Abscheidung gebracht; dann löste ich es in Wasser und sättigte die Lösung bei Wasserbadhitze mit Kupferoxydhydrat. Aus der tiefblauen Flüssigkeit schied sich schon in der Wärme eine krystallinische Kupferverbindung aus, deren Menge sich beim Erkalten noch vermehrte. Dieselbe wurde auf einem Filter gesammelt und mit kaltem Wasser gewaschen. Das stark blau gefärbte Filtrat wurde im Wasserbade fast bis zur Trockne verdunstet, der Ver-

¹⁾ Ein wenig Asparagin geht in Lösung: es lässt sich von den dieser Lösung dargestellten Amidosäuren trennen, indem man letztere wiederholt in ammoniakhaltigem Alcohol löst.

dampfungsrückstand sodann mit Wasser behandelt. Der grösste Theil desselben löste sich wieder auf; zurück blieb eine geringe Menge einer Kupferverbindung, welche mit der zuerst aus-
 geschiedenen vereinigt wurde. Als ich die in dieser Weise
 erhaltene Kupferverbindung nach dem Verfahren verarbeitete,
 welches von J. Barbieri und mir¹⁾ auf das in der gleichen
 Weise aus den Axenorganen der Keimpflanzen von *Lupinus*
luteus dargestellte Product angewendet wurde¹⁾, erhielt ich
 eine Amidosäure, welche zweifellos Phenylalanin (Phenyl-
 z-Amidopropionsäure) war. Sie krystallisirte aus einer noch
 heissen concentrirten wässerigen Lösung in glänzenden Blätt-
 chen, während sie aus einer stärker verdünnten Lösung
 erst nach dem Erkalten in langen weissen, zu Gruppen ver-
 einigten, dünnen Prismen sich ausschied. Beim Erhitzen im
 Glasröhrchen zeigten die Krystalle das für das Phenylalanin
 von mir beschriebene Verhalten²⁾ — ein Verhalten, auf Grund
 dessen sich diese Amidosäure leicht von Leucin und Amido-
 valeriansäure unterscheiden lässt. Aus der heissen wässerigen
 Lösung der Krystalle schied sich auf Zusatz von Kupferacetat
 in blassblauen Krystallschuppen eine Kupferverbindung aus,
 welche im Aussehen mit dem Phenylalaninkupfer voll-
 kommen übereinstimmte; auch besass sie einen der Formel
 des letzteren entsprechenden Kupfergehalt, wie folgende An-
 gaben beweisen:

0,420 gr. Substanz, getrocknet bei 100°, gaben 0,0860 gr. CuO.

	Gefunden:	Berechnet für $(C_9H_{10}NO_2)_2Cu$:
Cu	16,3	16,2%

Als ferner die in der beschriebenen Weise erhaltene
 Amidosäure mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefel-
 säure erhitzt wurde³⁾, trat der Geruch des Benzaldehyds
 auf und als ich nach mehrstündigem Erhitzen die Flüssigkeit

¹⁾ M. vgl. Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. 27, S. 342—343.

²⁾ M. vgl. die in der vorigen Anmerkung citirte Abhandlung, S. 345
 und 346, sowie auch diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 81.

³⁾ Auf 1 Th. Substanz wurden ungefähr 4 Th. Kaliumbichromat,
 6 Th. concentrirte Schwefelsäure und 18 Th. Wasser genommen. \perp

erkalten liess, schied sich aus derselben eine Substanz aus, welche das Verhalten der Benzoësäure zeigte. Sie krystallisirte in Nadeln und Blättchen, die in kaltem Wasser sich schwer auflösten. Nachdem sie durch Umkrystallisiren gereinigt war, schmolz sie im Capillarröhrchen bei 120° , bei höherer Temperatur sublimirte sie.

Diese Versuchsergebnisse machen es zweifellos, dass die im Vorigen beschriebene Amidosäure Phenylalanin (Phenyl- α -Amidopropionsäure) war.

