

Ueber das wechselnde Auftreten einiger krystallisirbaren Stickstoffverbindungen in den Keimpflanzen.

II. Abhandlung¹⁾.

Von

E. Schulze.

(Aus dem agricultur-chemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 1. October 1896.)

Wie aus früher von mir publicirten Abhandlungen zu ersehen ist, weisen die aus den Keimpflanzen darstellbaren Stickstoffverbindungen eine gewisse Mannigfaltigkeit auf, so dass man bei Verarbeitung verschiedener Keimpflanzenarten nicht immer die gleichen Producte erhält. Während z. B. aus vielen Keimpflanzen Asparagin sich gewinnen lässt, liefern andere Glutamin²⁾. Ausser diesen beiden meistens in relativ grosser Quantität auftretenden Stickstoffverbindungen lassen sich in der Regel aus den Keimpflanzen auch Amidosäuren abscheiden, deren Qualität aber bei verschiedenen Objecten eine wechselnde ist. So erhielten wir z. B. aus *Lupinus luteus* Phenylalanin und Amidovaleriansäure, aus *Cucurbita pepo* Leucin und Tyrosin, aus *Vicia sativa* Phenylalanin, Leucin und Amidovaleriansäure. Das zuerst genannte Object lieferte uns neben Asparagin und Amidosäuren auch noch Arginin in beträchtlicher Quantität, während wir diese Base aus *Vicia sativa* nicht gewinnen konnten.

¹⁾ Meine erste Mittheilung über den gleichen Gegenstand findet sich in dieser Zeitschrift, Bd. 20, S. 306—326.

²⁾ Ueber das Vorkommen des Glutamins in Keimpflanzen, vgl. meine Mittheilung in den Berichten d. D. Chem. Gesellsch., Bf. 29, S. 1881.

Die im Vorigen genannten Stickstoffverbindungen betrachtet man als Producte der in den Keimpflanzen mit grosser Energie stattfindenden Zersetzung von Proteinstoffen, wobei es jedoch eine offene Frage bleibt, ob sie primäre Zersetzungsproducte sind oder ob sie einer Umwandlung der beim Zerfall der Proteïn moleküle zuerst entstandenen Stoffe ihre Entstehung verdanken. Soll man nun aus den im Vorigen erwähnten Thatsachen schliessen, dass der Zerfall der Proteinstoffe in den verschiedenen Keimpflanzen nicht in der gleichen Weise verläuft und dass der einen Keimpflanzenart diese, der anderen jene Proteïn zersetzungsproducte eigenthümlich sind? Gegen diese Anschauung habe ich mich früher schon ausgesprochen¹⁾; ich habe es für viel wahrscheinlicher erklärt, dass es stets im Wesentlichen die gleichen stickstoffhaltigen Producte sind, welche beim Eiweisszerfall in den Keimpflanzen sich bilden und dass einige dieser Producte nur deshalb nicht in allen Fällen zur Abscheidung zu bringen sind, weil sie in manchen Keimpflanzen entweder nur in sehr geringer Menge sich bilden oder nach ihrer Bildung bald bis auf einen sehr geringen Rest wieder verbraucht werden, wobei es möglich ist, dass der Verbrauch in der einen Keimpflanze dieses, in der anderen jenes Product vorzugsweise trifft.

Als Stütze für diese Ansicht habe ich eine Anzahl von Thatsachen aufgeführt. So fehlte z. B. das Tyrosin, welches wir aus den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* bis jetzt nicht zu isoliren vermochten, in diesen Keimpflanzen allem Anschein nach nicht vollständig; denn das aus denselben dargestellte Amidosäurengemenge gab mit Millon'schem Reagens Tyrosin-Reaction, so lange es nicht durch Umkrystallisiren gereinigt war; das Gleiche fand v. Gorup-Besanez²⁾ bei dem von ihm aus Keimpflanzen von *Vicia sativa* dargestellten Leucin. Die Keimpflanzen von *Cucurbita pepo*, aus denen Leucin und Tyrosin dargestellt werden konnten, enthielten daneben wahrscheinlich ein wenig Phenylalanin; denn die beim Umkrystallisiren des Leucins verbliebene Mutterlauge lieferte

¹⁾ Ber. d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 146 u. 569, Bd. 10, S. 780.

²⁾ Vgl. die erste Abhandlung (loc. cit.).

beim Eindunsten einen Rückstand, welcher bei der Oxydation mittels Kaliumbichromat und Schwefelsäure eine der Benzoesäure gleichende Substanz gab. Das Glutamin wird bei *Cucurbita pepo* begleitet von ein wenig Asparagin, das Asparagin bei *Vicia sativa* nach der Angabe von v. Gorup-Besanez (loc. cit.) von einer geringen Menge von Glutamin.

Gegen die Annahme, dass der einen Keimpflanzenart diese, der anderen jene Proteinzersetzungsproducte eigenthümlich seien, spricht noch entschiedener die Thatsache, dass manche zu jenen Producten zu rechnende Stickstoffverbindungen in der gleichen Keimpflanzenart bald in beträchtlicher Quantität auftreten, bald ganz zu fehlen scheinen oder doch nur in äusserst geringer Menge sich finden. So enthielten z. B. die Keimpflanzen von *Cucurbita pepo*, in denen meistens viel Glutamin neben sehr wenig Asparagin enthalten war, zuweilen eine sehr beträchtliche Quantität von Asparagin, während Glutamin nicht zur Abscheidung zu bringen war. Während wir aus den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* Tyrosin nicht zu isoliren vermochten, fand E. Belzung¹⁾ in solchen Keimpflanzen Tyrosin in beträchtlicher Quantität. In den Keimpflanzen von *Lupinus albus* fand er (loc. cit.) Leucin in reichlicher Menge, während ich aus der gleichen Keimpflanzenart nur Phenylalanin und eine im Verhalten mit Amidovaleriansäure übereinstimmende Substanz abscheiden konnte²⁾.

Für das Verständniss der mit dem Umsatz der Proteinstoffe in den Pflanzen verbundenen Vorgänge ist es nach meiner Meinung von grosser Wichtigkeit, die im Vorigen discutirte Frage zur Entscheidung zu bringen. Ich habe mich daher bemüht, noch neue Stützen für die in dieser Frage von mir vertretene Ansicht zu gewinnen. Meine Bemühungen sind nicht ohne Erfolg geblieben; ich habe ausser den oben erwähnten noch einige andere Fälle auffinden können, in denen

¹⁾ E. Belzung, recherches sur la germination et les cristallisations intercellulaires artificielles: Annales des sciences naturelles, VII. série, Botanique, T. XV, p. 203.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 313.

die gleiche Keimpflanzenart unter verschiedenen Umständen verschiedene krystallisirende Stickstoffverbindungen in darstellbaren Quantitäten enthielt; ferner vermag ich zu zeigen, dass verschiedene Spezies der gleichen Pflanzengattung verschiedene Stoffe solcher Art lieferten.

