

Ueber den Umsatz der Eiweissstoffe in der lebenden Pflanze.

Zweite Abhandlung.

Von
E. Schulze.

(Aus dem agriculturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 21. Juni 1900.)

Durch die von mir und meinen Mitarbeitern ausgeführten Untersuchungen¹⁾ ist bewiesen worden, dass die Keimlinge verschiedener Gewächse, nachdem man sie unter Lichtabschluss 2—3 Wochen lang sich hat entwickeln lassen, in Bezug auf die Qualität der aus ihnen darstellbaren Stickstoffverbindungen vielfach grosse Verschiedenheiten zeigen. So sind manche Keimpflanzenarten reich an Asparagin, andere dagegen an Glutamin; aus manchen kann man Leucin und Tyrosin abscheiden, aus anderen Leucin und Amidovaleriansäure, wieder aus anderen Amidovaleriansäure und Phenylalanin; manche Objecte enthalten Arginin in beträchtlicher Menge, während diese Base sich aus anderen nicht abscheiden liess.

Zur Erklärung dieser Erscheinung, die sich nicht auf eine ungleiche Constitution der in den bezüglichen Samen enthaltenen Eiweisskörper zurückführen lässt, habe ich eine Hypothese aufgestellt, welche in folgenden Sätzen kurz wiedergegeben werden kann: Beim Eiweisszerfall in den Keimpflanzen entsteht ein Gemenge von Stickstoffverbindungen, in welchem wahrscheinlich die auch bei der Spaltung der Eiweissstoffe durch Säuren oder durch Trypsin ausserhalb des Orga-

1) Ich verweise auf meine erste Abhandlung «über den Umsatz der Eiweissstoffe in der lebenden Pflanze» (Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 18—114) sowie auf zwei Abhandlungen über das wechselnde Auftreten einiger krystallinischen Stickstoffverbindungen in den Keimpflanzen in der gleichen Zeitschrift, Bd. XX, S. 306—326 und Bd. XXII, S. 411—434.

nismus entstehenden Amidosäuren der fetten und der aromatischen Reihe sowie die Hexonbasen niemals fehlen. Im Stoffwechsel der Keimpflanzen erfährt ein Theil dieser Produkte bald eine Umwandlung, bei welcher in manchen Keimpflanzen Asparagin, in anderen Glutamin synthetisch gebildet wird. Darin liegt der Grund für die starke Anhäufung dieser beiden Amide in den Keimpflanzen. Dass neben ihnen bald mehr, bald weniger Leucin, Tyrosin, Arginin etc. sich findet, hat seine Ursache darin, dass diese Produkte der Eiweisszersetzung in den verschiedenen Keimpflanzen bald rascher, bald weniger rasch umgewandelt werden.

Nach dieser Hypothese finden wir also neben Resten der primären Eiweisszersetzungsprodukte in den Keimpflanzen Stickstoffverbindungen vor, die durch Umwandlung der beim Eiweisszerfall zuerst gebildeten Stoffe entstanden und demnach als secundäre Produkte des Eiweissumsatzes zu bezeichnen sind. Zu den letzteren gehören Asparagin und Glutamin. Doch muss es für möglich, vielleicht sogar für wahrscheinlich erklärt werden, dass diese beiden Amide zum Theil beim Eiweisszerfall entweder direkt gebildet oder aus der bei diesem Process entstandenen Asparaginsäure und Glutaminsäure unmittelbar hervorgegangen sind.

In seinem Handbuch der Pflanzenphysiologie¹⁾ will W. Pfeffer die wechselnde Beschaffenheit der in den Keimpflanzen sich findenden Produkte des Eiweissumsatzes in anderer Weise erklären. Er nimmt an, dass ein Eiweissstoff bei seiner Spaltung in Folge eines in verschiedener Weise ausgeführten Abbaues unter verschiedenen Umständen ein ganz ungleich zusammengesetztes Gemenge stickstoffhaltiger Zeretzungsprodukte liefern kann.

Die Gründe, welche mich veranlassen, auch gegenüber dieser Theorie Pfeffer's an den von mir ausgesprochenen Ansichten festzuhalten, habe ich in dieser Zeitschrift²⁾ dar-

1) II. Auflage, S. 464.

2) Bd. XXVI, S. 416—424.

gelegt. Diese Gründe liegen einerseits in den beim Studium des chemischen Verhaltens der Eiweisskörper ausserhalb des Organismus gemachten Erfahrungen, andererseits in Beobachtungen, die bei der qualitativen und quantitativen Untersuchung von Keimpflanzen von uns gemacht worden sind. Von Gewicht ist u. A. die Thatsache, dass manche Keimpflanzen von geringem Alter Leucin und Tyrosin lieferten, während diese beiden Amidosäuren aus älteren Pflänzchen gleicher Art nicht mehr dargestellt werden konnten.

Wenn ich auch in den oben citirten Abhandlungen schon eine beträchtliche Anzahl von Thatsachen zur Stütze der von mir aufgestellten Hypothese anführen konnte, so war es doch mein Wunsch, noch weitere Beweise für dieselbe beizubringen. Ein Weg, welcher zur Gewinnung solcher Beweise führen konnte, war durch die oben erwähnten Beobachtungen über das Verschwinden von Tyrosin und Leucin aus manchen Keimpflanzen bei längerem Wachsthum der letzteren vorgezeichnet. Ist jene Hypothese richtig, so darf man erwarten, dass in Keimpflanzen von geringem Alter die primären Produkte des Eiweisszerfalls sich vollständiger vorfinden, als in den älteren Pflänzchen und dass durch eine Vergleichung der an Keimpflanzen verschiedenen Alters gewonnenen Resultate eine mit der fortschreitenden Entwicklung der Pflänzchen verbundene Verschiebung des Mengenverhältnisses zwischen Asparagin und den neben diesem Amide auftretenden Amidosäuren und Hexonbasen sich nachweisen lässt. Diese Erwartung hat sich in der That vollkommen erfüllt.

Als Objecte für die neuen Untersuchungen benutzte ich Keimpflanzen von *Vicia sativa*, *Pisum sativum*, *Lupinus albus* und *Lupinus luteus*, welche theils im Freien in fruchtbarer Erde, theils in grossen mit Sand gefüllten Kasten im Zimmer gezogen wurden. Nach der Ernte wurden sie durch Waschen mit Wasser von anhängenden Erd- und Sandtheilchen so weit als möglich befreit, sodann dünn ausgebreitet in einem geräumigen Trockenschrank bei einer etwas unter 60° liegenden Temperatur getrocknet und schliesslich zerkleinert. Die Lupinus-

Keimpflanzen wurden vor dem Trocknen in die Cotyledonen und die übrigen Pflanzentheile (später der Kürze halber meistens als Axenorgane bezeichnet) zerlegt. In zwei Fällen, nämlich bei einer Cultur von Wicken- und einer Cultur von Erbsen-Pflänzchen wurde jedoch aus besonderm Grunde (vgl. w. u.) das Trocknen in anderer Weise ausgeführt; die Wicken-Pflänzchen wurden nämlich bei 75–80° getrocknet, die Erbsen-Pflänzchen dagegen gleich nach der Ernte in Alkohol geworfen und erst nach mehrwöchentlichem Verweilen unter letzterem in ganz gelinder Wärme (25°–30°) ausgetrocknet (nachdem zuvor der Weingeist abgegossen war).

Um das Entwicklungsstadium der Pflänzchen zu charakterisiren, habe ich im Folgenden neben der Vegetationsdauer entweder die Länge der Keime mit Ausschluss der Wurzel oder, und zwar bei den Lupinus-Keimpflanzen, das Verhältnis zwischen dem Trockengewicht der Cotyledonen und demjenigen der übrigen Pflanzentheile angegeben. Dass nur Pflänzchen, die nach ihrem Aussehen für gesund erklärt werden konnten, von mir untersucht worden sind, braucht kaum gesagt zu werden.

Was die Methoden betrifft, deren ich mich bei der chemischen Untersuchung der Keimpflanzen bediente, so genügt es, darüber nur kurze Angaben zu machen: einer eingehenden Beschreibung dieser Methoden bedarf es nicht. Denn ich habe über die Art und Weise, in welcher die Amidosäuren sich aus den Keimpflanzen abscheiden und sich von einander trennen lassen, schon in früher publicirten Abhandlungen¹⁾ ausführliche Mittheilungen gemacht. Für die Abscheidung und Trennung der Hexonbasen bediente ich mich der von Kossel angegebenen Methoden, die auch in diesem Falle wieder vortreffliche Dienste leisteten.

Im Folgenden theile ich zunächst die bei der Untersuchung der Keimpflanzen unmittelbar erhaltenen Resultate mit und gehe dann später zu den Schlussfolgerungen über,

¹⁾ M. vergl. Diese Zeitschrift, Bd. XXIV, S. 24–36, sowie auch Bd. XVII, S. 208–212 u. Bd. XXII, S. 414–419.

zu denen diese Resultate führen. Bei Ableitung der Schlussfolgerungen mache ich die Voraussetzung, dass die in den Keimpflanzen sich vorfindenden Amidosäuren und Hexonbasen, ebenso wie das Asparagin und Glutamin Produkte des mit dem Keimungsvorgang verbundenen Eiweissumsatzes sind.

Diese Voraussetzung basirt auf folgenden Thatsachen: Aus ungekeimten Samen hat man meines Wissens bis jetzt nur einmal Asparagin isolirt; S. Frankfurt¹⁾ fand dieses Amid in den von den Weizenkörnern abgetrennten Keimlingen, die man als Abfallprodukt der Müllerei leicht in beträchtlicher Quantität, wenn auch nicht frei von Theilen des Endosperms, erhalten kann. Die Asparaginmenge, welche Frankfurt aus den Keimen abzuschneiden vermochte, war aber so gering, dass man behaupten kann, das genannte Amid sei im ganzen Weizenkorn nur in Spuren vorhanden. Aus ungekeimten Lupinen- und Wickensamen haben wir Asparagin nicht zu isoliren vermocht. Amidosäuren hat man aus ungekeimten Papilionaceensamen meines Wissens bis jetzt noch niemals darstellen können. Aus den Samen von *Vicia sativa* und *Vicia faba* hat bekanntlich Ritthausen stickstoffreiche krystallisirbare Stoffe, das Vicin und das Convicin, isolirt; in seinen bezüglichen Versuchen sind aber Amidosäuren, so viel mir bekannt ist, nicht zum Vorschein gekommen, ebensowenig bei einer von mir nach Ritthausen's Vorschrift ausgeführten Darstellung von Vicin aus Wickensamen. Aus den Samen von *Lupinus luteus* habe ich schon vor langer Zeit Amidosäuren vergeblich darzustellen gesucht. Jetzt habe ich noch die Samen von *Pisum sativum* auf Amidosäuren und auf Hexonbasen untersucht: das Resultat der Untersuchung, deren Einzelheiten ich weiter unten noch mittheilen werde, war ein negatives. Wenn auch diese Thatsachen nicht den Beweis für das gänzliche Fehlen

1) Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 47, S. 446. Es ist denkbar, dass hier das Asparagin gewissermassen als Reservestoff fungirt, was auch wohl für das nach den Untersuchungen von Reinke und Rodewald (Studien über das Protoplasma) in *Aethalium septicum* vorkommende Asparagin gilt.

von Amidosäuren, Hexonbasen und Asparagin in den ungekeimten Papilionaceensamen liefern, so zeigen sie doch, dass man die genannten Stoffe mit Hülfe der zur Zeit uns zur Verfügung stehenden Methoden aus jenen Samen nicht zu isoliren vermochte; wir sind daher berechtigt, die mit Hülfe dieser Methoden aus den Papilionaceenkeimpflanzen abcheidbaren Stoffe jener Art für Produkte zu erklären, die erst während des Keimungsvorgangs entstanden sind.

A. Versuche mit *Vicia sativa* (Wicke).

Bekanntlich hat v. Gorup-Besanez¹⁾ in Keimpflanzen von *Vicia sativa*, welche theils 2 Wochen, theils länger bei Lichtabschluss oder bei spärlichem Lichtzutritt vegetirt hatten, neben Asparagin Leucin, später auch Glutamin, nachgewiesen; Tyrosin konnte er aus denselben nicht isoliren, fand aber, dass das Rohleucin mit Millon'schem Reagens Tyrosinreaction gab. Zu bemerken ist noch, dass der genannte Forscher sein Leucin, so viel bekannt ist, nicht analysirt hat: das von ihm untersuchte Präparat kann also ein Gemenge von Leucin und Amidovaleriansäure gewesen sein.²⁾ Später habe ich³⁾ dreiwöchentliche etiolirte Keimpflanzen von *Vicia sativa* unter Verwerthung der beim Studium des Stoffgehalts anderer Keimpflanzen von mir gemachten Erfahrungen untersucht: ich fand darin neben Asparagin Leucin, Amidovaleriansäure, Phenylalanin, Guanidin, Cholin und Betain. Arginin vermochte ich mit Hülfe der Methoden, die mir zur Darstellung dieser Base aus anderen Keimpflanzen gedient haben, aus den etiolirten Wickenkeimlingen nicht zu isoliren: ebensowenig gelang mir die Isolirung von Tyrosin. Auf Glutamin habe ich die Pflänzchen nicht untersucht. Da andererseits v. Gorup-Besanez seine Pflänzchen weder auf

1) Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 7, S. 146 und 569; Bd. 10, S. 780.

2) Die Reactionen, deren sich v. Gorup-Besanez zur Identificirung des Leucins bediente, treten auch bei einem Gemenge von Leucin und Amidovaleriansäure ein.

3) Diese Zeitschr., Bd. XVII, S. 193.

basische Stickstoffverbindungen noch auf Amidovaleriansäure und auf das damals noch gar nicht entdeckte Phenylalanin untersucht hat, so stehen die von ihm erhaltenen Resultate durchaus nicht im Gegensatz zu den meinigen, und es muss für möglich erklärt werden, dass die von ihm und die von mir untersuchten Pflänzchen die gleichen stickstoffhaltigen Stoffe enthielten.

Am Licht erwachsene Wicken-Pflänzchen, deren Vegetationsdauer drei Wochen betragen hatte, lieferten in einer von D. Prjanischnikow¹⁾-ausgeführten Untersuchung neben Asparagin nur eine Amidosäure, nämlich Leucin, und zwar nur in sehr geringer Quantität. Zu dem gleichen Resultat gelangte ich²⁾ bei Untersuchung von Wickenpflänzchen gleicher Art, deren Alter sechs Wochen betrug.

Ich stellte mir nun die Aufgabe, zum Vergleich die stickstoffhaltigen Bestandtheile ganz junger Keimpflanzen von *Vicia sativa* kennen zu lernen. Zu diesem Zweck untersuchte ich drei Culturen 6—7-tägiger Keimpflanzen, von denen die eine im Garten unseres Instituts in fruchtbarer Erde unter ganz normalen Verhältnissen, die zweite und dritte in einem verdunkelten Zimmer in Sand gezogen worden waren (da die Keimlinge Anfangs in der Erde stecken, so kann es kaum einen Unterschied machen, ob man während der ersten Keimungsperiode das Licht Zutreten lässt oder nicht: dieser Annahme entsprechen auch die Ergebnisse, die bei Untersuchung jener beiden Culturen erhalten wurden). Um den Entwicklungsgrad der Pflänzchen zu kennzeichnen, führe ich noch an, dass ihre Länge ohne die Wurzel in allen Fällen 7—8 cm. betrug.

Es erschien mir wünschenswerth, diese 6—7-tägigen Keimpflänzchen hinsichtlich ihres Stoffgehalts auch noch mit älteren etiolirten Pflänzchen zu vergleichen, welche aus dem gleichen Samen gewonnen waren. Ich untersuchte daher 3¹ 2 wöchentliche Keimpflanzen solcher Art, gezogen in Sand in einem verdunkelten Zimmer.

1) Landwirthschaftliche Versuchsstationen, Bd. 45, S. 247.

2) Ebendasselbst, Bd. 46, S. 383.

a) 6—7tägige Keimpflanzen.

Ich theile zuerst die Ergebnisse mit, die ich bei Untersuchung der im Freien gezogenen Pflänzchen erhielt. 2¹/₂ Kilo der getrockneten und zerkleinerten Pflänzchen wurden mit ca. 4 Liter Weingeist von ca. 92 Volumprocent übergossen und 1—1¹/₄ Stunde lang gekocht. Den durch Filtration und Nachwaschen mit Weingeist vom Ungelösten getrennten Auszug verarbeitete ich in der früher wiederholt beschriebenen Weise¹⁾ auf Amidosäuren. Ich erhielt ein im Aussehen dem unreinen Leucin gleichendes Präparat, dessen Gewicht nach längerem Trocknen über Schwefelsäure 8¹/₂ g betrug. Da das Ausgangsmaterial nicht sehr fein zerrieben und mit einer nicht sehr grossen Alkoholmenge behandelt worden war, so konnte man vermuthen, dass die vorhandenen Amidosäuren nicht vollständig in den Auszug übergegangen waren. Ein Theil des bei der ersten Extraction verbliebenen Rückstandes wurde daher mit Hülfe der Dreefs'schen Reibe in ein sehr feines Pulver verwandelt und dann noch einmal mit heissem Weingeist extrahirt. Auch dieser Extract lieferte noch Amidosäuren, und zwar 2,7 g pro 1 Kilo des Ausgangsmaterials. Die Gesamtausbeute an Amidosäuren betrug demnach ca. 0,6%, berechnet auf das Gewicht des lufttrocknen, schaalenthaltigen, von Sand- und Erdtheilchen nicht ganz freien Ausgangsmaterials. Ohne Zweifel ist aber die

1) Der weingeistige Auszug wird der Destillation unterworfen, der dabei verbliebene Rückstand mit Wasser behandelt, die trübe Flüssigkeit mit Gerbsäure versetzt. Man bringt aufs Filter (zuvor fügt man etwas Bleiessig zu, falls die Flüssigkeit schwer filtrirbar ist), setzt zum Filtrat Bleizucker oder Bleiessig zu, so lange noch ein Niederschlag entsteht, filtrirt wieder und leitet in das Filtrat Schwefelwasserstoff ein. Die vom Schwefelblei durch Filtration getrennte Flüssigkeit wird im Wasserbade bei gelinder Wärme eingedunstet, bis auf ihrer Oberfläche sich eine Haut bildet. Nach Verlauf von einigen Tagen werden die ausgeschiedenen Amidosäuren auf ein Zeugfilter gebracht, nach dem Abtropfen der Mutterlauge mit etwas Weingeist gewaschen und sodann zwischen Fliesspapier stark abgepresst. In manchen Fällen habe ich die Amidosäuren behufs Entfernung der Mutterlauge auf eine Thonplatte gebracht.

Ausbeute hinter der im Ganzen vorhandenen Amidosäuremenge beträchtlich zurückgeblieben; denn nach der Ausscheidung der Amidosäuren aus den eingeeengten Extracten blieb eine dickflüssige Mutterlauge übrig, aus welcher jene Stoffe sicherlich nur unvollständig auskrystallisirt sind.

Das in der beschriebenen Weise erhaltene Amidosäurepräparat übergoss ich, nachdem es zerrieben worden war, mit absolutem Alkohol, erhitzte die Flüssigkeit im Wasserbade bis fast zum Sieden und fügte dann unter Umschütteln concentrirte Ammoniakflüssigkeit in kleinen Antheilen zu, bis der grösste Theil des Präparats in Lösung gegangen war. Den Rückstand behandelte ich mit kaltem Wasser, wobei eine in diesem Lösungsmittel sehr schwer lösliche Substanz in kleiner Quantität zurückblieb. Diese Substanz erwies sich als Tyrosin. Sie war leicht löslich in wässriger Ammoniakflüssigkeit; aus der so erhaltenen Lösung schied sie sich, nachdem Salzsäure bis zur neutralen Reaction zugefügt war, in feinen Krystallnadeln wieder aus. Sie gab sowohl die Hoffmann'sche wie die Piria'sche Reaction.

Die vom Tyrosin abfiltrirte Flüssigkeit wurde unter eine Glasglocke über Schwefelsäure gestellt, bis das Ammoniak verdunstet und die in Lösung gegangene Substanz grösstentheils wieder ausgeschieden war. Diese Substanz wurde dann noch ein zweites Mal in der gleichen Weise in Lösung und wieder zur Ausscheidung gebracht. Sie bildete nun eine weisse, krystallinische Masse, welche Aussehen und Verhalten des Leucins zeigte. Beim Erhitzen im Glasröhrchen verflüchtigte sie sich unter Bildung eines weissen, wolligen Sublimats; sie löste sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser; die heisse Lösung lieferte nach Zusatz von Kupferacetatsolution¹⁾ in reichlicher Menge eine Ausscheidung, welche das Aussehen des Leucinkupfers zeigte. Die Analyse gab folgende Resultate:

1) Die concentrirte Kupferacetatsolution wurde der fast bis zum Kochen erhitzten Leucinlösung in kleinen Portionen zugesetzt; dann liess man erkalten.

Cu-Bestimmungen:

- 1) 0,3290 g Substanz, bei 100° getrocknet, gaben 0,0800 g CuO;
- 2) 0,3392 g „ „ 100° „ „ 0,08300 g CuO.