Das blaue Filtrat, welches von der zur Gewinnung des Phenylalanins verwendeten Kupferverbindung abgelaufen war (vgl. oben), wurde zur Entfernung des Kupfers mit Schwefelwasserstoff gesättigt, sodann im Wasserbade auf ein geringeres Volumen eingedunstet¹⁾ und hierauf filtrirt. Das farblose Filtrat verdunstete ich bei gelinder Wärme zur Trockne und krystallisirte den Verdampfungsrückstand wiederholt aus Alkohol um, welchem etwas Ammoniakflüssigkeit zugefügt war²⁾. Ich erhielt so eine weisse krystallinische Substanz, welche im Verhalten mit der aus den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* von J. Barbieri und mir³⁾ abgeschiedenen Amidovaleriansäure übereinstimmte. Sie lieferte beim Erhitzen im Röhrchen ein weisses Sublimat. Ihre wässrige Lösung gab auf Zusatz von Kupferacetat weder in der Kälte noch beim Erhitzen eine Ausscheidung (Unterschied vom Leucin). Dass kein Leucin vorlag, wird noch dadurch bewiesen, dass die Krystalle sich in einer gesättigten wässrigen Leucinlösung ebenso rasch lösten, wie in reinem Wasser.

Aus den Keimpflanzen von *Lupinus albus* konnte ich also neben Phenylalanin nur eine Amidosäure darstellen, welche höchstwahrscheinlich Amidovaleriansäure war: Leucin habe ich dagegen in diesen Keimpflanzen nicht nachweisen können. Es ist trotzdem möglich, dass Leucin in den-

¹⁾ Dieses Eindunsten ist erforderlich, um das Schwefelkupfer abfiltriren zu können.

²⁾ Beim Lösen der Substanz in dem ammoniakhaltigem Weingeist blieb noch ein wenig Asparagin zurück.

³⁾ Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. 27, S. 353 und 354.

selben vorhanden war, aber nur in so geringer Menge, dass es nicht zu isoliren war.

Aus dem negativen Resultat, das ich bei der Prüfung auf Leucin erhielt, ziehe ich aber nicht die Schlussfolgerung, dass die von E. Belzung über das reichliche Vorkommen dieser Amidosäure in den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* gemachte Angabe unrichtig sei, sondern ich betrachte die in Bezug auf diesen Punkt zwischen E. Belzung's und meinen Beobachtungen hervorgetretene Differenz als eine neue Stütze für die früher schon von mir ausgesprochene Ansicht, dass manche Producte der Eiweisszersetzung in der gleichen Keimpflanzenart bald in grösserer, bald nur in äusserst geringer Quantität auftreten.

Die Ausbeute an Amidosäuren, welche ich aus den Axenorganen der Keimpflanzen von *Lupinus albus* erhielt, war nur eine geringe; 800 gr. lufttrockenes Material (mit ungefähr 700 gr. Trockensubstanz) lieferten mir nur ungefähr 5 gr. Amidosäuren (Rohproduct).

Erwähnen will ich noch, dass ich aus den Cotyledonen der Keimpflanzen von *Lupinus albus* Arginin bis jetzt nicht zu isoliren vermochte, während ich diese stickstoffhaltige Base in allen von mir untersuchten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* in reichlicher Menge gefunden habe.

Im Vorigen habe ich gezeigt, dass einige von E. Belzung über das Auftreten von Amidosäuren in Keimpflanzen gemachte Angaben als Ergänzungen der von mir und meinen Mitarbeitern gemachten Beobachtungen betrachtet werden können. Mit dem dort Gesagten kann ich aber die Besprechung der Arbeit Belzung's noch nicht abschliessen. Vergleicht man das Gesamtergebnis dieser Arbeit mit den Ergebnissen, zu denen meine Mitarbeiter und ich bei der Untersuchung von Keimpflanzen gekommen sind, so zeigen sich zwar nicht Gegensätze, aber doch sehr grosse Unterschiede. Zum Theil lassen sich dieselben auf die oben besprochene Erscheinung zurückführen, dass manche krystallinische Stickstoffverbindungen in der gleichen Keimpflanzenart bald in grösserer,

bald nur in sehr geringer Menge auftreten. Daneben aber wirken noch andere Ursachen mit¹⁾). Um dies zu zeigen, muss ich die Mittel besprechen, deren sich Belzung zur Abscheidung und zum Nachweis der in den Keimpflanzen enthaltenen krystallinischen Stickstoffverbindungen bedient.

