

# Ueber den Umsatz der Eiweissstoffe in der lebenden Pflanze.

Von

E. Schulze.

(Aus dem agriculturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaction zugegangen am 2. August 1897.)

## Einleitung.

Der Umsatz der Eiweissstoffe im Leben der Pflanze ist der Gegenstand von Untersuchungen gewesen, die ich unter Mitwirkung von J. Barbieri, W. Umlauf, E. Bosshard und E. Steiger ausgeführt habe;<sup>1)</sup> sie wurden begonnen, nachdem durch W. Pfeffer<sup>2)</sup> die Rolle aufgeklärt war, welche das Asparagin während des Keimungsvorganges spielt, und nachdem v. Gorup-Besanez<sup>3)</sup> in den Keimpflanzen von *Vicia sativa* neben Asparagin Leucin gefunden hatte.

Unsere Arbeiten führten zur Entdeckung von vier neuen stickstoffhaltigen Pflanzenbestandtheilen, nämlich des Glutamins,<sup>4)</sup> des Phenylalanins (auch Phenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure genannt), des Arginins und des Vernins; auch haben wir aus Pflanzentheilen, in denen ein starker Zerfall von

<sup>1)</sup> Ich verweise auf die Abhandlungen, die ich in den Landwirthschaftlichen Jahrbüchern, Bd. 9, S. 689—748, Bd. 12, S. 909—920, Bd. 14, S. 713—729 und Bd. 21, S. 105—130, veröffentlicht habe. Ueber die oben genannten stickstoffhaltigen Pflanzenbestandtheile haben wir Mittheilungen gemacht im Journ. f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 20, S. 385, Bd. 25, S. 145, Bd. 27, S. 337 und Bd. 32, S. 433, in den Landwirthschaftlichen Versuchsstationen, Bd. 29, S. 295, in der Zeitschrift für physiologische Chemie, Bd. 9, S. 420, Bd. 10, S. 80, Bd. 11, S. 43, Bd. 11, S. 201, Bd. 12, S. 405 und Bd. 17, S. 193 (kürzere Mittheilungen finden sich auch in den Berichten der D. Chemischen Gesellschaft).

<sup>2)</sup> Pringsheim's Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik, Bd. 8, S. 429—594.

<sup>3)</sup> Berichte der D. Chemischen Gesellschaft, Bd. 7, S. 146.

<sup>4)</sup> Allerdings haben wir das Glutamin etwas früher aus Rübensaft isolirt, als aus Keimpflanzen.

Eiweisssubstanzen stattgefunden hatte, noch vier andere bis dahin noch nicht aus Pflanzen dargestellte Stickstoffverbindungen isolirt, nämlich Tyrosin, Amidovaleriansäure, Allantoin und Guanidin. Mit Ausnahme der beiden zuletzt genannten Substanzen und des Vernins, über deren Ursprung wir etwas Bestimmtes nicht auszusagen vermochten, konnten wir diese Stickstoffverbindungen, sowie das neben ihnen auftretende Leucin in den von uns untersuchten Objecten theils mit völliger Sicherheit, theils mit grosser Wahrscheinlichkeit für Produkte des Eiweissumsatzes erklären, womit jedoch nicht gesagt sein soll, dass sie sämmtlich primäre Eiweisszersetzungsprodukte sind, und dass sie nicht in manchen Objecten synthetischen Processen ihre Entstehung verdanken. Es darf also behauptet werden, dass durch unsere Arbeiten die Kenntnisse, die man über die Qualität der beim Eiweissumsatz entstehenden Stickstoffverbindungen besass, bedeutend erweitert worden sind. Ferner hat durch diese Arbeiten auch die Frage nach dem Schicksal des in den zerfallenden Eiweissstoffen enthaltenen Schwefels sich aufzuklären begonnen. Wir fanden, dass bei *Lupinus luteus*, *Vicia sativa* und *Cucurbita pepo* während der Entwicklung der Keimpflanzen der Gehalt der letzteren an Sulfaten eine beträchtliche Zunahme erfährt; <sup>1)</sup> das Gleiche wurde später von Kellner <sup>2)</sup> und von Tammann <sup>3)</sup> für *Pisum sativum* nachgewiesen. Die Annahme, dass es der Schwefel der zerfallenen Eiweissstoffe ist, welcher für die Bildung der Sulfate verwendet wird, darf wohl für sehr wahrscheinlich erklärt werden. Doch sprechen unsere Beobachtungen dafür, dass beim Zerfall der Eiweissmoleküle zunächst eine schwefelhaltige Atomgruppe abgespalten wird, deren Oxydation erst nach und nach erfolgt. <sup>4)</sup>

---

1) Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 19, S. 172, Landwirthschaftliche Jahrbücher, Bd. 7, S. 438.

2) Phytochemische Untersuchungen, herausgegeben von R. Sachsse, Leipzig 1880, Heft 1, S. 58.

3) Diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 416.

4) Man vergl. die in den Landwirthschaftl. Jahrbüchern, Bd. 7, S. 441, von mir gemachten Angaben.

Unsere Untersuchungen betrafen nicht allein die Qualität der beim Umsatz der Eiweissstoffe entstehenden Produkte, wir haben auch durch quantitative Bestimmungen stickstoffhaltiger Pflanzenbestandtheile uns über diesen Process Aufschluss zu verschaffen gesucht. Die Vorstellungen, die ich mir auf Grund unserer Untersuchungen über den Verlauf des Eiweissumsatzes im Pflanzenorganismus und über einige mit ihm in Zusammenhang stehende Vorgänge gebildet hatte, habe ich in den oben citirten Abhandlungen dargelegt. Dass diese Vorstellungen unvollkommen seien und dass sie nur einen Anfang zum Verständniss jenes Processes bedeuten, ist von mir selbst ausgesprochen worden.<sup>1)</sup> Indem ich im Uebrigen auf die bezüglichen Aeusserungen verweise, will ich hier nur der Thatsache gedenken, dass unsere Untersuchungen keine Entscheidung darüber gaben, ob die an Stelle der zerfallenen Eiweisssubstanzen in den Pflanzen gefundenen Stickstoffverbindungen primäre Eiweisszersetzungsprodukte sind, oder ob sie einer Umwandlung der beim Zerfall der Eiweissstoffe bezw. der Peptone zuerst entstandenen Produkte ihre Entstehung verdanken. Für die erstere Annahme schienen freilich schon damals manche Thatsachen zu sprechen. Denn es ist ja bekannt, dass man Tyrosin, Phenylalanin, Leucin und Amidovaleriansäure durch Erhitzen der Proteinstoffe mit Säuren oder mit Alkalien erhalten kann, und auch das in Keimpflanzen von uns entdeckte Arginin ist später von S. G. Hedin<sup>2)</sup> unter den beim Erhitzen der Proteinstoffe mit Salzsäure entstehenden Produkten aufgefunden worden; wenn man ferner Asparagin und Glutamin durch Zersetzung von Proteinstoffen ausserhalb des Organismus noch nicht hat darstellen können, so erhält man dabei doch die nächsten Spaltungsprodukte dieser Amide, nämlich Ammoniak und Asparaginsäure, bezw. Glutaminsäure. Diese Thatsachen scheinen für die schon von v. Gorup-Besanez<sup>3)</sup> geäusserte Annahme

---

1) Vergl. Landwirthschaftl. Jahrbücher, 1892, Bd. 21, S. 126 u. 127.

2) Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 186.

3) Berichte der D. Chemischen Gesellschaft, Bd. 10, S. 780.

zu sprechen, dass die Eiweisssubstanzen sowohl beim Erhitzen mit Säuren als auch bei der Zersetzung im Lebensprocess der Pflanze eine hydrolytische Spaltung erleiden, deren Produkte hier wie dort im Wesentlichen die gleichen sind. Andererseits aber bewiesen unsere Untersuchungen, dass jene Stickstoffverbindungen in den Pflanzen oft in einem Mengenverhältniss auftreten, das ganz verschieden von demjenigen ist, in welchem man sie bei der Spaltung der Eiweissstoffe ausserhalb des Organismus erhält — eine Thatsache, für welche man eine Erklärung finden muss, ehe man jener von v. Gorup-Besanez ausgesprochenen Annahme zustimmen kann. Auch spricht Vieles dafür, dass in manchen Pflanzentheilen Asparagin und Glutamin durch synthetische Processe entstehen können — ein Umstand, welcher nicht unberücksichtigt bleiben darf, wenn man die Frage nach der Bildungsweise jener Amide in Keimpflanzen und anderen an Eiweisszersetzungsprodukten reichen Objecten discutirt. Die obige Frage musste demnach noch für eine offene erklärt werden. Das Gleiche gilt für andere, mit dem Umsatz der Eiweissstoffe im Zusammenhang stehende Fragen.

Das grosse Interesse, das sich in physiologischer Hinsicht an die Eiweissstoffe und ihr Verhalten im Organismus knüpft, veranlasste mich, die Untersuchung über den Eiweissumsatz in den Pflanzen in den letzten Jahren weiter zu führen. Dabei war es zunächst mein Bestreben, die auf die Qualität der Produkte jenes Processes sich beziehenden Beobachtungen zu vermehren. Ich musste dies für wünschenswerth halten, weil bei den früher ausgeführten Untersuchungen nur eine beschränkte Anzahl von vegetabilischen Objecten berücksichtigt worden ist; es war daher möglich, dass manche von den beim Umsatz der Eiweissstoffe entstehenden Produkten bisher der Auffindung entgangen waren. Denn die Erfahrung hat gezeigt, dass z. B. die Keimpflanzen, deren Untersuchung in diesem Falle besonderes Interesse beanspruchen kann, in Bezug auf die aus ihnen darstellbaren Produkte jener Art eine bemerkenswerthe Mannigfaltigkeit aufweisen; man muss daher eine grössere Anzahl von Keimpflanzenarten untersuchen, um alle beim Umsatz der

Eiweissstoffe während des Keimungsvorganges entstehenden Stickstoffverbindungen und ihre Verbreitung in den Keimpflanzen kennen zu lernen. Auch erschien es nothwendig, einige Keimpflanzenarten in verschiedenen Entwicklungsstadien zu untersuchen.

Die Ergebnisse dieser qualitativen Untersuchungen habe ich zum grossen Theil schon in einigen, im Laufe der letzten Jahre publicirten Abhandlungen <sup>1)</sup> mitgetheilt. Dies geschah, um die im Nachfolgenden zu machenden Darlegungen nicht durch Einfügung zahlreicher Detail-Angaben zu umfangreich und zu wenig übersichtlich machen zu müssen. Aus dem gleichen Grunde habe ich einige Angaben solcher Art, die in den früher publicirten Abhandlungen noch nicht ihren Platz gefunden hatten, in dieser Abhandlung in einem Anhang mitgetheilt. Im Folgenden brauche ich somit nur eine Uebersicht über die Ergebnisse der qualitativen Untersuchungen zu geben, in welcher selbstverständlich auch unsere älteren Arbeiten berücksichtigt sind; an diese Uebersicht füge ich dann die Resultate an, die bei den zur Entscheidung mancher Fragen unerlässlichen Quantitäts-Bestimmungen sich ergeben haben.

In den Mittheilungen über den Stoffgehalt der Keimpflanzen und anderer für unsere Untersuchungen verwendeten vegetabilischen Objecte musste ich auch Stickstoffverbindungen erwähnen, welche zum Umsatz der Eiweissstoffe wahrscheinlich in keiner näheren Beziehung stehen. Der Grund dafür ist leicht ersichtlich. Ob eine z. B. in einer Keimpflanze aufgefundene Stickstoffverbindung ein Produkt des Umsatzes der Eiweissstoffe ist oder

---

<sup>1)</sup> Es sind hier insbesondere folgende Abhandlungen zu nennen:

Ueber das wechselnde Auftreten einiger krystallisirbaren Stickstoffverbindungen in den Keimpflanzen, I und II, diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 306—326, und Bd. 22, S. 411—434.

Ueber die beim Umsatz der Proteinstoffe in den Keimpflanzen einiger Coniferen-Arten entstehenden Stickstoffverbindungen, ebendasselbst, Bd. 22, S. 435—448.

Ueber das Vorkommen von Glutamin in grünen Pflanzentheilen, ebendasselbst, Bd. 20, S. 327—341.