N-Bestimmungen: 1)

- 1) 0,3735 g Substanz gaben nach Kjeldahl's Methode 0,031739 g N;
- 2) 0,3702 g Substanz gaben nach der gleichen Methode 0,031878 g N.

Berechnet für	Gefunden	
$(C_6H_{12}NO_2)_4Cu$		
Cu 19,66	19,42	19,55 %
N 8,67	8,50	8,61 %

Die von den Leucinkrystallen abfiltrirten weingeistigen Mutterlaugen lieferten bei weiterem Verdunsten in geringer Quantität noch ein Präparat, welches nach einmaligem Umkrystallisiren aus Weingeist und Ammoniak gleichfalls das Verhalten des Leucins zeigte. Es gab beim Erhitzen im Glasröhrchen ein weisses wolliges Sublimat; mit Kupferacetatlösung gekocht lieferte es eine krystallinische, dem Leucinkupfer gleichende Ausscheidung (freilich nicht in so reichlicher Menge, wie das erste Präparat): es löste sich nicht oder nur zum Theil in einer gesättigten wässerigen Leucinlösung.

Die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse führen zu der Schlussfolgerung, dass das aus dem weingeistigen Extract dargestellte Amidosäurenpräparat, abgesehen von dem darin in geringer Menge enthaltenen Tyrosin, grösstentheils, vielleicht sogar fast ausschliesslich aus Leucin bestand. Wäre dem Leucin Amidovaleriansäure oder eine andere Amidosäure von ähnlichem Verhalten in erheblicher Quantität beigemischt gewesen, so würde das Leucin auch nach zweimaligem Umkrystallisiren vermuthlich beim Kochen mit Kupferacetatlösung keine, oder doch nur eine geringe Ausscheidung von Leucinkupfer gegeben haben; mindestens aber würde in

1) Die Ausführung dieser und der w. u. mitgetheilten Stickstoffbestimmung verdanke ich der Gefälligkeit der Herren Dr. E. Winterstein und E. Ritter. Bei der Berechnung aller hier und im Folgenden aufgeführten Analysenresultate wurden die von der deutsch. chem. Gesellschaft für diesen Zweck festgesetzten Atomgewichtszahlen zu Grunde gelegt.

solchem Falle diese Reaction bei dem aus der Mutterlauge dargestellten Leucinpräparat ausgeblieben sein. Doch kann das Rohleucin recht wohl eine sehr geringe Menge von Amidovaleriansäure enthalten haben; denn es fehlen die Mittel, eine solche neben Leucin nachzuweisen. Eine irgendwie erhebliche Verunreinigung des Leucins durch Phenylalanin würde sich beim Erhitzen der Leucinpräparate im Glasröhrchen zu erkennen gegeben haben; es trat dabei aber keine für das Vorhandensein von Phenylalanin sprechende Erscheinung ein. Für die Prüfung auf diese Amidosäure kann ihre Eigenschaft, bei der Oxydation durch Chromsäure Benzoesäure zu geben, verwerthet werden. Ein Versuch, durch Oxydation eines aus den Mutterlaugen von den Leucinkrystallisationen erhaltenen Produkts Benzoesäure zu gewinnen, gab ein negatives Resultat; doch war dieser Versuch wegen eines dabei gemachten Fehlers nicht einwurfsfrei. Gesetzt aber, dass das negative Ergebniss ein correctes gewesen wäre, so würde man aus demselben doch nicht auf gänzlichcs Fehlen von Phenylalanin in den untersuchten Keimpflanzen schliessen können. Denn es kann kein Zweifel darüber bestehen, dass es mir nicht gelungen ist, die in diesen Keimpflanzen enthaltenen Amidosäuren vollständig zu gewinnen. Nach dem Auskrystallisiren des Rohleucins aus dem bezüglichen Extract blieb, wie oben schon erwähnt worden ist, eine starke dickflüssige Mutterlauge übrig, welche neben Kohlenhydraten (Zucker) noch Stickstoffverbindungen enthielt. In dieser Mutterlauge können Amidovaleriansäure und Phenylalanin, falls sie in sehr geringer Quantität das Leucin begleiteten, vollständig in Lösung geblieben sein. Dass in dieser dickflüssigen Mutterlauge ohne Zweifel auch ein, vielleicht recht beträchtlicher Theil des Leucins zurückgeblieben ist, wurde oben gleichfalls schon hervorgehoben.

Bei der Darstellung der Amidosäuren nach dem von mir beschriebenen Verfahren aus Keimpflanzen geringen Alters beobachtete ich stets das Entstehen solcher dickflüssigen Mutterlaugen, welche entweder bei wochenlangem Stehen keine Ausscheidungen mehr lieferten oder doch der Gewinnung

etwa entstehender Ausscheidungen unüberwindlichen Widerstand entgegengesetzten. Anders ist es bei der Verarbeitung von Keimpflanzen, welche mehrere Wochen lang im Dunklen vegetirt haben: hier bilden sich solche Mutterlaugen meistens in viel geringerer Stärke. Man darf wohl annehmen, dass in letzterem Falle das Auskrystallisiren der Amidosäuren weit vollständiger stattfindet.

Die Stoffe, von denen bisher die Rede war, wurden aus dem weingeistigen Keimpflanzenextract dargestellt. Den bei einmaliger Behandlung der Keimpflanzen mit Weingeist gebliebenen Rückstand untersuchte ich auf Hexonbasen. Ich behandelte 1 kg dieses Rückstandes mit kaltem Wasser, befreite den wässrigen Auszug von den durch Gerbsäure und durch Bleiessig fällbaren Substanzen, säuerte ihn sodann mit Schwefelsäure an und fügte nun Phosphorwolframsäure¹⁾ zu. Der durch dieses Reagens hervorgebrachte Niederschlag wurde abfiltrirt, mit 5%iger Schwefelsäure gewaschen, zwischen Fliesspapier stark abgepresst und sodann in bekannter Weise mit Barythydrat zerlegt. Aus der mit Hülfe von Kohlensäure vom Baryt befreiten Basenlösung konnte ich nach dem von A. Kossel angegebenen Verfahren, dessen Beschreibung hier unnöthig ist, Histidin, Arginin und Lysin isoliren. Das Histidin wurde aus dem Quecksilberchloridniederschlag als salzsaures Salz gewonnen. Dieses Salz bildete glänzende Krystalle, die im Aussehen dem Histidinchlorid anderer Herkunft glichen. Das durch Umsetzung mit Silbernitrat daraus dargestellte Histidinnitrat lieferte, als seiner wässrigen Lösung überschüssiges Silbernitrat und dann tropfenweise Ammoniakflüssigkeit zugesetzt wurde, einen weissen amorphen Niederschlag von Histidinsilber.²⁾ Die Bestimmung des Silber-

1) Sowohl in diesem Falle wie in allen später beschriebenen Versuchen wurde krystallisirte, nach Drechsel's Verfahren durch Auflösen in Aether gereinigte Phosphorwolframsäure verwendet.

2) Es sei hier daran erinnert, dass eine wässrige Lösung von Arginnitrat mit Silbernitrat und Ammoniak keine Fällung gibt; das Entstehen jenes Niederschlags unterscheidet also das Histidin vom Arginin.

gehalts in der bei 100° getrockneten Substanz gab folgendes Resultat:

0,1600 g Substanz gaben 0,0890 g Ag.

Berechnet für $C_6H_7Ag_2N_3O_2 + H_2O$	Gefunden
Ag 55,77	55,62%

Das Filtrat vom Quecksilberchloridniederschlag wurde durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Quecksilber, sodann mittelst Silbernitrat von der Salzsäure befreit: hierauf wurde es mit Silbernitrat und Barytwasser versetzt, um das Arginin als Silberverbindung auszufällen. Der Niederschlag wurde abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, zwischen Fliesspapier abgepresst, sodann in Wasser vertheilt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber engte ich im Wasserbade stark ein, nachdem es mit Salpetersäure neutralisirt worden war: es lieferte bald Krystalle von Argininnitrat. Letztere wurden durch Aufstreichen auf eine Thonplatte von der nur in geringer Quantität vorhandenen Mutterlauge befreit, einmal aus Wasser umkrystallisirt und sodann in bekannter Weise¹⁾ in Argininkupferniträt = $(C_6H_{11}N_4O_2)_2Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$ übergeführt. Diese charakteristische Argininverbindung, welche aus mässig concentrirter wässeriger Lösung in dünnen, zu kugligen Aggregaten vereinigten Prismen von charakteristischem Aussehen krystallisirt, schmolz gleichzeitig mit einer aus anderer Quelle stammenden Probe der gleichen Verbindung bei 112°²⁾ und lieferte bei der Analyse folgende Zahlen:

1) 0,3290 g der an der Luft, dann noch kurze Zeit über Chlorcalcium getrockneten Substanz verloren bei 100—105° 0,0310 g an Gewicht und gaben beim Glühen 0,0440 g CuO.

2) 0,4090 g Substanz, ebenso behandelt, verloren 0,0382 g an Gewicht und gaben 0,0550 g CuO.

Berechnet für		Gefunden.	
$(C_6H_{11}N_4O_2)_2Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$		1	2
H ₂ O	9,15	9,42	9,34%
Cu	10,77	10,69	10,74%

1) Vgl. diese Zeitschrift, Bd. XI, S. 48. sowie Bd. XXII, S. 428.

2) Fast den gleichen Schmelzpunkt (112—114° gibt A. Gulewitsch (diese Zeitschr., Bd. XXVII, S. 197) für das Kupferargininnitrat an.

Das durch Zerlegung dieser Verbindung mittelst Schwefelwasserstoff erhaltene Nitrat gab die Reactionen des Arginin-nitrats.¹⁾

Das Filtrat von dem durch Silbernitrat und Barytwasser hervorgebrachten Niederschlage wurde von den darin noch vorhandenen Silber- und Barytresten befreit und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt. Die bei Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlags erhaltene Basenlösung wurde mit alkoholischer Pikrinsäurelösung neutralisirt und dann im Wasserbade stark eingeeengt. Sie lieferte eine krystallinische Ausscheidung, welche aus einem Gemenge von Kaliumpikrat mit dem Pikrat einer organischen Base bestand. Ich führte diese Pikrate durch Schütteln mit wässriger Salzsäure und Aether in bekannter Weise in die Chloride über. Die wässrige Lösung der letzteren wurde im Wasserbade eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit Methylalkohol behandelt; Chlorkalium blieb zurück, während das Chlorhydrat einer organischen Base in Lösung ging. Nachdem das beim Verdunsten dieser Lösung zurückgebliebene Salz zur Reinigung noch einmal in Methylalkohol aufgenommen worden war, wurde seine concentrirte wässrige Lösung mit Platinchlorid und etwas Weingeist vermischt. Eine dabei in geringer Quantität entstandene Fällung wurde abfiltrirt, das Filtrat mit mehr Weingeist vermischt und nun der Ruhe überlassen. Nach ca. 12 Stunden begann ein Chloroplatinat in schönen rothgelben Prismen aus der Flüssigkeit sich abzuscheiden. Die Prismen zeigten genau das gleiche Aussehen, wie Lysinplatinchloridkrystalle,²⁾ verwitterten ebenso wie diese sehr rasch beim Liegen über concentrirter Schwefelsäure und besaßen den gleichen Schmelzpunkt.³⁾ Die Analyse der

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXII, S. 438.

2) Als Vergleichsobject diente das Chloroplatinat von Lysin, welches aus den Spaltungsprodukten der aus Coniferensamen dargestellten Proteinsubstanzen von uns isolirt worden war.

3) Bei Ausführung des Versuchs wurden zwei Capillarröhrchen von denen das eine etwas Lysinplatinchlorid, das zweite eine Probe des auf seine Identität mit letzterem zu prüfenden Chloroplatinats enthielt.

zuerst im Exsiccator, dann bei 100°, schliesslich noch bei 120° getrockneten Krystalle gab folgende Resultate:

1) 0,1735 g Substanz gaben beim Glühen 0,0607 g Pt.

2) 0,4170 g Substanz wurden in Wasser gelöst und mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Schwefelplatin durch Glühen in Platin übergeführt, das Filtrat vom Schwefelplatin für eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl's Methode verwendet; erhalten wurden 0,1455 g Pt und 0,01963 g N.

Berechnet für		Gefunden	
$C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2 HCl, PtCl_4$		1	2
Pt	35,05	34,98	34,89%
N	5,05	—	4,71%

Die Ausbeute an Hexonbasen war nicht gross; aus 1 kg des Ausgangsmaterials erhielt ich ungefähr 0,4 g Histidinchlorid, 1,5 g Argininnitrat und 0,4 g Lysinchlorid. Doch können diese Angaben selbstverständlich auf Genauigkeit keinen Anspruch machen, denn nach dem Auskrystallisiren des Histidinchlorids blieb eine starke Mutterlauge übrig, die ohne Zweifel noch etwas von jenem Salz einschloss; ferner sind Argininnitrat und Lysinchlorid nicht in reinem Zustand gewogen worden. Es muss demnach auch als möglich bezeichnet werden, dass neben jenen drei Stickstoffverbindungen noch andere organische Basen sich vorfanden.

Was den Asparagingehalt dieser Keimpflanzen betrifft, so lieferte ein wässriger Auszug aus 10 g lufttrockener Keimpflanzen 0,184 g Asparaginkrystalle (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) = 1,84%. Doch ist es nicht sicher, dass nicht den Krystallen etwas Leucin beigemischt war. Ich versuchte daher noch aus einem Extract aus 40 g lufttrockener Keimpflanzen das Asparagin durch Ausfällung mit Mercurinitrat u. s. w. nach bekannter Methode möglichst vollständig zu gewinnen: dabei erhielt ich 0,642 g Asparaginkrystalle (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) = 1,6%. Weit höher, nämlich = 4,2% war die Asparaginnmenge, die sich

gleichzeitig im gleichen Bade erhitzt (das Schmelzen erfolgte bei 218–220°). In der gleichen Weise sind alle später in dieser Abhandlung aufgeführten Schmelzpunktsbestimmungen, die zur Identifizierung von Lysinplatinchlorid dienten, ausgeführt worden.

aus einer nach Sachsse's Methode ausgeführten Bestimmung berechnete.¹⁾ Es ist aber fraglich, ob das bei Ausführung dieser Bestimmung im Extract entstandene Ammoniak ausschliesslich aus Asparagin abgespalten worden war. Ich erinnere hier daran, dass nach v. Gorup-Besanez in den Wickenkeimlingen neben Asparagin auch etwas Glutamin sich findet; auch liegt es im Bereich der Möglichkeit, dass diese beiden Amide nicht die einzigen durch Salzsäure unter Ammoniakabspaltung zersetzbaren Bestandtheile der genannten Keimpflanzen sind.

Die zweite Cultur 6—7tägiger Keimpflanzen, gezogen im verdunkelten Zimmer, gab bei der nach gleichen Methoden ausgeführten Untersuchung fast genau die gleichen Resultate, wie die erste Cultur. Ein mit Hülfe von 92%igem Weingeist hergestellter Auszug aus 800 g der lufttrockenen zerriebenen Pflänzchen lieferte ein Amidosäurenpräparat, dessen Gewicht nach dem Trocknen über Schwefelsäure 3,4 g betrug. Dieses Präparat schloss ein wenig Tyrosin ein, dessen Isolirung und Identificirung ebenso geschah, wie es oben angegeben worden ist. Der Rest des Präparats bildete nach zweimaligem Umkrystallisiren aus einem Gemisch von Alkohol und Ammoniakflüssigkeit glänzende Krystallblättchen, welche die Eigenschaften des Leucins zeigten. Die heisse, wässrige Lösung der Krystalle gab auf Zusatz von Kupferacetat eine Ausscheidung, welche das Aussehen des Leucinkupfers zeigte. Die Analyse der bei 100° getrockneten Verbindung gab folgende Resultate:

1) 0,2575 g Substanz gaben	0,0635 g CuO
2) 0,2515 „ „ „	0,0625 „ „
Berechnet für	Gefunden
$(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$	1 2
Cu 19,66	19,70 19,86%

Ein beim Verdunsten der Mutterlauge von den Leucinkrystallen erhaltenes Produkt wurde der Oxydation mittelst Kaliumbichromat und Schwefelsäure unterworfen. Die Flüssigkeit gab beim Erkalten keine Krystallisation von Benzoesäure,

1) Die vor dem Kochen mit Salzsäure im Extract schon vorhandene Ammoniakmenge wurde nach F. Bosshard's Methode bestimmt.

lieferte aber beim Verdunsten über Schwefelsäure doch einige Krystallblättchen, welche das Aussehen der genannten Säure besaßen: doch war die Quantität der Krystalle zu gering, um sie identifiziren zu können.

Auch hier würde die Ausbeute an Amidosäuren wahrscheinlich eine grössere gewesen sein, wenn ich die Extraction mit heissem Alkohol noch einmal wiederholt hätte (man vergleiche die oben gemachte Angabe).

Der in Weingeist unlösliche Theil der Pflänzchen wurde auf meinen Wunsch von Dr. Widsoe auf Hexonbasen untersucht. Aus der bei Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlags erhaltenen Basenlösung wurden Histidin und Arginin zusammen durch Silbernitrat und Barytwasser gefällt. Der Niederschlag wurde durch Schwefelwasserstoff zersetzt, die vom Schwefelsilber abfiltrirte Basenlösung mit Salpetersäure neutralisirt. Aus dieser Lösung wurde dann das Histidin durch Silbernitrat und Ammoniak gefällt; die bei Zerlegung dieses Niederschlags mit Salzsäure erhaltene Flüssigkeit lieferte Krystalle, als sie nach dem Abfiltriren des Chlorsilbers eingedunstet wurde. Das Filtrat vom Histidinsilber wurde vom Silber und vom Ammoniak befreit und sodann zur Ausfällung des Arginins mit Phosphorwolframsäure versetzt. Der Niederschlag wurde durch Barythydrat zerlegt, das in Freiheit gesetzte Arginin zuerst in das Nitrat, dann in das Arginin-kupferniträt übergeführt: letzteres krystallisirte in der charakteristischen Form (in kugligen, aus dünnen Prismen bestehenden Aggregaten von dunkelblauer Farbe). Das Vorhandensein von Arginin und Histidin auch in diesen Pflänzchen darf demnach wohl als nachgewiesen betrachtet werden — um so mehr, als diese beiden Basen in der dritten, unter gleichen Bedingungen gezogenen Cultur bestimmt nachgewiesen wurden (vergleiche weiter unten). Im Filtrat von dem durch Silbernitrat und Barytwasser hervorgebrachten Niederschlage fand sich eine dritte Base vor, welche zunächst wieder durch Phosphorwolframsäure ausgefällt, dann in das Pikrat übergeführt wurde. Letzteres lieferte beim Schütteln mit Salzsäure und Aether eine wässrige Lösung, welche neben etwas

Chlorkalium ein in Methylalkohol lösliches, krystallisirbares Chlorhydrat enthielt. Dass hier Lysinchlorid vorlag, darf für wahrscheinlich erklärt werden.

Der Asparagingehalt der lufttrockenen Pflänzchen belief sich nach einer nach Sachsse's Methode ausgeführten Bestimmung auf 4,6%; die aus den Pflänzchen abscheidbare Asparaginmenge war aber hier noch geringer, als bei den Pflänzchen der ersten Cultur. Ich führe die betreffende Zahl hier nicht an, weil sie vielleicht mit einem Fehler behaftet ist und wegen Mangels an Material nicht durch einen zweiten Versuch kontrollirt werden konnte; es muss aber doch als möglich bezeichnet werden, dass die nach Sachsse's Methode erhaltene Zahl um ein Beträchtliches zu hoch ist.

In diesen Pflänzchen wurden auch der Gesamtstickstoff und die auf Proteinstoffe fallende Stickstoffmenge, letztere nach Stutzer's Methode, bestimmt. Für die lufttrockenen Pflänzchen ergaben sich folgende Werthe¹:

Gesamtstickstoff	4,80%
Stickstoff in Proteinstoffen	3,22%

Auf nicht proteinartige Verbindungen fällt nach diesen Bestimmungen 1,58% N = 32,9% des Gesamtstickstoffs.