Zur Mittheilung der einzelnen Versuchsergebnisse übergehend, erwähne ich zunächst, dass Keimpflanzen von *Picea excelsa*, welche in einem verdunkelten Zimmer in Sand gezogen worden waren, ein Gemenge von Asparagin mit wenig Glutamin lieferten, während ich dagegen aus einer in fruchtbarer Erde im Freien gewachsenen Cultur der gleichen Keimpflanzen nur Glutamin, aber kein Asparagin zu gewinnen vermochte¹⁾.

Meine weiteren Mittheilungen beziehen sich auf das wechselnde Auftreten von Arginin und von einigen Amidosäuren in den Keimpflanzen. Was die zur Isolirung des Arginins verwendbaren Methoden betrifft, so habe ich sie früher²⁾ beschrieben und kann hier auf das dort Gesagte verweisen.

Die Isolirung der Amidosäuren bietet zuweilen nicht unbeträchtliche Schwierigkeiten dar; ich sehe mich daher veranlasst, das dabei in Anwendung gekommene Verfahren mit den kleinen Abänderungen, die wir in neuester Zeit daran angebracht haben, im Folgenden möglichst genau zu beschreiben. Zur Abscheidung der genannten Stickstoffverbindungen wurden die getrockneten und fein zerriebenen Keimpflanzen, bezw. die einzelnen Theile derselben, mit 95 proc. Weingeist ausgekocht, die filtrirten Extracte der Destillation unterworfen, die Destillationsrückstände mit Wasser aufgenommen, die so erhaltenen trüben Flüssigkeiten mit Gerbsäure versetzt, bis dieses Reagens nur noch eine ganz schwache Fällung hervorbrachte. Die Niederschläge wurden mittelst Filtrirtuch von den Flüssigkeiten getrennt, die letzteren sodann mit Bleiacetat oder Bleiessig in schwachem Ueberschuss versetzt, die Nieder-

¹⁾ Vgl. die nachfolgende Abhandlung.

²⁾ Diese Zeitschr., Bd. 11, S. 44—45.

schläge abfiltrirt und ausgewaschen, die Filtrate durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Blei befreit und nun bei gelinder Wärme eingedunstet, bis auf der Oberfläche eine Haut sich zu bilden begann; hierauf setzte man sie unter eine Glasglocke über concentrirte Schwefelsäure. Beim Vorhandensein von Amidosäuren lieferten diese Flüssigkeiten binnen einigen Tagen Ausscheidungen, die unter dem Mikroskop in der Regel krystallinische Beschaffenheit nicht erkennen liessen¹⁾. Diese Ausscheidungen wurden mit Hülfe eines Filtrirtuches von der dickflüssigen Mutterlauge getrennt, mit etwas Weingeist gewaschen, zwischen Fliesspapier stark abgepresst und sodann über concentrirter Schwefelsäure getrocknet.

Dieses meist bräunlich gefärbte Rohproduct wurde zerrieben und behufs Auflösung der Amidosäuren in der Wärme mit einem Gemisch von absolutem Alkohol und etwas concentrirter Ammoniakflüssigkeit behandelt. Schloss das Rohproduct Asparagin ein, so blieb letzteres z. Th. zurück, z. Th. ging es mit in Lösung; das gleiche gilt für das in jenem Gemisch sehr schwer lösliche Tyrosin. Die ammoniakalische Lösung lieferte beim Stehen über concentrirter Schwefelsäure unter einer Glasglocke sehr bald eine krystallinische weisse oder schwach gelb gefärbte Ausscheidung.

In einigen Fällen fand ich es vortheilhaft, das Rohproduct nur mit so viel ammoniakhaltigem Weingeist zu behandeln, dass es sich nur zum kleineren Theil darin auflöste, und auf den Rest eine neue Portion jenes Lösungsmittels einwirken zu lassen²⁾. Von den so erhaltenen beiden Lösungen, welche getrennt verarbeitet wurden, schloss die zweite weniger Verunreinigungen ein, als die erste; in Folge davon lieferte sie beim Verdunsten stets eine ganz ungefärbte Ausscheidung,

¹⁾ Sie zeigten unter dem Mikroskop ein Aussehen, wie es Hoppe-Seyler (Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chem. Analyse, 5. Auflage, S. 174) für das aus thierischen Flüssigkeiten dargestellte Roh-Leucin beschreibt.

²⁾ Man kann auf diesem Wege zuweilen schon eine partielle Trennung der im Rohproduct enthaltenen Substanzen erreichen, vgl. die von mir in dieser Zeitschrift, Bd. 17, S. 209—210, gemachten Angaben.

aus welcher sich relativ leicht reine einheitliche Substanzen darstellen liessen.

Die Hauptbestandtheile der in solcher Weise aus den Keimpflanzen gewonnenen krystallinischen Producte waren Leucin, Amidovaleriansäure und Phenylalanin (Phenyl- α -Amidopropionsäure); als Nebenbestandtheile traten Tyrosin und Asparagin, auch wohl Asparaginsäure und Glutaminsäure¹⁾ auf. Ehe ich die Art und Weise beschreibe, in welcher jene Hauptbestandtheile von einander getrennt und in reine Präparate umgewandelt wurden, will ich einige Angaben über die Mittel machen, deren man sich zur Entfernung der Nebenbestandtheile bedienen kann. Was zunächst das Tyrosin betrifft, so lässt sich dasselbe wegen seiner Schwerlöslichkeit leicht von den anderen Amidosäuren trennen. Auch das Asparagin ist schwer löslich in einem Gemisch von Weingeist und etwas concentrirter Ammoniakflüssigkeit und bleibt daher grösstentheils zurück, wenn man die Amidosäuren bei mässiger Wärme in diesem Gemisch auflöst und das beim Verdunsten der Lösung erhaltene Product noch einmal in der gleichen Weise behandelt; man kann aber auch so verfahren, dass man die wässrige Lösung der unreinen Amidosäuren zur Ausfällung des Asparagins mit Mercurinnitrat versetzt²⁾, die vom Niederschlag abfiltrirte Flüssigkeit durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit und sodann unter Zusatz von Ammoniak zur Krystallisation verdunstet. Asparaginsäure und Glutaminsäure geben bekanntlich mit Ammoniak leicht lösliche Salze und bleiben daher in Lösung, wenn man eine durch diese Säuren verunreinigte wässrige

¹⁾ Extrahirt man asparaginhaltige Keimpflanzen behufs Darstellung der Amidosäuren mit heissem Weingeist, so geht ein wenig Asparagin mit in Lösung; dasselbe kann beim Eindunsten der bei Verarbeitung des Extracts erhaltenen Flüssigkeit, welche freie Essigsäure enthält, partiell in Asparaginsäure und Ammoniak zerfallen. Aus glutaminhaltigen Keimpflanzen kann in gleicher Weise eine Flüssigkeit erhalten werden, welche Glutaminsäure einschliesst.

²⁾ Doch kann man auf eine vollständige Ausfällung des Asparagins nicht rechnen.

Auflösung von Leucin, Amidovaleriansäure oder Phenylalanin unter Zusatz von Ammoniak zur Krystallisation eindunstet¹⁾). Man kann sich zur Entfernung von Asparaginsäure und Glutaminsäure aber auch der Mittel bedienen, welche von Hlasiwetz und Habermann zur Trennung dieser Stickstoffverbindungen vom Leucin benutzt worden sind²⁾).