Belzung unterwirft den durch Auspressen der Keimpflanzen erhaltenen Saft zuerst einer makrochemischen Untersuchung. Er befreit den Saft durch Erhitzen von den coagulirbaren Eiweissstoffen und prüft, ob aus demselben nach dieser Behandlung Krystalle sich abscheiden. Ferner bringt er den Saft durch Eindunsten im Wasserbade auf eine grössere Concentration, fügt dann Alkohol hinzu und untersucht die Ausscheidungen, welche dieser Zusatz sofort oder nach einiger Zeit hervorbringt. Endlich dunstet er die durch Filtration von den ausgeschiedenen Stoffen befreite alkoholische Flüssigkeit im Wasserbade auf ein geringes Volumen ein und überlässt sie dann der Krystallisation. Belzung bezeichnet diese Operation als die «Analyse des Safts». Die dabei erhaltenen krystallinischen Substanzen identificirt er nicht durch analytische Bestimmungen, sondern nur durch ihre Reactionen, ihr Verhalten gegen Lösungsmittel und ihr Aussehen unter dem Mikroskop.

Sodann sucht Belzung die krystallisirbaren Substanzen in den Zellen zur Ausscheidung zu bringen, indem er Schnitte aus den Pflanzen herstellt und dieselben in Glycerin legt. Zur Identificirung der in Folge davon in den Zellen sich ausscheidenden Krystalle untersucht er das Aussehen der letzteren unter dem Mikroskop, sowie ihr Verhalten gegen gesättigte wässrige Lösungen der Substanzen, um welches es sich in diesen Fällen handeln kann.

Belzung hat offenbar die Ansicht, dass man vermittelst der von ihm als «Analyse des Safts» bezeichneten Operationen die in den Keimpflanzen sich vorfindenden krystallisirbaren

¹⁾ Belzung sucht in einem Falle, und zwar bei den Kürbiskeimlingen, diese Unterschiede durch die Annahme zu erklären, dass von ihm und von uns nicht die gleiche Keimpflanzenart untersucht sei: im Uebrigen geht er auf diese Unterschiede nicht ein.

Stickstoffverbindungen sicher zur Abscheidung bringen könne, falls ihre Quantität nicht eine gar zu geringe ist. Dies ist z. B. aus den auf S. 254 und 255 seiner Abhandlung sich findenden Aeusserungen zu schliessen. Belzung will dort, nach Erwähnung der von J. Barbieri und mir über das Vorkommen eines Glutaminsäure-Amids in den Kürbiskeimlingen gemachten Mittheilung, zwar nicht geradezu einen Zweifel an der Existenz dieses Amids aussprechen, aber er glaubt es doch für seltsam (singulier) erklären zu müssen, dass dasselbe mit Hülfe der von ihm angewendeten Operationen nicht aus dem Saft abgeschieden werden könne — Aeusserungen, welche Belzung wohl nicht gemacht hätte, wenn ihm bekannt gewesen wäre, dass ich schon im Jahre 1885 das Glutamin aus dem Saft der Kürbiskeimlinge durch Ausfällung mittelst Mercurinitrats zur Abscheidung gebracht und rein dargestellt habe und dass demnach das Vorhandensein dieses Amids in den genannten Keimpflanzen völlig zweifelsfrei ist¹⁾.

Auf Grund der Erfahrungen, die ich bei jahrelanger Beschäftigung mit diesem Gegenstande sammeln konnte, habe ich in dieser Frage eine ganz andere Ansicht als Belzung. Wenn es auch möglich ist, mit Hülfe der von diesem Forscher für die « Analyse des Safts » verwendeten Operationen einige von den im Saft vorhandenen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen zur Abscheidung zu bringen, so genügen diese Operationen doch durchaus nicht, um über den Gehalt der Keimpflanzen an solchen Verbindungen vollständigen Aufschluss zu gewinnen. Die Beweise dafür theile ich im Folgenden mit:

a) Beim Beginn meiner Untersuchungen über die in den Keimpflanzen enthaltenen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen habe ich die letzteren wiederholt auf dem auch von Belzung eingeschlagenen Wege zur Abscheidung zu bringen gesucht; ich habe den durch Erhitzen von den coagulirbaren Eiweissstoffen befreiten Saft entweder direct oder aber nach

¹⁾ Von unseren Untersuchungen über die stickstoffhaltigen Bestandtheile der Kürbiskeimlinge kennt Belzung offenbar nur die älteren, während ihm die neueren, die im Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 32, veröffentlicht wurden, ganz unbekannt geblieben zu sein scheinen.