Da der Wassergehalt der lufttrockenen Pflänzchen 9,18% betrug, so berechnen sich für die Pflanzentrockensubstanz folgende Werthe:

Gesamtstickstoff	5,29%
Stickstoff in Proteinstoffen	3,55%
Stickstoff in nicht proteinartigen Verbindungen	1,74%

Dass ich schliesslich noch eine dritte Cultur 6—7tägiger Keimpflanzen von *Vicia sativa* untersucht habe, hatte einen besonderen Grund. Wie man aus den im «Anhang» gemachten Mittheilungen ersehen kann, ist es sehr wahrscheinlich, dass

1) Analytische Belege: A. Gesamtstickstoff: a) 1,2101 g Substanz gaben 0,058326 g = 4,82% N. b) 1,4138 g Substanz gaben 0,0674383 g = 4,77% N (Mittel: 4,80% N). B. Proteinstickstoff nach Stutzer's Verfahren: a) 1,3594 g Substanz gaben 0,043534 g = 3,20% N. b) 1,3370 g Substanz gaben 0,043264 g = 3,24% N (Mittel 3,22% N). Die Bestimmungen wurden nach Kjeldahl's Methode ausgeführt.

die Keimpflanzen der Papilionaceen ein eiweisslösendes Enzym enthalten. Es liegt nun im Bereich der Möglichkeit, dass dieses Enzym noch während des bei 55—60° erfolgenden Trocknens der Pflänzchen auf die Eiweissstoffe wirkte. Allerdings kann die Wirkung wohl nur eine schwache gewesen sein, denn, abgesehen davon, dass jene Temperatur vermuthlich keine günstige für das Enzym war, entwich auch aus den im Trockenschrank dünn ausgebreiteten Pflänzchen das Wasser so rasch, dass Vorgänge der genannten Art ohne Zweifel bald zum Stillstand kamen. Immerhin war es von Interesse, zu prüfen, ob andere Resultate sich ergaben, wenn das Trocknen der Pflänzchen bei einer höheren Temperatur erfolgte. Daher wurden die Pflänzchen der dritten Cultur, welche, ebenso wie diejenigen der zweiten Cultur, im verdunkelten Zimmer gezogen worden waren und ungefähr den gleichen Entwicklungsgrad besaßen, bei 75—80° getrocknet. Sie bräunten sich beim Trocknen stärker, als die Pflänzchen, die bei einer unter 60° liegenden Temperatur getrocknet wurden; die bei ihrer Untersuchung erhaltenen Resultate stimmten aber in allen wesentlichen Punkten mit denjenigen überein, die sich bei der Untersuchung der anderen Pflänzchen gleicher Art ergaben. Ein weingeistiger Extract aus 1 kg der lufttrockenen Pflänzchen lieferte ein Amidosäurepräparat, dessen Gewicht nach dem Trocknen über Schwefelsäure 5½ g betrug. Das Präparat schloss eine sehr kleine Menge von Tyrosin ein; der Rest bestand allem Anschein nach zum allergrössten Theil aus Leucin. Nach zweimaligem Umkrystallisiren aus einem Gemisch von Weingeist und Ammoniakflüssigkeit bestand die Substanz aus weissen, glänzenden Krystallblättchen, die das Aussehen und das Verhalten des Leucins zeigten. Ihre heisse, wässerige Lösung gab auf Zusatz von Kupferacetat in reichlicher Menge eine dem Leucinkupfer gleichende Ausscheidung. Die Kupferbestimmung gab für dieses Produkt folgendes Resultat:

0,6287 g Substanz (bei 100° getrocknet)	gaben	0,1545 g CuO.
Berechnet für $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$		Gefunden
Cu 19,66		19,63%

Der bei Behandlung der zerriebenen Pflänzchen mit Weingeist verbliebene Rückstand wurde mit kaltem Wasser extrahirt. Der Auszug gab mit Phosphorwolframsäure¹⁾ einen starken Niederschlag, aus welchem sich nach bekannten Methoden Hexonbasen isoliren liessen. Das aus dem Quecksilberchloridniederschlage gewonnene Histidinchlorid bildete tafelförmige Krystalle, die im Aussehen dem Histidinchlorid anderer Herkunft glichen. In dem durch Umkrystallisiren gereinigten Produkt wurde eine Chlorbestimmung mit folgendem Resultat ausgeführt:

0,1035 g Substanz (über Schwefelsäure getrocknet) gaben 0,0695 g AgCl .

Berechnet für	Gefunden
$\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2\cdot\text{HCl} + \text{H}_2\text{O}$	
Cl 16,90	16,61%

Die Silberbestimmung in dem aus diesem Produkt nach bekanntem Verfahren dargestellten Histidinsilber gab folgendes Resultat:

0,1590 g Substanz bei 100° getrocknet gaben 0,0890 g Ag.

Berechnet für	Gefunden
$\text{C}_6\text{H}_7\text{Ag}_2\text{N}_3\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$	
Ag 55,77	56,0%

Aus dem Filtrat vom Quecksilberchloridniederschlage wurde das Arginin in früher beschriebener Weise durch Fällung mit Silbernitrat und Barytwasser isolirt. Ich führte diese Base zunächst in das Nitrat über.²⁾ Letzteres wurde durch Umkrystallisiren gereinigt und dann in Argininkupfernitrat übergeführt. Diese Verbindung krystallisirte in der charakteristischen Form und schmolz gleichzeitig mit Argininkupfernitrat anderer Herkunft. Die Analyse gab folgende Resultate:

0,2720 g Substanz verloren bei 100—105° 0,0255 g an Gewicht und gaben 0,0360 g CuO .

Berechnet für	Gefunden
$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_2\cdot\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 + 3\text{H}_2\text{O}$	
H_2O 9,15	9,38%
Cu 10,77	10,57%

1) Vor dem Zusatz der Phosphorwolframsäure wurde der Auszug von den durch Gerbsäure und durch Bleiessig fällbaren Stoffen befreit.

2) Nach dem Ausrystallisiren des Argininnitrats blieb eine starke, dickflüssige Mutterlauge übrig.

Das bei Zerlegung dieser Kupferverbindung mittelst Schwefelwasserstoff erhaltene Nitrat stimmte im Aussehen und in den Reactionen vollständig mit Arginin nitrat überein.

Das Filtrat von dem durch Silbernitrat und Baryt hervorgebrachten argininhaltigen Niederschlage enthielt noch eine durch Phosphorwolframsäure fällbare Base. Es ist also sehr wohl möglich, dass auch hier Lysin sich vorfand; doch habe ich den Versuch nicht bis zur Isolirung dieser Base durchgeführt.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass die drei Culturen 6—7tägiger Keimpflanzen, von denen die eine im Freien in fruchtbarer Erde, die beiden anderen im Zimmer in Sand gezogen waren, bei der Untersuchung die gleichen Resultate gaben: aus allen liessen sich Leucin, Tyrosin, Arginin und Histidin isoliren (die Prüfung auf Lysin ist nur bei den Pflänzchen der ersten Cultur, hier aber mit positivem Resultat, ausgeführt worden). Auch die Ausbeute an den oben genannten Stoffen zeigte bei den drei zur Untersuchung gelangten Culturen nur geringe Verschiedenheiten.

Die bei 75—80° getrockneten Pflänzchen der dritten Cultur lieferten, soweit sich dies auf dem von mir eingeschlagenen Wege überhaupt feststellen liess, keine niedrigere Ausbeute an Eiweisszersetzungsprodukten (Amidosäuren und Hexonbasen), als die unter 60° getrockneten Pflänzchen der beiden anderen Culturen; also scheint es keinen Einfluss auszuüben, ob man in der einen oder in der anderen Weise die Pflänzchen trocknet.

b) 3¹/₂wöchentliche etiolirte Keimpflanzen.

Die fein zerriebenen lufttrockenen Pflänzchen, im Gewicht von 550 g. wurden mit kochendem Weingeist von ca. 92 Volumprocenten behandelt; der Auszug, in früher beschriebener Weise verarbeitet, lieferte ein Amidosäurenpräparat, dessen Gewicht nach dem Trocknen über Schwefelsäure nur 2 g betrug. Dieses Präparat, aus welchem ich Tyrosin nicht zu isoliren vermochte, wurde zwei Mal aus einem Gemisch

von Weingeist und Ammoniakflüssigkeit umkrystallisirt; dann wurde seine wässerige Lösung mit Kupferoxydhydrat erhitzt, wobei eine Kupferverbindung sich ausschied. Bei der Zersetzung durch Schwefelwasserstoff lieferte diese Verbindung eine Substanz, die sich beim Erhitzen in Glasröhrchen wie ein Gemenge von Phenylalanin und Leucin verhielt (während ein Theil sublimirte, blieb ein geschmolzener, nach dem Erkalten krystallinisch erstarrender Rückstand, während im oberen Theile des Glasröhrchens ölige Tropfen sich absetzten, die nach dem Erkalten krystallinisch wurden und dann den Geruch besaßen, der den Zersetzungsprodukten des Phenylalanins eigenthümlich ist). Als diese Substanz der Oxydation mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure unterworfen wurde, trat der Geruch des Benzaldehyds auf; aus der erkalteten Flüssigkeit schied sich eine in Aussehen und Verhalten der Benzoesäure gleichende Substanz aus.¹⁾ Diese Erscheinungen sprechen dafür, dass Phenylalanin vorhanden war. Die von der erwähnten Kupferverbindung abfiltrirte Flüssigkeit wurde im Wasserbade eingedunstet, der Verdampfungsrückstand sodann mit warmem Wasser behandelt, wobei noch eine geringe Menge einer schwer löslichen Kupferverbindung zurückblieb. Die filtrirte Lösung wurde mit Hilfe von Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und hierauf eingedunstet, der Verdampfungsrückstand aus einem Gemisch von Weingeist und Ammoniakflüssigkeit umkrystallisirt. So erhielt ich ein in glänzenden Blättchen krystallisirendes Produkt, welches das Verhalten der Amidovaleriansäure zeigte. Es verflüchtigte sich beim Erhitzen in Glasröhrchen unter Bildung eines weissen Sublimats: seine wässerige Lösung gab beim Erhitzen mit Kupferacetat keine Ausscheidung. Es löste sich leicht in einer gesättigten wässerigen Leucinlösung.

Aus den im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnissen ist zu schliessen, dass in dem bei Verarbeitung der 3 1/2 wöchent-

¹⁾ Die in Wasser schwer lösliche Substanz krystallisirte in glänzenden Nadeln und Blättchen, welche beim Erhitzen schmolzen, später sublimirten und den Geruch der Benzoesäure zeigten. Die neutralisirte Lösung gab mit Eisenchlorid eine hellbraune Fällung.

lichen Pflänzchen erhaltenen Amidosäurenpräparat Phenylalanin und Amidovaleriansäure enthalten wären; dass neben letzteren auch Leucin sich vorfand, ist nicht bewiesen, kann jedoch für möglich erklärt werden. Jedenfalls aber bestand nur ein Theil, wahrscheinlich sogar nur ein kleiner Theil jenes Präparats aus Leucin. Daraus folgt aber, dass die 3¹/₂wöchentlichen Keimpflanzen nur sehr wenig Leucin enthielten.

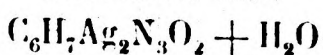
In Uebereinstimmung damit stehen die Resultate, die ich früher bei Untersuchungen von 3wöchentlichen etiolirten Keimpflanzen von *Vicia sativa* erhielt. Aus diesen Keimpflanzen konnte ich, bei Verarbeitung weit grösserer Materialmengen, Phenylalanin, Amidovaleriansäure und Leucin darstellen. Von diesen drei Körpern schien die Amidovaleriansäure der Quantität nach zu prävaliren, während Leucin allem Anschein nach nicht in grosser Menge vorhanden war. Aus diesen Keimpflanzen erhielt ich pro Kilogramm ungefähr 3 g Amidosäuren (gewogen als Rohprodukt); es ist anzunehmen, dass höchstens ein Drittel dieses Rohproduktes aus Leucin bestand. Demnach würde ein Kilogramm der lufttrockenen Pflänzchen nur ungefähr 1 g Leucin geliefert haben.

Der bei der Behandlung mit kochendem Weingeist ungelöst gebliebene Theil der 3¹/₂wöchentlichen Keimpflanzen wurde mit Wasser extrahirt, der Auszug nach bekanntem Verfahren auf Hexonbasen untersucht. Die bei Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlags erhaltene Basenlösung versetzte ich, nachdem sie mit Kohlensäure gesättigt worden war, mit Quecksilberchlorid bis zur neutralen Reaction. Der dabei entstandene Niederschlag lieferte, in bekannter Weise verarbeitet, Krystalle von Histidinchlorid in geringer Menge. Das daraus dargestellte Histidinsilber gab bei der Analyse folgendes Resultat:

0.2020 g Substanz, bei 100° getrocknet, gaben 0.1125 g Ag.

Berechnet für:

Gefunden:



Ag 55.77

55.69%

Das Filtrat vom Quecksilberchloridniederschlage wurde

vom Quecksilber und von der Salzsäure befreit und sodann zur Ausfällung des Arginins mit Silbernitrat und Barytwasser versetzt. Den dabei erhaltenen braunen Niederschlag zersetzte ich durch Schwefelwasserstoff, neutralisirte die vom Schwefelsilber abfiltrirte Flüssigkeit mit Salpetersäure und dunstete sie sodann zum dünnen Syrup ein. Dieser Syrup lieferte keine Krystalle von Arginininitrat. Er enthielt noch eine durch Silbernitrat und Ammoniak fällbare Substanz (Histidin?): ich fällte dieselbe aus, befreite das Filtrat vom Silber und vom Ammoniak und versetzte es dann mit Phosphorwolframsäure. Der durch dieses Reagens hervorgebrachte, an Quantität nur geringe Niederschlag wurde durch Barythydrat zerlegt, die so erhaltene Basenlösung mit Salpetersäure neutralisirt und sodann wieder eingedunstet. Auch diese Flüssigkeit lieferte keine Arginininitrat-Krystalle¹⁾. Ich vermochte also aus den 3¹/₂wöchentlichen Keimpflanzen kein Arginin darzustellen. Zu dem gleichen Resultat bin ich früher, jedoch unter Anwendung einer weniger scharfen Trennungsmethode, bei Untersuchung der 3wöchentlichen Keimpflanzen gelangt.

Man kann nun noch fragen, ob etwa in den weingeistigen Keimpflanzen-Extracten Arginin sich vorgefunden habe. Indessen habe ich bei Untersuchung argininhaltiger Keimpflanzen das Arginin bis jetzt stets in den in Weingeist unlöslichen Theile der Pflänzchen gefunden. Ferner habe ich früher auch den Niederschlag, der durch Phosphorwolframsäure in der wässerigen Lösung des beim Verdunsten der weingeistigen Extracte verbliebenen Rückstandes erzeugt wurde, eingehend untersucht; ich vermochte aus diesem Niederschlag Guanidin, Cholin, Betain und eine geringe Menge Vieln zu isoliren, während dagegen kein Anzeichen für das gleichzeitige Vorhandensein von Arginin mir entgegen trat.

Die 3¹/₂wöchentlichen Keimpflanzen enthielten Aspa-

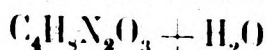
1) Eine Probe der Flüssigkeit gab mit Kaliumquecksilberjodid und Natronlauge eine Fällung; Arginin kann also in sehr kleiner Menge vorhanden gewesen sein.

ragin in sehr grosser Quantität. Ein wässriger Extract aus 20 g lufttrockener Pflänzchen lieferte 1,762 g Asparaginkristalle (wasser- und aschenfrei in Rechnung gestellt) = 8,9%. Nachdem dieses Produkt aus wenig heissem Wasser umkrystallisiert worden war, wurde darin eine Krystallwasserbestimmung mit folgendem Resultat ausgeführt:

0,693 g Substanz verloren bei 100—105 ° 0,083 g an Gewicht.

Berechnet für:

Gefunden:



H₂O 12,00

11,98%

Die Identität der Krystalle mit Asparagin ergibt sich ferner daraus, dass sie beim Erhitzen mit verdünnter Salzsäure sich unter Ammoniakabspaltung zersetzten und dass aus ihrer, in der Wärme mit Kupferoxydhydrat gesättigten wässrigen Lösung beim Erkalten eine blaue, dem Asparaginkupfer gleichende Verbindung sich ausschied.

Nach Sachsse's Methode wurde der Asparagingehalt dieser Keimpflanzen = 12,4% gefunden. Wahrscheinlich ist diese Zahl in Folge des Vorhandenseins von Glutamin zu hoch.

Sodann wurden in den Keimpflanzen noch der Gesamtstickstoff und die auf Proteinstoffe fallende Stickstoffmenge nach Stutzer's Methode bestimmt. Für die lufttrockenen Pflänzchen ergeben sich folgende Zahlen:¹⁾

Gesamtstickstoff 6,60%

Stickstoff in Proteinstoffen 2,08%

Auf nichtproteinartige Verbindungen fielen demnach 4,52% N oder 68,2% des Gesamtstickstoffes. Da der Wassergehalt der lufttrockenen Pflänzchen 6,98% betrug, so ergeben sich für die Trockensubstanz der Pflänzchen folgende Gehaltszahlen:

¹⁾ Analytische Belege: A) Gesamtstickstoff: a) 1,0691 g Substanz gaben 0,0703468 g = 6,58% N; b) 1,1999 g Substanz gaben 0,0792948 g = 6,61% N. Mittel 6,60% N. B) Proteinstickstoff nach Stutzer's Verfahren: a) 1,1955 g Substanz gaben 0,0246064 g = 2,06% N; b) 1,1188 g Substanz gaben 0,0234948 g = 2,10% N. Mittel 2,08% N. Die Bestimmungen wurden nach Kjeldahl's Methode ausgeführt.

Gesamtstickstoff	7,10 ‰
Stickstoff in Proteinstoffen.	2,24 ‰
.. .. nicht proteinartigen Verbindungen	4,86 ‰

Nimmt man an, dass die in den Pflänzchen sich vorfindende absolute Stickstoffmenge während des Keimungsvorganges keine Aenderung erfahren hat, so ergibt die Berechnung, dass aus 100 Gewichtstheilen 6—7tägiger Keimpflanzen 74,5 Gewichtstheile 3¹/₂wöchentlicher Pflänzchen entstanden sind. Jene Keimpflanzen würden danach während 2¹/₂wöchentlichen Wachstums im Dunkeln einen Gewichtsverlust von 25,5 Theilen erlitten haben.

Rückblick auf die an den Keimpflanzen von *Vicia sativa* gemachten Beobachtungen.

In den 6—7tägigen Keimpflanzen findet man (neben Asparagin) Leucin, Tyrosin und Hexonbasen vor; und zwar treten diese Produkte in einem Mengenverhältniss auf, das demjenigen ähnlich ist, in welchem man sie bei der Zersetzung pflanzlicher Eiweissstoffe durch Säuren erhält: Tyrosin findet sich in viel kleinerer Quantität als Leucin, unter den Hexonbasen prävalirt das Arginin, keine dieser Hexonbasen tritt aber in so grosser Menge auf, wie das Leucin.

Eine ganz andere Zusammensetzung zeigt das Gemenge löslicher Stickstoffverbindungen, das in den 3- oder 3¹/₂wöchentlichen etiolirten Keimpflanzen enthalten ist. Tyrosin und Arginin fehlen darin oder sind nur in Spuren vorhanden. Leucin tritt nur in kleiner Quantität auf, daneben finden sich noch zwei Amidosäuren, die aus den jüngeren Keimpflanzen nicht dargestellt werden konnten, aber doch vielleicht darin nicht völlig fehlen, nämlich Phenylalanin und Amidovaleriansäure. Asparagin tritt in den älteren etiolirten Pflanzen in viel grösserer Quantität auf, als in den jüngeren Pflänzchen; die Ausbeute an diesem Amid war dort fünf Mal so gross, wie hier. Mit der fortschreitenden Entwicklung der Pflänzchen ist also eine sehr starke Verschiebung des Mengenverhältnisses, in welchem das Asparagin zum Arginin, Leucin und Tyrosin steht, verbunden. Vergleicht man z. B. die Aus-

beuten an Asparagin und Leucin, so findet man, dass die Asparaginsmenge zur Leucinmenge bei den jüngeren Pflänzchen sich etwa = 3 bis 4 : 1, in den älteren Pflänzchen dagegen vielleicht = 80 bis 90 : 1 verhält.

Diese Erscheinungen führen zu der Schlussfolgerung, dass die Anhäufung des Asparagins in den Pflänzchen von einem Verbrauch anderer Produkte des Eiweissumsatzes, insbesondere des Arginins, Tyrosins und Leucins begleitet ist.

Bemerkenswerth ist noch, dass mir bei Untersuchung der 6—7tägigen Keimpflanzen das aus den ungekeimten Wickensamen leicht darstellbare Vicin nicht begegnet ist. Dagegen fand ich diesen Stoff früher in den 3wöchentlichen Keimpflanzen, und zwar in dem Phosphorwolframsäureniederschlag aus dem in Weingeist löslichen Theil der Pflänzchen (bei den 6—7tägigen Pflänzchen habe ich diesen Niederschlag nicht untersucht). Die Quantität des Vicins war aber hier nur eine sehr geringe, woraus man zu schliessen hat, dass diese Stickstoffverbindung im Stoffwechsel der Keimpflanzen dem Verbrauch unterliegt.

Es ist nicht unwahrscheinlich, dass die Keimpflanzen von *Vicia sativa* ausser den aus ihnen dargestellten nicht proteinartigen Stickstoffverbindungen noch andere Stoffe dieser Art enthalten, die uns bis jetzt unbekannt geblieben sind. Dem die 3 $\frac{1}{2}$ wöchentlichen etiolirten Pflänzchen enthalten 4,52% Stickstoff in Form nicht proteinartiger Verbindungen. Da nun auf Asparagin und ähnliche Stoffe (Glutamin) 2,64% Stickstoff fallen, so bleiben noch 1,88% Stickstoff übrig, welche anderen nicht proteinartigen Verbindungen angehören. Sind nun auch in diesen Keimpflanzen neben Asparagin noch zahlreiche Stoffe jener Art, nämlich Leucin, Amidoxalensäure, Phenylalanin, Histidin, Guanidin, Cholin, Betain, Vicin und Ammoniak nachgewiesen worden, so findet man doch keinen dieser Stoffe in den Keimpflanzen in grosser Menge vor; es scheint daher, dass die genannten Stoffe nicht hinreichen, um die Stickstoffmenge zu decken, die nach Abzug des Asparagin- und Glutamin-Stickstoffs vom Nichtproteinstickstoff noch übrig bleibt. Etwas Bestimmtes lässt sich darüber frei-

lich nicht aussagen, weil es an Methoden zur quantitativen Bestimmung jener Stickstoffverbindungen fehlt.