Die in solcher Weise so weit als möglich von den genannten Nebenbestandtheilen befreite Masse bestand in einigen Fällen fast ausschliesslich aus Leucin, in der Regel aber aus einem Gemenge mehrerer Amidosäuren, z. B. von Phenylalanin und Amidovaleriansäure oder von Leucin, Amidovaleriansäure und Phenylalanin. Die Trennung dieser Amidosäuren konnte ich durch Krystallisation nicht bewerkstelligen; dagegen gelingt es, sie durch Ueberführung in ihre Kupferverbindungen zu trennen³⁾). Die dabei zu überwindenden Schwierigkeiten sind verschieden gross, je nach der Natur der Gemengtheile. Am geringsten sind sie, wenn ein Gemenge von Phenylalanin und Amidovaleriansäure vorliegt. Sättigt man die wässrige Lösung desselben in der Wärme mit Kupferoxydhydrat, so scheidet sich sofort die krystallinische Kupferverbindung des Phenylalanins aus, während amidovaleriansaures Kupfer in Lösung bleibt. Das aus jener Kupferverbindung durch Schwefelwasserstoff abgeschiedene Phenylalanin lässt sich durch wiederholtes Ausfällen mit Kupferacetat aus heisser, wässriger Lösung reinigen⁴⁾). Die in Lösung gebliebene Amidovaleriansäure, welche noch durch etwas Phenylalanin verunreinigt ist, wird durch Schwefel-

¹⁾ Wobei zu beachten ist, dass die Lösungen von asparaginsaurem und glutaminsaurem Ammonium beim Eindunsten leicht Ammoniak abgeben.

²⁾ Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. 169, S. 150; m. vgl. auch die von mir in dieser Zeitschr., Bd. 9, S. 70 u. 71 gemachten Angaben.

³⁾ Bei der Trennung der Amidosäuren auf diesem Wege spielt das eigenthümliche Verhalten ihrer Kupferverbindungen eine wichtige Rolle; die Löslichkeit dieser Kupferverbindungen wird durch Beimengungen häufig sehr stark verändert. M. vgl. die Mittheilungen, die ich über diesen Gegenstand in dieser Zeitschrift, Bd. 9, S. 74 und Bd. 17, S. 209 gemacht habe.

⁴⁾ Vgl. diese Zeitschr., Bd. 9, S. 76.

wasserstoff vom Kupfer befreit und sodann zur Krystallisation gebracht; man reinigt sie durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus ammoniakhaltigem Weingeist oder aus Wasser.

In der gleichen Weise kann man verfahren, wenn eine Gemenge von Leucin und Amidovaleriansäure vorliegt. Sättigt man die wässerige Lösung desselben, welche nicht zu concentrirt sein darf, in der Wärme mit Kupferoxydhydrat, so scheidet sich bald Leucin-Kupfer aus, während das amidovaleriansaure Kupfer entweder vollständig oder doch zum grössten Theil in Lösung bleibt. Doch ist die Ausscheidung des Leucins eine ganz unvollständige, weil seine Kupferverbindung durch das neben ihr entstehende amidovaleriansaure Kupfer zum Theil in Lösung erhalten wird; man erhält daher gar keine Ausscheidung, falls das in der beschriebenen Weise behandelte Gemenge neben Amidovaleriansäure nur wenig Leucin einschliesst. Aus dem das Leucinkupfer einschliessenden Niederschlage lässt sich ziemlich leicht reines Leucin gewinnen; die in Lösung gebliebene Amidovaleriansäure muss nach Entfernung des Kupfers oft umkrystallisirt werden, um sie von dem noch beigemengten Leucin zu befreien.

Besteht das Amidosäuregemenge aus Phenylalanin, Leucin und Amidovaleriansäure, so liefert seine heisse wässerige Lösung nach dem Sättigen mit Kupferoxydhydrat eine Ausscheidung, welche neben Phenylalaninkupfer auch Leucinkupfer einschliesst. Aus dem bei Zerlegung dieses Niederschlags resultirenden Gemenge der beiden Amidosäuren lässt sich durch fractionirte Ausfällung mit Kupferacetat Phenylalanin isoliren. Die vom Niederschlage abfiltrirte blaue Lösung schliesst neben einem Rest des Phenylalanins einen sehr beträchtlichen Theil des Leucins sowie die Amidovaleriansäure ein. Befreit man diese Lösung durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Kupfer und bringt die darin enthaltenen Amidosäuren sodann zur Krystallisation, so erhält man ein Product, aus welchem nach dem im vorhergehenden Passus beschriebenen Verfahren Leucin und Amidovaleriansäure isolirt werden können; doch gelangt man nur zum Ziel, falls die Quantität des Leucins, bezw. der Amidovaleriansäure nicht gar zu gering ist.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen lässt sich ersehen, dass die Trennung der aus den Pflanzen abgeschiedenen Amidosäuren eine ziemlich mühsame Operation ist; auch liegt auf der Hand, dass sie nicht ohne starke Substanzverluste durchgeführt werden kann und dass in Folge davon Bestandtheile des Amidosäurengemenges, welche nur in geringer Quantität sich vorfinden, schwierig zu isoliren sind. Am leichtesten gelingt die Isolirung des Phenylalanins, weil seine Kupferverbindung sehr schwer löslich ist und durch Beimengungen weniger an der Ausscheidung gehindert wird als die Kupferverbindungen der anderen oben genannten Amidosäuren.

Nachdem ich im Vorigen Angaben über die zur Abscheidung und Trennung der Amidosäuren benutzten Methoden gemacht habe, kann ich mich im Folgenden bei Beschreibung der bei den einzelnen Objecten in dieser Hinsicht erhaltenen Resultate kurz fassen.

Die für die Untersuchung verwendeten Pflänzchen waren entweder in einem verdunkelten Zimmer in grobkörnigem Sand oder unter Lichtzutritt im Freien in Sand oder in magerem Boden gewachsen. Je nachdem sie in der einen oder anderen Weise erhalten wurden, bezeichne ich sie im Folgenden als etiolirte oder als normale grüne Pflänzchen.

A. Wicke (*Vicia sativa*).

Wie in dieser Zeitschrift¹⁾ früher von mir mitgetheilt wurde, fand ich in etiolirten Keimpflanzen von *Vicia sativa*, deren Vegetationsdauer drei Wochen betragen hatte, neben Asparagin und stickstoffhaltigen organischen Basen Leucin, Amidovaleriansäure und Phenylalanin. Aus 6wöchentlichen grünen Pflänzchen von *Vicia sativa* vermochte ich dagegen von Amidosäuren nur Leucin zu isoliren²⁾; zu dem gleichen Resultat gelangte D. Pryanischnikow in einer in meinem Laboratorium ausgeführten Arbeit³⁾. Die Isolirung

¹⁾ Bd. 17, S. 208.

²⁾ M. vgl. meine Abhandlung «Zur Kenntniss der stickstoffhaltigen Bestandtheile junger grüner Pflanzen von *Vicia sativa*». Landwirthsch. Versuchsstationen, Bd 46, S. 383—397.