dem Versetzen mit Alkohol¹⁾ und darauf folgender Filtration zur Krystallisation verdunstet. Aus dem Saft der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* habe ich auf diesem Wege keine andere Stickstoffverbindung isoliren können, als Asparagin. Phenylalanin und Amidovaleriansäure konnten wir nur gewinnen, indem wir alkoholische Extracte aus den getrockneten Keimpflanzen in der von uns in den bezüglichen Abhandlungen beschriebenen Weise verarbeiteten; Arginin, Cholin und Xanthinstoffe liessen sich nur mit Hülfe von Fällungsmitteln aus den Extracten abscheiden. Mit diesen von uns gemachten Erfahrungen stimmt es vollständig überein, dass Belzung mit den von ihm angewendeten Mitteln aus dem Saft der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* ausser Asparagin nur das leicht auskrystallisirende Tyrosin (welches in den von uns untersuchten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* nur in Spuren sich vorfand) zur Abscheidung bringen konnte.

b) Aus den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* haben wir mit Hülfe der auch von Belzung angewendeten Operationen nur Tyrosin und eine sehr geringe Quantität von Leucin abscheiden können, und zwar gelang die Darstellung des letzteren nur mit grosser Mühe. Viel leichter gelang die Isolirung des Leucins, als wir später einen alkoholischen Extract aus den getrockneten Keimpflanzen des Kürbis nach der Methode verarbeiteten, welche auch zur Darstellung der Amidosäuren aus den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* gedient hat. Glutamin haben wir niemals aus dem Saft der Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* durch Krystallisation gewinnen können, auch dann nicht, als wir diesen Saft, nachdem er durch Eindunsten auf eine grössere Concentration gebracht war mit Alkohol versetzten, die dadurch hervorgebrachte Fällung durch Filtration beseitigten und das Filtrat weiter eindunsteten, eine Thatsache, welche den von Belzung gemachten Erfahrungen vollkommen entspricht. Ebensowenig ist es bis jetzt gelungen, Glutamin aus dem Saft der Wurzeln von *Beta vulgaris* durch Krystallisation zu gewinnen, obwohl dieser

¹⁾ Vor dem Zusatz von Alkohol wurde der Saft durch Eindunsten auf eine grössere Concentration gebracht.

Saft relativ reich an diesem Amid ist. Nur durch Ausfällung mittelst Mercurinitrats haben wir sowohl aus dem Saft der Rüben wie aus demjenigen der Kürbiskeimlinge das Glutamin bis jetzt isoliren können.

c) Dass ein in relativ beträchtlicher Quantität vorhandener Saftbestandtheil, wie das Glutamin, sich aus dem Saft nicht direct durch Krystallisation gewinnen lässt, ist keineswegs eine vereinzelt dastehende Erscheinung; ein Jeder, der sich viel mit der Untersuchung von Pflanzen beschäftigt hat, weiss sehr wohl, dass viele krystallisationsfähige Pflanzenbestandtheile nur sehr schwierig oder auch gar nicht zum AuskrySTALLISIREN aus den Säften zu bringen sind. Wenn auch die Ursachen dieser Erscheinung nicht völlig zu Tage liegen, so kennt man doch manche Umstände, die in dem einen oder anderen Falle von Einfluss sein können. So ist es z. B. möglich, dass manche krystallisirbare Substanzen nicht frei, sondern in Verbindung mit anderen Stoffen im Saft sich vorfinden und dass diese Verbindungen sehr leicht löslich sind oder dass sie keine Krystallisationsfähigkeit besitzen (vielleicht gilt dies auch für manche Amide und Amidosäuren). Auch weiss man, dass die Löslichkeit mancher Stoffe in Wasser oder in Weingeist durch die Anwesenheit anderer Substanzen erhöht wird. Auf den einen oder anderen dieser Umstände ist wohl die vielfach beobachtete Erscheinung zurückzuführen, dass die aus dem pflanzlichen oder thierischen Organismus abgeschiedenen krystallisirbaren Stoffe in unreinem Zustande, d. h. gemengt mit geringen Mengen anderer Substanzen viel leichter in Wasser und in Weingeist löslich sind, als nach der Reinigung¹⁾.