B. Versuche mit *Pisum sativum*.

Die von mir untersuchten Keimpflanzen von *Pisum sativum* waren 6—7 Tage alt: sie waren in einem verdunkelten Zimmer in Sand gezogen. Die Pflänzchen der einen Cultur, gewachsen bei einer Temperatur von 20—22° C., besaßen ohne Wurzeln eine Länge von 8—9 cm.: sie wurden in gewöhnlicher Weise getrocknet. Die Pflänzchen der zweiten Cultur, gewachsen bei nur 17—19° C., hatten nicht ganz die gleiche Länge erreicht: sie wurden nach der Erndte in Alkohol geworfen und nach längerem Verweilen unter letzterem in gelinder Wärme (20—25° C.) getrocknet.

Zunächst theile ich die Resultate mit, die ich bei Untersuchung der Pflänzchen der ersten Cultur erhielt. Diese Resultate stimmten fast vollständig mit denjenigen überein, die bei Untersuchung der 6—7tägigen Keimpflanzen von *Vicia sativa* erhalten wurden. Ein weingeistiger Auszug aus 900 g der zerkleinerten lufttrockenen Pflänzchen lieferte ein Amidosäurepräparat, dessen Gewicht nach dem Trocknen über Schwefelsäure 4,5 g betrug. Dieses Präparat schloss etwas Tyrosin ein, dessen Isolirung und Identificirung eben so geschah, wie es bei den Keimpflanzen von *Vicia* beschrieben worden ist. Der Rest des Präparates bestand offenbar zum allergrössten Theile aus Leucin: er bildete nach zweimaligem Umkrystallisiren aus Weingeist unter Zusatz von etwas Ammoniakflüssigkeit glänzende Blättchen, welche im Aussehen und Verhalten mit Leucin vollkommen übereinstimmten. Ihre heisse, wässrige Lösung gab auf Zusatz von Kupferacetat eine Ausscheidung von Leucinkupfer in reichlicher Menge. Die Analyse des bei 100° C. getrockneten Produkts gab folgende Zahlen:

1. 0,2540 g Substanz gaben 0,0625 g CuO
2. 0,2600 „ „ „ 0,0635 „ „
3. 0,2875 g „ „ nach Kjeldahl's Methode 0,024012 g N.

Berechnet für:		Gefunden:		
$(C_8H_{12}NO_2)_2Cu$		1	2	3
Cu	19,66	19,66	19,52	— °
N	8,67	—	—	8,36

Die Mutterlauge von dieser Leucin-Krystallisation lieferte ein Produkt, welches gleichfalls Aussehen und Verhalten des Leucins zeigte; aus seiner wässerigen Lösung schied sich beim Erhitzen mit Kupferacetat eine dem Leucinkupfer gleichende Kupferverbindung aus.

Die beim Verdunsten der letzten Mutterlauge erhaltene Substanz wurde der Oxydation mittelst Kaliumbichromat und Schwefelsäure unterworfen; dabei erhielt ich Benzoesäure in kleiner Menge (2—3 cg.). Durch Umkrystallisiren und durch Sublimation gereinigt, schmolz dieselbe bei 119,5° C.¹⁾ Aus dem Entstehen von Benzoesäure darf man wohl schliessen, dass die Mutterlauge vom Leucin eine kleine Menge von Phenylalanin enthält.

In den bei Behandlung der zerkleinerten Keimpflanzen mit heissem Weingeist verbliebenen Rückstand liessen sich Hexonbasen nachweisen. Ich extrahirte 600 g dieses Rückstandes mit schwach erwärmtem Wasser, und verarbeitete den Auszug so, wie es oben bei den Keimpflanzen von *Vicia* angegeben worden ist. Eine kleine Verschiedenheit lag nur in der Art und Weise, in welcher ich das lysinhaltige Filtrat von dem durch Silbernitrat und Barytwasser erzeugten Niederschlage behandelte. Ich fügte diesem Filtrat zur Entfernung des darin noch vorhandenen Silbers Salzsäure zu; dann neutralisirte ich es mit Kalilauge und dünstete es auf ein geringes Volumen ein. Nach dem Erkalten schieden sich anorganische Salze aus. Die nach Entfernung derselben verbliebene Flüssigkeit wurde, um den grössten Theil des Kalis zu entfernen, mit Weinsäure und wenig Weingeist vermischt. Aus der durch Filtration vom Weinstein getrennten Flüssigkeit wurde durch Schwefelsäure der darin noch vorhandene Baryt entfernt; dann wurde Phosphorwolframsäure zugesetzt. Den durch dieses

¹⁾ Die Substanz zeigte auch im Uebrigen das Verhalten der Benzoesäure.

Reagens erzeugten Niederschlag zerlegte ich mit Barythydrat in bekannter Weise. Die dabei erhaltene Basenlösung wurde mit alkoholischer Pikrinsäurelösung neutralisirt, das in dieser Weise erhaltene Pikrat dann ebenso behandelt, wie es früher angegeben worden ist.

Die Identificirung der Hexonbasen geschah in der gleichen Weise, wie bei den aus den Vicia-Keimpflanzen dargestellten Produkten gleicher Art. In dem krystallisirten Histidinchlorid wurde eine Chlorbestimmung ausgeführt; die dabei gefundene Zahl entspricht dem von der Formel des Monochlorhydrats geforderten Werth, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

0,1220 g Substanz, über Schwefelsäure getrocknet, gaben 0,0840 g AgCl.

	Berechnet für:	Gefunden:
	$C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl + H_2O$	
Cl	16,90	17,00 %.

In dem aus dem salzsauren Salz in bekannter Weise dargestellten Histidinsilber wurde eine Silberbestimmung mit folgendem Resultat ausgeführt:

0,2000 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,1115 g Ag.

	Berechnet für:	Gefunden:
	$C_6H_7Ag_2N_3O_2 + H_2O$	
Ag	55,77	55,75 %.

Das Arginin wurde, wie oben erwähnt ist, zunächst in Form des Nitrats erhalten, das jedoch noch unrein war. Dasselbe wurde in das Argininkupfernitrat übergeführt, welches in der charakteristischen Form, nämlich in kugeligen, aus dünnen Prismen bestehenden Agregaten von dunkelblauer Farbe, krystallisirte. Die Krystalle schmolzen gleichzeitig mit einem Argininkupfernitratpräparat anderer Herkunft (bei 112 bis 113°). Die Bestimmung des Kupfergehalts der Verbindung gab folgendes Resultat:

0,1785 g der über Chlorcalcium getrockneten Substanz gaben 0,0245 g CuO.

	Berechnet für:	Gefunden:
	$(C_6H_{14}N_4O_2)_2 \cdot Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$	
Cu	10,77	10,96 %.

Das bei Zerlegung der Kupferverbindung durch Schwefelwasserstoff erhaltene Nitrat besass das Aussehen des reinen

Argininnitrats und gab die für letzteres charakteristischen Reactionen.

Das Lysin wurde in früher schon beschriebener Weise in das Chloroplatinat übergeführt; letzteres schied sich aus der mit Weingeist vermischten wässerigen Lösung in rothgelben Prismen aus, welche fast gleichzeitig mit einem als Vergleichsobject dienenden Lysinplatinchloridpräparat anderer Herkunft schmolzen. In dem bei 120° getrockneten Salze wurde der Platingehalt mit folgendem Resultat bestimmt:

1.	0,1968 g Substanz gaben	0,0690 g Pt	
2.	0,2720 „ „ „	0,0940 „ „	
	Berechnet für:		Gefunden:
	$C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl \cdot PtCl_4$		1 2
Pt	35,05		35,00 34,56 %.

Was die Ausbeute an Hexonbasen betrifft, so lieferten 600 g des lufttrocknen Ausgangsmaterials ungefähr 1,0 g Argininnitrat, 0,20 g Histidinchlorid und 0,50 g Lysinchlorid. Doch können diese Angaben schon deshalb nur als approximative gelten, weil einerseits die genannten Produkte nicht in reinem Zustande gewogen wurden, andererseits aber nicht ganz unbedeutende Antheile derselben in den Mutterlaugen verblieben sein können. Die Ausbeute an Amidosäuren (Rohprodukt) betrug 4,5 g aus 900 g lufttrockner Keimpflanzen: dass dieses Rohprodukt zum grössten Theil aus Leucin bestand, kann nicht zweifelhaft sein. Da die zerriebenen Keimpflanzen nur einmal mit Weingeist extrahirt worden sind, so ist anzunehmen, dass die Amidosäuren nicht vollständig in Lösung gegangen sind (man vergl. die darüber bei den Vicia-Keimpflanzen gemachten Erfahrungen).

Die Pflänzchen der zweiten Cultur wurden bis auf einen, ca. $\frac{1}{5}$ vom Gewicht der ganzen Ernte betragenden Rest, über dessen Verwendung weiter unten Angaben folgen, in Weingeist geworfen und, nach längerem Verweilen unter letzterem, vom weingeistigen Auszug getrennt und bei gelinder Wärme (20—25°) getrocknet: dann wurden sie fein zerrieben. Aus einem bei Behandlung dieses Materials mit kochendem Weingeist erhaltenen Extract liess sich Leucin isoliren. Zuerst

aus Wasser, dann aus einem Gemisch von Weingeist und Ammoniakflüssigkeit umkrystallisirt, bildete es glänzende Blättchen, die beim Erhitzen in Glasröhren sowie beim Versetzen ihrer heissen, wässerigen Lösung mit Kupferacetat sich wie Leucin verhielten. Auch der beim Uebergiessen der Keimpflanzen mit kaltem Weingeist entstandene Auszug (vgl. oben) enthielt allem Anschein nach Leucin: doch standen der Isolirung des letzteren Schwierigkeiten entgegen, wahrscheinlich darauf beruhend, dass dieser Auszug auch viel Kohlenhydrat enthielt.

Der in heissem Weingeist unlösliche Theil der getrockneten Pflänzchen wurde mit Wasser extrahirt, der Auszug in der früher schon beschriebenen Weise auf Hexonbasen untersucht. Letztere liessen sich ohne Schwierigkeit nachweisen. Ueber ihre Identificirung ist Folgendes anzugeben: Das aus dem Quecksilberchloridniederschlag gewonnene krystallisirte Histidinchlorid besass das gewöhnliche Aussehen: es wurde daraus in bekannter Weise Histidinsilber dargestellt. Die Silberbestimmung in dieser Verbindung gab folgendes Resultat:

0.1950 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0.1085 g Ag.

	Berechnet für:	Gefunden:
	$C_6H_7Ag_2N_3O_2 + H_2O$	
Ag	55.77	55.69 %.

Das Arginin wurde in das Argininkupferniträt übergeführt. Diese Verbindung krystallisirte aus der wässerigen Lösung in der gewöhnlichen Form und schmolz gleichzeitig mit Argininkupferniträt anderer Herkunft. Die Kupferbestimmung im lufttrocknen Salz gab folgendes Resultat:

0.1890 g Substanz gaben 0.0250 g CuO.

	Berechnet für:	Gefunden:
	$(C_6H_{14}N_4O_2)_2Cu(NO_3)_2 + 3H_2O$	
Cu	10.77	10.57 %.

Das bei Zerlegung der Kupferverbindung mittelst Schwefelwasserstoff erhaltene Niträt stimmte im Aussehen und in den Reactionen mit Argininiträt vollständig überein.

Was den Nachweis des Lysins betrifft, so habe ich mich darauf beschränkt, zu constatiren, dass neben Arginin und Histidin noch eine Base vorhanden war, deren Chloroplatinat

im Aussehen und im Schmelzpunkt mit Lysinplatinchlorid übereinstimmte.

Die Ausbeute an Hexonbasen war ungefähr so gross, wie aus den Keimpflanzen der ersten Cultur.

Wie schon oben erwähnt worden ist, wurde von den Pflänzchen der zweiten Cultur ein Theil (ca. $\frac{1}{5}$ des ganzen Quantum) nicht mit Alkohol übergossen, sondern in anderer Weise behandelt. Diese Pflänzchen wurden in die Cotyledonen und die übrigen Theile zerlegt, dann bei $50-60^{\circ}$ getrocknet, zerrieben und mit Wasser extrahirt. Aus den Extracten suchte ich das Asparagin möglichst vollständig zu gewinnen, indem ich dasselbe durch Mercurinitrat ausfällte und aus den Niederschlägen in bekannter Weise isolirte. Die Cotyledonen lieferten nur ca. $0,1^{\circ}$ o, die übrigen Theile dagegen $2,0^{\circ}$ o Krystalle. Daraus geht hervor, dass hier ebenso wie in den Lupinus-Keimpflanzen das Asparagin in den Cotyledonen in weit geringerer Quantität enthalten ist, als in den übrigen Pflanzentheilen. Den aus den Cotyledonen erhaltenen Krystallen war etwas Tyrosin beigemischt. Auch in einem zweiten, in der gleichen Weise ausgeführten Versuch lieferten die Cotyledonen Tyrosin; und zwar erhielt ich aus 80 g des lufttrocknen Materials 0,03 g der genannten Amidosäure.¹⁾ Demnach enthielten auch die Pflänzchen dieser zweiten Cultur von *Pisum sativum* Tyrosin; und zwar fand sich dasselbe in den Cotyledonen der Pflänzchen vor, während ich es aus den übrigen Pflanzentheilen nicht zu isoliren vermochte.

Es sind hier nun noch die Resultate mitzutheilen, die ich bei Untersuchung der ungekeimten Erbsen-Samen auf Amidosäuren und Hexonbasen erhielt. Ein Kilogramm der fein gepulverten Samen wurde mit kochendem Weingeist von ca. 92 Volumprocent extrahirt, der Auszug dann ganz ebenso behandelt, wie es bei den Keimpflanzen geschah. Ich erhielt eine syrupöse Flüssigkeit, aus welcher ich auch nicht die geringste Menge von Amidosäuren zu isoliren vermochte.

1) Die Substanz gab die Hoffmann'sche und die Piria'sche Tyrosin-Reaction; sie löste sich leicht in Ammoniakflüssigkeit und schied sich beim Verdunsten der Lösung in der gewöhnlichen Form aus.

Von dem in Weingeist unlöslichen Theil der Samen wurden ca. 600 g mit schwach erwärmtem Wasser extrahirt, der Auszug sodann in bekannter Weise auf Hexonbasen untersucht. Dabei erhielt ich nur einen kleinen Phosphorwolframsäureniederschlag. Die bei Zerlegung dieses Niederschlags mit Barytwasser erhaltene Basenlösung gab mit Quecksilberchlorid nur eine schwache Trübung: Histidin konnte darin also nur in Spuren enthalten sein. Die vom Quecksilberchlorid-Niederschlage abfiltrirte Flüssigkeit wurde sodann nach Kossel's Verfahren auf Arginin geprüft. Der durch Silbernitrat und Baryt erhaltene braune Niederschlag lieferte bei der Zerlegung durch Schwefelwasserstoff eine Flüssigkeit, die zur Neutralisation nur weniger Tropfen verdünnter Salpetersäure bedurfte. Beim Einengen dieser Flüssigkeit im Wasserbade erhielt ich eine sehr geringe Quantität eines Syrups, welcher auch bei wochenlangem Stehen keine Krystalle absetzte. Ich vermochte also aus dem Extract weder Histidin noch Arginin zu isoliren. Der zuletzt erwähnte Syrup gab mit Kaliumquecksilberjodid und Natronlauge in geringer Menge eine weisse Fällung, wie sie die Argininverbindungen geben: es ist also möglich, dass dieser Syrup Arginin in Spuren enthielt.

C. Versuche mit *Lupinus albus*.

Nachdem E. Belzung¹⁾ in 8tägigen Keimpflanzen von *Lupinus albus* Leucin in reichlicher Menge gefunden hatte, habe ich Keimpflanzen der gleichen *Lupinus*-Art mehrmals untersucht. Zuerst experimentirte ich²⁾ mit 10tägigen Pflänzchen, welche im Zimmer bei ziemlich schwacher Beleuchtung in Sand bei einer Temperatur von 22—23° gewachsen waren. Aus den Axenorganen dieser Pflänzchen — aus denjenigen Theilen also, die ich bis dahin bei den *Lupinus*-Keimpflanzen besonders reich an Amidosäuren gefunden hatte — suchte ich Leucin darzustellen, konnte aber nur Phenylalanin und

1) Annales des sciences naturelles. 7^e série, Botanique, T. XV. p. 203.

2) Diese Zeitschrift. Bd. XX. S. 313—317.

Amidovaleriansäure isoliren. Später untersuchte ich ¹⁾ die Axenorgane 2¹/₂wöchentlicher etiolirter Keimpflanzen; auch aus diesen konnte ich nur Phenylalanin und Amidovaleriansäure isoliren. Dagegen erhielt ich Leucin neben Amidovaleriansäure aus den Axenorganen 14tägiger im Freien in Sand gewachsener Keimpflanzen. ²⁾ Auch aus den Cotyledonen dieser letzteren Pflanzen konnte ich Amidosäuren (wahrscheinlich ein Gemenge von Leucin und Amidovaleriansäure) darstellen. Das an diesen normalen Keimpflanzen erhaltene Resultat bestätigt also die Angabe Belzung's über das Vorkommen von Leucin bei *Lupinus albus*.

Die Cotyledonen der 2¹/₂wöchentlichen etiolirten Keimpflanzen untersuchte ich auf Arginin, und zwar nach demjenigen Verfahren, das mir zum Nachweis dieser Base in anderen Objecten gedient hatte. Ich erhielt jedoch ein ganz negatives Resultat. Da es möglich ist, dass bei Anwendung dieses Verfahrens kleine Arginummengen dem Nachweis entgehen, so benutzte ich zur Prüfung auf Arginin später noch die schärfere Methode, die wir den Forschungen Kossel's verdanken. Als Object verwendete ich 14tägige normale Keimpflanzen von *Lupinus albus*, die in fruchtbarer Erde gewachsen waren. Ein Extract aus 200 g der lufttrocknen Cotyledonen und 200 g der lufttrocknen Stengel wurde in der in dieser Abhandlung wiederholt schon beschriebenen Methode verarbeitet. Aus der bei Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlags durch Baryt erhaltenen Basenlösung suchte ich zunächst durch Fällung mit Quecksilberchlorid Histidin zu gewinnen, erhielt dabei aber nur eine ganz schwache Trübung. Aus der filtrirten Flüssigkeit wurden das Quecksilber und die Salzsäure entfernt; dann suchte ich durch Fällung mit Silbernitrat und Barytwasser Arginin zur Abscheidung zu bringen. Die bei Zerlegung des braunen Niederschlags mit Hilfe von

1. Ebendasselbst, Bd. XXII, S. 421 - 424.

2. Es muss hier bemerkt werden, dass diese Pflänzchen, obwohl sie ein Alter von 14 Tagen besaßen, doch nicht weit entwickelt waren; sie waren, wahrscheinlich in Folge der Temperaturverhältnisse, langsam gewachsen und hatten nur je ein Blättchenpaar entwickelt.

Schwefelwasserstoff erhaltene, schwach alkalisch reagirende Flüssigkeit wurde mit Salpetersäure neutralisirt und nun im Wasserbade auf ein ganz kleines Volumen eingengt. Sie lieferte auch bei längerem Stehen keine Krystalle von Arginin-nitrat. Nach den Reactionen, welche diese Flüssigkeit gab, enthielt sie eine geringe Menge von organischen Basen: doch waren die Reactionen nicht solcher Art, dass auf das Vorhandensein von Arginin geschlossen werden konnte. Diese Base fehlte also in dem untersuchten Object entweder vollständig, oder war doch nur in minimaler Menge vorhanden.

Es war nun festzustellen, welche Stickstoffverbindungen sich bei *Lupinus albus* in Keimpflanzen von geringerem Alter finden. Auf meine Veranlassung untersuchte N. Wassiliew¹⁾ in meinem Laboratorium 6—7tägige Keimpflanzen, welche in Flusssand im Zimmer bei ziemlich schwacher Beleuchtung gezogen worden waren. Aus den Cotyledonen dieser Pflänzchen liessen sich Asparagin, Leucin, Tyrosin, Arginin und Histidin darstellen (das Vorhandensein von Lysin wurde wenigstens wahrscheinlich gemacht): die übrigen Theile (Axenorgane) der Pflänzchen lieferten Asparagin und Leucin: auch Amidovaleriansäure und Phenylalanin schienen vorhanden zu sein (das Amidosäure-Gemenge lieferte bei der Oxydation mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure eine kleine Quantität von Benzoesäure). Von den Amidosäuren war Leucin in grösster Menge vorhanden (die Cotyledonen lieferten fast $\frac{1}{2}\%$ Roh-Leucin). Tyrosin liess sich nur in sehr kleiner Quantität gewinnen. Die Ausbeute an Arginin betrug ungefähr $0,3\%$ der Cotyledonen-Trockensubstanz.