³⁾ Landw. Versuchsstationen, Bd. 45, S. 247.

der genannten Amidosäure geschah in der oben beschriebenen Art und Weise. Sie bildete kleine glänzende Krystallblättchen, welche sich beim Erhitzen im Glasröhrchen zu einem weissen Sublimat verflüchtigten; sie lösten sich nicht in einer gesättigten wässerigen Leucinlösung¹⁾. Auf Zusatz von Kupferacetat schied sich aus ihrer heissen wässerigen Lösung eine krystallinische Kupferverbindung aus, welche einen der Formel des Leucinkupfers = $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$ entsprechenden Kupfergehalt besass, wie folgende Angaben beweisen:

0,1980 gr. Substanz (bei 105° getrocknet) gaben 0,0482 gr. CuO.

	Berechnet:	Gefunden:
Cu =	19,55	19,42 %

Nach dem Ausrystallisiren des Rohleucins aus dem bezüglichen Extract blieb eine dickflüssige Mutterlauge übrig, welche neben organischen Basen auch Zucker enthielt. Es war anzunehmen, dass diese Beimengungen das Ausrystallisiren der Amidosäuren erschwert hatten und dass es möglich sein werde, nach ihrer Entfernung noch Amidosäuren zu gewinnen. Ich versetzte daher die mit Wasser verdünnte Mutterlauge zur Ausfällung der organischen Basen mit Phosphorwolframsäure, entfernte den Ueberschuss der letzteren aus dem Filtrat durch Barytwasser und Bleiessig und setzte der übrig bleibenden Flüssigkeit, nachdem sie vom Baryum und vom Blei befreit und neutralisirt worden war, zur Zerstörung der vergärbaren Kohlenhydrate ein wenig Hefe zu. Nach Beendigung der Gährung dunstete ich die filtrirte Flüssigkeit zum Syrup ein und behandelte letzteren in der Wärme

¹⁾ Diese Lösung wurde durch anhaltendes Schütteln eines durch Zersetzung von Conglutin mittelst Salzsäure dargestellten Leucinpräparates mit einer zur völligen Auflösung nicht genügenden Quantität destillirten Wassers dargestellt. Eine Probe der auf ihre Identität mit Leucin zu prüfenden Substanz wurde in einem kleinen Stöpselcylinder mit der filtrirten Leucinlösung unter häufigem Durchschütteln längere Zeit in Berührung gelassen. Es wurde constatirt, dass eine gleich grosse Substanzprobe durch ein der angewendeten Leucinlösung gleiches Volumen destillirten Wassers beim Durchschütteln rasch gelöst wurde. In analoger Weise sind alle in dieser Abhandlung später aufgeführten Lösungsversuche ausgeführt worden.

mit Weingeist. Der weingeistige Extract lieferte beim Verdunsten wieder eine Ausscheidung von Amidosäuren, deren Quantität jedoch nur sehr gering war. Aus dem so gewonnenen Product konnte ich aber wieder nur Leucin isoliren¹⁾; für die Annahme, dass daneben Phenylalanin oder Amidovaleriansäure sich vorfand, vermochte ich Anhaltspunkte nicht zu gewinnen.

Die 6 wöchentlichen Wickenpflänzchen lieferten nur eine sehr geringe Ausbeute an Leucin. Dies kann nicht auffallen. Die Pflänzchen befanden sich in einem Vegetationsstadium, in welchem schon Assimilationsproducte in beträchtlicher Quantität gebildet und mit Hilfe derselben die im ersten Wachstumsstadium entstandenen Amide wahrscheinlich zum grossen Theil wieder zu Eiweissstoffen regenerirt worden waren. Uebrigens liess sich auch aus den von D. Pryanischnikow (loc. cit.) in meinem Laboratorium untersuchten grünen Wickenpflänzchen, deren Vegetationsdauer nur 3—4 Wochen betragen hatte, nur eine sehr geringe Menge von Leucin zur Abscheidung bringen.

B. Weisse Lupine (*Lupinus albus*).

In Keimpflanzen von *Lupinus albus* fand E. Belzung²⁾ Leucin in so reichlicher Menge, dass es aus dem durch Erhitzen vom Albumin befreiten Saft der Pflänzchen beim Erkalten auskrystallisirte. Belzung's Angabe veranlasste mich schon vor mehreren Jahren die gleiche Keimpflanzenart zu untersuchen. Ich versuchte aus den Axenorganen der-

¹⁾ Da unter den Stoffwechselproducten der Hefe Leucin sich vorfindet, so würde der oben beschriebene Versuch für sich allein keinen sicheren Beweis für das Vorhandensein von Leucin in den Wickenpflanzen geben. Dieser Versuch hatte aber vorzugsweise den Zweck, zu prüfen, ob etwa beim Auskrystallisiren des Leucins aus dem zuerst verwendeten Extract andere Amidosäuren (Phenylalanin und Amidovaleriansäure) in Lösung geblieben waren und sich dann aus der in oben beschriebener Weise gereinigten Flüssigkeit gewinnen liessen. Der Versuch hat gezeigt, dass dies nicht der Fall war; auch die gereinigte Mutterlauge lieferte keine andere Amidosäure als der erste Extract.

²⁾ Loc. cit.

selben, also aus denjenigen Theilen, welche in der Regel am reichsten an Amidon sind, Leucin zur Abscheidung zu bringen. Ich erhielt aber kein Leucin, sondern nur Phenylalanin und eine im Verhalten der Amidovaleriansäure gleichende Amidosäure, welche jedoch von mir nicht völlig rein dargestellt und nicht mit Sicherheit identificirt wurde.

Später habe ich den Versuch wiederholt und ausser etiolirten auch normale grüne Pflänzchen von *Lupinus albus* in den Kreis der Untersuchung gezogen. Die erforderlichen Samen der genannten Lupinenart wurden mir in vorzüglicher Qualität von Vilmorin und Andrieux in Paris geliefert.

Aus den Axenorganen der nach $2\frac{1}{2}$ wöchentlicher Vegetationsdauer geernteten etiolirten Keimpflanzen¹⁾ konnte ich Phenylalanin und Amidovaleriansäure darstellen. Die Trennung und Reinigung dieser Producte geschah nach dem oben beschriebenen Verfahren²⁾. Das Phenylalanin glich im Aussehen und Verhalten den Phenylalanin-Präparaten anderer Herkunft. Es krystallisirte aus heisser concentrirter wässeriger Lösung in glänzenden Blättchen, bei langsamer Ausscheidung aus verdünnteren Lösungen dagegen in feinen weissen Nadelchen. Beim Erhitzen im Glasröhrchen zeigten die Krystalle das früher von mir beschriebene charakteristische Verhalten des Phenylalanins³⁾. Aus der heissen wässerigen Lösung der Krystalle schied sich auf Zusatz von Kupferacetat sofort in blassblauen Schuppen eine Kupferverbindung aus, deren Kupfergehalt der Formel des Phenylalaninkupfers $= (C_9H_{12}NO_2)_2Cu$ entsprach, wie folgende Angaben beweisen:

0,1755 gr. Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0350 gr. CuO.