d) Die Anzahl der von Belzung aus den Keimpflanzen abgeschiedenen krystallisirten Stickstoffverbindungen ist nur

¹⁾ So sagt z. B. Hoppe-Seyler in seinem Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse auf S. 174, nachdem er zuvor Angaben über die Löslichkeit des Leucins gemacht hat: «Wenn das Leucin unrein ist, wie man es aus thierischen Flüssigkeiten fast allein gewinnt, so ist es viel leichter löslich in Wasser und insbesondere auch löslich in Weingeist». Nach den von uns gemachten Beobachtungen

eine sehr geringe, wenn man sie mit der Zahl der von meinen Mitarbeitern und mir aus den Keimpflanzen dargestellten Verbindungen solcher Art vergleicht. Belzung hat vier Arten von Keimpflanzen untersucht, nämlich Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, *Lupinus albus*, *Cicer arietinum* und *Cucurbita pepo*. Er hat darin ausser Asparagin nur in drei Fällen krystallisirbare organische Stickstoffverbindungen gefunden, nämlich Tyrosin bei *Lupinus luteus*, Leucin bei *Lupinus albus* und Xanthin bei *Cicer arietinum*, während wir aus jeder der von uns eingehend untersuchten Keimpflanzenarten ausser Asparagin noch mehrere andere krystallisirende Stickstoffverbindungen darstellen konnten. Aus den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* z. B., in denen Belzung neben Asparagin nur Tyrosin fand, haben wir Phenylalanin, Amidovaleriansäure, Arginin, Xanthinstoffe und Cholin darstellen können. Die auffallendsten Unterschiede aber zeigen sich zwischen Belzung's und unseren Resultaten bei den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo*. Belzung findet in den letzteren im ersten Vegetationsstadium zwar noch etwas Asparagin und Spuren von Leucin, später aber nur Kaliumnitrat, während wir neben dem auch von uns nachgewiesenen Kaliumnitrat¹⁾ noch Glutamin, Asparagin, Leucin, Tyrosin, Vernin, Cholin und Xanthinstoffe gefunden haben. Wenn ich nun auch nicht

kann man Leucin, Amidovaleriansäure und Phenylalanin aus den getrockneten Keimpflanzen durch kochenden 95proc. Weingeist leicht extrahiren, während jene Amidosäuren nach der Reindarstellung sich darin nur wenig lösen. Das bei der Spaltung von Eiweissstoffen mittelst Säuren, Alkalien oder Enzymen erhaltene Leucin zeigt als Rohproduct eine viel grössere Löslichkeit in Wasser, als nach der Reinigung; das Gleiche gilt für die anderen bei dem gleichen Process erhaltenen Amidosäuren.

¹⁾ Ueber das Vorkommen von Kaliumnitrat in den Kürbiskeimlingen habe ich schon im Jahre 1885 im Journ. f. prakt. Chem., N. F., Bd. 32, S. 451, sowie in den Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 20, S. 1500 Mittheilungen gemacht. Belzung kennt diese Mittheilungen nicht; er glaubt daher, dass nur von ihm Kaliumnitrat in den Kürbiskeimlingen gefunden sei, was ihm als eine Stütze für seine Vermuthung dienen soll, dass die von uns untersuchten «Kürbiskeimlinge» einer anderen Pflanzenspecies angehört haben, als die seinigen (vgl. S. 326).

mit Sicherheit wissen kann, wie die von Belzung untersuchten Kürbiskeimlinge zusammengesetzt waren, so bin ich doch auf Grund der bei Untersuchung der gleichen Keimpflanzenart von uns gemachten Beobachtungen überzeugt, dass der Saft derselben neben Kaliumnitrat krystallisirbare organische Stickstoffverbindungen in reichlicher Menge enthielt und dass Belzung dies hätte nachweisen können, indem er in dem von Eiweissstoffen befreiten Saft eine Stickstoffbestimmung ausführte und die dabei erhaltene Stickstoffmenge mit derjenigen verglich, welche in Form von Kaliumnitrat sich vorfand¹⁾, oder auch, indem er den zuvor durch Zufügen von Bleiessig gereinigten Saft mit Mercurinitrat versetzte und den durch dieses Reagens hervorgebrachten Niederschlag auf organische Stickstoffverbindungen untersuchte (die Säfte aller bis jetzt von uns untersuchten Keimpflanzenarten gaben mit Mercurinitrat Niederschläge, welche reich an Amiden und anderen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen waren).