Später habe ich noch 6tägige im Freien in fruchtbarer Erde gezogene Keimpflanzen der gleichen *Lupinus*-Art untersucht, welche einem noch etwas jüngeren Vegetationsstadium angehörten, als die von Wassiliew untersuchten Pflänzchen: bei denselben betrug das Trockengewicht der Cotyledonen fast vier Mal so viel, als dasjenige der übrigen Pflanzen-

1) Eine ausführliche Mittheilung über diese Untersuchung wird von N. Wassiliew in den «Landwirthsch. Versuchsstationen» veröffentlicht werden.

theile.¹⁾ Von den lufttrocknen fein zerriebenen Cotyledonen wurde ein Quantum von ca. 600 g einmal mit Weingeist von ca. 92 Volumprocent ausgekocht. Der weingeistige Auszug lieferte ungefähr 2 1/2 g Amidosäuren (Rohprodukt, über Schwefelsäure getrocknet). Beim Auflösen dieses Produktes in einem Gemisch von kochendem Alkohol und etwas Ammoniakflüssigkeit blieb ein in diesem Lösungsmittel schwer löslicher Rückstand, der sich auch in kaltem Wasser nur wenig löste: sein Gewicht betrug nach der Behandlung mit kaltem Wasser fast 0,1 g. Er erwies sich als Tyrosin. Er löste sich leicht in wässriger Ammoniakflüssigkeit. Die Lösung lieferte beim Verdunsten feine Krystallnadeln. Die Substanz gab sowohl die Hoffmann'sche als die Piria'sche Tyrosin-Reaction. Die vom Tyrosin abfiltrirte weingeistig-ammoniakalische Lösung wurde über Schwefelsäure gestellt, bis das Ammoniak sich verflüchtigt hatte, die in der Flüssigkeit ausgeschiedene Substanz sodann noch einmal aus einem Gemisch von Alkohol und Ammoniakflüssigkeit umkrystallisirt. Das Produkt zeigte nun Aussehen und Verhalten des Leucins. Es verflüchtigte sich im Glasröhrchen unter Bildung eines weissen wolligen Sublimats: seine wässrige Lösung gab beim Erhitzen mit Kupferacetat eine dem Leucinkupfer gleichende Ausscheidung, deren Kupfergehalt der Formel dieser Kupferverbindung entsprach, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

1. 0,1610 g Substanz gaben	0,0394 g CuO.
2. 0,1970 " " "	0,0485 " " "
Berechnet für:	Gefunden:
(C ₆ H ₁₂ NO ₂) ₂ Cu	1 2
Cu 19,66	19,56 19,66%

Den bei einmaliger Extraction der gepulverten Keimpflanzen mit Weingeist verbliebenen Rückstand untersuchte auf meinen Wunsch Hr. Dr. S. Posternak in meinem Laboratorium auf Hexonbasen. Jener Rückstand wurde mit Wasser extrahirt, der Auszug nach Entfernung der durch Gerbsäure

¹⁾ Bei den von Wassiliew untersuchten Pflänzchen verhielt sich dagegen das Trockengewicht der Cotyledonen zu demjenigen der übrigen Theile ungefähr = 60:40.

und Bleiessig fällbaren Stoffe mit Phosphorwolframsäure versetzt, der dadurch erzeugte Niederschlag mit Barythydrat zerlegt. Aus dem Niederschlage, welcher in der zuvor mit Kohlensäure gesättigten Basenlösung durch Quecksilberchlorid hervorgebracht wurde, liess sich eine im Aussehen dem Histidinchlorid gleichende Substanz in Krystallen isoliren. Das aus diesem Chlorid durch Umsetzung mittelst Silbernitrat erhaltene Nitrat gab mit Silbernitrat und Ammoniak eine weisse, dem Histidinsilber gleichende Fällung. Aus dem Filtrat vom Quecksilberchloridniederschlage wurde, nach Entfernung des Quecksilbers und der Salzsäure, das Arginin durch Silbernitrat und Barytwasser gefällt: es wurde später in bekannter Weise in das Argininkupfernitrats übergeführt, welches aus der wässerigen Lösung in der gewöhnlichen Form (in kugligen, aus dünnen Prismen bestehenden, dunkelblauen Aggregaten) krystallisirte. Der Schmelzpunkt dieser Krystalle stimmte mit demjenigen des Argininkupfernitrats anderer Herkunft überein. Die nach Entfernung des Histidins und des Arginins noch übrig gebliebenen Basen wurden durch Pikrinsäure ausgefällt. Die Pikrate zerlegte man in drei Fractionen. Die erste Fraction bestand aus harten gelben Krystallen, die zweite aus ähnlichen Krystallen, denen jedoch bräunlich rothe Krystallaggregate beigemengt waren: diese beiden Fractionen lieferten bei der Verarbeitung kein dem Lysinplatinchlorid gleichendes Chloroplatinat. Die dritte Fraction bildete einen Syrup, der sich auf Zusatz von absolutem Alkohol in einen Krystallbrei verwandelte. Das durch Aufstreichen auf eine Thonplatte von der Mutterlauge befreite und sodann aus Wasser umcrystallisirte Produkt bestand aus hellgelben, zarten Blättchen. Es wurde durch Schütteln mit Salzsäure und Aether zerlegt. Die wässerige Lösung lieferte beim Verdunsten ein Chlorhydrat, das sich im Methylalkohol unter Hinterlassung eines geringen Rückstandes löste. Die wässerige Lösung dieses Chlorhydrats wurde mit Platinchlorid und absolutem Alkohol versetzt, wobei ein an Quantität sehr geringer Niederschlag sich ausschied. Aus der davon abfiltrirten Lösung schieden sich nach mehrtägigem Stehen 1 cm. lange, rothgelbe, pris-

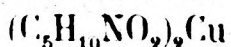
matische Krystalle aus, die im Aussehen mit Lysinplatinchlorid übereinstimmten. Sie schmolzen gleichzeitig mit einer Probe von Lysinplatinchlorid. Daraus ist zu schliessen, dass die dritte Fraction der Pikrate aus Lysinpikrat bestand.

Die Ausbeute an Argininnitrat aus 600 g lufttrockner Cotyledonen betrug ca. 1,8 g.; Histidin und Lysin wurden nur in sehr kleinen Quantitäten erhalten.

Die nach dem Abtrennen der Cotyledonen übrig gebliebenen Theile dieser Keimpflanzen wurden nur auf Amidosäuren untersucht. Ein mit kochendem 92%igen Weingeist hergestellter Auszug aus 350 g des lufttrockenen Materials lieferte ca. 2 g Amidosäure (Rohprodukt). Letztere wurden dreimal aus einem Gemisch von Weingeist und Ammoniakflüssigkeit, dann noch einmal aus verdünntem Weingeist umkrystallisirt. Das so erhaltene Produkt bestand aus weissen, glänzenden Krystallblättchen und zeigte das Verhalten der Amidovaleriansäure: es verflüchtete sich beim Erhitzen im Glasröhrchen unter Bildung eines weissen Sublimats: seine wässrige Lösung gab beim Erhitzen mit Kupferniträt keine Ausscheidung. Zur Darstellung einer Kupferverbindung wurde die wässrige Lösung der Krystalle in der Wärme mit Kupferoxydhydrät gesättigt, dann filtrirt und im Wasserbade eingeeengt, wobei die Kupferverbindung sich in blauen Krystallen ausschied. Die Kupferbestimmung gab ein Resultat, welches der Annahme entspricht, dass amidovaleriansaures Kupfer vorlag:

0.1545 g Substanz (bei 100—105° getrocknet) geben 0.0412 g CuO.

Berechnet für : Gefunden :



Cu 21.49

21.30 %.

Es ist möglich, dass neben Amidovaleriansäure im Rohprodukt auch etwas Leucin sich vorfand und dass dasselbe beim Umkrystallisiren jenes Produktes in die Mutterlaugen überging. Für das Vorhandensein einer geringen Menge von Phenylalanin scheint der Umstand zu sprechen, dass die beim Eindunsten der Mutterlaugen erhaltene Substanz bei der Oxydation mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure eine Flüssigkeit lieferte, aus welcher beim Verdunsten einige im Aussehen der

Benzoessäure gleichende, schwer lösliche Krystallblättchen sich ausschieden.

Wie aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen zu ersehen ist, lieferten die beiden Culturen 6—7 tägiger Keimpflanzen von *Lupinus albus*, von denen die eine im Zimmer in Sand, die zweite im Freien in fruchtbarer Erde gezogen war, bei der Untersuchung im Wesentlichen die gleichen Resultate. In den Cotyledonen fanden sich (neben Asparagin) Leucin, Tyrosin und Hexonbasen vor; die übrigen Pflanzentheile lieferten ein Amidosäuren-Gemenge, in welchem neben Amidovaleriansäure wahrscheinlich Leucin und Phenylalanin vorhanden waren.

D. Versuche mit *Lupinus luteus*.

Etiolirte 2—3 wöchentliche Keimpflanzen von *Lupinus luteus* sind, wie aus unseren Abhandlungen zu ersehen ist, wiederholt von uns untersucht worden. Neben Asparagin fanden wir darin Arginin in beträchtlicher Menge, später auch Histidin und Lysin,¹⁾ ferner Phenylalanin und Amidovaleriansäure. Leucin und Tyrosin fehlten in solchen Keimpflanzen wahrscheinlich nicht ganz vollständig, doch gelang es nicht, sie daraus zu isoliren — abgesehen davon, dass ich einmal aus den Cotyledonen in sehr geringer Quantität eine Substanz erhielt, deren Identität mit Leucin wenigstens für wahrscheinlich erklärt werden konnte.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen stehen die Resultate von Beobachtungen, die ich an ganz jungen Keimpflanzen der gleichen *Lupinus*-Art machte. Aus den Cotyledonen von 6tägigen Pflänzchen konnte ich leicht Leucin isoliren, aus den Cotyledonen von nur wenig älteren Pflänzchen Leucin und Tyrosin.²⁾ Amidovaleriansäure und Phenylalanin erhielt ich dagegen nicht aus diesen Cotyledonen; doch schien man auf das Vorhandensein einer sehr geringen Quantität der zuletzt genannten Amidosäure aus der Thatsache schliessen

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 465.

²⁾ Ebendasselbst, Bd. XXIV, S. 106—108.

zu können; dass wenigstens in meinem Falle das Amidosäuren-Gemenge bei der Oxydation ein wenig Benzoesäure lieferte.

Es schien mir wünschenswerth, ganz junge Keimpflanzen von *Lupinus luteus* noch einmal, und zwar noch vollständiger, auf ihre stickstoffhaltigen Bestandtheile zu untersuchen und zum Vergleich ältere Pflänzchen, welche unter Benutzung des gleichen Samens und unter ganz gleichen Versuchsbedingungen gezogen waren, in Untersuchung zu nehmen. Ich verfolgte dabei insbesondere noch den Zweck, einen vollständigeren Ueberblick über die Vertheilung der krystallisirbaren Stickstoffverbindungen auf die verschiedenen Theile der Pflänzchen zu gewinnen.

Die Keimpflanzen, die mir als Material für diese Untersuchung gedient haben, wurden in einem verdunkelten Zimmer in Flusssand bei einer Temperatur von 18—20° C. gezogen. Sie wurden theils nach 6—7tägiger, theils nach 14—15tägiger Vegetationsdauer geerntet. Die Cotyledonen und die übrigen Theile der Pflänzchen wurden getrennt untersucht.

a) 6—7tägige Keimpflanzen.

Diese Keimpflanzen hatten sich rasch entwickelt, wie daraus hervorgeht, dass trotz ihres geringen Alters das Trockengewicht ihrer Cotyledonen sich zum Trockengewicht der übrigen Theile wie 100 : 63 verhielt.

Wir behandelten 270 g der getrockneten und dann fein zerriebenen Cotyledonen mit kochendem Weingeist von ca. 92 Volumprocent. Den durch Filtration und Nachwaschen mit Weingeist vom Ungelösten getrennten Auszug verarbeitete ich in bekannter Weise auf Amidosäuren. Das dabei erhaltene Präparat, dessen Gewicht nach dem Trocknen über Schwefelsäure 1.60 g betrug, wurde zweimal aus einem Gemisch von Alkohol und Ammoniakflüssigkeit umkrystallisirt. Es zeigte nun Aussehen und Verhalten des Leucins. Beim Erhitzen im Glasröhrchen verflüchtigte es sich unter Bildung eines weissen wolligen Sublimats; es löste sich nicht in einer gesättigten wässerigen Leucinlösung; in wässriger Lösung mit

Kupferacetat erhitzt, lieferte es eine dem Leucinkupfer gleichende Ausscheidung. Wie aus weiter oben schon gemachten Mittheilungen hervorgeht, ist aus diesen Erscheinungen zu schliessen, dass die vorliegende Substanz Leucin war und dass letzterem Amidovaleriansäure und Phenylalanin höchstens in Spuren beigemischt sein konnten. Wäre Amidovaleriansäure in erheblicher Menge vorhanden gewesen, so würde das Präparat mit Kupferacetat keine Ausscheidung von Leucinkupfer gegeben haben: eine erhebliche Beimengung von Phenylalanin hätte sich beim Erhitzen der Substanz im Röhrchen zu erkennen gegeben. Das Rohprodukt schloss aber wahrscheinlich eine ganz kleine Menge von Phenylalanin ein: denn die aus den Mutterlaugen von den Leucinkrystallen beim Verdunsten gewonnene Substanz lieferte bei der Oxydation mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure in sehr geringer Quantität ein Produkt, welches Aussehen und Verhalten der Benzoesäure zeigte.

Aus den Cotyledonen der einwöchentlichen Keimpflanzen von *Lupinus luteus* konnte ich also auch in diesem Falle ebenso wie in zwei früher von mir beschriebenen Versuchen¹⁾ Leucin isoliren. Tyrosin, welches in einem der früheren Versuche neben Leucin in geringer Menge isolirt werden konnte, vermochte ich in diesem Falle nicht zu gewinnen: doch gab das Rohleucin mit Millon'schem Reagens Tyrosin-Reaction. Es ist daher nicht unwahrscheinlich, dass die Isolirung von Tyrosin gelungen wäre, wenn ich, statt 270 g, ein grösseres Quantum von Cotyledonen hätte verarbeiten können.

Den bei der Behandlung mit heissem Weingeist ungelöst gebliebenen Theil der Cotyledonen extrahirte ich mit heissem Wasser. Aus dem durch Eindunsten auf ein geringes Volumen gebrachten Auszug krystallisirte Asparagin: ich erhielt davon 11,9 g (wasserfrei in Rechnung gestellt) = 4,4% der luft-trockenen Cotyledonen. Die von den Krystallen getrennte Mutterlauge wurde mit Wasser verdünnt, von den durch Gerb-

1) Diese Zeitschrift. Bd. XXIV. S. 106—108.

säure und durch Bleiessig fällbaren Stoffen befreit und sodann mit Mercurinitrat versetzt. Den durch dieses Reagens hervorgerufenen Niederschlag zersetzte ich, nach dem Abfiltriren und Auswaschen, durch Schwefelwasserstoff, befreite die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Flüssigkeit von Schwefelwasserstoff und fügte ihr dann Phosphorwolframsäure zu. Der durch letztere erzeugte Niederschlag wurde in bekannter Weise verarbeitet. Aus der dabei erhaltenen Basenlösung konnte ich Histidin und Arginin isoliren (auf Lysin wurde nicht geprüft). Das Histidin wurde durch Fällung mit Quecksilberchlorid aus der mit Kohlensäure gesättigten Basenlösung zur Abscheidung gebracht und durch eine von Herrn Prof. U. Grubenmann auf meine Bitte ausgeführte krystallographische Untersuchung des salzsauren Salzes identificirt. Aus dem Filtrat vom Quecksilberchloridniederschlag entfernte ich das Quecksilber durch Einleiten von Schwefelwasserstoff, sodann die Salzsäure durch Zusatz von Silbernitrat: das Filtrat wurde mit Salpetersäure genau neutralisirt und nun zum dünnen Syrup eingedunstet. Aus letzterem krystallisirte bald Argininnitrat: ich erhielt davon 2½ g. Es wurde durch Erhitzen seiner wässerigen Lösung mit Kupferoxydhydrat in die Kupferverbindung übergeführt, welche in den charakteristischen, aus feinen dunkelblauen Prismen bestehenden, kugligen Aggregaten krystallisirte. Zur Identificirung des Arginins analytische Bestimmungen auszuführen, erschien in diesem Falle nicht nöthig.

Später habe ich noch die Cotyledonen einer zweiten, nur wenig älteren Cultur solcher Pflänzchen auf Hexonbasen untersucht. Auch dieses Material wurde zunächst mit kochendem Weingeist behandelt, der dabei verbliebene Rückstand sodann mit Wasser extrahirt. Die Verarbeitung dieses Auszuges und die Trennung der darin enthaltenen Hexonbasen geschah so, wie es oben bei Beschreibung der an *Vicia sativa* und *Pisum sativum* angestellten Versuche angegeben worden ist. Der Quecksilberchloridniederschlag lieferte Krystalle von Histidinchlorid, in denen eine Chlorbestimmung mit folgendem Resultat ausgeführt wurde:

0,1590 g Substanz gaben 0,1065 g AgCl.

Berechnet für :	Gefunden :
$C_6H_9N_3O_2 \cdot HCl + H_2O$	
Cl 16,90	16,56 %.

Das nach bekannter Methode daraus dargestellte Histsilber gab bei der Analyse folgendes Resultat :

0,2078 g Substanz (bei 100° getrocknet) gaben 0,1428 g Ag.

Berechnet für :	Gefunden :
$C_6H_7Ag_2N_3O_2 + H_2O$	
Ag 55,77	55,67 %.

Das Filtrat vom Quecksilberchloridniederschlage lieferte Arginin in bedeutender Menge; letzteres wurde zunächst in das Nitrat, dann in die Kupfernitratsverbindung übergeführt; diese Verbindung krystallisirte aus der wässerigen Lösung in der gewöhnlichen Form.

Das Lysin wurde durch Pikrinsäure gefällt, aus dem Pikrat sodann durch Schütteln mit Salzsäure und Aether in das Chlorhydrat übergeführt. Letzteres löste ich zur Reinigung in Methylalkohol. Das beim Verdunsten der so gewonnenen Lösung zurückbleibende Salz war indessen noch kein reines Lysinchlorid. Doch gelang es, daraus ein dem Lysinplatinchlorid gleichendes Chloroplatinat darzustellen. Letzteres schied sich aus der mit viel Weingeist versetzten wässerigen Lösung¹⁾ in rothgelben Prismen aus, welche gleichzeitig mit einer Probe vom Lysinplatinchlorid schmolzen. Die Platinbestimmung in der zuerst bei 100°, dann bei 125° getrockneten Substanz gab folgendes Resultat :

0,2078 g Substanz gaben 0,0723 g Pt.	
Berechnet für :	Gefunden :
$C_6H_{14}N_2O_2 \cdot 2HCl, PtCl_4$	
Pt 35,00	34,79 %.

Die Ausbeute an Arginin war in diesem Falle ungefähr doppelt so gross, wie in dem vorher beschriebenen Versuch; Histidin und Lysin erhielt ich nur in kleinen Quantitäten.

Die nach dem Abtrennen der Cotyledonen übrig gebliebenen Theile der Keimpflanzen, im Gewicht von 170 g

1) Ein beim Vermischen der wässerigen Lösung mit Weingeist sofort sich ausscheidendes Chloroplatinat wurde durch Filtration entfernt.

(lufttrocken) wurden mit heissem Weingeist von ca. 92 Volumprocent behandelt, der Auszug in bekannter Weise auf Amidosäuren verarbeitet. Aus dem dabei erhaltenen Präparat, dessen Gewicht nach dem Trocknen über Schwefelsäure 21,4 g betrug, konnte ich diejenigen Amidosäuren isoliren, die ich stets auch aus den älteren etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* erhalten habe, nämlich Phenylalanin und Amidovaleriansäure. Die Trennung und Reinigung derselben geschah nach dem wiederholt von mir beschriebenen Verfahren. Das Phenylalanin krystallisirte, wie bei früheren Darstellungen, aus einer concentrirten Lösung in der Wärme in glänzenden Blättchen, aus verdünnten Lösungen in weissen feinen Prismen, es zeigte beim Erhitzen im Glasröhrchen das charakteristische, von mir wiederholt beschriebene Verhalten (Bildung von Phenyläthylamin und Phenyllactimid: auch habe ich constatirt, dass es beim Erhitzen mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure Benzoesäure lieferte. Die Amidovaleriansäure bildete nach mehrmaligem Umkrystallisiren kleine glänzende Blättchen, die sich beim Erhitzen im Glasröhrchen unter Bildung eines weissen Sublimats verflüchtigten: in wässriger Lösung mit Kupferacetat erhitzt, gaben sie keine Ausscheidung (Unterschied von Leucin): sie lösten sich leicht in einer gesättigten wässrigen Leucinlösung. Leucin konnte aus diesem Object nicht isolirt werden, war aber doch vielleicht in geringer Menge vorhanden.

Der in Weingeist unlösliche Theil der Axenorgane enthielt Asparagin in sehr beträchtlicher Quantität. Die Ausbeute daran betrug 19,7 % der lufttrocknen Axenorgane.