	Berechnet:	Gefunden:
Cu =	16,15	15,91 %.

¹⁾ Um das Vegetationsstadium der Pflänzchen zu charakterisiren sei angeführt, dass das hypocotyle Glied eine Länge von 15—16 cm. erreicht hatte.

²⁾ Das gleiche Verfahren wurde auch auf die früher von mir untersuchten Keimpflanzen von *Lupinus albus* angewendet, vgl. diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 313—315.

³⁾ Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 210.

Beim Erhitzen der Krystalle mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure trat der Geruch des Benzaldehyds auf; aus der einige Stunden am Rückflusskühler erhitzten Flüssigkeit schied sich beim Erkalten eine Substanz aus, welche die Eigenschaften der Benzoesäure zeigte. Diese Versuchsergebnisse bestätigen die über das Vorkommen des Phenylalanins in dieser Keimpflanzen-Art früher schon von mir gemachte Angabe.

Die Amidovaleriansäure glich im Aussehen und Verhalten der aus den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* dargestellten Amidosäure gleichen Namens. Sie bildete glänzende weisse Krystallblättchen, welche sich beim Erhitzen im Glasröhrchen zu einem weissen Sublimat verflüchtigten. Ihre wässrige Lösung gab beim Erhitzen mit Kupferacetat keine Ausscheidung (Unterschied vom Leucin); nach dem Sättigen mit Kupferhydroxyd gab die gleiche Lösung nur dann eine Ausscheidung, wenn sie nicht zu verdünnt war. Der Stickstoffgehalt der Substanz entsprach der Formel der Amidovaleriansäure = $C_5H_{11}NO_2$, wie folgende Angaben beweisen ¹⁾:

0,2470 gr. Substanz gaben 27,6 ccm. feuchtes Stickstoffgas bei 21° und 723 mm. Druck = 0,02986 gr. N.

	Berechnet:	Gefunden:
N =	11,96	12,08 %.

Die Kupferverbindung der Amidosäure, dargestellt durch Sättigen ihrer heissen wässrigen Lösung mit Kupferoxydhydrat und Verdunsten der filtrirten Flüssigkeit zur Krystallisation, besass einen der Formel des amidovaleriansauren Kupfers = $(C_5H_{10}NO_2)_2Cu$ entsprechenden Kupfergehalt, wie folgende Angaben beweisen:

0,3085 gr. Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0820 gr. CuO.

	Berechnet:	Gefunden:
Cu =	21,41	21,21 %.

Die Ausbeute an Amidosäuren war keine sehr grosse; aus 850 gr. der lufttrockenen Axenorgane erhielt ich ca. 11 gr. des Rohproducts. Letzteres lieferte bei der Zerlegung weit

¹⁾ Die Stickstoffbestimmung wurde von Herrn Dr. M. Merlis ausgeführt.

mehr Amidovaleriansäure als Phenylalanin. Leucin vermochte ich nicht daraus zu gewinnen. Doch ist es nicht unmöglich, dass ein wenig Leucin im Rohproduct enthalten war. Es fehlt an Mitteln, um eine geringe Leucin-Menge neben Amidovaleriansäure und Phenylalanin nachzuweisen.

Arginin versuchte ich aus den Cotyledonen der etiolirten Keimpflanzen nach dem auf die Cotyledonen der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und einige andere Materialien mit Erfolg angewendeten Verfahren (Fällen mit Phosphorwolframsäure, Zerlegung des Niederschlags durch Kalkmilch, Neutralisiren der filtrirten und durch Einleiten von Kohlensäure vom gelösten Calciumhydroxyd befreiten Lösung mit Salpetersäure und Eindunsten zur Krystallisation) zur Abscheidung zu bringen. Auf diesem Wege erhielt ich aber nur einen Syrup, aus welchem weder Argininnitrat noch eine andere Verbindung krystallisirte. Ich verdünnte diesen Syrup nun mit Wasser, und versetzte die Flüssigkeit mit Mercurinitrat, durch welches Reagens Arginin gefällt wird, wenn es als Nitrat sich vorfindet. Es entstand in geringer Menge ein Niederschlag, welcher nach dem Abfiltriren und Auswaschen in Wasser vertheilt und durch Schwefelwasserstoff zerlegt wurde. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Lösung lieferte beim Verdunsten ein Product, welches nach dem Umkrystallisiren blättrige Krystalle bildete. Es war im Aussehen verschieden von Argininnitrat und zeigte auch in den Reactionen einige Abweichungen von letzterem.

Es ist mir also nicht gelungen, aus den Cotyledonen der etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus albus* Arginin darzustellen, während sich diese Base aus den Cotyledonen der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* leicht in sehr beträchtlicher Quantität gewinnen lässt.

Asparagin fand sich in den Keimpflanzen von *Lupinus albus* in sehr grosser Menge vor.

Zur Mittheilung der Resultate übergehend, die ich an den normalen grünen Pflänzchen von *Lupinus albus* erhielt, habe ich zunächst zu erwähnen, dass diese Pflänzchen nach circa 14 tägiger Vegetationsdauer geerntet wurden. Ihre

Axenorgane wurden von den übrigen Theilen (Cotyledonen, Blättchen) getrennt und nach dem früher beschriebenen Verfahren auf Amidosäuren verarbeitet. Aus 1200 gr. der lufttrockenen Axenorgane erhielt ich circa 9 gr. eines Rohproducts, welches in der Hauptsache aus Amidosäuren bestand, aber auch ein wenig Asparagin einschloss. Dasselbe wurde zunächst durch mehrmaliges Umkrystallisiren aus ammoniakhaltigem Weingeist gereinigt. Dann erhitzte ich seine ziemlich verdünnte wässerige Lösung mit Kupferoxydhydrat. Aus der tiefblauen Flüssigkeit schied sich ein Product aus, welches im Wesentlichen aus Leucinkupfer bestand. Ich liess die daraus abgeschiedene Amidosäure aus einer mit etwas Ammoniak versetzten wässerigen Lösung krystallisiren, um sie von einer in geringer Menge sich vorfindenden Säure, deren Natur mir nicht näher bekannt ist, zu befreien. Sie bildete nach dem Umkrystallisiren kleine glänzende Krystallblättchen, welche sich nicht in einer gesättigten wässerigen Leucinlösung lösten¹⁾. Beim Erhitzen im Glasröhrchen verflüchtigten sie sich unter Bildung eines weissen Sublimats. Ihre heisse wässerige Lösung gab auf Zusatz von Kupferacetat eine krystallinische Ausscheidung, deren Kupfergehalt der Formel des Leucinkupfers = $(C_6H_{11}NO_3)_2Cu$ entsprach, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

0.2680 gr. Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0658 gr. Cu O.

	Berechnet:	Gefunden:
Cu =	19,55	19,60 %.

Diese Versuchsergebnisse beweisen, dass die vorliegende Amidosäure Leucin war.