Auf Grund der im Vorigen gemachten Mittheilungen muss ich behaupten, dass man mit Hülfe der von Belzung zur « Analyse des Saftes » verwendeten Operationen nur wenige der im Saft enthaltenen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen nachzuweisen vermag und dass man zu unrichtigen Vorstellungen über die Zusammensetzung eines Saftes kommen kann, wenn man sich nur auf die auf diesem Wege erhaltenen Resultate stützt²⁾.

¹⁾ Keimpflanzen von *Cucurbita pepo*, welche von uns in reinem Sande gezogen und während des Wachstums nur mit destillirtem Wasser begossen worden waren, enthielten in der Trockensubstanz nur 0,1—0,2% Stickstoff in Form von Kaliumnitrat, während die von den Eiweissstoffen möglichst vollständig befreiten wässerigen Extracte 3,2—3,5% Stickstoff (angegeben in Procenten der Trockensubstanz der Keimpflanzen) enthielten (m. vgl. die oben citirte Abhandlung im Journ. f. prakt. Chemie, S. 452 und 457). Der Nitratgehalt der Keimpflanzen schwankte übrigens stark je nach den äusseren Bedingungen.

²⁾ Da Belzung nach seiner Methode in den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* nur Kaliumnitrat nachzuweisen vermag, so nimmt er an, dass die genannten Keimpflanzen den Stickstoff der zerfallenden Reserveeiweissstoffe nicht in die gewöhnlichen Formen (Amide) überführen.

Freilich hat Belzung jene Stickstoffverbindung nicht allein durch die im Vorigen besprochenen Operationen, sondern auch durch Krystallisation in den Zellen zur Abscheidung zu bringen und nachzuweisen gesucht. Man darf aber von vornherein annehmen, dass auf diesem Wege fast nur Stoffe nachzuweisen sind, welche sich auch durch die von Belzung angewendeten makrochemischen Operationen zur Abscheidung bringen lassen; Saftbestandtheile, welche durch irgend welche Umstände am AuskrySTALLISIREN aus den durch Versetzen mit Weingeist gereinigten und durch Eindunsten concentrirten Säften gehindert werden, lassen sich schwerlich in den Zellen zum AuskrySTALLISIREN bringen, indem man Schnitte aus den Pflanzentheilen in Glycerin legt. Dieser Annahme entsprechen denn auch die von Belzung erhaltenen Resultate. Der genannte Forscher hat in den Zellen fast nur Stoffe auskrySTALLISIREN sehen, welche er auch durch makro-

sondern dass sie denselben mineralisiren, indem sie Nitrate bilden, und dass diese Nitrate dann hier für die Ernährung der Pflänzchen die gleiche Bedeutung haben, wie anderswo die Amide (m. vgl. S. 251, 252 und 269 der Abhandlung Belzung's). Dieser Ansicht würde man nur beistimmen können, wenn Belzung nachgewiesen hätte, dass in den Keimpflanzen von Cucurbita pepo die Amide fehlten. Ueber diesen Punkt kann die von ihm angewendete Methode gar keine Entscheidung bringen, wie von mir oben gezeigt wurde; unsere Untersuchungen aber haben erwiesen, dass in den Keimpflanzen von Cucurbita pepo neben Nitraten sehr beträchtliche Mengen von Amidem sich finden. Dem Auftreten von Nitraten in den Keimpflanzen kann daher nicht eine grosse Bedeutung beigelegt werden; es muss die Bildung der Nitrate vielmehr als eine nebensächliche Erscheinung angesehen werden (vgl. darüber auch meine Abhandlung in den Ber. d. d. chem. Gesellschaft, Bd. 20, S. 1500). Ich mache hier auch noch darauf aufmerksam, dass es doch sehr auffallend wäre, wenn eine Keimpflanzenart beim Transport der Eiweissstoffe Amide, eine andere statt dessen Nitrate bildete; denn es ist doch klar, dass die Regeneration von Eiweissstoffen auf Kosten von Nitraten der Pflanze einen weit grösseren Kraftaufwand verursachen muss, als die Eiweissbildung auf Kosten von Amidem. Dass übrigens die in den Keimpflanzen sich findenden Nitrate, deren Quantität nach unseren Versuchen meistens nur eine relativ geringe ist, später in den grünen Pflanzentheilen bei der Bildung von Eiweissstoffen Verwendung finden können, kann nicht zweifelhaft sein.

chemische Operationen aus den Säften abscheiden konnte: es ist ihm aber bei *Lupinus luteus* sogar nicht gelungen, das Tyrosin zum Auskrystallisiren in den Zellen zu bringen, obwohl sich dasselbe nach der makrochemischen Untersuchung in beträchtlicher Menge im Saft vorfand.