Den in Weingeist unlöslichen Theil der Axenorgane habe ich auch noch auf Arginin und Histidin untersucht, und zwar dienten mir dazu Axenorgane von zwei verschiedenen, im Alter fast gleichen Culturen; das Gewicht derselben betrug nach der Extraction mit Weingeist ungefähr 250 g. Den Extract behandelte ich in der gewöhnlichen Weise. Die bei Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlags erhaltene Basenlösung gab mit Quecksilberchlorid einen Niederschlag. Die bei Zerlegung dieses Niederschlags mit

Schwefelwasserstoff erhaltene Flüssigkeit gab beim Verdunsten keine Krystalle von Histidinchlorid, doch liess sich daraus eine dem Histidinsilber gleichende Verbindung darstellen. Der Silbergehalt dieser Verbindung betrug 53,6 %, während die Formel des Histidinsilbers 55,77 % Ag verlangt. Das Wahrscheinlichste ist, dass unreines Histidinsilber vorlag. Aus dem Filtrat vom Quecksilberchloridniederschlag liess sich durch Ausfällung mit Silbernitrat und Barytwasser in sehr kleiner Menge eine Base abscheiden, deren Nitrat im Aussehen mit Argininnitrat übereinstimmte. Die daraus dargestellte Kupferverbindung glich im Aussehen dem Argininkupferniträt, besass aber einen um 3—4° niedrigeren Schmelzpunkt. Das bei Zerlegung dieser Kupferverbindung mittelst Schwefelwasserstoff erhaltene Nitrat gab die Reactionen des Argininitrats. Ich bezweifle nicht, dass die vorgefundene Base Arginin war; doch lag dasselbe offenbar nicht in ganz reinem Zustand vor. Eine Stütze für die Annahme, dass hier in der That Histidin und Arginin in kleinen Quantitäten sich vorfanden, ist auch in der Thatsache zu finden, dass in den Axenorganen der älteren Keimpflanzen gleicher Art (vgl. w. u.) diese beiden Basen bestimmt nachgewiesen werden konnten.

Wie aus den im Vorigen gemachten Angaben zu ersehen ist, vermochte ich aus den 6—7tägigen Keimpflanzen Asparagin, Leucin, Amidovaleriansäure, Phenylalanin, Arginin, Histidin und Lysin zu isoliren. Das in anderen Culturen gleicher Art nachweisbare Tyrosin war auch hier vermuthlich in sehr kleiner Menge vorhanden, denn das Rohleucin gab mit Millon'schem Reagens Tyrosinreaction. Auf die ungleiche Vertheilung der im Vorigen genannten Stickstoffverbindungen auf die Cotyledonen und die Axenorgane werde ich weiter unten noch zurückkommen.

b) 14—15 tägige Keimpflanzen.

Bei diesen Pflanzen betrug das Trockengewicht der Cotyledonen ungefähr ebenso viel als dasjenige der übrigen Pflanzentheile.

Die fein zerriebenen Cotyledonen, im Gewicht von 485 g

lufttrocken) wurden mit kochendem Weingeist behandelt, der Extract in bekannter Weise auf Amidosäuren verarbeitet. Ich erhielt dabei nur ca. 1 g eines Präparates, welches auch etwas Asparagin einschloss. Letzteres blieb grösstentheils zurück, als das Präparat in der Wärme mit einem Gemisch von absolutem Alkohol und etwas Ammoniakflüssigkeit behandelt wurde. Beim Verdunsten der filtrirten Lösung wurde ein Produkt gewonnen, welches ohne Zweifel ein Gemenge mehrerer Amidosäuren war. Eine Trennung derselben liess sich nicht ausführen, da die Quantität des Produktes nur sehr gering war, Tyrosin liess sich darin nicht nachweisen; gesetzt, dass Leucin vorhanden war, so kann doch die Menge desselben nur eine äusserst geringe sein.

Der bei der Behandlung mit heissem Weingeist ungelöst gebliebene Theil der Cotyledonen lieferte Arginin in grosser Menge; daneben wurden kleine Quantitäten von Histidin und Lysin nachgewiesen. Eine Mittheilung über diesen Theil der Versuche habe ich früher schon gemacht; ich verweise auf die betreffende Publication.¹⁾

Die nach dem Abtrennen der Cotyledonen übrig gebliebenen Pflanzentheile (hypocotyles Glied, Wurzel etc.) wurden getrocknet und fein zerrieben, sodann mit kochendem 92° äigen Weingeist extrahirt. Der Auszug, gewonnen aus 475 g lufttrockenen Materials, lieferte ungefähr 10 g Amidosäuren (Rohprodukt). Dieses Produkt, aus welchem Tyrosin nicht isolirt werden konnte, wurde zweimal aus einem Gemisch von Weingeist und Ammoniakflüssigkeit umkrystallisirt; dann wurde seine wässrige Lösung mit Kupferoxydhydrat erhitzt, wobei eine Kupferverbindung sich ausschied. Letztere lieferte bei der Zerlegung mittelst Schwefelwasserstoff unreines Phenylalanin, welches sodann durch mehrmalige Fällung mit Kupferacetat gereinigt wurde. Es zeigte die für diese Amidosäure früher von mir angegebenen Eigenschaften. Seine Kupferverbindung bestand aus blassblauen Krystallschuppen. Eine in dieser

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXVIII, S. 465.

Verbindung ausgeführte Kupferbestimmung gab folgendes Resultat.

0,2595 g Substanz gaben 0,0525 g CuO.

Berechnet für:	Gefunden:
$(C_9H_{12}NO_2)_2Cu$	
Cu 16,23	16,17 %.

Es ist nicht unwahrscheinlich, dass dem Phenylalanin vor der Reinigung etwas Leucin beigemischt war: denn auch Leucin kann ja durch Kupferoxydhydrat gefällt werden, obwohl es freilich durch letzteres sowohl wie durch Kupferacetat aus unreiner Lösung schwieriger niedergeschlagen wird, als Phenylalanin. Ich versuchte daher aus den Flüssigkeiten, welche von dem reineren, durch Zusatz von Kupferacetat gefällten, Phenylalaninkupfer abfiltrirt worden waren, Leucin zu gewinnen, indem ich diese Flüssigkeiten nach Entfernung des Kupfers eindunstete und den Verdampfungsrückstand aus einem Gemisch von Weingeist und Ammoniakflüssigkeit umkrystallisirte. Auf diesem Wege erhielt ich aber nur Krystalle, welche das Aussehen und das Verhalten von unreinem Phenylalanin zeigten: eine dem Leucin gleichende Substanz vermochte ich nicht zu isoliren.

Das tiefblaue Filtrat von dem Niederschlage, den ich beim Erhitzen der wässrigen Lösung des Amidosäurenpräparats mit Kupferoxydhydrat erhielt (vgl. oben), wurde im Wasserbade eingedunstet, der Verdampfungsrückstand mit warmem Wasser behandelt (wobei eine geringe Menge einer schwerlöslichen Kupferbindung zurückblieb), die Lösung durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Kupfer befreit und hierauf eingedunstet, das so erhaltene Produkt zweimal aus einem Gemisch von Weingeist und Ammoniakflüssigkeit umkrystallisirt. So erhielt ich eine aus glänzenden weissen Krystallblättchen bestehende Substanz, welche das Verhalten der Amidovaleriansäure zeigte. Aus derselben stellte ich eine Kupferverbindung dar, indem ich ihre heisse wässrige Lösung in der Wärme mit Kupferoxydhydrat sättigte und sodann im Wasserbade stark einengte. Die schon während des Eindunstens in blauen Krystallen sich ausscheidende Verbindung

war ziemlich schwer löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Wasser. Die Kupferbestimmung gab in der bei 100—105° getrockneten Substanz folgendes Resultat :

0, 4440 g Substanz gaben 0,1026 g CuO.	
Berechnet für :	Gefunden :
$(C_5H_{10}NO_2)_2Cu$	
Cu 21,49	20,98 %.

Wie man sieht, bleibt die gefundene Zahl etwas hinter dem Werth zurück, welcher der Formel des amidovaleriansauren Kupfers $= (C_5H_{10}NO_2)_2Cu$ entspricht. Wahrscheinlich war der analysirten Verbindung ein wenig Leucinkupfer (mit 19,66 % Cu) beigemischt.

Das Amidosäurepräparat wurde nun noch einmal umkrystallisirt : dann wurde aus demselben wieder eine Kupferverbindung dargestellt. Der Kupfergehalt der letzteren entsprach nun den von der Formel des amidovaleriansauren Kupfers geforderten Werthen, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist :

1) 0,2400 g Substanz (bei 110° getrocknet) gaben 0,0650 g CuO	
2) 0,2565 „ „ „ „ „ „ „ „ 0,0690 „ „	
Berechnet für :	Gefunden :
$(C_5H_{10}NO_2)_2Cu$	
Cu 21,49	1 2 21,63 21,49 %.

Aus den Axenorganen der 14—15 tägigen Keimpflanzen konnte ich also hier, ebenso wie in früheren Versuchen, Phenylalanin und Amidovaleriansäure darstellen : die Isolirung von Tyrosin und Leucin gelang dagegen nicht.

Der bei der Behandlung der fein zerriebenen Axenorgane mit kochendem Weingeist verbliebene Rückstand war sehr reich an Asparagin ; ein Extract aus 10 g des lufttrockenen Rückstandes lieferte durch Krystallisation 3,503 g dieses Amides (wasserfrei und nach Abzug der beigemischten Aschenbestandtheile in Rechnung gestellt) = 25,03 %. Diesen Rückstand untersuchte ich nun noch nach bekanntem Verfahren auf das Vorhandensein von Histidin und Arginin (auf Lysin habe ich nicht geprüft). Die bei Zerlegung des Phosphorwolframsäureniederschlages erhaltene Basenlösung gab mit Quecksilberchlorid einen Niederschlag, aus welchem

Discussion der Versuchsergebnisse.

Nachdem ich im Vorigen die bei der Untersuchung von zehn Keimpflanzenculturen unmittelbar erhaltenen Ergebnisse mitgeteilt habe, gehe ich zu den Schlussfolgerungen über, die sich aus diesen Ergebnissen in Bezug auf den Eiweisszerfall und die Asparaginbildung in Keimpflanzen ableiten lassen. Es ist leicht ersichtlich, dass diese Schlussfolgerungen in Uebereinstimmung mit den Ansichten stehen, die ich über den Verlauf jener Prozesse in meiner ersten Abhandlung über den Umsatz der Eiweissstoffe in der lebenden Pflanze ausgesprochen habe: die dort für diese Ansichten beigebrachten Beweise sind aber durch die Ergebnisse der neuen Versuche sehr verstärkt worden.¹⁾

Als ich vor einer langen Reihe von Jahren mich mit dem Studium der in keimenden Pflanzensamen neben Asparagin sich vorfindenden krystallisirbaren Stickstoffverbindungen zu beschäftigen begann, untersuchte ich zunächst fast nur Keimpflanzen, welche mehrere Wochen lang bei Lichtabschluss vegetirt hatten. Warum ich so verfuhr, ist leicht zu verstehen. Es war bekannt, dass ältere etiolirte Keimpflanzen reich an Asparagin sind. Man durfte nun erwarten, dass in solchen Pflänzchen ausser Asparagin auch noch manche andere während des Keimungsvorganges entstandene Stickstoffverbindungen sich anhäufen, und dass in Folge dieser Anhäufung der Darstellung derselben keine grossen Schwierigkeiten entgegenstehen würden.

Diese Erwartung hat sich erfüllt: es gelang uns, aus solchen Keimpflanzen — neben anderen hier nicht zu erwähnenden Stoffen — Arginin, Phenylalanin, Glutamin,

¹⁾ Eine ganz kurze Mittheilung über einige Ergebnisse dieser Untersuchung habe ich in den Berichten der D. Botanischen Gesellschaft, 1900, Märzheft, veröffentlicht. Doch ist inzwischen meine Arbeit durch die Untersuchung einiger Keimpflanzenculturen noch erweitert worden; in Folge davon stimmen auch die im Folgenden gemachten Angaben über die Zahl der untersuchten Culturen nicht genau mit denjenigen überein, die sich in jener vorläufigen Mittheilung finden.

Amidovaleriansäure, Tyrosin, Guanidin und Ricidin darzustellen. Ob wir alle diese Stoffe hätten isoliren können, wenn wir Keimpflanzen von geringem Alter in Untersuchung genommen hätten, muss als sehr fraglich bezeichnet werden.

Eignete sich aber der bei meinen älteren Untersuchungen eingeschlagene Weg auch zur Entdeckung der ausser Asparagin in den keimenden Samen entstehenden Stickstoffverbindungen, so war es doch nicht leicht, auf diesem Wege zugleich einen klaren Einblick in den Verlauf des mit der Keimung verbundenen Eiweisszersetzungsprocesses zu gewinnen. Die grossen Unterschiede, die zwischen verschiedenen Keimpflanzenarten in Bezug auf die Qualität der aus ihnen darstellbaren Stickstoffverbindungen sich zeigten, konnten den Gedanken entstehen lassen, dass der Eiweisszerfall in den verschiedenen Keimpflanzen in ganz ungleicher Weise erfolge. Als auffallend musste es bezeichnet werden, dass zwei bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Säuren, Alkalien oder Trypsin regelmässig zum Vorschein kommende Produkte, nämlich Leucin und Tyrosin, in den etiolirten Keimpflanzen häufig fehlten oder doch nur in minimalen Quantitäten sich vorfanden, auffallend war auch in vielen solchen Keimpflanzen das Mengenverhältniss des Asparagins zu den anderen stickstoffhaltigen Produkten des Eiweissumsatzes. Freilich habe ich zur Erklärung dieses Mengenverhältnisses schon in einer der ersten Abhandlungen, die ich über den Eiweissumsatz in Keimpflanzen publicirte, die Vermuthung ausgesprochen, dass das Asparagin, wenigstens zum Theil, einer Umwandlung anderer, beim Eiweisszerfall in den Keimpflanzen gebildeter Stickstoffverbindungen seine Entstehung verdanke und demgemäss ein secundäres Produkt des Eiweissumsatzes sei; aber es bedurfte doch einer wesentlichen Erweiterung unserer Kenntnisse auf diesem Gebiete durch lange fortgesetzte Untersuchungen, um jene Hypothese bestimmter aussprechen zu können. Letzteres ist von mir in dieser Zeitschrift in der oben genannten Abhandlung geschehen. Zu den Thatsachen aber, die ich dort als Stützen für die von mir vertretenen

Ansichten aufführe, zählen vor Allem auch die Ergebnisse, welche ich bei Untersuchung einiger Keimpflanzenculturen geringen Alters erhielt.

Aus den Resultaten meiner neueren Untersuchungen lässt sich viel leichter erkennen, wie der Eiweisszerfall in den Keimpflanzen verläuft. Um dies darzulegen, will ich zunächst die an 6—7tägigen Papillonaceen-Keimpflanzen von uns gemachten Beobachtungen kurz zusammenstellen, unter Hinzunahme der Ergebnisse, die ich früher schon an drei Culturen solcher Keimpflanzen erhielt. Aus allen von uns untersuchten Culturen, elf an Zahl, liess sich mit Leichtigkeit Leucin darstellen: seine Quantität war, wenn auch viel geringer als diejenige des daneben vorhandenen Asparagins, doch relativ beträchtlich. Aus neun Culturen liess sich auch Tyrosin, jedoch nur in sehr geringer Quantität, isoliren: bei den übrigen Culturen deutete das Eintreten der Tyrosinreaction mit Millon'schem Reagens auf das Vorhandensein minimaler Mengen des genannten Stoffes hin. Hexonbasen konnten aus allen darauf untersuchten Culturen, nämlich aus 3 Culturen von *Vicia sativa* und aus je 2 Culturen von *Pisum sativum*, *Lupinus albus* und *Lupinus luteus* dargestellt werden, und zwar liessen sich fast ohne Ausnahme Arginin, Histidin und Lysin²⁾ nebeneinander nachweisen.

Aus 6—7tägigen Papilionaceen-Keimpflanzen konnten also ausser Asparagin Leucin, Tyrosin und Hexonbasen dargestellt werden — Produkte, welche auch bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Säuren oder durch Trypsin regelmässig erhalten werden, nach denen man aber in den älteren Keimpflanzen häufig vergebens sucht. Es ist klar, dass zur Auffindung der primären Produkte des Eiweisszerfalls die jüngeren Keimpflanzen geeignetere Objecte sind, als die älteren; jener

1) Im Einklang mit diesem Resultat steht Belzung's Angabe über das reichliche Vorkommen von Leucin in 8tägigen Keimpflanzen von *Lupinus albus* (*Annales des sciences naturelles*, 7^e série, Botanique, T. XV, P. 203).

2) Doch ist die Prüfung auf Lysin nicht bei allen Culturen, in denen Hexonbasen nachgewiesen wurden, ausgeführt worden.

Befund ist daher der beste Beweis dafür, dass die mit dem Keimungsvorgang verbundene Eiweisszersetzung der Spaltung gleicht, welche die Eiweissstoffe durch Säuren oder durch Trypsin erleiden. Dabei ist noch von Bedeutung, dass die oben genannten Produkte in den Lupinus-Keimpflanzen, bei denen die Cotyledonen und die übrigen Theile getrennt untersucht wurden, sich in den Cotyledonen vorfanden, an dem Orte also, an welchem die zerfallenden Reserveeiweissstoffe sich befinden, und dass das Mengenverhältniss, in welchem jene Produkte neben einander auftreten, demjenigen nicht unähnlich ist, in welchem man sie bei der Zersetzung pflanzlicher Eiweissstoffe durch Säuren erhält.¹⁾

Ein ganz anderes Bild bieten die Resultate dar, die man bei der Untersuchung 2—3wöchentlicher oder noch älterer etiolirter Papilionaceen-Keimpflanzen erhält. Solche Keimpflanzen sind bekanntlich ausserordentlich reich an Asparagin. Tyrosin habe ich dagegen aus ihnen bis jetzt noch niemals darstellen können. Leucin fand ich in einigen Objecten vor, doch nur in geringer Quantität: aus anderen war es nicht darstellbar. Nur aus einem solchen Object, nämlich aus den etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, konnte ich Arginin in grosser Menge gewinnen: alle anderen von uns untersuchten älteren Papilionaceen-Keimpflanzen lieferten entweder nur äusserst geringe Arginin-Quantitäten oder es liess sich diese Base gar nicht mehr aus denselben isoliren.

Vergleicht man die jüngeren mit den älteren Keimpflanzen in Bezug auf ihren Stoffgehalt, so zeigt sich auf das Deutlichste, dass manche Produkte des Eiweissumsatzes, insbesondere Leucin, Tyrosin und Arginin, mit der fortschreiten-

1) Die Ausbeute an Leucin, die sich freilich nur approximativ bestimmen liess, zeigte bei den verschiedenen 6—7tägigen Keimpflanzen keine grossen Unterschiede: Tyrosin fand sich stets in weit geringerer Menge vor als Leucin. Unter den Hexonbasen prävalirte der Menge nach stets das Arginin. Keine der Hexonbasen wurde in so grosser Quantität erhalten, wie das Leucin, abgesehen davon, dass bei *Lupinus luteus* das Arginin schon in den 6—7tägigen Keimpflanzen in recht beträchtlicher Menge auftrat.

den Entwicklung der Keimpflanzen an Menge abnehmen, während andererseits das Asparagin sich stark vermehrt; jene Stoffe werden also im Stoffwechsel der Keimpflanzen verbraucht und umgewandelt. Ein Verbrauch solcher Stoffe, z. B. des Leucins und des Arginins, ist selbstverständlich auch dann anzunehmen, wenn die Quantitäten dieser Stoffe in einer Keimpflanze nach mehrwöchentlicher Dauer der Vegetation nicht grösser sind, als nach einwöchentlicher; denn mit der Fortdauer des Eiweisszerfalls würden doch, falls nicht ein Verbrauch stattgefunden hätte, die Quantitäten jener Stoffe sich in der Pflanze vermehrt haben.¹⁾

Zur Erklärung der starken Anhäufung des Asparagins in manchen Keimpflanzen habe ich schon vor langer Zeit die Vermuthung ausgesprochen, dass im Stoffwechsel der Keimpflanzen andere Produkte des Eiweissumsatzes in Asparagin umgewandelt werden. Die an Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und *Lupinus angustifolius* von M. Merlis, E. Winterstein, N. Rongger und mir ausgeführten quantitativen Bestimmungen, deren Ergebnisse ich in meiner ersten Abhandlung über den Umsatz der Eiweissstoffe in der lebenden Pflanze mittheilte, haben bewiesen, dass in der That in diesen Keimpflanzen Asparagin auf Kosten anderer Produkte des Eiweissumsatzes gebildet worden war.²⁾ Was für Produkte es sind, die vorzugsweise für diesen Process verwendet werden, darüber konnte ich dort etwas Bestimmtes nicht aussprechen. Hatte ich auch schon das Verschwinden von Tyrosin und Leucin aus *Lupinus*-Keimpflanzen constatirt, so waren dies doch nur vereinzelte Beobachtungen. Aus den Versuchen, deren Ergebnisse in dieser Abhandlung mitgetheilt worden sind, geht aber

1) Wer die obige Schlussfolgerung nicht ziehen will, müsste annehmen, dass im Beginn des Keimungsvorgangs die Eiweissstoffe nach ganz anderer chemischer Gleichung zerfallen, als später; ich glaube aber nicht, dass irgend Jemand geneigt sein wird, eine solche Hypothese aufzustellen.