Ueber die Verbreitung des Glutamins in den Pflanzen, Landwirthschaftliche Versuchsstationen, Bd. 48, S. 33—55.

nicht, das ist eine Frage, die in jedem Falle einer Discussion bedarf, bei welcher vielfach auch die über die Bildungsweise dieser Verbindung ausserhalb des Organismus und über ihr chemisches Verhalten gemachten Erfahrungen berücksichtigt werden müssen. Es erschien daher als das Correcteste, zunächst eine Uebersicht über die in den Untersuchungsobjecten vorgefundenen löslichen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen zu geben und erst dann die Frage zu erörtern, welche dieser Stickstoffverbindungen als Produkte des Umsatzes der Eiweissstoffe zu betrachten sind.

Es bedarf noch einer Erklärung dafür, dass ich in der Ueberschrift dieser Abhandlung und auch später vom Umsatz der Eiweissstoffe, nicht vom Umsatz der Proteinstoffe, spreche. Man könnte vielleicht denken, dass ich diese beiden Bezeichnungen als gleichbedeutend gebrauchen wolle. Dies ist aber nicht der Fall; ich schliesse mich vielmehr Denjenigen an, welche die Eiweissstoffe als eine Unterabtheilung der Proteinstoffe ansehen und zu letzteren auch Substanzen rechnen, welche aus einer Vereinigung von Eiweissstoffen mit anderen Atomgruppen bestehen, wie z. B. die Nucleoalbumine und die Nucleine.<sup>1)</sup> Da nun Substanzen der letzteren Art ohne Zweifel auch in den Pflanzen sich finden und im pflanzlichen Stoffwechsel zerfallen, so könnte man denken, dass es richtiger gewesen wäre, dieser Abhandlung die Ueberschrift «Ueber den Umsatz der Proteinstoffe» zu geben. Es kann indess kein Zweifel darüber obwalten, dass die z. B. in den Keimpflanzen von uns aufgefundenen Produkte der regressiven Stoffmetamorphose hauptsächlich dem Umsatz von Eiweissstoffen ihre Entstehung verdanken. Denn abgesehen davon, dass die Pflanzensamen reich an «genuinen Eiweissstoffen», insbesondere an Globulinen sind, ist wohl auch anzunehmen, dass bei der Zersetzung von Proteiden (Nucleoalbuminen, Nucleinen etc.), zunächst Eiweissstoffe entstehen, welche dann weiter zerfallen. Es schien daher statthaft, in dieser Abhandlung im Allgemeinen nur vom «Umsatz der Eiweissstoffe» zu

<sup>1)</sup> Ich verweise auf die Eintheilung der Proteinstoffe, die sich in R. Neumeister's Handbuch der physiologischen Chemie, I. Bd., findet.

reden. Allerdings haben wir in einigen Objecten auch Stickstoffverbindungen gefunden, deren Entstehung nicht auf den Eiweissumsatz zurückzuführen ist, wie z. B. die aus den Nucleinen sich bildenden Nucleinbasen; doch haben wir diese Stoffe nur in einzelnen Fällen berücksichtigt; auch aus letzterem Grunde schien es mir angezeigt, in der Ueberschrift dieser Abhandlung nicht vom Umsatz der Proteinstoffe zu reden.

Es braucht übrigens kaum gesagt zu werden, dass der Ausdruck «Umsatz der Eiweissstoffe» der Thierphysiologie entlehnt ist, und dass ich zu den Produkten dieses Processes auch Stickstoffverbindungen rechne, welche durch Umwandlung der beim Zerfall der Eiweissmoleküle direkt entstehenden Produkte gebildet werden.

Ehe ich die Resultate unserer Untersuchungen und die aus denselben sich ergebenden Schlussfolgerungen mittheile, bedarf es einiger Worte über die von uns in Anwendung gebrachten Untersuchungsmethoden.

#### **Zur Kenntniss der Methoden.**

Das Beobachtungsmaterial, welches den im Folgenden gemachten Mittheilungen zu Grunde liegt, ist ein sehr umfangreiches. Da der Werth der über das Vorkommen irgend welcher Stoffe in unseren Untersuchungsobjecten gemachten Angaben sich selbstverständlich nach dem Grade der Zuverlässigkeit bemisst, welcher dem zur Abscheidung und zum Nachweis bezw. zur quantitativen Bestimmung dieser Stoffe benutzten Verfahren zukommt, so halte ich es für unerlässlich, über diese Verfahren hier einen Ueberblick zu geben. Ich kann mich dabei kurz fassen, da ich in Bezug auf die Einzelheiten auf die in den früheren Publicationen gemachten Angaben verweisen kann.

#### **a) Methoden der qualitativen Untersuchung.**

Die krystallisirbaren Stickstoffverbindungen, auf welche die nachfolgenden Mittheilungen sich beziehen, wurden aus den Pflanzensäften durch makrochemische Operationen zur Ab-

scheidung gebracht und durch Umkrystallisiren so weit gereinigt, dass sie nicht nur durch ihre Reactionen, sondern auch durch analytische Bestimmungen identificirt werden konnten.<sup>1)</sup>

Bei Beginn unserer Arbeiten auf diesem Gebiete suchten wir diese Stickstoffverbindungen zu gewinnen, indem wir die zuvor durch Erhitzen und darauffolgende Filtration von den coagulirbaren Proteinstoffen befreiten Pflanzensäfte und Extracte direkt zur Krystallisation verdunsteten. Wir erhielten auf diesem Wege fast nur Asparagin, eine Substanz, welche im Gegensatz zu vielen anderen Stickstoffverbindungen dadurch ausgezeichnet ist, dass sie durch Beimengungen am Auskrystallisiren wenig gehindert wird und auch aus sehr unreinen Lösungen in gut ausgebildeten, durch Umkrystallisiren leicht völlig rein darzustellenden Krystallen sich ausscheidet. Wir suchten nun günstigere Bedingungen für das Auskrystallisiren der anderen Stickstoffverbindungen dadurch herzustellen, dass wir die Säfte und Extracte zuvörderst einer Reinigung unterwarfen. Zu diesem Zweck brachten wir sie durch Eindunsten im Wasserbade auf eine grössere Concentration, vermischten sie sodann mit viel Weingeist, beseitigten die durch diesen Zusatz hervorgerufenen Fällungen durch Filtration und liessen die Filtrate verdunsten, oder wir befreiten die Säfte und Extracte vor dem Eindunsten von den durch Bleizucker oder Bleiessig fällbaren Bestandtheilen. Wir erhielten aber bei solchem Vorgehen nicht viel bessere Resultate, als nach dem zuerst beschriebenen Verfahren. Zwar gelang es uns in einigen Fällen, neben Asparagin noch Allantoin und Tyrosin, zwei bekanntlich durch Schwerlöslichkeit in Wasser ausgezeichnete Stoffe, sowie etwas Leucin zum Auskrystallisiren zu bringen; niemals aber vermochten wir auf diesem Wege Glutamin, Phenylalanin, Amidovaleriansäure und Arginin zur Abscheidung zu bringen.

Die im Vorigen beschriebenen Verfahren sind also völlig ungenügend, wenn es sich darum handelt, Aufschluss über den Gehalt der Pflanzen an löslichen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen zu gewinnen. Der Grund dafür liegt ohne Zweifel

<sup>1)</sup> Um sie in genügenden Mengen zu erhalten, bedurfte es oft der Verarbeitung sehr grosser Quantitäten von Rohmaterial.

hauptsächlich darin, dass die Bestandtheile der Pflanzensäfte und -Extracte sich in gewissem Grade gegenseitig in Lösung zu halten vermögen;<sup>1)</sup> demgemäss zeigen die meisten jener Bestandtheile im Gemenge mit einander eine viel grössere Löslichkeit sowohl in Wasser wie in Weingeist,<sup>2)</sup> als nach ihrer Reindarstellung. Es ist klar, dass durch diesen Umstand ganz besonders das Auskrystallisiren von Substanzen erschwert werden muss, welche sich nur in geringer Quantität in den Säften vorfinden.

Weit günstigere Bedingungen sind für die Isolirung der Saft- und Extractbestandtheile vorhanden, falls man Fällungsmittel für diese Bestandtheile besitzt. Es liegt auf der Hand, dass die Isolirung eines Stoffes dann am leichtesten ist, wenn man ein Fällungsmittel besitzt, welches nur diesen Stoff

---

1) Ein auffallendes Beispiel dafür habe ich beobachtet, als ich aus dem Saft der Steckrübenknollen durch Ausfällung mittels Mercurinitrats Glutamin darzustellen versuchte. Die bei Zerlegung des Mercurinitrat-Niederschlags erhaltene Flüssigkeit lieferte in mehreren Versuchen nach dem Eindunsten gar keine Krystalle; in einem anderen, mit einem zweiten Steckrübenmuster ausgeführten Versuch schieden sich aus dieser Flüssigkeit nur einige Tyrosin-Krystalle aus. Ich unterwarf den Saft nun einer fractionirten Ausfällung durch Mercurinitrat und verarbeitete die einzelnen Fractionen des Niederschlags getrennt. Aus der bei Zerlegung der ersten Fraction erhaltenen Flüssigkeit krystallisirte nun ein Gemenge von Glutamin mit etwas Asparagin, während die letzte Fraction des Niederschlags bei gleicher Behandlung eine Krystallisation von Arginin nitrat lieferte. Diese Stoffe waren also erst zum Auskrystallisiren zu bringen, nachdem sie getrennt waren (wobei zu bemerken ist, dass die Trennung ohne Zweifel keine vollständige war). — Dass die Bestandtheile der Pflanzensäfte sich gegenseitig in Lösung zu halten vermögen, lässt sich in manchen Fällen vielleicht durch die Annahme erklären, dass sie leichtlösliche Verbindungen mit einander geben.

2) Es sei hier z. B. erwähnt, dass die Amidosäuren sich aus den getrockneten Pflanzen durch kochenden 95 % igen Weingeist ausziehen lassen, während sie sich darin nach der Reindarstellung nur wenig lösen. Dass unreines Leucin sich relativ leicht in Weingeist löst, ist auch von Hoppe-Seyler (Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse) angegeben.

niederschlägt. Gesetzt aber auch, dass mehrere Substanzen neben einander in den Niederschlag eingehen, so lassen sich dieselben doch in der Regel aus der bei Zerlegung des Niederschlags resultirenden Flüssigkeit durch fractionirte Krystallisation oder auf anderem Wege weit leichter getrennt darstellen, als aus dem Pflanzensaft, in welchem neben ihnen noch sehr viele andere Bestandtheile sich vorfinden. Auch liegt es in der Natur der Sache, dass Fällungsmethoden auch dann häufig noch zum Ziel führen, wenn der zu isolirende Stoff sich in einem Pflanzensaft nur in sehr geringer Menge vorfindet.

Ein vorzügliches Fällungsmittel für viele stickstoffhaltige Pflanzenbestandtheile fand ich im Mercurinitrat. Wir haben dasselbe zur Abscheidung von Asparagin, Glutamin, Tyrosin, Allantoin, Arginin und Vernin verwendet. Aus der bei Zerlegung des Niederschlags mittelst Schwefelwasserstoff erhaltenen Flüssigkeit konnten wir diese Stickstoffverbindungen durch Krystallisation gewinnen; wie wir ihre Trennung bewerkstelligten, falls mehrere solche Stoffe nebeneinander sich vorfanden, braucht hier nicht beschrieben zu werden, da ich darüber früher schon in anderen Abhandlungen Mittheilungen gemacht habe.<sup>1)</sup> Auch Nucleinbasen (Xanthinkörper) gingen in den Mercurinitrat-Niederschlag ein; sie liessen sich aus der bei Zerlegung desselben erhaltenen Lösung durch Ausfällen mit ammoniakalischer Silbernitrat-Lösung isoliren.

Das Glutamin habe ich bis jetzt nur mit Hülfe des oben genannten Fällungsmittels aus den Pflanzensäften zu isoliren vermocht.