Die vom Leucinkupfer-Niederschlage abfiltrirte Flüssigkeit wurde durch Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und sodann zur Krystallisation verdunstet. Das so erhaltene Product krystallisirte ich nochmals aus ammoniakhaltigem Weingeist um. Ich gewann so eine Amidosäure, welche nach ihrem Verhalten für Amidovaleriansäure erklärt werden kann; vielleicht war sie noch durch eine geringe Leucinmenge verunreinigt. Sie bildete weisse glänzende Krystallblättchen,

¹⁾ In Betreff der Ausführung des Versuchs vgl. S. 420, Anmerk.

welche sich nicht in einer gesättigten wässerigen Amidovaleriansäure-Lösung¹⁾ auflösten. Beim Erhitzen im Glasröhrchen verflüchtigten sie sich unter Bildung eines weissen Sublimats. Ihre heisse wässerige Lösung gab mit Kupferacetat keine Ausscheidung (Unterschied vom Leucin). In der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigt, gab ihre wässerige Lösung eine lasurblaue Flüssigkeit, aus welcher beim Verdunsten eine ziemlich schwer lösliche Kupferverbindung sich ausschied. Der Kupfergehalt derselben entsprach ziemlich gut der Formel des amidovaleriansauren Kupfers = $(C_5H_{10}NO_2)_2Cu$, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

0,3415 gr. Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0897 gr. CuO.

	Berechnet:	Gefunden:
Cu =	21,41	20,96 %.

Da der Kupfergehalt etwas zu niedrig gefunden worden ist, so ist es wahrscheinlich, dass in dem analysirten Präparat ein wenig Leucinkupfer als Verunreinigung sich vorfand.

Phenylalanin konnte ich aus dem Amidosäurengemenge in diesem Falle nicht isoliren. Doch fand sich jene Amidosäure darin vermuthlich in geringer Menge vor. Denn die beim Umkrystallisiren des Rohproducts verbliebene Mutterlauge lieferte beim Verdunsten eine Substanz, welche beim Erhitzen mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure den Geruch des Benzaldehyds entwickelte; aus der längere Zeit am Rückflusskühler erhitzten Flüssigkeit schied sich beim Erkalten ein der Benzoesäure gleichendes schwer lösliches Product aus. Dasselbe bildete nach dem Umkrystallisiren kleine glänzende Blättchen, die sich beim Erhitzen verflüchtigten; es stimmte im Geruch der Dämpfe mit Benzoesäure überein; auch gab seine mit Natronlauge neutralisirte wässerige Lösung mit Eisenchlorid eine gelbliche Fällung. Wenn ich auch dieses Product, von welchem ich nur einige Centigramme erhielt, nicht durch Umkrystallisiren in ganz reinen Zustand überführen und daher auch nicht durch eine Schmelzpunktsbestimmung

¹⁾ Zur Darstellung dieser Lösung diente das aus den etiolirten Keimpflanzen dargestellte Präparat von Amidovaleriansäure.

mit Sicherheit identificiren konnte, so ist doch kaum zu bezweifeln, dass es Benzoesäure war.

Aus den grünen Keimpflanzen von *Lupinus albus* konnte ich also nur Leucin und Amidovaleriansäure isoliren, während ich aus den etiolirten Keimpflanzen der gleichen Lupinenart Phenylalanin und Amidovaleriansäure erhielt.

Der Nachweis von Leucin in den grünen Pflänzchen steht in Uebereinstimmung mit der von E. Belzung (loc. cit.) über das Vorkommen dieser Amidosäure in den Keimpflanzen von *Lupinus albus* gemachten Angabe. Doch fand ein Auskrystallisiren von Leucin aus dem durch Erhitzen vom Eiweiss befreiten Saft, wie es Belzung beobachtete, bei den von mir untersuchten Keimpflanzen niemals statt.

C. Gelbe Lupine (*Lupinus luteus*).

Wie früher von mir mitgetheilt worden ist¹⁾, haben wir aus den Axenorganen der etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* von Amidosäuren Phenylalanin und Amidovaleriansäure isoliren können; Leucin und Tyrosin fanden sich daneben vermuthlich in geringer Menge vor, konnten aber nicht isolirt und in Folge davon auch nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden.

Aus den Axenorganen 14tägiger grüner Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, welche im Freien in einem mageren Boden gewachsen waren, vermochte ich dagegen von Amidosäuren nur Leucin zu gewinnen. Ueber die Details der bezüglichen Versuche ist Folgendes anzugeben: Das nach dem oben beschriebenen Verfahren dargestellte Rohproduct, welches durch etwas Asparagin verunreinigt war, wurde aus ammoniakhaltigem Weingeist umkrystallisirt, wobei es sich in Krystallblättchen verwandelte. Als die wässrige Lösung derselben mit Kupferhydroxyd erhitzt wurde, schied sich eine Kupferverbindung aus, welche bei der Zerlegung eine im Verhalten mit Leucin übereinstimmende Amidosäure lieferte.

¹⁾ Vgl. Journ. f. prakt. Chemie [2]. Bd. 27. S. 337.

Sie bildete kleine glänzende Krystallblättchen, welche sich beim Erhitzen im Glasröhrchen unter Bildung eines weissen Sublimats verflüchtigten, sie lösten sich nicht oder nur zum geringen Theil in einer gesättigten wässerigen Leucinlösung. Aus ihrer heissen wässerigen Lösung schied sich auf Zusatz von Kupferacetat eine krystallinische Kupferverbindung aus. Eine analytische Bestimmung habe ich nicht ausgeführt, weil ich dieses Product nur in geringer Menge erhielt.

Auch aus der vom Kupferniederschlage abfiltrirten Flüssigkeit vermochte ich nur eine im Verhalten mit Leucin übereinstimmende Amidosäure zu isoliren. Dass daneben geringe Mengen anderer Amidosäuren (Phenylalanin, Amidovaleriansäure) sich vorfanden, muss jedoch als möglich bezeichnet werden.

Die Cotyledonen der grünen Keimpflanzen enthielten Arginin in sehr beträchtlicher Menge. Zur Darstellung desselben behandelte ich die getrockneten und gepulverten Cotyledonen zuerst mit Weingeist, extrahirte das dabei ungelöst Gebliebene mit Wasser und wendete auf den Extract das Verfahren an, dessen wir uns zur Abscheidung des Arginins aus den Cotyledonen der etiolirten Keimpflanzen bedient haben¹⁾. Ich erhielt auf diesem Wege ein Product, das im Aussehen und in den Reactionen vollständig mit Arginin-nitrat übereinstimmte. Aus seiner in der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigten Lösung krystallisirte ein im Aussehen mit Argininkupferniträt = $(C_6H_{14}N_4O_2)_2Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$ vollkommen übereinstimmendes Product. Die Analyse desselben gab folgende Resultate²⁾:

1. 0,4095 gr. Substanz verloren bei 100—105° 0,0390 gr. an Gewicht und gaben 0,0560 gr. CuO.
2. 0,3970 gr. Substanz verloren bei 100—105° 0,0382 gr. an Gewicht und gaben 0,0540 gr. CuO.

¹⁾ Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 44.