Die Arbeit Belzung's ist mir in mehrfacher Hinsicht interessant gewesen und ich halte es für dankenswerth, dass er die für den mikrochemischen Nachweis der krystallisirbaren Saftbestandtheile verwendbaren Methoden weiter auszubilden gesucht hat; aber es würde ein Irrthum sein, wenn man glauben wollte, dass man durch die von ihm angewendeten Mittel die eingehende chemische Untersuchung der Keimpflanzen, wie sie von mir und meinen Mitarbeitern ausgeführt worden ist, zu ersetzen vermag.

Man könnte noch die Frage aufwerfen, ob während der Abscheidung der krystallisirbaren Stickstoffverbindungen aus den Keimpflanzen solche Verbindungen durch Zersetzung von Eiweissstoffen oder anderen complicirt zusammengesetzten Substanzen sich gebildet haben und ob etwa darin die Unterschiede, welche zwischen den von Belzung und den von uns erhaltenen Resultaten sich zeigen, theilweise ihre Erklärung finden können. Diese Frage glaube ich verneinen zu müssen. Die chemischen Agentien, welche wir auf die Säfte und Extracte einwirken liessen, waren nicht solcher Art, dass sie tiefer gehende Umwandlungen der Saftbestandtheile verursachen konnten. In allen Fällen ferner, in denen wir den aus den frischen Keimpflanzen durch Auspressen und nachfolgende Extraction mit Wasser gewonnenen Saft für die Darstellung der krystallisirbaren Stickstoffverbindungen verwendeten, haben wir dafür gesorgt, dass derselbe gleich nach der Gewinnung durch Erhitzen von den coagulirbaren Eiweissstoffen befreit und dann sofort weiter verarbeitet wurde; sollten die Keimpflanzen erst nach dem Trocknen verarbeitet werden, so wurden sie unmittelbar nach der Ernte in den geheizten Trockenschrank gebracht. Dass in dem so behandelten Untersuchungsmaterial durch postmortale Zersetzungen krystalli-

nische Stickstoffverbindungen entstanden sind, ist kaum anzunehmen. Um noch mehr Anhaltspunkte zur Entscheidung dieser Frage zu haben, wurden frische Keimpflanzen von *Lupinus luteus* von mir in absoluten Alkohol geworfen, nach mehrwöchentlichem Verweilen unter letzterem heraus genommen, in gelinder Wärme getrocknet und sodann verarbeitet; aus dem so behandelten Material erhielt ich die gleichen krystallinischen Stickstoffverbindungen wie aus den in anderer Weise behandelten Keimpflanzen der gleichen Art. Endlich ist noch darauf aufmerksam zu machen, dass man einige der von uns aus den Keimpflanzen dargestellten Stoffe, wie z. B. das Arginin, durch Reactionen in dem Saft oder Extract direct nachweisen kann und dass auch die Ergebnisse analytischer Bestimmungen, die wir in den Säften und Extracten ausführten, mit den bei der qualitativen Untersuchung der Keimpflanzen von uns erhaltenen Resultaten in Uebereinstimmung stehen¹⁾.

¹⁾ So kann man z. B. mit Hülfe der Sachsse'schen Methode mit Leichtigkeit nachweisen, dass der Saft der Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* ein durch Salzsäure unter Ammoniakbildung zersetzbares Amid (Glutamin oder Asparagin) in beträchtlicher Menge enthält. Auch lässt es sich schon mit Hülfe analytischer Bestimmungen sehr wahrscheinlich machen, dass der Saft der Keimpflanzen neben solchen Amidn noch Amidosäuren einschliesst (m. vgl. z. B. Landwirthsch. Jahrbücher, Bd. 9, S. 705—708, sowie Journ. f. prakt. Chemie. N. F., Bd. 20, S. 400).