Zur Abscheidung des Arginins benutzten wir auch seine Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure. Das gleiche Fällungsmittel verwendeten wir zur Gewinnung anderer zur Klasse der organischen Basen gehörenden Stoffe, wie Guanidin, Cholin, Betain etc. Wie wir die Abscheidung dieser Stoffe aus dem Phosphorwolframsäure-Niederschlag und ihre Trennung bewerk-

---

1) Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 33, S. 90—94, Bd. 48, S. 34—38, sowie diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 422—425.

stelligten, ist in anderen Abhandlungen von mir beschrieben worden.<sup>1)</sup>

Für das Leucin, die Amidovaleriansäure und das Phenylalanin habe ich brauchbare Fällungsmittel bis jetzt nicht finden können. Zur Gewinnung dieser Stoffe haben wir die getrockneten Pflanzen oder Pflanzentheile mit kochendem Weingeist extrahirt, die Extracte der Destillation unterworfen, die Destillationsrückstände mit Wasser ausgezogen, die trüben Lösungen mit Reinigungsmitteln (Gerbsäure, Bleiessig) behandelt und sodann zur Krystallisation gebracht. In Betreff der Einzelheiten und der zur Trennung der genannten Amidosäuren angewendeten Mittel sei wieder auf frühere Publicationen<sup>2)</sup> verwiesen.

Behufs der Identificirung wurden die in solcher Weise aus den Pflanzen zur Abscheidung gebrachten Stickstoffverbindungen, nachdem sie zuvor durch Umkrystallisiren möglichst gereinigt worden waren, nicht nur auf ihre Reactionen und ihr Aussehen unter dem Vergrößerungsglase geprüft,<sup>3)</sup> sondern es wurden in den meisten Fällen auch analytische Bestimmungen ausgeführt. Der vollständigen Analyse mussten wir selbstverständlich die ersten Präparate derjenigen Substanzen unterwerfen, welche sich als neu entdeckte Körper erwiesen, wie Glutamin, Phenylalanin, Arginin und Vernin. Das Gleiche geschah aber auch beim Allantoin und bei der

---

1) Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 46, S. 27—35; diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 197, 204, 205 u. 215.

2) Es ist hier insbesondere auf die Mittheilungen zu verweisen, die ich darüber in dieser Zeitschrift, Bd. 22, S. 414—419, gemacht habe; vergl. aber auch diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 208—212, sowie Journ. f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 27, S. 341 und 351—353. Zur Ergänzung der an ersterem Orte gemachten Mittheilungen sei hier noch erwähnt, dass man die in kleinen Blättchen krystallisirenden Amidosäuren Leucin, Amidovaleriansäure etc. von beigemengtem Asparagin auch wohl dadurch partiell trennen kann, dass man jene Blättchen mit Hilfe von Weingeist von den körnigen Asparaginkrystallen abschlemmt.

3) Zum Vergleich wurden dabei, so weit wie möglich, Präparate der gleichen Stoffe herangezogen, die aus anderen Materialien dargestellt waren.

Amidovaleriansäure. Als wir später die gleichen Stoffe noch aus anderen Pflanzen darstellten, konnten wir uns auf die analytische Bestimmung einzelner Elementar-Bestandtheile beschränken. In einigen Fällen sind zur Identificirung der Substanzen auch Krystallmessungen ausgeführt worden. In Betreff aller Details verweise ich auf die bezüglichen Abhandlungen.

Nach den von den Botanikern gemachten Angaben lassen sich einige der oben genannten Stickstoffverbindungen mikrochemisch in den pflanzlichen Zellen nachweisen, z. B. das Asparagin. Dieses Hilfsmittels haben wir uns aber in unseren Untersuchungen nicht bedient. Was das Asparagin betrifft, so lässt sich dasselbe auch makrochemisch leicht und schnell nachweisen, seitdem man seine Fällbarkeit durch Mercurinitrat kennt. Da wir nun dieses Fällungsmittel doch stets anwenden mussten, um die Pflanzensäfte auf Glutamin etc. zu prüfen, so wäre die von uns aufzuwendende Arbeit nur unnöthig vermehrt worden, wenn wir das Asparagin mikrochemisch hätten nachweisen wollen. Der mikrochemische Nachweis der anderen oben genannten Stickstoffverbindungen scheint aber auf grosse Schwierigkeiten zu stossen. Zu dieser Schlussfolgerung führen mich u. a. die Angaben, die sich in einer vor einigen Jahren publicirten Abhandlung E. Belzung's<sup>1)</sup> finden. Ich habe mich schon früher veranlasst gesehen, diese Abhandlung einer Besprechung zu unterwerfen,<sup>2)</sup> kann aber nicht umhin, auch hier auf ihren Inhalt einzugehen.

Belzung sucht die krystallisirbaren Stickstoffverbindungen zunächst auf makrochemischem Wege durch Krystallisation zur Abscheidung zu bringen, indem er den Pflanzensaft durch Erhitzen vom Albumin befreit und ihn sodann erkalten lässt, ihn ferner mit Weingeist vermischt, endlich die von der Weingeistfällung abfiltrirte Flüssigkeit auf ein geringes Volumen eindunstet. Dass man aber auf diesem Wege nur wenige

---

1) E. Belzung, *Recherches chimiques sur la germination et les cristallisations intracellulaires artificielles*, *Annales des sciences naturelles*, VII série, Botanique, T. XV, p. 203—262.

2) Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 317 ff.

von den in den Pflanzensäften enthaltenen Stickstoffverbindungen isoliren kann, ergibt sich schon aus den oben von mir gemachten Angaben und ist auch bei Besprechung der Abhandlung Belzung's in dieser Zeitschrift <sup>1)</sup> von mir gezeigt worden. Die durch solche Operationen in Krystallform gewonnenen Stickstoffverbindungen sucht Belzung nicht durch die Analyse, sondern nur durch ihr Aussehen unter dem Mikroskop, ihre Reactionen und ihr Verhalten gegen Lösungsmittel zu identificiren; als Lösungsmittel verwendet er nach dem Vorgange Borodin's neben Wasser auch gesättigte wässerige Lösungen derjenigen Substanzen, deren Vorhandensein er vermuthet; gesetzt z. B., dass eine Substanz auf ihre Identität mit Leucin untersucht werden soll, so prüft er, ob sie in einer gesättigten Leucin-Lösung unlöslich ist oder nicht.

Sodann sucht Belzung die krystallisirbaren Stickstoffverbindungen in den Zellen zur Abscheidung zu bringen, indem er Schnitte aus den Pflanzen herstellt und dieselben in Glycerin legt. Die in Folge davon in den Zellen sich abscheidenden Krystalle sucht er zu identificiren, indem er ihr Aussehen unter dem Mikroskop und ihr Verhalten gegen Lösungsmittel untersucht — wobei er wiederum das zuerst von Borodin benutzte Verfahren verwendet, welches sich auf die Thatsache stützt, dass ein Stoff sich nicht auflöst, wenn man ihn bei gleichbleibender Temperatur mit einer gesättigten wässerigen Lösung des gleichen Stoffes behandelt.

Mit Hülfe dieser mikrochemischen Methode vermochte Belzung keine anderen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen nachzuweisen, als diejenigen, welche er auch aus den gleichen Objecten durch die von ihm angewendeten makrochemischen Operationen isoliren konnte. Da man nun, wie ich gezeigt habe, auf letzterem Wege nur ganz unvollständige Kenntnisse über die in den Pflanzensäften enthaltenen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen erlangen kann, so gilt das Gleiche für jene mikrochemische Methode. Zweifel an der Sicherheit dieser Methode erweckt auch der Umstand, dass Belzung mit ihrer

---

1) Vergl. die vorhergehende Anmerkung.

Hülfe in den von ihm untersuchten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* Tyrosin nicht nachzuweisen, d. h. nicht zum Auskrystallisiren in den Zellen zu bringen vermochte, trotzdem diese Keimpflanzen eine nicht unbeträchtliche Quantität von Tyrosin enthielten <sup>1)</sup> und letzteres wegen seiner Schwerlöslichkeit die am leichtesten abzuscheidende Amidosäure ist.

Aber auch die Identificirung der in den Zellen zum Auskrystallisiren gebrachten Stoffe dürfte wohl nicht immer leicht sein. Belzung stützt sich bei der Identificirung zunächst auf das Aussehen der Krystalle unter dem Mikroskop; er vergleicht dasselbe mit dem Aussehen der krystallisirten Substanzen, die er mit Hülfe der makrochemischen Operationen aus den Säften zur Abscheidung brachte. Ob diese Vergleichung in allen Fällen ein sicheres Resultat liefert, ist fraglich. Setzen wir z. B. den Fall, dass es sich um den Nachweis von Leucin handelt. Ich habe aus eingeengten Pflanzensäften und -Extrakten Leucin und andere Amidosäuren noch niemals mit denjenigen Formen auskrystallisiren sehen, die sie nach der Reinigung besitzen; in der Regel zeigten sie sogar Anfangs nicht deutlich krystallinische Beschaffenheit. Die gleiche Erfahrung hat man bei Darstellung von Leucin aus thierischen Substanzen gemacht. Hoppe-Seyler <sup>2)</sup> sagt darüber Folgendes: «Wenn das Leucin unrein ist, wie man es aus thierischen Flüssigkeiten fast allein gewinnt, so ist es viel leichter löslich in Wasser und besonders auch löslicher in Weingeist. Es krystallisirt aus diesen Lösungen in runden Kugeln und Knollen, die ziemlich schwach lichtbrechend sind. Diese Kugeln und Knollen zeigen sich entweder ganz hyalin oder sie zeigen radiale Streifung oder bestehen deutlich aus radial gruppirten, sehr dünnen Blättchen. Diese Formen haben so wenig Charakteristisches, dass sie durchaus nicht als hinreichendes Kennzeichen des Leucins gelten können». Diese Erfahrungen beweisen, dass

1) Wie daraus hervorgeht, dass Belzung schon aus 250 cem. Saft eine zur Anstellung der Reactionen hinreichende Tyrosin-Quantität auf makrochemischem Wege isoliren konnte.

2) Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 5. Auflage, Seite 174 und 175.

es zur Identificirung des Leucins nicht genügt, sein Aussehen unter dem Mikroskop zu untersuchen; sie lassen es aber auch als fraglich erscheinen, ob Leucinkrystalle, welche unter verschiedenen Umständen, und zwar einerseits aus einem mit Weingeist versetzten und eingedunsteten Extract, andererseits in den Zellen eines in Glycerin gelegten Pflanzenschnitts zur Ausscheidung gelangen, in ihren Formen so vollständig übereinstimmen, dass man sie an ihrem Aussehen als identisch erkennen kann. Dazu kommt noch, dass in den Keimpflanzen eine sowohl im Aussehen wie im Verhalten dem Leucin sehr ähnliche Substanz, nämlich die Amidovaleriansäure, sich findet, welche sich schwerlich vom Leucin dadurch unterscheiden lässt, dass man nach ihrer Ausscheidung aus einem Pflanzensaft ihre Formen unter dem Mikroskop untersucht. Will man also das aus einem Pflanzensaft auskrystallisirte Leucin durch die von Belzung angewendeten Mittel identificiren, so liegt der Schwerpunkt in dem Resultat, welches man bei Behandlung der bezüglichen Krystalle mit einer gesättigten, wässrigen Leucin-Lösung erhält; lösen sie sich darin nicht auf, so werden sie als Leucin angesehen. Kann es aber auch nicht bezweifelt werden, dass eine nach dem letzteren Princip ausgeführte Prüfung bei Untersuchung sowohl des Leucins wie anderer aus den Pflanzensäften abgesehiedener Substanzen sehr gute Dienste leisten kann, falls es sich dabei um isolirte, durch Umkrystallisiren gereinigte Körper handelt,<sup>1)</sup> so scheinen doch nach den von einigen Fachgenossen mir gemachten Mittheilungen die Resultate weniger sicher zu sein, wenn man zu Pflanzenschnitten, in deren Zellen Krystalle sich ausgeschieden haben, gesättigte wässrige Lösungen der in Frage kommenden Substanzen zutreten lässt.

Die mikrochemische Methode vermag also in ihrer gegenwärtigen Ausbildung beim Nachweis dieser Stoffe nur sehr beschränkte Dienste zu leisten, und der Schwerpunkt liegt in den

---

<sup>1)</sup> Auch ich habe bei Ausführung der im Folgenden besprochenen Untersuchungen diese Methode mit Vortheil angewendet.