2) Auch quantitative Bestimmungen, die von Priänischnikow (Landw. Versuchsstat. Bd. 52, S. 347) ausgeführt wurden, sprechen dafür, dass Asparagin als secundäres Produkt des Eiweissumsatzes auftreten kann.

hervor, dass der Verbrauch von Leucin, von Tyrosin und von Hexonbasen in den Papilionaceen-Keimpflanzen eine regelmässige Erscheinung ist; es ist daher sehr wahrscheinlich, dass vorzugsweise diese Stoffe für jenen Asparagin-Bildungsprocess verwendet werden. Doch ist es sehr wohl möglich, dass auch noch andere Produkte des Eiweissumsatzes das gleiche Schicksal haben.

Wie gross die in einer Keimpflanze entstehenden Quantitäten von Leucin, Tyrosin und Arginin sind, wieviel von diesen Stoffen also für die Asparaginbildung zur Verfügung steht, das lässt sich selbstverständlich nicht genau angeben. Am nächsten liegt wohl die Annahme, dass ein Eiweissstoff beim Zerfall in einer Keimpflanze jene Produkte in der gleichen Quantität liefern kann, wie bei der Spaltung ausserhalb des Organismus; doch können vielleicht in bestimmten Fällen manche Umstände verändernd auf das Mengenverhältniss einwirken, in welchem die Eiweisszersetzungsprodukte neben einander entstehen.¹⁾

1) In der 2. Auflage seiner « Pflanzenphysiologie » auf S. 464 kritisiert W. Pfeffer die von mir früher ausgesprochene Annahme, dass beim Zerfall eines Eiweissstoffes in einer Pflanze die einzelnen Amidosäuren in der gleichen Quantität entstehen, wie bei der Zerspaltung dieses Eiweissstoffes ausserhalb des Organismus. Zu dieser Kritik habe ich erstens zu bemerken, dass ich jene Annahme zu einer Zeit ausgesprochen habe, in welcher die Vorstellung, dass die Amidosäuren als constituirende Atomgruppen im Eiweissmolekül enthalten seien — eine Vorstellung, welche zu jener Annahme führen muss — sehr verbreitet bei denjenigen Chemikern war, die sich mit dem Studium der Eiweissstoffe hauptsächlich beschäftigt haben. Nachdem aber Einwände gegen jene Vorstellung erhoben worden waren, habe ich schon 1892 in den Landwirthschaftlichen Jahrbüchern, Bd. XXI, S. 120—121, also lange vor Erscheinen der 2. Auflage des Pfeffer'schen Buchs, erklärt, dass ich der veränderten Sachlage Rechnung tragen und Denjenigen nicht entgegen treten wolle, welche jene Annahme nicht theilen. Zweitens aber möchte ich bezweifeln, dass die bestimmte Art und Weise, in welcher Pfeffer die obige Annahme verwirft, in unserem heutigen Wissen eine genügende Stütze hat. Ob bei der Spaltung eines bestimmten Eiweissstoffes unter verschiedenen Umständen Leucin oder Tyrosin oder Arginin oder irgend eine andere Stickstoffverbindung in wechselnder oder stets in der gleichen Quantität entsteht, das ist eine Frage, die zur Zeit Niemand mit Sicher-

Während in den übrigen von uns untersuchten Papilionaceen-Keimpflanzen allem Anschein nach das Arginin rasch verbraucht wird, häuft es sich dagegen in den Cotyledonen der etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* in starkem Maasse an. Diese Anhäufung deutet darauf hin, dass die genannte Base hier dem Verbrauch entzogen ist; worin der Grund dafür liegt, entzieht sich freilich bis jetzt unserer Kenntniss. Bei *Lupinus luteus* sowohl wie bei einigen anderen Papilionaceen häufen sich in den etiolirten Keimpflanzen ferner Phenylalanin und Amidovaleriansäure an, jedoch nicht in starkem Maasse. Sie finden sich vorzugsweise in den Axenorganen der älteren Keimpflanzen. In 6—7 tägigen Keimpflanzen traten sie nur in sehr geringer Menge auf und waren in einigen solchen Objecten gar nicht nachzuweisen; es ist daher wahrscheinlich, dass diese beiden Amidosäuren beim Zerfall der Eiweissmoleküle nur in kleiner Quantität entstehen.¹⁾

Ein ungleicher Verbrauch der einzelnen Eiweisszersetzungsprodukte in den verschiedenen Keimpflanzenarten kann zur Folge haben, dass in Bezug auf den Stoffgehalt bei den älteren Keimpflanzen grosse Verschiedenheiten hervortreten.²⁾

heit beantworten kann. Die Entscheidung dieser Frage kann nur durch das Experiment gegeben werden. Man hat ja gerade in neuester Zeit Quantitätsbestimmungen der bei der Eiweisspaltung entstehenden Produkte in Angriff genommen; doch können die dabei erhaltenen Resultate selbstverständlich nur entscheidend sein, wenn man sicher ist, dass secundäre Zersetzungen der primären Spaltungsprodukte vermieden wurden.

1) In seinem Werke «die chemische Energie der lebenden Zellen» spricht O. Loew die Vermuthung aus, dass die in den Keimpflanzen auftretende Amidovaleriansäure durch Oxydation des Leucins oder durch Zersetzung des Arginins entstanden sei. Diese Frage lässt sich vielleicht discutiren, sobald man über die Constitution jener Amidovaleriansäure etwas weiss (Versuche darüber sind von uns in Aussicht genommen).

2) Auch in der gleichen Keimpflanzenart kann wohl der Verbrauch einzelner Eiweisszersetzungsprodukte unter verschiedenen Umständen ein ungleicher sein. Auf diese Ursache sowie auf den Umstand, dass in manchen Keimpflanzen, bald Asparagin bald Glutamin in grösserer Menge

Eine Stütze für die Annahme, durch welche ich die Anhäufung des Asparagins in den Keimpflanzen zu erklären gesucht habe, bildet auch die ungleiche Vertheilung der Eiweisszersetzungsprodukte innerhalb der Keimpflanzen. Ich habe dies schon in der ersten Abhandlung dargelegt, komme aber hier darauf zurück, weil ich inzwischen durch Versuche an *Lupinus luteus* über jene Vertheilung noch mehr Aufschluss gewonnen habe. Nach diesen Versuchen enthalten die Cotyledonen 6—7tägiger Keimpflanzen der genannten *Lupinus*-Art Asparagin in beträchtlicher Menge, ferner Leucin, Tyrosin, Arginin, Histidin und Lysin; auf das Vorhandensein einer sehr kleinen Quantität von Phenylalanin deutet das Entstehen einer geringen Benzoesäuremenge bei der Oxydation der Amidosäuren hin; Amidovaleriansäure konnte nicht nachgewiesen werden. In den Axenorganen der gleichen Keimpflanzen fand sich Asparagin, und zwar in viel grösserer Quantität als in den Cotyledonen, ferner Phenylalanin sowie

sich bildet, ist wohl das wechselnde Auftreten der Eiweissumsatzprodukte in den Keimpflanzen (vgl. meine Abhandlungen in dieser Zeitschrift, Bd. XX, S. 306 und Bd. XXII, S. 411) zurückzuführen. Doch ist darauf aufmerksam zu machen, dass manche Erscheinungen, die ich früher als Beispiele für dieses «wechselnde Auftreten» anführte, inzwischen in anderer Weise ihre Erklärung gefunden haben, so z. B. die Unterschiede, die zwischen Belzung's und meinen Beobachtungen über den Stoffgehalt von *Lupinus albus* und *Lupinus luteus* sich zeigten. Belzung fand bei *Lupinus albus* in 8tägigen Keimpflanzen viel Leucin, während ich aus den Axenorganen in 10- und 14tägigen etiolirten Pflänzchen nur Phenylalanin und Amidovaleriansäure erhalten konnte. Inzwischen haben aber Wassiliew und ich aus einwöchentlichen Keimpflanzen von *Lupinus albus* leicht Leucin darstellen können und zwar aus den Cotyledonen (die Axenorgane enthalten auch bei diesen Pflänzchen mehr von jenen anderen Amidosäuren als von Leucin). Ebenso stimmt Belzung's Angabe, dass Keimpflanzen von *Lupinus luteus* Tyrosin lieferten, mit dem Resultat überein, das ich bei Untersuchung 8tägiger Keimpflanzen dieser *Lupinus*-Art erhielt. Ueberhaupt ist nach den jetzt vorliegenden Erfahrungen der Stoffgehalt der unter gleichen Umständen gezogenen verschiedenen Culturen der gleichen Keimpflanzenart constant, als ich damals annehmen konnte; Unterschiede aber können sich zeigen, sobald diese Culturen unter verschiedenen Bedingungen, z. B. mit oder ohne Lichtzutritt, gezogen sind.

Amidovaleriansäure: Leucin und Tyrosin waren nicht nachzuweisen und können höchstens in sehr kleiner Quantität vorhanden gewesen sein: Arginin fehlte nicht völlig, war aber zweifellos in weit geringerer Menge vorhanden, als in den Cotyledonen. Die grosse Verschiedenheit zwischen dem Stoffgehalt der Cotyledonen und der Axenorgane, die sich, freilich nicht in dem gleichen Grade, auch bei den Keimpflanzen anderer Papilionaceen wieder findet, lässt sich auf Grund der oben erwähnten Annahme in folgender Weise erklären: Die beim Eiweisszerfall in den Cotyledonen entstandenen Produkte (Asparagin, Leucin, Tyrosin u. s. w.) fliessen den im Wachstum begriffenen Theilen der Keimpflanzen zu¹⁾; zugleich wird aber ein grosser Theil dieser Produkte in Asparagin umgewandelt; daher finden wir dieses Amid in den Axenorganen in weit grösserer Quantität, ja sogar zuweilen in stärker concentrirter Lösung als in den Cotyledonen,²⁾ während dagegen andere Eiweisszersetzungsprodukte, wie z. B. Leucin und Tyrosin, nur in den Cotyledonen, nicht aber in den Axenorganen sich nachweisen lassen.

Der Eiweisszerfall ist bei *Lupinus luteus* in den 6—7tägigen Keimpflanzen ein sehr lebhafter; in den 14—15tägigen Pflänzchen findet er nur noch mit geringerer Intensität statt. Bei den letzteren finden wir in den Cotyledonen neben sehr beträchtlichen Quantitäten von Asparagin und von dem hier anscheinend dem Verbrauch ganz entzogenen Arginin Amidosäuren (wahrscheinlich ein Gemenge von Phenylalanin, Leucin und Amidovaleriansäure) nur in äusserst geringer Menge, in den Axenorganen dagegen eine ausserordentlich grosse Menge von Asparagin sowie ziemlich beträchtliche Quantitäten von Phenylalanin und Amidovaleriansäure. Die Anhäufung des Asparagins erklärt sich in der eben angegebenen Weise: für die gleichzeitig, wenn auch in ungleich geringerem Maasse stattfindende

1) Doch scheint das Arginin grösstentheils in den Cotyledonen zurückzubleiben.

2) Wie sich aus früher von mir ausgeführten Bestimmungen ergibt: man vergl. Landwirthsch. Jahrbücher, Bd. 7, S. 424 u. 435.

Anhäufung von Phenylalanin und Amidovaleriansäure hat man eine Erklärung, wenn man annimmt, dass diese beiden beim Zerfall der Eiweissmoleküle wahrscheinlich nur in geringer Quantität entstehenden Amidosäuren in den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* der Umwandlung entgehen. Diese Annahme kann auch für andere Papilionaceen-Keimpflanzen gelten: denn jene beiden Amidosäuren finden sich auch in den Axenorganen etiolirter Keimpflanzen von *Lupinus albus*, sowie in etiolirten Wicken-Pflänzchen vor.

Eine befriedigende Erklärung für die ungleiche Vertheilung der Eiweisszersetzungsprodukte auf Cotyledonen und Axenorgane zu finden, ohne die in Bezug auf die Bildungsweise des Asparagins von mir ausgesprochene Annahme zu Hülfe zu ziehen, dürfte nicht leicht sein. Da wir anzunehmen haben, dass auch in den im Dunkeln sich entwickelnden Pflanzen bei genügendem Vorhandensein stickstoffreicher Stoffe Amide zu Eiweiss regenerirt werden können, so könnte man auf den Gedanken kommen, das Fehlen von Leucin, Tyrosin u. s. w. in den Axenorganen auf einen Verbrauch dieser Stoffe für die synthetische Eiweissbildung zurückzuführen. Letzteres würde aber, da die wachsenden Theile etiolirter Keimpflanzen sehr eiweissarm sind und da also nur ein kleiner Theil der aus den Cotyledonen zufließenden Eiweisszersetzungsprodukte in ihnen wieder in Eiweiss umgewandelt wird,¹⁾ nur möglich sein unter der Voraussetzung, dass erstens beim Zerfall der Eiweissmoleküle das Asparagin in weit grösserer Quantität entsteht, als alle übrigen stickstoffhaltigen Produkte zusammengenommen, und dass zweitens in den Keimpflanzen nicht auf Kosten von Asparagin, sondern nur auf Kosten anderer Eiweisszersetzungsprodukte (Amidosäuren u. s. w.) synthetische Bildung von Eiweissstoffen stattfindet. Dass die letztere Annahme eine ganz unwahrscheinliche

1) Allerdings kann die in den Axenorganen neu gebildete Eiweissmenge grösser sein, als es den Anschein hat; denn auch in den Axenorganen findet ja höchstwahrscheinlich Eiweisszerfall statt. Doch würde es sehr gewagt sein, anzunehmen, dass dieser Eiweisszerfall in den Axenorganen die Spaltungsprodukte in ganz anderem Mengenverhältniss liefert, als in den Cotyledonen.

ist, werde ich weiter unten noch zeigen; was die erste Annahme betrifft, so ist sie zwar von einigen Autoren ausgesprochen worden; man hat aber für dieselbe keine andere experimentelle Stütze beizubringen vermocht, als eben die Thatsache, dass in den Keimpflanzen das Asparagin in so ausserordentlich grosser Quantität auftritt. Nachdem aber von mir nachgewiesen worden ist, dass die Anhäufung des Asparagins von einem Verbrauch von Leucin, Tyrosin, Arginin u. s. w. begleitet ist und dass jenes Amid auf Kosten anderer Produkte des Eiweissumsatzes in den Pflänzchen sich bildet, kann jene Thatsache nicht mehr als eine Stütze für die obige Annahme betrachtet werden. Auch steht diese Annahme nicht im Einklang mit den Kenntnissen, die wir über das chemische Verhalten der Eiweissstoffe ausserhalb des Organismus besitzen. Demnach muss diese Annahme als eine nicht nur ganz unbewiesene, sondern auch sehr unwahrscheinliche auf das Entschiedenste zurückgewiesen werden.

Ich muss nun noch einen Blick auf die Zusammensetzung der von uns untersuchten normalen, d. h. am Licht erwachsenen Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, *Lupinus albus* und *Vicia sativa* werfen, welche ein Alter von mindestens 14 Tagen erreicht hatten und theils in Sand, theils in fruchtbarer Erde im Freien gezogen worden waren. Diese Pflänzchen lieferten bei der Untersuchung meistens nur eine Amidosäure, nämlich Leucin, und zwar nur in sehr geringer Quantität. Arginin war in den Cotyledonen der Pflänzchen von *Lupinus luteus* nachzuweisen, fand sich aber hier in weit geringerer Quantität vor als in den Cotyledonen der etiolirten Pflanzen gleicher Art. Alle diese normalen Pflänzchen enthielten Asparagin in sehr grosser Quantität. Zum Beweise führe ich im Folgenden nur die Zahlen an, welche von N. Wassilieff nach Sachsse's Methode für den Asparagingehalt der Trockensubstanz der verschiedenen Theile 14tägiger normaler Pflanzen von *Lupinus albus* erhalten wurden:¹⁾

¹⁾ Zur Kontrolle der nach Sachsse's Methode erhaltenen Zahlen wurden aber auch die Asparaginnengen bestimmt, die sich aus den Extracten durch Krystallisation erhalten liessen.

Blätter	6,65°	Asparagin
Cotyledonen	17,59°	„
Stengel	21,12°	„
Wurzel	10,23°	„

So viel nach den bisher vorliegenden Versuchen sich urtheilen lässt, finden sich in den normalen grünen Pflanzen auf die gleiche Asparaginnmenge viel weniger andere krystallisirbare Produkte des Eiweissumsatzes (Amidosäuren und Hexonbasen) vor, als in den etiolirten Pflanzen gleichen Alters. Diese Erscheinung erklärt sich, wenn man die von vornherein nicht unwahrscheinliche Annahme macht, dass gerade in den normalen Pflanzen die Verhältnisse für die Umwandlung anderer Produkte des Eiweissumsatzes in Asparagin besonders günstig liegen. Mit Hülfe dieser Annahme erklärt sich dann auch leicht die schon vor langer Zeit von mir gemachte Beobachtung, dass in Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, welche nach 10-tägigem Verweilen im Dunkeln aus Licht gebracht worden waren, in den ersten Wochen die absolute Asparaginnmenge noch eine Vermehrung erfahren hatte, obwohl gleichzeitig auch eine Zunahme der Eiweissmenge eingetreten war. Aus dieser Beobachtung glaubte ich damals den Schluss ziehen zu sollen, dass nicht auf Kosten von Asparagin, sondern nur auf Kosten anderer nicht eiweissartiger Stickstoffverbindungen die Eiweissbildung erfolgt sei (eine Schlussfolgerung, die ich jedoch bald wieder verlassen habe). Aehnlich hat sich später D. Prianischnikow¹⁾ ausgesprochen, nachdem er die Beobachtung gemacht hatte, dass in jungen, an Eiweisszersetzungsprodukten reichen Papilionaceen-Pflänzchen, in denen unter dem Einfluss der im Assimilationsprocess erzeugten Kohlenhydrate eine Vermehrung der Eiweissstoffe stattgefunden

1) Berichte der D. Botanischen Gesellschaft 1899, Bd. XVII, S. 151, ausführlicher in den „Landw. Versuchsstationen“, Bd. 52, S. 347. Der Versuch, den Prianischnikow speciell mit *Lupinus luteus* anstellte, zeigte in den Resultaten einige Verschiedenheiten von den meinigen, was sich aber leicht aus der Ungleichheit der Versuchsbedingungen erklärt; ich verweise auf Bemerkungen, die ich darüber in den „Landw. Versuchsstationen“ machen werde.

hatte, eine weit geringere Abnahme des Asparagins als der übrigen nicht proteinartigen Stickstoffverbindungen zu beobachten war (insbesondere in Pflänzchen von *Pisum sativum* hatte trotz starker Vermehrung der Eiweissstoffe das Asparagin nur ganz unbedeutend an Menge abgenommen). Prjanschnikow nimmt an, dass in solchen Fällen der Stickstoff für die Eiweiss-synthese in der Hauptsache nicht vom Asparagin, sondern von andern Eiweisszersetzungsprodukten (Amidosäuren) geliefert worden sei.

Nach unserem heutigen Wissen kann diese Schlussfolgerung nicht mehr als eine berechtigte angesehen werden: denn erstens erklärt sich die Nichtverringering der Asparaginmenge in den ans Licht gebrachten Keimpflanzen sehr leicht aus der Bildung von Asparagin auf Kosten anderer Eiweisszersetzungsprodukte, und zweitens spricht sehr Vieles dafür, dass gerade das Asparagin ein für die Eiweiss-synthese in der Pflanze leicht verwendbares Material ist. Die Beobachtungen, welche eine Stütze für letztere Annahme bilden, will ich im Folgenden zusammenstellen.

Bekanntlich verfolgte W. Pfeffer¹⁾ die Wanderung der Glucose und des Asparagins in *Lupinus*-Keimpflanzen mit Hilfe des Mikroskops und kam dabei zu dem Resultat, dass Alles, was hinsichtlich der Zeit des Auftretens, der Art der Wanderung und des Verschwindens in den wachsenden Organen für Glucose zu beobachten ist, in den wesentlichen Zügen auch für das Asparagin gilt: er zieht daraus den Schluss, dass, ebenso wie die Glucose Baumaterial für die Zellhaut, so das Asparagin Baumaterial für die eiweissartigen Stoffe des Protoplasmas ist. Dieser Schlussfolgerung haben andere Botaniker, z. B. Borodin²⁾ sich angeschlossen. Auf den Verbrauch des Asparagins in den Blättern, die man als den Sitz einer lebhaften Eiweissbildung betrachtet, deuten auch die Resultate quantitativer

¹⁾ Pringheim's Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. VIII, S. 429, sowie landw. Jahrbücher 1876, S. 87.

²⁾ Botanische Zeitung 1878, S. 802.