²⁾ Bei Ausführung der Krystallwasserbestimmungen wurde die Substanz zuerst bei einer unter 100° liegenden Temperatur, dann bei 100—105° getrocknet. Zur Bestimmung des Cu-Gehalts wurde sie im Porzellantiegel bis zur völligen Zersetzung vorsichtig erhitzt; der Rückstand wurde sodann anhaltend geglüht, bis keine Gewichtszunahme mehr stattfand.

Berechnet für		Gefunden:	
$(C_6H_{14}N_4O_2)_2 Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$:		1.	2.
H ₂ O	9,16	9,52	9,60%
Cu	10,76	10,91	10,85

Das Chlorhydrat der Base, dargestellt in früher von mir beschriebener Weise¹⁾, bildete glänzende, in Wasser leicht lösliche Krystalle, deren Stickstoffgehalt nach der Kjeldahl'schen Methode²⁾ bestimmt wurde; das Resultat entsprach der Formel des salzsauren Arginins = $C_6H_{14}N_4O_2, HCl$, wie folgende Angaben beweisen:

0,4730 gr. Substanz gaben 0,12544 gr. N = 89,6 cbcm. Alkalilauge (1 cbcm. Lauge = 0,0014 gr. N).

	Berechnet:	Gefunden:
N =	26,6	26,52%

Die Ausbeute an Arginin war eine recht beträchtliche; sie betrug 3—3½% der Trockensubstanz der Cotyledonen.

Aus der argininhaltigen Flüssigkeit, welche bei Zerlegung des im Cotyledonen-Extract durch Phosphorwolframsäure hervorgebrachten Niederschlags erhalten wurde, versuchte ich die genannte Base auch nach dem von Hedin³⁾ angegebenen Verfahren als Silberdoppelsalz abzuscheiden. Als ich die durch Schwefelsäure vom Baryt befreite Flüssigkeit mit Silbernitrat versetzte, erhielt ich in Uebereinstimmung mit Hedin's Angaben einen voluminösen, wahrscheinlich aus einem basischen Salze bestehenden Niederschlag, der bei der Zerlegung Arginin-nitrat lieferte. Die davon abfiltrirte Flüssigkeit bräunte sich beim Eindampfen sehr stark und schien demnach eine auf das Silbernitrat reducirend wirkende Substanz zu enthalten; ich habe daher das darin sich befindende Silberdoppelsalz des Arginins nicht mehr zu gewinnen versucht.

¹⁾ Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 46.

²⁾ Dass diese Methode zur Stickstoffbestimmung im salzsauren Arginin verwendbar ist, geht aus den von E. Steiger und mir (diese Zeitschr., Bd. 11, S. 43) gemachten Angaben hervor. Die oben aufgeführte Bestimmung wurde von Hrn. Dr. E. Winterstein ausgeführt.

³⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 21, S. 155.

D. Blaue Lupine (*Lupinus angustifolius* L.).

Die etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* habe ich in Verbindung mit M. Merlis untersucht. Zur Verwendung kamen Pflänzchen, deren Vegetationsdauer 2—2¹/₂ Wochen betragen hatte¹⁾.

Zur Darstellung von Amidosäuren wurden auch in diesem Falle die Axenorgane der Keimpflanzen benutzt. Aus denselben vermochten wir Leucin und Amidovaleriansäure zu isoliren. Nicht nur bei der Abscheidung, sondern auch bei der Trennung dieser Amidosäuren befolgten wir die oben gegebenen Vorschriften. Demgemäss wurde das Rohproduct mehrmals aus ammoniakhaltigem Weingeist umkrystallisirt, die ziemlich verdünnte wässrige Lösung der so erhaltenen farblosen Krystalle sodann in der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigt. Es schied sich eine krystallinische Kupferverbindung aus, während eine tiefblaue Mutterlauge übrig blieb. Bei der Zerlegung mit Hülfe von Schwefelwasserstoff lieferte jene Ausscheidung eine Amidosäure, welche, durch Umkrystallisiren gereinigt, die Eigenschaften des Leucins zeigte. Sie bildete kleine glänzende Krystallblättchen, welche sich nicht in einer gesättigten wässrigen Leucinlösung auflösten. Beim Erhitzen im Glasröhrchen verflüchteten sie sich unter Bildung eines weissen Sublimats. Ihre heisse wässrige Lösung gab auf Zusatz von Kupferacetat eine krystallinische Ausscheidung, deren Kupfergehalt der Formel des Leucinkupfers = $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$ entsprach, wie folgende Angaben beweisen:

1. 0,2450 gr. Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0588 gr. CuO.
2. 0,2155 » » » 100° » » 0,0520 » »

	Berechnet:	Gefunden:	
		1.	2.
Cu =	19,55	19,15	19,25 %

Die Amidovaleriansäure wurde aus der vom Leucinkupfer abfiltrirten blauen Flüssigkeit durch Krystallisation

¹⁾ Um ihr Vegetationsstadium noch zu charakterisiren, sei angeführt, dass die Länge des hypocotylen Gliedes 12—14 cm. betrug.

gewonnen, nachdem diese Flüssigkeit durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit worden war; sie wurde durch wiederholtes Umkrystallisiren aus ammoniakhaltigem Weingeist vom beigemengten Leucin befreit. Sie bildete nun glänzende, weisse Krystallblättchen, die im Aussehen und Verhalten vollständig mit den aus *Lupinus luteus* und *Lupinus albus* dargestellten Amidovaleriansäure-Präparaten (vgl. oben) übereinstimmten. Sie lösten sich nicht in einer gesättigten wässerigen Lösung der aus *Lupinus albus* gewonnenen Amidovaleriansäure. Die Stickstoffbestimmung gab folgende Resultate:

1. 0,2285 gr. Substanz gaben 25,5 ccm. feuchtes Stickstoffgas bei 21,5° und 722 mm. Druck.
2. 0,2412 gr. Substanz gaben 26,8 ccm. feuchtes Stickstoffgas bei 15° und 722 mm. Druck.

	Berechnet:	Gefunden:	
		1.	2.
N =	11,96	12,03	12,34 %.

Die Kupferverbindung der Amidosäure, dargestellt in bekannter Weise¹⁾, besass einen der Formel des amidovaleriansauren Kupfers = $(C_3H_{10}NO_2)_2Cu$ entsprechenden Kupfergehalt:

0,3053 gr. Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,0808 gr. CuO.

	Berechnet:	Gefunden:
Cu =	21,41	21,12 %.

Phenylalanin liess sich aus dem Amidosäurengemenge nicht isoliren, war aber doch vermuthlich in geringer Menge vorhanden. Denn beim Kochen eines aus den Mutterlaugen gewonnenen Products mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure trat der Geruch des Benzaldehyds auf und aus der einige Stunden am Rückflusskühler erhitzten Flüssigkeit schied sich beim Erkalten eine Substanz aus, welche höchst wahrscheinlich Benzoesäure war. Sie bildete kleine schwerlösliche Nadeln und Blättchen, die bei 116°

¹⁾ Vgl. die oben auf S. 423 gemachten Angaben.

schmolzen und in höherer Temperatur sublimierten¹⁾. Aus 3,6 gr. des Amidosäuregemenges erhielten wir aber nur 0,08 gr. dieses Products; demnach kann der Gehalt jenes Gemenges an Phenylalanin nur ein geringer gewesen sein.