Resultaten der makrochemischen Untersuchungen.<sup>1)</sup> Wie aus den oben gemachten Mittheilungen zu ersehen ist, habe ich die für diesen Zweck zu verwendenden Verfahren möglichst zu vervollkommen gesucht. Dass die zur Abscheidung der krystallisirbaren Stickstoffverbindungen aus den Pflanzensäften von uns in Anwendung gebrachten makrochemischen Operationen einfach und leicht auszuführen sind, darf behauptet werden. Schwierigkeiten bereitet in manchen Fällen die Zerlegung der dabei häufig erhaltenen Substanzgemenge, so z. B. die Trennung der Amidosäuren von einander. Zur Ueberwindung solcher Schwierigkeiten bedarf es der Uebung, die man durch wiederholte Ausführung der bezüglichen chemischen Operationen erlangt; nur auf letzterem Wege gelingt es, alle Umstände kennen zu lernen, welche von Einfluss auf die Resultate sein können.

Wie sich von selbst versteht, haben wir möglichst dafür zu sorgen gesucht, dass nicht während der Verarbeitung unserer Untersuchungsobjecte krystallisirbare Stickstoffverbindungen aus anderen Pflanzenbestandtheilen, etwa aus solchen von complicirterer Structur, sich bilden konnten. Der Werth unserer Versuchsergebnisse und der aus ihnen abgeleiteten Schlussfolgerungen würde insbesondere dann beträchtlich sinken, wenn während der Verarbeitung unserer Untersuchungsobjecte

---

1) Man darf diese makrochemischen Untersuchungen aber nicht so ausführen, wie Belzung es gethan hat; denn durch die von ihm in Anwendung gebrachten makrochemischen Operationen lassen sich nur wenige krystallisirende Stickstoffverbindungen aus den Pflanzensäften abscheiden. In welche Irrthümer man verfallen kann, wenn man sich nur auf diese Operationen verlässt, zeigen die Schlussfolgerungen, zu denen Belzung bei den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* gelangt ist. Da Belzung aus diesen Keimpflanzen nach seiner Methode ausser Spuren von Asparagin und Leucin nur Kaliumnitrat abzuschneiden vermochte, so nimmt er an, dass in denselben bei der Umwandlung der Reserveproteinstoffe nicht Amide, sondern Nitrate gebildet werden, denen dann hier die gleichen Functionen zufallen sollen, wie anderswo den Amidn — eine Annahme, deren Haltlosigkeit dadurch bewiesen wird, dass ich in Keimpflanzen von *Cucurbita pepo*, welche auf Gazenetzen gezogen waren, Nitrate gar nicht nachzuweisen vermochte (vgl. diese Zeitschrift, Bd. 22, S. 82).

krystallisirbare Stickstoffverbindungen aus Proteinstoffen hätten entstehen können. Ich glaube aber, dass dies nicht möglich gewesen ist, und will zur Begründung dieser Ansicht noch auf folgende Punkte hinweisen: Zur Darstellung der durch Fällungsmittel abscheidbaren Stickstoffverbindungen dienten in der Regel Extracte aus frischen, nicht getrockneten Pflanzen. Diese durch kurze Behandlung der zerkleinerten Pflanzen mit kaltem oder schwach erwärmtem Wasser dargestellten Extracte wurden mit Hülfe von Seihtüchern möglichst schnell vom Rückstand getrennt<sup>1)</sup> und dann sofort zur Ausfällung der Proteinstoffe mit Bleiessig, bezw. Gerbsäure und Bleiessig, versetzt. Nachdem die so erhaltenen Niederschläge durch Filtration entfernt worden waren, fügten wir den Flüssigkeiten so rasch wie möglich die zur Ausfällung der krystallisirbaren Stickstoffverbindungen dienenden Reagentien (Mercurinitrat u. s. w.) zu. Dass in der bis zum Hinzubringen dieser Fällungsmittel verflossenen Zeit stickstoffhaltige Extractbestandtheile sich zersetzt haben, ist kaum anzunehmen. Sollten die Pflanzen erst nach dem Trocknen untersucht werden, so wurden sie noch in völlig frischem Zustande in einen geräumigen, mit Luftzug versehenen Trockenschrank gebracht, dessen Temperatur 60—70° betrug; sie wurden darin in dünner Schicht ausgebreitet, damit das Vegetationswasser rasch entweichen konnte. Zur Prüfung des Einflusses, den das Trocknen bei dieser Temperatur auf die stickstoffhaltigen Saftbestandtheile ausübte, haben wir etiolirte Keimpflanzen von *Lupinus luteus* gleich nach der Ernte in absoluten Alkohol geworfen und nach längerem Verweilen unter letzterem über concentrirter Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur ausgetrocknet; wir haben aus dem so gewonnenen Material die gleichen Stickstoffverbindungen (Arginin, Amido-

---

<sup>1)</sup> Um die Extracte rasch gewinnen zu können, wurden die in Wasser vertheilten vegetabilischen Objecte in kleinen Portionen in die Seihtücher gebracht und dann ausgepresst. Dass die Extracte dabei trüb abliefen, schadete nichts, da sie durch Fällungsmittel (Gerbsäure und Bleiessig) gereinigt und somit geklärt wurden, ehe man die krystallisirbaren Stickstoffverbindungen aus ihnen durch andere Fällungsmittel gewann.

säuren u. s. w.) darstellen können, wie aus den in der Wärme getrockneten Keimpflanzen gleicher Art.<sup>1)</sup> Getrocknete Pflanzen und Pflanzentheile dienten uns hauptsächlich zur Darstellung der Amidosäuren; und zwar wurden sie zu diesem Zweck, wie oben schon angegeben ist, mit heissem Weingeist extrahirt. Die beim Verdunsten der weingeistigen Extracte resultirenden Flüssigkeiten wurden mit Hülfe von Gerbsäure und Bleiessig gereinigt. Bei ihrer weiteren Verarbeitung suchten wir zersetzende Einflüsse möglichst fern zu halten; insbesondere erfolgte das Eindunsten der Flüssigkeiten bei einer Temperatur, die weit unter 100° lag.

Zum Beweise dafür, dass die von uns zur Abscheidung gebrachten krystallisirbaren Stickstoffverbindungen nicht erst während der Verarbeitung der pflanzlichen Objecte aus Proteinstoffen entstanden sind, können auch noch die von uns erhaltenen Resultate selbst dienen. Bei der Zersetzung von Eiweissstoffen oder Nucleoalbuminen durch Säuren, Alkalien, Enzyme oder andere Agentien entstehen bekanntlich stets Leucin und Tyrosin; auch gehören gerade diese beiden Amidosäuren zu den am leichtesten auskrystallisirenden Proteinzersetzungsprodukten. Wenn während der Verarbeitung der von uns untersuchten Objecte Proteinstoffe sich unter Bildung krystallisirbarer Stickstoffverbindungen zersetzt hätten, so hätten wir überall Leucin und Tyrosin vorfinden müssen. Gerade diese beiden Amidosäuren haben wir aber nur in einer beschränkten Anzahl von Fällen isoliren können; ebenso oft erhielten wir eine bei der künstlichen Eiweisspaltung nur in geringer Menge entstehende und daher schwer isolirbare Amidosäure, nämlich Phenylalanin; neben derselben trat mehrfach auch Amidovaleriansäure auf, welche bisher nur bei der Spaltung der Proteinstoffe durch Alkalien erhalten worden ist. Die Annahme, dass diese beiden Amidosäuren erst während der Verarbeitung unserer Objecte durch Zersetzung von Proteinstoffen sich gebildet haben, würde eine ganz ungereimte sein; denn abgesehen von den anderen dagegen sprechenden Gründen (vgl. das oben Gesagte) wäre es bei solcher Annahme

---

1) Vgl. diese Zeitschrift, Bd. 12, S. 406, Anmerkung 2.

unerklärlich, dass wir nicht gleichzeitig Leucin und Tyrosin, welche doch neben jenen Amidosäuren sich hätten bilden müssen,<sup>1)</sup> zu isoliren vermochten. Endlich ist noch darauf hinzuweisen, dass wir aus den von uns untersuchten Objecten fast ausnahmslos Asparagin oder Glutamin abzuscheiden vermochten, zwei Amide, die sehr wenig widerstandsfähig gegen Säuren und Alkalien sind und auch durch Mikroorganismen zersetzt werden.<sup>2)</sup> Die Thatsache, dass wir diese Amide unverändert zur Abscheidung zu bringen vermochten, liefert für sich allein schon einen Beweis dafür, dass unsere Untersuchungsobjecte während der Verarbeitung nicht Einwirkungen ausgesetzt waren, welche den Zerfall leicht zersetzbarer Stickstoffverbindungen zur Folge haben können.

#### b) Methoden der quantitativen Analyse.

Nur in einer beschränkten Anzahl von Objecten, und zwar nur in Samen und in Keimpflanzen, haben wir quantitative Bestimmungen ausgeführt. In diesen Objecten bestimmten wir neben dem Gesamtstickstoff die auf Proteinstoffe fallende Stickstoffmenge nach Stutzer's Verfahren, bei dessen Ausführung die Extracte zur Ausfällung gelöster Proteinstoffe mit Kupferoxydhydrat erhitzt werden. Da anzunehmen ist, dass in den so erhaltenen Niederschlag Peptone nicht oder doch wenigstens nicht vollständig eingehen,<sup>3)</sup> so würden wir einem Verfahren, vermittelt dessen man den «Proteinstickstoff» mit Einschluss des «Peptonstickstoffs» bestimmen könnte, den

---

1) Wobei noch darauf aufmerksam zu machen ist, dass bei der Zersetzung von Proteinstoffen durch Säuren, Alkalien u. s. w. das Leucin in der Regel das in grösster Quantität entstehende Produkt ist. Wie es zugeht, dass unter den bei Zersetzung der Proteinstoffe im Lebensprocess der Pflanzen entstehenden Produkten oft nur sehr wenig Leucin sich findet, das ist eine Frage, welche w. u. besprochen wird.

2) Für das Asparagin wenigstens ist Zersetzbarkeit durch Mikroorganismen nachgewiesen; das Glutamin wird sich in dieser Hinsicht schwerlich anders verhalten als Asparagin.

3) M. vgl. die Versuche F. Szymanski's, Landwirthschaftl. Versuchsstat. Bd. 32, S. 392. Wie sich die Albumosen beim Erhitzen der Extracte mit Kupferoxydhydrat verhalten, ist bis jetzt nicht bekannt.

Vorzug gegeben haben; doch ist ein solches Verfahren bis jetzt nicht bekannt. Der Mangel, der aus dem erwähnten Umstande den von uns erhaltenen Zahlen anhaftet, ist jedoch nur ein geringfügiger. Denn man hat bis jetzt in den Keimpflanzen nur höchst geringe Peptonmengen vorgefunden. Auch haben wir in einer Reihe von Fällen die nach Stutzer's Methode mit Kupferoxydhydrat behandelten und dann filtrirten Keimpflanzenextracte mit Gerbsäure versetzt, nachdem sie zuvor durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom gelösten Kupfer befreit worden waren.<sup>1)</sup> Es entstanden dabei aber nur so schwache Trübungen, dass daraus nur auf einen minimalen Gehalt an Albumosen oder Peptonen geschlossen werden konnte.<sup>2)</sup>

Ferner versetzten wir die mit Hülfe von Kupferoxydhydrat von den Proteinstoffen befreiten Extracte mit Phosphorwolframsäure<sup>3)</sup> in schwachem Ueberschuss und bestimmten in den dadurch hervorgebrachten Niederschlägen den Stickstoffgehalt, nachdem diese Niederschläge abfiltrirt und mit 5 % iger Schwefelsäure ausgewaschen worden waren. Aus den Ergebnissen der qualitativen Untersuchungen geht hervor, dass der Stickstoff der in solcher Weise erhaltenen Niederschläge hauptsächlich organischen Basen (Arginin, Guanidin, Cholin etc.) angehörte; doch fand sich darin auch etwas Ammoniak vor. Albumosen und Peptone können nach den oben gemachten Beobachtungen in diesen Niederschlägen nur in ganz unwesentlicher Quantität enthalten gewesen sein.

1) In den nicht mit Schwefelwasserstoff behandelten kupferhaltigen Flüssigkeiten brachte die Gerbsäure Fällungen hervor.