Bestimmungen hin. So fand ich¹⁾ z. B. bei Untersuchung junger Pflanzen von *Medicago sativa* in den Stengeln weit mehr Asparagin, als in den Blättern; noch ärmer an diesem Amid waren Blätter, von denen vor der Untersuchung die Blattstiele abgetrennt worden waren. Bei Untersuchung von Pflänzchen von *Lupinus luteus*, die zuerst im Dunkeln, dann ca. 4 Wochen lang im Freien am Licht vegetirt hatten, erhielt ich aus den Laubblättchen nebst Stielen und Stammspitze nur 6% Asparagin, aus den übrigen Teilen (Hypocotyles Glied, Wurzel und Cotyledonen) dagegen 18,4% Asparagin (die Zahlen sind Procente der Pflanzentrockensubstanz; das Asparagin wurde in Krystallform gewonnen.)²⁾ Bei Untersuchung 14 tägiger grüner Pflänzchen von *Lupinus albus*, welche im Freien in fruchtbarer Erde gewachsen waren und 5—7 Laubblättchen entwickelt hatten, fand N. Wassilieff³⁾ in den Blättern mit Blattstielen 6,7%, in den Stengeln dagegen 21,1% Asparagin;⁴⁾ wahrscheinlich wäre die Differenz noch grösser gewesen, wenn man die Blätter zuvor von den Stielen befreit hätte. Dass der Mindergehalt an Asparagin in den Blättern auf einen Verbrauch dieses Amids zur Eiweissbildung zurückzuführen ist, darf auch aus der nachfolgenden Tabelle geschlossen werden, in welcher die Vertheilung des Gesamtstickstoffs auf Proteinstoffe, Asparagin etc. in den Blättern und in den Stengeln nach Wassilieff's Analysen angegeben ist:

1) Landw. Jahrbücher 1888, S. 688—689. Ich reproducire hier die bezüglichen Angaben:

170 g frische Blätter mit Blattstielen	lieferten	0,4 g Asparagin
200 „ „ „	ohne Blattstiele	„ 0,1 „ „
200 „ „	Stengel	1,17 „ „
390 „ „	(anderes Material)	1,50 „ „

Das Asparagin wurde durch Ausfällung mit Mercurinitrat zur Abscheidung gebracht und in Krystallform gewonnen.

2) Mitgetheilt in den Landwirthsch. Jahrbüchern, 1880, Bd. 9, S. 729.

3) Nach einer noch nicht publicirten Untersuchung, die in meinem Laboratorium ausgeführt wurde.

4) Bestimmt nach Sachsse's Methode; die Zahlen bedeuten Procente der Trockensubstanz.

	Vom Gesamtstickstoff fallen			
	auf Protein- stoffe	auf den Phosphor- wolframsäure- niederschlag	auf Asparagin	auf andere Verbindungen
In den Blättern	62.56	8,06	21.46	7,92
In den Stengeln	23.04	6,20	66.17	4.59

Diese Zahlen sprechen auf das Entschiedenste dafür, dass in den Blättern das Asparagin einem lebhaften Verbrauch zur Eiweissbildung unterlag,¹⁾ während sie dagegen keine Stütze für die Annahme liefern, dass andere Amidverbindungen in der gleichen Weise verwendet wurden. Aus den quantitativen Bestimmungen Kosutany's²⁾ scheint hervorzugehen, dass in den Blättern während der Nacht das Asparagin zur Eiweissbildung verwendet wird (als Versuchspflanze diente in diesem Falle die amerikanische Weinrebe.) Hansteen³⁾ schliesst aus seinen Versuchen, dass in den mit einem Gemisch von Asparagin und Traubenzucker ernährten Versuchspflanzen lebhaftere Eiweissbildung erfolgte. Shibata⁴⁾ folgert aus seinen Beobachtungen, dass in Bambus-Schösslingen, in denen zeitweilig Asparagin in beträchtlicher Menge auftritt, die Bildung von Eiweissstoffen auf Kosten dieses Amids leicht und rasch erfolgen kann.

Für die Annahme, dass Leucin und Tyrosin ein besseres oder auch nur eben so gutes Material für die Eiweiss-synthese sind, als das Asparagin, liegen Beweise bis jetzt nicht vor.

1) Sollte es noch einer weiteren Stütze für diese Schlussfolgerung bedürfen, so kann ich mittheilen, dass ich die Blättchen etiolirter Keimpflanzen von *Lupinus albus* (nur das erste Blättchenpaar entwickelt sich an solchen Pflänzchen) sehr reich an Asparagin fand; die luft-trockenen Blättchen lieferten 17,7% Asparagin (abgeschieden durch Krystallisation aus dem wässrigen Extract).

2) Landw. Versuchsstationen, Bd. XLVIII, S. 13.

3) Bericht der deutschen botanischen Gesellschaft 1896, Bd. XIV, S. 312.

4) Botanisches Centralblatt 1899, Nr. 44.

Hansteen (loc. cit.) erhielt negative Resultate, als er in dem seinen Versuchspflanzen zugeführten Nährstoffgemisch das Asparagin durch Leucin oder Tyrosin ersetzte. Negative Resultate erhielt auch Lutz,¹⁾ als er Pflanzen mit Leucin und Tyrosin zu ernähren versuchte. Die von Lutz aus seinen Versuchen abgeleitete Schlussfolgerung, dass diese beiden Amidosäuren unassimilirbar für phanerogame Pflanzen seien, muss aber, als nicht genügend begründet, zurückgewiesen werden.²⁾ Nach den Beobachtungen Shibata's (loc. cit.) wird in den Bambusschösslingen das Tyrosin schwieriger und später zur Eiweissbildung verbraucht, als das Asparagin. Auch für den Hefepilz³⁾ scheint das Leucin ein weit ungünstigeres Nährmaterial zu sein, als das Asparagin.⁴⁾ Selbstverständlich machen aber diese Thatsachen nicht die Annahme unmöglich, dass unter geeigneten Bedingungen auch solche Amidosäuren für die Eiweiss-synthese von Werth sind.⁵⁾

Die im Vorigen aufgeführten Thatsachen machen es sehr wahrscheinlich, dass die Umwandlung des Leucins, Tyrosins oder anderer Eiweisszersetzungsprodukte in Asparagin in den Keimpflanzen den Zweck hat, Stickstoffverbindungen, die hier für die Eiweiss-synthese aus irgend einem Grunde nicht leicht verwendbar sind, in ein für diese Synthese geeigneteres Material umzuformen. Der Grund, aus welchem manche Eiweisszersetzungsprodukte für den genannten Process nicht so gut verwendbar sind wie Asparagin, kann entweder in der chemischen

1) Annales des sciences naturelles, 8^e série Botanique, T. VII, Nr. 1.

2) Ich verweise auf die Kritik der bezüglichen Angaben von Lutz, die ich in den Berichten der deutschen botanischen Gesellschaft 1900, Bd. XVIII, S. 40, Anmerkung 6 gegeben habe.

3) A. Mayer, Lehrbuch der Gährungschemie, 1. Auflage, S. 111, sowie Lintner, Handbuch der landwirthschaftlichen Gewerbe, S. 236.

4) Die Beweiskraft der älteren Versuche von Knop und Wolf über die Möglichkeit der Ernährung von Culturpflanzen mit Leucin und Tyrosin wird neuerdings angezweifelt, weil es denkbar ist, dass jene beiden Amidosäuren in den nicht sterilisirten Nährstofflösungen vor ihrer Aufnahme in die Pflanzen unter Ammoniakkbildung zersetzt worden sind.

5) Man vergleiche auch A. Emmerling's Studien über die Eiweissbildung in der Pflanze (Landw. Versuchsstationen, Bd. XXXIV, S. 1.

Constitution dieser Produkte oder in anderen Eigenschaften derselben, z. B. auch in ihrem osmotischen Verhalten liegen. Für den Transport im Säftestrom kann die Pflanze, so müssen wir annehmen, nicht jede in ihrem Stoffwechsel entstandene lösliche Stickstoffverbindung gebrauchen: es kann uns daher nicht überraschen, wenn Umformungen solcher Verbindungen stattfinden. Das Gleiche gilt ja auch für die stickstofffreien Pflanzenbestandtheile. So sehen wir, dass gewisse lösliche Kohlenhydrate (Lupeose etc.) in der Pflanze in andere Formen, z. B. in Rohrzucker umgewandelt werden.¹⁾ Die Bildung dieser Zuckerart weist noch in anderer Beziehung eine Analogie mit der Asparaginbildung auf. Wir finden den Rohrzucker, den wir doch gewiss als einen in der Pflanze leicht verwendbaren Reservestoff anzusehen haben, in kleiner Quantität in vielen Pflanzensamen, und zwar scheint er vorzugsweise im Blatt- und Wurzelkeim enthalten zu sein (bestimmt nachgewiesen ist dies beim Weizenkorn). Während der Keimung der Samen sehen wir den Rohrzucker an Quantität sich nicht verringern, sondern sogar zunehmen, während dagegen andere lösliche Kohlenhydrate gleichzeitig an Menge abnehmen. Auf den ersten Blick könnte man denken, dass die Pflanzen nur die letzteren Kohlenhydrate, nicht aber den Rohrzucker, für Wachstumszwecke verwendet haben; diese Schlussfolgerung würde aber gewiss eine irrige sein, gerade so wie es nach meiner Ansicht auch unrichtig ist, aus der Nichtabnahme des Asparagins in jungen Papilionaceenpflänzchen zu schliessen, dass hier das Asparagin nicht zum Verbrauch gelange.

Wie ich im Vorigen gezeigt zu haben glaube, ist die Annahme, dass in den Keimpflanzen auf Kosten anderer Produkte des Eiweissumsatzes Asparagin sich bildet, nicht nur eine gut begründete, sondern sie ist auch nothwendig für das Verständniss der an den Keimpflanzen gemachten Beobachtungen. Ich möchte hier nur noch darauf aufmerksam machen, dass auch die an

¹⁾ Man vergleiche unsere Untersuchungen über die Verbreitung des Rohrzuckers in den Pflanzen und über seine physiologische Rolle. Diese Zeitschrift, Bd. XX. S. 511 und Bd. XXVII, S. 267.

normalen Keimpflanzen beobachteten Erscheinungen eine starke Stütze für diese Annahme bilden. Da wir das Asparagin als ein für die Eiweiss-synthese in der Pflanze sehr geeignetes Material anzusehen haben, so würde ohne die obige Annahme es geradezu räthselhaft sein, dass normale, lebhaft assimilirende Pflänzchen sehr reich an Asparagin sind, während in ihnen Amidosäuren und Hexonbasen theils nur in sehr geringer Menge vorhanden sind, theils ganz fehlen.

Dass die Bildung von Asparagin auf Kosten anderer Eiweisszersetzungsprodukte ein für die Pflanze nützlicher Vorgang ist, kann man im Hinblick auf die im Vorigen mitgetheilten Thatsachen wohl annehmen. Wie dieser Process in der Pflanze verläuft, darüber lassen sich zur Zeit nur Vermuthungen äussern. Da wir aber nicht daran zweifeln können, dass die Pflanze befähigt ist, Umformungen sowie Synthesen complicirt zusammengesetzter organischer Verbindungen mit Leichtigkeit auszuführen, so kann die Annahme einer Umwandlung von Leucin, Tyrosin und anderen Stickstoffverbindungen in Asparagin im pflanzlichen Stoffwechsel kaum auf Bedenken stossen.

Dass höchstwahrscheinlich das in manchen Keimpflanzen sich anhäufende Glutamin die gleichen Functionen im pflanzlichen Stoffwechsel zu erfüllen vermag, wie das Asparagin, ist in der ersten Abhandlung von mir ausgesprochen worden: im Vorigen habe ich von diesem Amid nur deshalb nicht gesprochen, weil dasselbe in den Keimpflanzen der Papilionaceen fehlt oder doch nur in sehr kleiner Quantität vorhanden ist. In den glutaminreichen Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* und *Ricinus communis* habe ich neben Glutamin Amidosäuren (Leucin, Tyrosin) und Arginin nachgewiesen; dass die Anhäufung des Glutamins von einem Verbrauch anderer Eiweisszersetzungsprodukte begleitet ist, darf wohl aus den an *Ricinus*keimpflanzen ausgeführten quantitativen Bestimmungen geschlossen werden.

Für die Entscheidung der Fragen, mit denen ich mich in dieser Abhandlung beschäftigt habe, sind die Keimpflanzen der Papilionaceen besonders günstige Objecte. Denn in ihnen findet während des ersten Keimungsstadiums ein sehr rascher

Eiweisszerfall statt. Man kann daher erwarten, in ihnen während dieses Keimungsstadiums einen beträchtlichen Theil der primären Eiweisszersetzungsprodukte noch unverändert vorzufinden. Weit ungünstigere Objecte sind die Keimpflanzen der Getreidearten. Nicht nur sind dieselben weit ärmer an Stickstoffverbindungen, sondern es verläuft auch in ihnen der Eiweisszerfall weit langsamer. Wenn nun auch hier die primären Eiweisszersetzungsprodukte in Asparagin sich umwandeln, so wird der Gehalt der Keimpflanzen an Produkten der ersteren Art bald ein so niedriger werden, dass der Nachweis dieser Produkte auf sehr grosse Schwierigkeiten stösst.

Ich komme zum Schlusse. Die in meiner ersten Abhandlung über den Eiweissumsatz in der lebenden Pflanze ausgesprochenen Ansichten haben durch die Versuche, deren Resultate ich im Vorigen mitgetheilt habe, neue Stützen erhalten. Die von mir aufgestellte Hypothese, dass beim Zerfall der Eiweissstoffe in den Keimpflanzen überall im Wesentlichen die gleichen Produkte entstehen, habe ich für die von mir untersuchten Papilionaceenkeimpflanzen beweisen können: ich vermochte zu zeigen, dass 6–7tägige Keimpflanzen von *Vicia sativa*, *Pisum sativum*, *Lupinus luteus* und *Lupinus albus* sämtlich Asparagin, Leucin, Tyrosin, Arginin, Histidin und Lysin enthalten. Ferner habe ich nachweisen können, dass die Anhäufung des Asparagins in den Keimpflanzen von einem Verbrauch anderer Eiweisszersetzungsprodukte, insbesondere des Leucins, Tyrosins und Arginins, begleitet ist. Diese Stoffe gelangen aber nicht überall gleichmässig zum Verbrauch, wie z. B. daraus hervorgeht, dass bei *Lupinus luteus* auch Arginin sich ansammelt, und dass die älteren etiolirten Keimpflanzen zuweilen Leucin noch in ziemlich beträchtlicher Quantität, zuweilen aber nur in sehr kleiner Menge enthalten. Aus diesen Thatsachen ist aber zu schliessen, dass die wechselnde Zusammensetzung des in den älteren etiolirten Keimpflanzen sich findenden Gemenges von Eiweisszersetzungsprodukten, das fast völlige Fehlen einzelner Amidosäuren und Hexonbasen in diesem Gemenge, sowie das Ueberwiegen von Asparagin oder Glutamin durch die Umwand-

lungen verursacht werden, denen ein grosser Theil der primären Eiweisszersetzungsprodukte im pflanzlichen Stoffwechsel unterliegt.¹⁾ Aus diesen Thatsachen ergibt sich zugleich die völlige Unhaltbarkeit der Hypothese, dass die Eiweissstoffe in den Keimpflanzen in Asparagin und ein Kohlenhydrat zerfallen.

Bekanntlich glaubt man, dass beim Eiweisszerfall im Thierkörper Amidosäuren der fetten Reihe, aromatische Amidosäuren und Hexonbasen als Vorstufen des Harnstoffs sich bilden: wie aus ihnen später Harnstoff entsteht, darüber kann man sich auf Grund der Arbeiten E. Drechsel's²⁾ und Anderer eine Vorstellung machen. Jene Stickstoffverbindungen, deren Entstehung beim Zerfall der Eiweissmoleküle im Thierkörper für sehr wahrscheinlich gehalten wird, sind in den Keimpflanzen mit Sicherheit nachgewiesen worden: sie finden sich, wie ich gezeigt habe, in 6—7tägigen Papilionaceen-Keimpflanzen neben einander vor. Daraus ist aber zu ersehen, in welcher Weise hier der Abbau der Eiweissstoffe erfolgt. Man wird den bezüglichen Process für eine hydrolytische Spaltung erklären dürfen, so lange, als man die zu den gleichen Produkten führenden Zersetzungen der Eiweissstoffe durch Säuren und durch Trypsin als hydrolytische Spaltungen betrachtet.

Anhang.

Nachdem nachgewiesen ist, dass in Papilionaceen-Keimpflanzen, deren Vegetationsdauer nur eine Woche betragen hat, Leucin, Tyrosin und Hexonbasen neben Asparagin regelmässig auftreten, muss die Frage nach dem Agens, das in den keimenden Samen die Eiweissstoffe zum Zerfall bringt,

1) Doch halte ich es für möglich, aber zur Zeit für unbewiesen, dass ein ungleicher Abbau der Eiweissmoleküle einen Theil der Unterschiede bedingen kann, die sich hinsichtlich des Gehalts an Amidosäuren etc. zwischen verschiedenen Keimpflanzenarten finden (ich verweise auf die Aeusserungen, die ich darüber in dieser Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 426 ff., gemacht habe).

2) Man vgl. E. Drechsel, der Abbau der Eiweissstoffe. Archiv für Anatomie und Physiologie, Physiolog. Abtheilung, 1891, S. 248—254.

sich wieder aufdrängen. Es liegt nahe, zu vermuthen, dass jene Eiweisszersetzungsprodukte der Wirksamkeit eines trypsinartigen Enzyms ihre Entstehung verdanken. Einer solchen Annahme stehen aber die Ergebnisse entgegen, zu denen R. Neumeister¹⁾ in seiner auch von mir²⁾ früher schon erwähnten Untersuchung gelangte. Dieser Forscher suchte die Absorbirbarkeit eiweisslösender Enzyme durch frisches Blutfibrin zur Abscheidung solcher Enzyme aus den Pflanzenextracten zu verwerthen. In manchen Keimpflanzen konnte er auf diesem Wege in der That ein eiweisslösendes Enzym nachweisen: aber gerade bei den Keimpflanzen von Papilionaceen (Lupine, Wicke und Erbse) erhielt er negative Resultate und schliesst daraus, dass bei diesen Objecten ein solches Enzym fehlt.

Zu der entgegengesetzten Schlussfolgerung ist Green³⁾ durch die von ihm an Lupinenkeimpflanzen gemachten Versuche gekommen: er erklärt, dass diese Keimpflanzen ein eiweisslösendes Enzym enthalten. Neumeister (loc. cit.) hält Green's Versuche nicht für beweisend und meint, dass die verdauende Wirkung des von Green verwendeten Glycerinextracts aus Lupinenkeimpflanzen auf Rechnung der zugefügten 0,2^o Salzsäure zu setzen sei: denn auch 0,2^o oige Salzsäure vermöge ohne Gegenwart von eiweisslösendem Enzym aufgequollenes Fibrin bei Körpertemperatur langsam unter Peptonbildung zu lösen. Doch ist darauf hinzuweisen, dass Green Kontrollversuche ausführte, um sich gegen einen Irrthum solcher Art zu sichern, und dass er ferner die Bildung krystallinischer Zersetzungsprodukte bei Einwirkung seines Glycerinextracts auf Eiweissstoffe beobachtete — eine Erscheinung, die doch wohl nicht der Wirkung der 0,2^o oigen Salzsäure zugeschrieben werden kann.

Um einen Beitrag zur Lösung dieser Frage zu liefern, hat W. Butkewitsch in meinem Laboratorium Versuche nach

1) Zeitschrift für Biologie, 1894, S. 447.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XXVI, S. 420, Anmerkung 2.

3) Proceeding's Royal Society, 1890, Bd. 41, S. 466.

einem Verfahren angestellt, welches von den bisher angewendeten verschieden ist. Diese Versuche, über deren Resultate vor Kurzem schon eine vorläufige Mittheilung¹⁾ erfolgt ist, scheinen zu einer völligen Bestätigung der Schlussfolgerung Green's zu führen. Demnach scheint das von Neumeister zur Abscheidung des eiweisslösenden Enzyms aus den Extracten angewendete Verfahren für die Keimpflanzen der Papilionaceen nicht brauchbar zu sein.

Es ist zu hoffen, dass die von Butkewitsch in Aussicht genommene Fortsetzung seiner Versuche zur völligen Aufklärung dieser Frage führen wird. Von grossem Interesse wird es sein, zu prüfen, ob das in den Papilionaceen-Keimpflanzen vorhandene Enzym Asparagin zu bilden vermag. Green gibt an, dass unter den durch dieses Enzym aus Eiweissstoffen gebildeten Produkten asparaginähnliche Krystalle sich vorfinden; doch gibt er keinen Beweis dafür, dass diese Krystalle wirklich Asparagin gewesen sind.

Sowohl in dieser Abhandlung als auch früher schon habe ich es für möglich erklärt, dass ein Theil des in den Keimpflanzen sich vorfindenden Asparagins bei der Spaltung der Eiweissmoleküle direkt entstanden ist. Letzteres würde als bewiesen zu betrachten sein, wenn es gelänge, zu zeigen, dass bei Einwirkung des in den Keimpflanzen enthaltenen Enzyms auf Eiweissstoffe Asparagin entsteht. Die bis jetzt hier ausgeführten Versuche haben keine Entscheidung dieser Frage gebracht, ihre Resultate scheinen aber schon vollständig die Annahme auszuschliessen, dass jener Quelle eine bedeutende Asparaginmenge entstammt.

¹⁾ Berichte der d. Botanischen Gesellschaft, 1900, Juni-Heft.