Um zu prüfen, ob in den etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* Arginin sich vorfinde, verarbeiteten wir die Cotyledonen dieser Keimpflanzen nach dem auch bei *Lupinus albus* (vgl. oben auf S. 424) zur Anwendung gekommenen Verfahren. Wir erhielten aus dem Mercurinitrat-Niederschlage eine sehr geringe Quantität eines Nitrats, welches das Aussehen des Argininnitrats besass und in den Reactionen mit letzterem im Wesentlichen übereinstimmte; doch vermochten wir daraus die charakteristische Kupferverbindung des Argininnitrats nicht darzustellen. Es ist also zweifelhaft, ob jenes Product wirklich Argininnitrat war; gesetzt aber, dass dies der Fall war, so können doch die bezüglichen Keimpflanzen nur eine äusserst geringe Argininmenge enthalten haben.

Rückblick auf die Resultate.

Im Verein mit früher schon bekannten Thatsachen liefern die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse den Beweis für das wechselnde Auftreten der Amide in den gleichen Keimpflanzenarten. Ich habe zeigen können, dass aus den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* und von *Picea excelsa* bald Glutamin, bald Asparagin sich abscheiden lässt. Ferner habe ich nachgewiesen, dass in manchen Fällen die gleiche Keimpflanzenart verschiedene Amidosäuren liefert, je nachdem sie im Dunkeln oder im Licht sich entwickelt hat²⁾. So erhielt ich aus grünen Pflänzchen von *Vicia sativa* und *Lupinus lu-*

¹⁾ Da wir dieses nur in sehr geringer Quantität erhaltene Product nicht durch wiederholtes Umkrystallisiren reinigen konnten, so ist es erklärlich, dass sein Schmelzpunkt niedriger war, als derjenige der reinen Benzoessäure; denn bekanntlich drücken Veunreinigungen den Schmelzpunkt der Benzoessäure stark herunter.

²⁾ Ob ausser der Beleuchtung auch andere Umstände, z. B. Temperatur-Differenzen, es bewirkt haben, dass die grünen Pflänzchen in Bezug auf den Amidosäuren-Gehalt von den etiolirten differirten oder ob

teus nur Leucin, während ich aus den etiolirten Pflänzchen von *Vicia sativa* Leucin, Amidovaleriansäure und Phenylalanin, aus denjenigen von *Lupinus luteus* Amidovaleriansäure und Phenylalanin abscheiden konnte. Bei *Lupinus albus* fand ich in den grünen Keimpflanzen Amidovaleriansäure und Leucin, in den etiolirten Pflänzchen dagegen Amidovaleriansäure und Phenylalanin. Während E. Belzung (loc. cit.) aus den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* Tyrosin darstellen konnte, habe ich diese Amidosäure aus dem genannten Object bisher niemals zu isoliren vermocht.

Wahrscheinlich besitzt aber das in den Keimpflanzen sich vorfindende Amid-Gemenge fast überall die gleiche qualitative Zusammensetzung und es ist nur die Quantität der einzelnen Gemengtheile, welche sehr grosse Verschiedenheiten aufweist. So scheinen z. B. Tyrosin und Phenylalanin in denjenigen Keimpflanzenarten, aus welchen sie bis jetzt noch nicht isolirt werden konnten, nicht ganz vollständig zu fehlen; denn die aus den betreffenden Objecten dargestellten Amidosäuren-Gemenge gaben mit Millon'schem Reagens Tyrosin-Reaction, so lange sie nicht durch wiederholtes Umkrystallisiren gereinigt waren, und lieferten beim Erhitzen mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure in geringer Menge die Oxydationsproducte des Phenylalanins, nämlich Benzaldehyd und Benzoesäure. In den glutaminhaltigen Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* ist auch ein wenig Asparagin, in den asparaginhaltigen Keimpflanzen von *Vicia sativa* und von *Picea excelsa* ein wenig Glutamin nachgewiesen worden.

Für diese Erscheinungen hat man eine Erklärung, wenn man der von mir¹⁾ ausgesprochenen Annahme zustimmt, dass es stets im Wesentlichen die gleichen stickstoffhaltigen Pro-

sogar solchen anderen Umständen vielleicht die Hauptwirkung zukam, das ist eine Frage, welche ich hier nicht discutiren will. Es kommt mir hier nur darauf an, zu constatiren, dass die gleiche Keimpflanzenart unter verschiedenen Umständen verschiedene Amidosäuren lieferte.

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 306, sowie Landw. Jahrbücher, Bd. 9, S. 716 und Bd. 17, S. 708 und Bd. 21, S. 119.

ducte sind, welche beim Zerfall der Proteinstoffe in den Keimpflanzen sich bilden, und dass wir einige dieser Producte nur deshalb nicht in allen Fällen zur Abscheidung bringen können, weil sie nach ihrer Bildung bald bis auf einen geringen Rest oder auch ganz vollständig umgewandelt worden sind, wobei es möglich ist, dass die Umwandlung auch in der gleichen Keimpflanzenart bald das eine, bald das andere jener Producte vorzugsweise getroffen hat. Können wir also z. B. aus einer Keimpflanze kein Tyrosin isoliren, so haben wir daraus nicht zu schliessen, dass diese Amidosäure beim Proteinzerfall in dieser Keimpflanze sich gar nicht gebildet hat, sondern nur, dass sie bald nach ihrer Bildung dem Verbrauch unterlag.

Mit Hülfe dieser Annahmen lässt es sich auch verstehen, dass in den Keimpflanzen verschiedener Species der gleichen Pflanzengattung verschiedene Producte des Umsatzes der Proteinstoffe auftreten können. Wir haben z. B. nachgewiesen, dass in den Cotyledonen der Keimpflanzen von *Lupinus albus* und *Lupinus angustifolius* das Arginin entweder ganz fehlt, oder doch nur in ganz geringer Menge sich vorfindet, während diese Base in den Cotyledonen der Keimpflanzen von *Lupinus luteus* in grosser Menge enthalten ist. Dass beim Zerfall der Reserve-Proteinstoffe von *Lupinus albus* und *Lupinus angustifolius* gar kein Arginin entsteht, ist sehr unwahrscheinlich. Denn diese Reserve-Proteinstoffe sind doch ohne Zweifel denjenigen von *Lupinus luteus*, bei deren Zerfall viel Arginin entsteht, sehr ähnlich; auch wissen wir ja durch Hedin's Untersuchungen, dass alle Proteinstoffe bei der Spaltung durch Salzsäure Arginin liefern, wenn auch in verschiedenen Quantitäten. Es ist also das Wahrscheinlichste, dass auch bei *Lupinus albus* und *Lupinus angustifolius* Arginin sich bildet, aber bald nach seiner Bildung bis auf einen sehr geringen Rest aufgezehrt wird. In analoger Weise lässt es sich erklären, dass wir aus den etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* Leucin, aber kein Phenylalanin, aus denjenigen von *Lupinus luteus* und *Lupinus albus* dagegen Phenylalanin, aber kein Leucin zu isoliren vermochten.