2) Während in den nur durch Erhitzen von den coagulirbaren Eiweissstoffen befreiten Keimpflanzen-Extracten durch Gerbsäure stets flockige Niederschläge hervorgebracht wurden. Es sieht demnach fast so aus, als ob in die durch Kupferoxydhydrat erzeugten Niederschläge Albumosen oder Peptone mit eingingen. Doch lässt sich darüber auf Grund dieser Beobachtungen etwas Sicheres nicht behaupten.

3) Dabei kam ein nach Drechsel's Verfahren gereinigtes, schön krystallisirtes Phosphorwolframsäure-Präparat in Anwendung. Vor dem Zusatz der Phosphorwolframsäure wurden die Extracte mit Schwefelsäure oder Salzsäure angesäuert.

Durch Subtraction des «Proteinstickstoffes» vom «Gesamtstickstoff» erfährt man die auf «nichtproteinartige Verbindungen» fallende Stickstoffmenge. Subtrahirt man davon den Stickstoffgehalt des Phosphorwolframsäure-Niederschlages, so bleibt als Rest die Stickstoffquantität, welche auf Asparagin, Glutamin, Amidosäuren und andere durch Phosphorwolframsäure nicht fällbare Verbindungen fällt.

Alle Stickstoffbestimmungen wurden nach Kjeldahl's Methode ausgeführt.

In den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und *Lupinus angustifolius* bestimmten wir auch den Asparagingehalt nach Sachsse's Methode, welche bekanntlich darin besteht, dass man die Ammoniakmenge ermittelt, die in den asparaginhaltigen Extracten beim Kochen mit Salzsäure sich bildet, und aus letzterer den Asparagingehalt der Untersuchungsobjecte berechnet. Dass man bei Anwendung dieser Methode auf die genannten Keimpflanzen brauchbare Resultate erhält, ist von mir und meinen Mitarbeitern dadurch bewiesen worden,<sup>1)</sup> dass

1) Zum Beweise können folgende, theils von M. Merlis, theils von mir ausgeführte Bestimmungen dienen:

		Asparagingehalt	
		bestimmt	Ausbeute
		nach Sachsse's	an
		Methode	Krystallen
15	tägige Keimpflanzen von <i>Lupinus luteus</i>	24,5 %	20,7 %
24	„ „ „ „ „	29,2 „	25,9 „
15	„ „ „ „ „ <i>angustifol.</i>	23,5 „	21,4 „
18	„ „ „ „ „	26,8 „	22,1 „

Die an *Lupinus angustifolius* erhaltenen Zahlen sind von Merlis (Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 48, S. 440) schon mitgetheilt worden; doch habe ich nachträglich bei Berechnung des Asparagingehalts nach Sachsse's Methode die vor dem Erhitzen der Extracte mit Säure in denselben schon vorhandene Ammoniakmenge in Abzug gebracht, was von Merlis nicht geschehen ist. — Aehnliche Differenzen zwischen den nach Sachsse's Methode gefundenen Zahlen und der durch Krystallisation erhaltenen Ausbeuten an Asparagin zeigten sich in Bestimmungen, die ich schon vor langer Zeit mitgetheilt habe (Landwirthschaftl. Jahrbücher, 1880, S. 702). Allerdings ist damals gemäss der ursprünglichen von Sachsse gegebenen Vorschrift bei Bestimmung des aus dem Asparagin abgespaltenen Ammoniaks die azotometrische Methode in Anwendung

wir aus den bezüglichen Keimpflanzenextracten durch Krystallisation Asparagin-Quantitäten gewinnen konnten, welche hinter den nach jener Methode gefundenen Mengen nicht weit zurückbleiben. Da man selbstverständlich das Asparagin aus den Extracten durch Krystallisation nicht vollständig gewinnen kann, so muss es im Hinblick auf jenes Resultat für sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass das beim Kochen mit Salzsäure in den Keimpflanzenextracten entstandene Ammoniak ausschliesslich oder fast ausschliesslich aus Asparagin abgespalten worden war. Gesetzt aber, dass ein homologes Amid (Glutamin) einen geringen Theil dieses Ammoniaks geliefert hätte, so würden in Folge davon die nach jener Methode erhaltenen Zahlen doch nur mit einem Fehler behaftet sein, der fast gar nicht ins Gewicht fällt; denn dieser Fehler würde nur darin bestehen, dass eine geringe Menge eines solchen homologen Amides als »Asparagin« mit in Rechnung gestellt ist.

Es darf daher behauptet werden, dass die Zahlen, welche nach der Sachsse'schen Methode für den Asparagingehalt der Keimpflanzen von *Lupinus* sich ergeben, auf einer sicherern Grundlage ruhen, als die Resultate, welche man bei Bestimmung vieler anderen Pflanzenbestandtheile nach Methoden erhält, die in der Pflanzenanalyse allgemeine Anwendung finden. Damit soll aber nicht gesagt sein, dass jene Methode für jedes beliebige Object gleich brauchbar ist. Dies kann nicht behauptet werden, denn es ist möglich, dass manche vegetabilische Substanzen neben Asparagin andere Stickstoffverbindungen enthalten, deren Vorhandensein die Bestimmung des Asparagins stört.

Ueber die Art und Weise, in welcher wir die Bestimmungen ausführten, ist noch Folgendes anzugeben: Ein abgewogenes

---

gekommen, welche mit Fehlern behaftet ist; es ist aber von mir (Zeitschrift für analytische Chemie, Bd. 21, S. 1) bewiesen worden, dass man bei Bestimmung des Asparagingehalts der *Lupinus*-Keimpflanzen auch bei Anwendung des azotometrischen Verfahrens annähernd richtige Resultate erhält, weil die Fehler, mit denen dieses Verfahren behaftet ist, in entgegengesetzter Richtung liegen und sich daher compensiren können (m. vgl. darüber auch meine Mittheilung im Journal f. praktische Chemie, N. F. Bd. 31, S. 233).

Quantum (3—5 gr.) des fein gepulverten Untersuchungsobjects wurde kurze Zeit mit 50—60 ccm. Wasser auf 80—90° erhitzt, dann aufs Filter gebracht, der Filterinhalt mit heissem Wasser ausgewaschen. Die Filtrate versetzten wir mit Gerbsäure in schwachem Ueberschuss und fügten hierauf noch etwas Bleizuckerlösung zu. Sodann wurden die Flüssigkeiten auf ein bestimmtes Volumen gebracht und nun filtrirt. Abgemessene Antheile der Filtrate wurden nach Zusatz einer genügenden Quantität von Salzsäure oder Schwefelsäure zwei Stunden lang am Rückflusskühler im Sieden erhalten, nach dem Erkalten mit Natronlauge nahezu neutralisirt, hierauf mit Magnesia der Destillation unterworfen; das übergehende Ammoniak fingen wir in titrirter Schwefelsäure auf und bestimmten es nach bekanntem Verfahren.

Von der in dieser Weise erhaltenen Ammoniakmenge brachten wir die schon vor dem Erhitzen mit Säure in den Extracten vorhandene Quantität in Abzug. Zur Ermittlung der letzteren extrahirten wir ein abgewogenes Quantum des fein gepulverten Untersuchungsobjects mit kaltem Wasser und bestimmten im Extract das Ammoniak nach der von E. Bosshard <sup>1)</sup> gegebenen Vorschrift (Ausfällen mittelst Phosphorwolframsäure, Destillation des durch Filtration von der Flüssigkeit getrennten und mit verdünnter Schwefelsäure ausgewaschenen Niederschlags mit Magnesia).

Für den Ammoniakgehalt der Keimpflanzen findet man bei solchem Vorgehen ohne Zweifel deshalb etwas zu hohe Zahlen, weil schon beim Trocknen der Pflänzchen durch Einwirkung der im Zellsaft enthaltenen Säuren auf das Asparagin aus letzterem in der Regel etwas Ammoniak abgespalten wird. Wir bestimmten daher auch noch den Ammoniakgehalt frischer Keimpflanzen in folgender Weise: Ein abgewogenes Quantum der frischen Pflanzen <sup>2)</sup> wurde in einer Reibschale unter Zusatz von Sand möglichst fein zerrieben, dann unter Zusatz von etwas Wasser in einem Becherglase erhitzt, bis die Coagulation

---

1) Zeitschrift für analytische Chemie, Bd, 22, S. 239—240.

2) In diesen Keimpflanzen wurde ausserdem der Gehalt an Trockensubstanz nach bekanntem Verfahren bestimmt.

der Eiweissstoffe eingetreten war. Nach dem Erkalten brachten wir den Inhalt des Becherglases auf ein Seih Tuch, wuschen mit Wasser nach und pressten schliesslich das Ungelöste im Seih Tuch stark aus. Das trübe Filtrat füllten wir nach Zusatz von etwas Gerbsäure und Bleizucker auf ein bestimmtes Volumen auf; dann wurde filtrirt. In abgemessenen Antheilen des Filtrats bestimmten wir das Ammoniak nach dem oben erwähnten Bosshard'schen Verfahren. Die in solcher Weise für den Ammoniakgehalt der Trockensubstanz 15- und 24tägiger Keimpflanzen von *Lupinus luteus* gefundenen Zahlen betrugten 0,047 — 0,145 % (= 0,039 — 0,120 % N), während dieser Gehalt sich aus den bei der Untersuchung getrockneter Keimpflanzen erhaltenen Resultaten auf 0,145 — 0,336 % (= 0,120 — 0,277 % N) berechnete. Daraus geht hervor, dass in den Keimpflanzen während des Trocknens kleine Ammoniakmengen sich bilden, und dass man demgemäss für den Asparagingehalt der Keimpflanzen etwas zu niedrige Zahlen erhält, wenn man bei der Berechnung von dem nach dem Kochen mit Säure vorgefundenen Ammoniak die Ammoniakmenge in Abzug bringt, welche in getrockneten Keimpflanzen schon vorhanden war.

Nach dem der Asparaginbestimmung zu Grunde liegenden Princip kann man bekanntlich auch das Glutamin bestimmen. Wir haben dies bei der Untersuchung von *Ricinus*-Keimpflanzen gethan. Die bezüglichlichen Resultate lassen sich freilich nicht in der bei der Asparaginbestimmung in Anwendung gebrachten Weise kontrolliren; denn es ist nicht möglich, aus den eingengten Keimpflanzen-Extracten das Glutamin zum Auskrystallisiren zu bringen. Gesetzt aber auch, dass das beim Erhitzen der glutaminhaltigen Extracte mit Säure entstandene Ammoniak nicht ausschliesslich aus Glutamin, sondern zum Theil aus einem anderen Amid abgespalten worden war, so ist doch zweifellos die Bestimmung dieser Ammoniakmenge von Werth für die bei einer solchen Untersuchung verfolgten Zwecke.

Wenn den von uns in Anwendung gebrachten analytischen Methoden auch manche kleine Mängel anhafteten, so wird doch das Gewicht dieser Mängel dadurch beträchtlich verringert,

dass es sich für uns im Wesentlichen darum handelte, bei der Analyse der Samen- und der Keimpflanzen Resultate zu gewinnen, die unter einander vergleichbar waren. Dass dieses Ziel sich auf dem von uns eingeschlagenen Wege erreichen liess, darf mit Sicherheit behauptet werden.

Für die analytischen Bestimmungen mit Ausnahme eines Theils der Ammoniakbestimmungen (vgl. oben) wurden getrocknete Keimpflanzen verwendet. Das Austrocknen der Pflänzchen geschah in einem geräumigen, auf 60—70° C geheizten Trockenschrank, in welchem die Pflänzchen auf einer geeigneten Unterlage in dünner Schicht ausgebreitet wurden, so dass das Trocknen rasch erfolgte. Die Pflänzchen wurden dann so fein wie möglich zerrieben. Die für die einzelnen Bestimmungen zu verwendenden Quantitäten der zerriebenen Substanzen wurden in lufttrockenem Zustande abgewogen; die darin enthaltenen Trockensubstanzmengen wurden auf Grund der nach bekannter Methode ausgeführten Trockengehaltsbestimmungen berechnet.

Es ist nicht überflüssig, die Frage zu stellen, ob beim Austrocknen der Pflänzchen bei 60—70° auch abgesehen von dem Entweichen des Wassers in der chemischen Zusammensetzung derselben Veränderungen eintraten. Völlig zu verneinen ist diese Frage nicht. Oben ist ja schon erwähnt worden, dass während des Trocknens kleine Ammoniakmengen aus Amidem abgespalten wurden. Mit diesem Process kann in Folge der Dissociation von Ammoniaksalzen auch Entweichen von Ammoniak, also ein Stickstoffverlust, verbunden gewesen sein; indessen kann dieser Verlust wenigstens bei den Keimpflanzen der Lupinen nur einen ganz unwesentlichen Betrag erreicht haben.<sup>1)</sup>

Man kann die frischen Keimpflanzen ohne Anwendung von Wärme austrocknen, indem man sie in ein genügendes Quantum von Alkohol wirft und nach wochenlangem Verweilen

---

<sup>1)</sup> Denn es konnte bei diesen Objecten ein Stickstoffverlust nicht constatirt werden, obgleich bei den bezüglichen Berechnungen die bei der Analyse getrockneter Keimpflanzen erhaltenen Zahlen zu Grunde gelegt wurden, vgl. Landwirthschaftl. Jahrbücher, Bd. 5, S. 82 und Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 48, S. 443.

unter letzterem über concentrirter Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur liegen lässt; sie verwandeln sich dabei in eine leicht zerreibliche Masse. Bei der Analyse der so behandelten Pflänzchen muss man aber selbstverständlich auch den Stoffgehalt des bei Einwirkung des Alkohols auf die Pflänzchen entstandenen Extracts berücksichtigen; man muss also zwei Substanzen analysiren, die trockenen Pflänzchen und den Extract. Daraus entstehen neben einer Vermehrung der Arbeit manche kleine Uebelstände; so ist es z. B. kaum möglich, den alkoholischen Extract, falls derselbe leicht zersetzbare Amide und daneben organische Säuren enthält, ohne Ammoniakverlust zur Trockne einzudunsten.<sup>1)</sup> Aus diesen Gründen haben wir es im Allgemeinen für zweckmässiger gehalten, die Pflänzchen bei 60—70° zu trocknen. Zur Entscheidung der für uns wichtigen Frage, ob bei diesem Trocknen der Gehalt der Pflänzchen an Proteinstoffen sich verändert, haben wir folgenden Versuch angestellt: Von einer Cultur von 6 tägigen Keimpflanzen von *Lupinus luteus* wurde die eine Hälfte bei 60—70° getrocknet, die zweite in absoluten Alkohol geworfen und dann in der oben beschriebenen Weise behandelt. In den bei 60—70° getrockneten Pflänzchen fanden wir, neben 9,83 % Gesamtstickstoff, im Mittel 5,78 % N in Form von Proteinstoffen. In den unter absolutem Alkohol, bezw. über Schwefelsäure, ohne Anwendung von Wärme entwässerten Pflänzchen wurden dagegen im Mittel 5,98 % N in Form von Proteinstoffen gefunden. Die Differenz der beiden Resultate (nur 0,20 %) kann für unwesentlich erklärt werden. Denn abgesehen von den einer jeden solchen Bestimmung anhaftenden analytischen Fehlern kann schon der nicht völlig gleiche Entwicklungsgrad der verschiedenen Pflänzchen unserer Cultur eine solche Differenz im Proteingehalt bedingt haben. Es liegt also kein Grund für die Annahme vor, dass das Trocknen bei 60—70° mit einer Zersetzung von Proteinstoffen verbunden war.

Ich habe noch zu erwähnen, dass die quantitativen Bestimmungen, deren Ergebnisse ich in dieser Abhandlung mit-

<sup>1)</sup> Selbstverständlich ist dies möglich, falls man dem Extract eine starke Mineralsäure zusetzt.

theile, grösstentheils von den Herren Dr. E. Winterstein und N. Rongger ausgeführt worden sind. Ich spreche dafür den Genannten hier meinen Dank aus.

### I. Ueber den Umsatz der Eiweissstoffe in Keimpflanzen.

Für Untersuchungen, deren Zweck es ist, die beim Umsatz der Eiweisssubstanzen und anderer Proteinstoffe entstehenden Stickstoffverbindungen kennen zu lernen, bilden Keimpflanzen bekanntlich ein sehr geeignetes Object. Die ungekeimten Samen enthalten grosse Quantitäten von Reserveproteinstoffen, während ihr Gehalt an nichtproteinartigen Stickstoffverbindungen meistens nur ein sehr niedriger ist. Von jenen Reserveproteinstoffen zerfällt während des Keimungsvorgangs ein sehr beträchtlicher Theil unter Bildung von löslichen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen. Eine Anhäufung der letzteren erfolgt besonders dann, wenn man die Keimpflanzen längere Zeit im Dunkeln lässt.

Wir haben sowohl etiolirte als normale, d. h. am Lichte erwachsene, Keimpflanzen untersucht. Die ersteren wurden in einem verdunkelten Zimmer, dessen Temperatur fast immer 18—20° betrug, entweder in grossen, mit ziemlich grobkörnigem Sand gefüllten Kasten oder auf paraffinirten Gazenetzen gezogen, welche über flache, mit Wasser gefüllte Glasgefässe gespannt waren. Zur quantitativen Analyse benutzten wir grösstentheils Keimpflanzen, welche in der letzteren Weise erhalten worden waren. Die normalen Keimpflanzen wurden im Freien, entweder in Sand oder in ungedüngtem Boden gezogen.<sup>1)</sup>

Die Keimpflanzen wurden in verschiedenen Entwicklungsstadien<sup>2)</sup> von uns untersucht. Die über den Stoffgehalt der-

---

1) Wenn in einzelnen Fällen bei der Gewinnung der Keimpflanzen die oben angegebenen Versuchsbedingungen (z. B. die obige Temperatur) nicht eingehalten waren, so ist dies in den bezüglichen Mittheilungen von uns erwähnt worden.

2) Um eine Vorstellung von dem Entwicklungsgrade der Keimpflanzen zu geben, habe ich bei den rasch und gleichmässig sich entwickelnden Keimpflanzen, wie z. B. *Lupinus*, *Vicia* und *Zea Mais*, die

selben im Folgenden gemachten Angaben beziehen sich aber zunächst nur auf Pflänzchen, bei denen die Entleerung der Reservestoffbehälter (Cotyledonen, Endosperm) schon weit vorgeschritten, in manchen Fällen sogar fast vollendet war.

Stellen wir zunächst die Frage, ob zwischen etiolirten und normalen Keimpflanzen der gleichen Species in Bezug auf die Qualität der aus ihnen darstellbaren krystallinischen Stickstoffverbindungen Unterschiede hervortraten, so ist zu antworten, dass dies bei einigen Objecten allerdings der Fall war, dass aber die Unterschiede nicht als wesentlich bezeichnet werden können. Eine Keimpflanzenart, in welcher bei Lichtabschluss Asparagin sich anhäuft, enthält dieses Amid auch, wenn sie im Licht sich entwickelt hat. Das Gleiche gilt für den Gehalt der Pflänzchen an Glutamin und an Arginin, soweit sich dies nach den bis jetzt ausgeführten Untersuchungen beurtheilen lässt. Dagegen lieferte in manchen Fällen die gleiche Keimpflanzen-species verschiedene Amidosäuren, je nachdem sie im Licht oder im Dunkeln sich entwickelt hatte. Ob diese Verschiedenheit aber auf die Beleuchtungsverhältnisse oder auf andere Umstände zurückzuführen ist, bleibt eine offene Frage.

Bei dieser Sachlage würde es keinen Zweck haben, wenn ich im Folgenden die an etiolirten und an normalen Pflänzchen erhaltenen Versuchsergebnisse in zwei getrennten Abschnitten behandeln wollte; es empfiehlt sich vielmehr, diese Versuchsergebnisse zusammen mitzutheilen.

---

seit dem Beginn der Keimung verflossene Zeit angegeben (ich spreche demgemäss im Folgenden von 6-, 9-, 15tägigen Pflänzchen u. s. w.); daneben ist in vielen Fällen auch die Länge der Keimpflanzen oder einzelner Theile derselben, z. B. des hypocotylen Glieds, angegeben worden (vgl. w. unten). Bei sehr langsam sich entwickelnden Keimpflanzen, wie z. B. bei denjenigen der Coniferen, sind zur Charakterisirung des Entwicklungsstadiums nur Längenmaasse angegeben.

Erwähnt sei noch, dass die für diese Untersuchungen erforderlichen Samen z. Th. dem Handel entnommen wurden; z. Th. erhielt ich sie in vortrefflicher Qualität von der Samenkontrolstation und von der forstlichen Versuchsstation in Zürich, wofür ich den Vorständen dieser Stationen hier meinen Dank ausspreche.

Von allen in den Keimpflanzen sich findenden krystallisirbaren Stickstoffverbindungen ist das Asparagin diejenige, welche in grösster Menge auftritt und am leichtesten zur Abscheidung zu bringen ist. In besonders grosser Quantität findet es sich bekanntlich bei den Leguminosen. Die Asparaginmenge, die aus etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* sich abscheiden lässt, steigt bis auf 28 % der Keimpflanzentrockensubstanz. Nicht viel geringer war die Ausbeute bei *Lupinus angustifolius*. Auch aus den Keimpflanzen von *Lupinus albus*, *Soja hispida* und *Vicia sativa* konnten wir grosse Asparaginmengen darstellen. So viel bis jetzt bekannt ist, bilden alle Leguminosen während der Keimung Asparagin in beträchtlicher Menge. Das Gleiche scheint aber auch für die Gramineen zu gelten, wenn auch hier nur geringere Asparagin-Quantitäten auftreten. Wir haben die etiolirten Keimpflanzen von fünf Species dieser Familie, nämlich von *Triticum vulgare*, *Zea Mais*, *Lolium perenne*, *Arrhenaterum elatius* und *Phleum pratense* untersucht; aus allen diesen Objecten konnten wir leicht Asparagin abscheiden. Ferner erhielten wir dieses Amid aus den etiolirten Keimpflanzen von *Papaver somniferum*, *Tropaeolum majus*, *Pinus silvestris*, *Picea excelsa*, *Helianthus annuus* und *Cucurbita pepo*. In den zuletzt genannten drei Objecten fand sich aber in der Regel nur wenig Asparagin vor (m. vgl. die weiter unten von uns gemachten Mittheilungen).

Während in vielen Keimpflanzen Asparagin in grosser Quantität entsteht, häuft sich in anderen dagegen Glutamin an. Wir fanden dieses Amid unter den im Keimungsstadium entstandenen Stoffwechselprodukten bei folgenden Pflanzen:

<i>Cucurbita pepo</i> ,	Familie der Cucurbitaceae,
<i>Ricinus communis</i> ,	„ „ Euphorbiaceae,
<i>Helianthus annuus</i> ,	„ „ Compositae,
<i>Sinapis alba</i>	} Familie der Cruciferae,
<i>Brassica Napus</i> var. <i>annua</i>	
<i>Lepidium sativum</i>	
<i>Raphanussativus</i> var. <i>radicula</i>	
<i>Camelina sativa</i>	

<i>Spergula arvensis</i> ,	Familie der Caryophyllaceae,
<i>Spinacia glabra</i> ,	„ „ Chenopodiaceae,
<i>Picea excelsa</i> ,	„ „ Abietineae.

Von *Ricinus communis* und *Sinapis alba* untersuchten wir neben etiolirten auch normale Keimpflanzen; auch in diesen fand sich Glutamin vor.

Offenbar gibt es Pflanzenfamilien, deren Glieder im Keimungsstadium fast immer Asparagin anhäufen, wie die Papilionaceen und Gramineen, während dagegen in anderen Familien das Asparagin in der Regel durch Glutamin ersetzt ist. Zu diesen Familien gehören die Cruciferen, vermuthlich auch die Caryophyllaceen. Zwar ist oben nur eine Caryophyllacee, nämlich *Spergula arvensis*, als glutaminhaltig aufgeführt; wir fanden das genannte Amid aber auch in den Blättern von *Saponaria officinalis*;<sup>1)</sup> ferner konnte in den Caryophyllaceen weder von Borodin noch von Palladin Asparagin gefunden werden.<sup>2)</sup> In den Keimpflanzen von *Helianthus annuus* fand sich Glutamin im Gemenge mit Asparagin vor, und zwar in solcher Weise, dass bald Asparagin und bald Glutamin prävalirte.<sup>3)</sup> In einigen Culturen der Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* und *Picea excelsa* war das Glutamin durch Asparagin ersetzt.

Ob es mehr Keimpflanzen gibt, welche Asparagin anhäufen, oder ob in einer grösseren Anzahl von Keimpflanzen Glutamin sich sammelt, ist eine noch offene Frage.

Die grösste Glutamin-Ausbeute, welche wir bei Verarbeitung einer Keimpflanze oder eines Theils einer solchen bis jetzt erhielten, betrug  $2\frac{1}{2}\%$  der Pflanzentrockensubstanz;<sup>4)</sup> sie war also ungleich geringer, als die aus Leguminosen-Keimpflanzen erhaltene Ausbeute an Asparagin. Bei einem Vergleich

1) Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 332.

2) Wie von mir in der in der vorigen Anmerkung citirten Abhandlung, S. 327, mitgetheilt worden ist.

3) Nach den von S. Frankfurt (Landw. Versuchsstation, Bd. 43, S. 168—169) in meinem Laboratorium gemachten Beobachtungen.

4) Diese Ausbeute erhielten wir aus den Wurzeln und dem hypocotylen Glied der Keimpflanzen von *Ricinus communis*.

der Ausbeuten ist aber zu beachten, dass nicht nur die Abscheidung des Glutamins aus den Keimpflanzen ohne Zweifel mit viel grösseren Verlusten verbunden ist, als die Abscheidung des Asparagins,<sup>1)</sup> sondern dass auch die Keimpflanzen, in denen bis jetzt Glutamin gefunden wurde, sämmtlich von Samen stammen, die sehr reich an stickstofffreien Reservestoffen, und zwar an fettem Oel sind; bei der Keimung solcher Samen häufen sich aber Amide nicht in so reichlicher Menge an, wie bei der Keimung der an stickstofffreien Reservestoffen weit ärmeren, an Proteinstoffen dagegen sehr reichen Samen der Lupinen und mancher anderer Leguminosen. Aus einigen der oben aufgeführten Objecte, nämlich aus den Keimpflanzen von Spergula, Spinacia und Picea, konnten wir nur sehr kleine Glutaminmengen isoliren.

Unter allen bis jetzt von uns untersuchten Keimpflanzenarten befanden sich nur zwei, in denen weder Asparagin noch Glutamin die in grösster Menge auftretende krystallisirbare Stickstoffverbindung war, nämlich die Keimpflanzen von *Abies pectinata* und von *Picea excelsa*.<sup>2)</sup> In den ersteren vermochten wir Asparagin und Glutamin gar nicht nachzuweisen, während sie dagegen eine beträchtliche Quantität von Arginin lieferten; aus den Keimpflanzen von *Picea excelsa* konnten wir zwar Asparagin und Glutamin abscheiden, aber die Ausbeute an diesen Amidem war geringer als die daneben erhaltene Aus-

---

1) Wie aus den früher gemachten Mittheilungen zu ersehen ist, lässt sich das Glutamin nur durch Ausfällung mit Hülfe von Mercurinitrat gewinnen. Wahrscheinlich ist die Ausfällung keine ganz vollständige. Aus der bei Zerlegung des Mercurinitrat-Niederschlags erhaltenen Flüssigkeit krystallisirt das Glutamin ferner nicht vollständig aus (es ist nachgewiesen, dass Beimengungen zuweilen das Auskrystallisiren dieses Amids aus den Extracten ganz verhindern). Man wird vermuthlich auf dem angegebenen Wege niemals mehr als die Hälfte des vorhandenen Glutamins in Krystallen isoliren können; oft aber wird die Ausbeute an Krystallen diesen Betrag nicht erreichen (m. vgl. auch die in den Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 32, S. 132 von E. Bosshard und mir darüber gemachten Angaben).

2) M. vgl. die in dieser Zeitschrift, Bd. 22, S. 435 von mir darüber gemachten Mittheilungen.

beute an Arginin. Auch die Keimpflanzen von *Pinus silvestris* enthielten neben Asparagin viel Arginin; ferner fand sich diese Base in beträchtlicher Menge in den Keimpflanzen von *Lupinus luteus*,<sup>1)</sup> in geringer Menge in denjenigen von *Cucurbita pepo* und *Ricinus communis* vor.

Neben den im Vorigen genannten Stickstoffverbindungen fanden sich, jedoch meistens in zurücktretender Menge, in den Keimpflanzen zwei aromatische Amidosäuren, nämlich Tyrosin und Phenylalanin (Phenyl- $\alpha$ -Amidopropionsäure) und zwei Amidosäuren der fetten Reihe, nämlich Leucin und Amidovaleriansäure vor. Aus welchen Objecten wir diese Amidosäuren zu isoliren vermochten, ist aus der nachfolgenden Zusammenstellung der bezüglichlichen Versuchsergebnisse zu ersehen, wobei wieder darauf aufmerksam zu machen ist, dass diese Angaben sich sämmtlich auf Keimpflanzen beziehen, die sich in einem vorgeschrittenen Entwicklungsstadium befanden:

Etiolirte Keimpflanzen v. <i>Lupinus luteus</i>				lieferten Phenylalanin u. Amidovaleriansäure.	
Normale	"	"	"	"	Leucin.
Etiolirte	"	"	albus	"	Phenylalanin u. Amidovaleriansäure.
Normale	"	"	"	"	Leucin u. Amidovaleriansäure.
Etiolirte	"	"	angustifolius	"	" "
"	"	"	<i>Vicia sativa</i>	"	Phenylalanin, Leucin u. Amidovaleriansäure.
Normale	"	"	"	"	Leucin.
Etiolirte	"	"	<i>Cucurbita pepo</i>	"	Tyrosin u. Leucin.
"	"	"	<i>Tropaeolum majus</i>	"	Tyrosin.

Was die Ausbeute an Amidosäuren betrifft, so betrug dieselbe, beurtheilt nach dem Gewicht der Rohprodukte, nur in Ausnahmefällen mehr als ein Procent der Pflanzentrockensubstanz. Bei den *Lupinus*-Keimpflanzen erwiesen sich die Axenorgane (Wurzel und hypocotyles Glied) als Objecte, die für die Gewinnung der Amidosäuren besonders günstig waren, während die Cotyledonen der 2—3wöchentlichen Pflänzchen meistens nicht viel davon lieferten; doch erhielten wir bei *Lupinus albus* auch aus den Cotyledonen 2wöchentlicher normaler

<sup>1)</sup> Die Cotyledonen dieser Keimpflanzen waren das Material, aus welchem wir zuerst Arginin darstellten (vgl. diese Zeitschrift, Bd. 11, S. 43).

Pflänzchen eine Ausbeute an Amidosäuren, welche ca. 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub> der Trockensubstanz betrug; eine fast eben so grosse Ausbeute lieferte das erste Blättchenpaar dieser normalen Pflänzchen.

Zu erwähnen ist noch, dass Tyrosin und Phenylalanin in den Keimpflänzchen, aus denen wir sie nicht zu isoliren vermochten, doch in der Regel nicht völlig zu fehlen schienen; in Betreff der Beobachtungen, welche zu dieser Schlussfolgerung führen, kann ich auf frühere Publicationen verweisen.<sup>1)</sup> Wahrscheinlich gilt das Gleiche auch für das Leucin.

Von den krystallisirbaren Stickstoffverbindungen, auf welche die im Vorigen gemachten Mittheilungen sich beziehen, können drei, nämlich Asparagin, Glutamin und Arginin, mit Sicherheit für Produkte des in den Keimpflanzen stattfindenden Umsatzes der Eiweissstoffe erklärt werden;<sup>1)</sup> denn sie finden sich, wenn nicht in allen, so doch in einigen Keimpflanzen in so grosser Quantität vor, dass sie nicht auf Kosten der geringen Mengen von nicht eiweissartigen Stickstoffverbindungen, die in den ungekeimten Samen enthalten waren, entstanden sein können.<sup>2)</sup> Dass das Gleiche für das Tyrosin, das Phenylalanin, das Leucin und die Amidovaleriansäure gilt, kann zwar nicht für völlig zweifellos,<sup>3)</sup> aber doch für sehr wahrscheinlich erklärt werden; denn man hat ja

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. 22, S. 426, 431 u. 433, Journ. f. prakt. Chemie, N. F. Bd. 32, S. 446.

2) Wenn ich diese Stickstoffverbindungen hier für Produkte des Umsatzes der Eiweissstoffe erkläre, so soll damit selbstverständlich nicht gesagt sein, dass sie primäre Spaltungsprodukte derselben sind (m. vgl. die von uns gemachten Darlegungen).

3) Für das Asparagin ist dies an Keimpflanzen von *Lupinus luteus* (Landw. Jahrbücher, Bd. 5, S. 821), für Arginin an den gleichen Keimpflanzen (ebendasselbst, Bd. 21, S. 105), sowie an solchen von *Abies pectinata* und *Picea excelsa* (diese Zeitschrift, Bd. 22, S. 443) von uns bewiesen worden (für das Glutamin ergibt sich die gleiche Schlussfolgerung aus den Resultaten, die wir an den Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* erhalten haben (Journ. f. prakt. Chemie, N. F. Bd. 20, S. 390, 391 u. 396, Bd. 32, S. 455 u. 456).

4) Aus den bei Analyse der ungekeimten Samen und der Keimpflanzen erhaltenen Resultaten lässt sich freilich der Schluss ableiten, dass Stickstoffverbindungen vom Verhalten der Amidosäuren beim Umsatz

diese Amidosäuren neben Asparaginsäure, Glutaminsäure und Arginin auch bei der Spaltung der Eiweissstoffe ausserhalb des Organismus erhalten.

In allen Keimpflanzen, in denen wir darnach suchten, fanden wir auch in geringer Menge die zuerst von G. Salomon<sup>1)</sup> in solchen Objecten nachgewiesenen Nucleinbasen (Xanthinstoffe).<sup>2)</sup> Auf Grund der Arbeiten von A. Kossel darf angenommen werden, dass diese Basen während des Keimungsvorganges durch Zersetzung von Nuclein sich gebildet hatten. Im Zusammenhang mit den Nucleinbasen steht wahrscheinlich auch das in jungen grünen Pflänzchen von *Vicia sativa*, in den Blättchen normaler Keimpflanzen von *Lupinus albus* und in den Cotyledonen etiolirter Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* von uns gefundene Vernin<sup>3)</sup> — eine Verbindung, welche beim Kochen mit Salzsäure Guanin liefert.

Zu den Produkten des Umsatzes der Proteinstoffe gehört vielleicht auch das in den Keimpflanzen von *Vicia sativa* von uns nachgewiesene Guanidin;<sup>4)</sup> denn man hat diese Base auch bei der Oxydation von Eiweissstoffen erhalten. Eine solche Entstehungsweise lässt sich dagegen nicht annehmen für zwei andere in den gleichen Keimpflanzen von uns gefundene Basen, nämlich für Cholin und Betain;<sup>5)</sup> denn diese Basen

---

der Eiweissstoffe während des Keimungsvorganges entstanden sind; auch hat man aus den ungekeimten Samen bis jetzt keine Amidosäuren darstellen können; die aus den Keimpflanzen abscheidbaren Quantitäten von Tyrosin, Phenylalanin, Leucin und Amidovaleriansäure sind aber nicht so gross, dass man für eine jede dieser Amidosäuren auf dem bei Asparagin, Glutamin und Arginin eingeschlagenen Wege die Entstehung aus Eiweissstoffen beweisen könnte.

1) Verhandlungen der physiolog. Gesellschaft in Berlin, 1880—1881, Nr. 2 und 3.

2) M. vgl. unsere Mittheilungen im Journ. f. prakt. Chemie, N. F. Bd. 27, S. 358, Bd. 32, S. 448 u. 449, sowie Landw. Versuchsstationen, Bd. 48, S. 437.

3) Diese Zeitschrift, Bd. 10, S. 80, sowie Journ. für prakt. Chemie, N. F. Bd. 32, S. 447. In den Keimpflanzen von *Lupinus albus* wurde es erst vor Kurzem von uns gefunden.

4) Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 197, sowie Berichte d. D. Chem. Gesellschaft, Bd. 25, S. 658.

5) Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 204.

finden sich schon in den ungekeimten Samen von *Vicia sativa* vor. Das Cholin, welches auch in manchen anderen Keimpflanzen von uns nachgewiesen wurde,<sup>1)</sup> kann auch bei der Zersetzung von Lecithin während des Keimungsvorganges entstanden sein.

Zu erwähnen sind hier auch die in den Keimpflanzen hin und wieder auftretenden Nitrate; wir fanden sie zuerst in Keimpflanzen von *Cucurbita pepo*,<sup>2)</sup> in denen sie später auch durch Belzung (l. c.) nachgewiesen worden sind. Die Nitrate bilden aber keine normalen Stoffwechselprodukte der Keimpflanzen, wie daraus hervorgeht, dass die Keimpflanzen, welche von uns auf Gasetzen gezogen wurden, frei von Nitraten waren. Wahrscheinlich gelangen sie von aussen in die Keimpflanzen hinein.<sup>3)</sup> Dass Letzteres überhaupt die Herkunft aller in den Pflanzen sich findenden Nitrate ist, muss auch auf Grund der von Molisch<sup>4)</sup> ausgeführten Untersuchungen angenommen werden.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, welche von den in den Keimpflanzen aufgefundenen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen man als Produkte des Umsatzes der Proteinstoffe und speciell der Eiweisssubstanzen betrachten kann, wobei aber zunächst die Frage, ob sie primäre oder secundäre Proteinzersetzungsprodukte sind, eine offene bleiben soll. Ueberblickt man nun die Resultate unserer Untersuchungen, so sieht man, dass wir aus den verschiedenen Keimpflanzenarten nicht immer die gleichen Eiweisszersetzungsprodukte abscheiden konnten. Während wir aus vielen Keimpflanzen Asparagin in sehr grosser Quantität erhielten, lieferten andere viel Glutamin. Aus manchen Objecten konnten wir Leucin und Amidovaleriansäure darstellen, aus anderen Leucin und Tyrosin; wieder andere lieferten Phenylalanin

---

1) Ebendasselbst, Bd. 11, S. 365, sowie Landw. Versuchsstationen, Bd. 46, S. 61, Bd. 48, S. 436.

2) Journ. f. prakt. Chemie, N. F. Bd. 32, S. 451.

3) Diese Zeitschrift, Bd. 22, S. 82.

4) Sitzungsberichte der K. k. zoologisch-botanischen Gesellschaft in Wien, Bd. 38, März 1888.

und Amidovaleriansäure. Einige Keimpflanzen-Species waren reich an Arginin, während wir aus anderen diese Base nicht zu isoliren vermochten.

Da diese Erscheinung nicht auf eine ungleiche Constitution der in den bezüglichen Objecten enthaltenen Eiweisssubstanzen zurückzuführen ist,<sup>1)</sup> so könnte man auf den Gedanken kommen, dass der Zerfall der Eiweissmoleküle in den verschiedenen Keimpflanzenarten nicht in der gleichen Weise erfolge, und dass der einen Art diese, der anderen jene Eiweisszersetzungsprodukte eigenthümlich seien. Einer solchen Annahme steht aber zunächst das von uns nachgewiesene wechselnde Auftreten einiger zu den Produkten des Eiweissumsatzes zu rechnenden Stickstoffverbindungen in den gleichen Keimpflanzen-Species entgegen. Da ich darüber schon in früheren Publicationen<sup>2)</sup> ausführliche Mittheilungen gemacht habe, so bedarf es hier nur der Wiedererwähnung einiger Thatsachen. Während die Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* in der Regel viel Glutamin und nur sehr wenig Asparagin enthielten, fanden wir in einigen Culturen derselben nur Asparagin, während Glutamin nicht nachzuweisen war. Auch bei *Helianthus annuus* war bald Asparagin, bald Glutamin das in grösster Menge auftretende Amid. Aus den Keimpflanzen von *Picea excelsa* erhielten wir neben Arginin in einem Falle Glutamin, in einem anderen fast nur Asparagin. Aus Keimpflanzen von *Lupinus luteus* konnte Belzung (l. c.) ohne Schwierigkeit Tyrosin isoliren, während wir aus denselben Phenylalanin und Amidovaleriansäure, aber kein Tyrosin erhielten. Dass in mehreren Fällen die gleiche Keimpflanzen-Species verschiedene Amidosäuren lieferten, je nachdem sie im Dunkeln oder im Licht sich entwickelt hatten, ist aus der oben gegebenen Zusammenstellung (vgl. S. 132) zu ersehen.

Im Hinblick auf diese Ergebnisse würde es ganz unberechtigt sein, wenn man die Bildung von Phenylalanin oder

1) Dass dies nicht möglich ist, geht schon aus den Darlegungen hervor, die ich im Journ. f. prakt. Chemie, N. F. Bd. 20, S. 407—418 gemacht habe.

2) Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 306, u. Bd. 22, S. 411.

von Tyrosin oder von Glutamin oder von einem anderen der oben genannten Produkte für eine Eigenthümlichkeit gewisser Keimpflanzen erklären wollte.

Gegen eine solche Annahme spricht aber noch etwas Anderes. Es darf für wahrscheinlich erklärt werden, dass das in den Keimpflanzen sich vorfindende Gemenge von Produkten des Eiweissumsatzes fast überall die gleiche qualitative Zusammensetzung hat, und dass es nur die Quantität der einzelnen Gemengtheile ist, welche sehr grosse Verschiedenheiten aufweist.

So fehlen z. B. allem Anschein nach Tyrosin und Phenylalanin nicht vollständig in denjenigen Keimpflanzen, aus welchen sie bisher noch nicht isolirt werden konnten, wie oben schon erwähnt worden ist. Wahrscheinlich gilt das Gleiche auch für das Leucin. In den glutaminhaltigen Keimpflanzen von *Cucurbita pepo* ist auch ein wenig Asparagin, in den asparaginhaltigen Keimpflanzen von *Vicia sativa*<sup>1)</sup> und von *Picea excelsa* ein wenig Glutamin nachgewiesen worden.

Diese den obigen Annahmen widersprechenden Erscheinungen erklären sich, wenn man annimmt, dass es erstens stets im Wesentlichen die gleichen stickstoffhaltigen Produkte sind, welche beim Zerfall der Eiweissstoffe in den Keimpflanzen sich bilden, und dass zweitens einige dieser Produkte nur deshalb nicht aus allen Objecten isolirt werden können, weil sie im regen Stoffwechsel der Keimpflanzen bald nach ihrer Bildung bis auf einen geringen Rest, unter Umständen vielleicht sogar vollständig, umgewandelt worden sind. Dass von dieser Umwandlung auch in der gleichen Keimpflanzen-Species nicht stets dieselben Eiweisszersetzungsprodukte in gleichem Maasse betroffen werden,<sup>2)</sup> kann nicht für unwahrscheinlich erklärt werden.

---

1) In diesen Keimpflanzen hat v. Gorup-Besanez (l. c.) Glutamin nachgewiesen.

2) Man wird annehmen dürfen, dass es nur geringer Verschiedenheiten im Verlauf des pflanzlichen Stoffwechsels bedarf, um zu bewirken, dass z. B. bei gleichzeitigem Vorhandensein von Tyrosin, Phenylalanin und Amidovaleriansäure bald die eine, bald die andere dieser Amidosäuren rascher verbraucht wird.

Für die zweite dieser Annahmen sprechen auch noch die im Folgenden aufgeführten Gründe, und zwar in so entschiedener Weise, dass sie als zwingende bezeichnet werden können.

Wenn man Eiweisssubstanzen durch Säuren oder Alkalien oder durch Trypsin zersetzt, so erhält man bekanntlich neben Amidosäuren der fetten Reihe auch aromatische Amidosäuren. Als ganz constantes Produkt tritt dabei Tyrosin auf; neben letzterem haben wir aber auch als zweite aromatische Amidosäure aus vegetabilischen Eiweisssubstanzen Phenylalanin darstellen können. Das Entstehen dieser Amidosäuren führt zu der Schlussfolgerung, dass die Eiweisssubstanzen aromatische Atomgruppen enthalten. Die Annahme, dass eine zur Bildung von Amiden führende Zersetzung der Eiweissstoffe — eine Zersetzung, die wir als eine unter Wasseraufnahme erfolgende Spaltung der Moleküle ansehen können — nur Amidosäuren der fetten Reihe, nicht aber zugleich auch aromatische Amidosäuren liefern könne, ist demnach unvereinbar mit unserem heutigen Wissen.

Ueberblickt man nun die im Vorigen von mir mitgetheilten Resultate unserer Untersuchungen, so sieht man, dass in den Keimpflanzen jene beiden aromatischen Amidosäuren zwar mehrfach nachgewiesen worden sind, dass sie jedoch nicht aus allen Objecten darzustellen waren. Weder Tyrosin noch Phenylalanin vermochten wir aus etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* und aus normalen Pflänzchen von *Lupinus luteus* und *Vicia sativa* zu isoliren, während dagegen etiolirte Keimpflanzen der zuletzt genannten beiden Leguminosen Phenylalanin lieferten. Da nun die Annahme, dass die hydrolytische Spaltung der Eiweissstoffe ohne die Bildung von aromatischen Amidosäuren verlaufen oder etwa diese Produkte nur in Spuren liefern könne, für eine unmögliche erklärt werden muss, so werden wir zu der Schlussfolgerung gedrängt, dass solche aromatische Amidosäuren in jenen Keimpflanzen zwar entstanden, aber später in andere Produkte umgewandelt worden sind. Die Umwandlung scheint aber in der Regel keine ganz vollständige gewesen zu sein; denn die Keim-

pflanzen, aus denen wir Tyrosin und Phenylalanin nicht zu isoliren vermochten, enthielten wahrscheinlich noch geringe Quantitäten dieser Substanzen (vergl. S. 133).

Eine Stütze für die obige Annahme liefern aber auch die über das Auftreten des Arginins in den Keimpflanzen gemachten Beobachtungen. Ausser in den Keimpflanzen der früher genannten Coniferenarten fanden wir diese stickstoffreiche Base in reichlicher Menge sowohl in den normalen wie in den etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus*; dagegen vermochten wir sie nicht nachzuweisen bei *Lupinus albus* und *Vicia sativa*; *Lupinus angustifolius* lieferte zwar eine Base, deren Reactionen mit denjenigen des Arginins übereinstimmten, doch war die Ausbeute an diesem Produkt so gering, dass wir seine Identität mit Arginin nicht sicher festzustellen vermochten.<sup>1)</sup> Da S. G. Hedin<sup>2)</sup> nachgewiesen hat, dass das Arginin bei der Spaltung der Proteinstoffe durch Salzsäure als constantes Produkt auftritt, so ist seine Verbreitung in den Keimpflanzen leicht erklärlich. Wie aber erklärt es sich, dass es in den Keimpflanzen von *Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius* und *Vicia sativa* entweder ganz fehlte, oder doch nur in einer zum sichern Nachweis nicht mehr genügenden Quantität sich vorfand, obwohl doch Hedin gerade aus der Eiweisssubstanz der Lupinen-

---

1) Vgl. meine Mittheilungen in dieser Zeitschrift, Bd. 22, S. 424 und 432. Dort sind jedoch nur die Resultate mitgetheilt, die wir bei der Prüfung der Cotyledonen der betreffenden Keimpflanzen auf Arginin erhielten. Ich habe später auch aus den Axenorganen dieser Keimpflanzen das Arginin nach verschiedenen Verfahren zu gewinnen gesucht; das Resultat war aber ein negatives. Dieses Ergebniss schliesst selbstverständlich die Möglichkeit nicht aus, dass in den Untersuchungsobjecten geringe Mengen von Arginin sich vorfanden; letzteres ist sogar für die Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* als sehr wahrscheinlich zu bezeichnen. Mit völliger Sicherheit aber lässt sich aus den von uns erhaltenen Resultaten die Schlussfolgerung ableiten, dass in Bezug auf den Arginingehalt zwischen den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und denjenigen von *Lupinus albus* und *angustifolius* eine ausserordentlich grosse Verschiedenheit vorhanden war.

2) Diese Zeitschrift, Bd. 21, S. 155.

samen, dem Conglutin, eine relativ hohe Ausbeute an Arginin erhielt? Dass in den genannten Keimpflanzen beim Zerfall der Eiweissmoleküle an Stelle des Arginins Asparagin oder Leucin oder irgend eine andere Amidosäure gebildet wurde, ist höchst unwahrscheinlich. Denn es ist kaum zu bezweifeln, dass es nur gewisse Atomgruppen im Eiweissmolekül sind, welche beim Eiweisszerfall Arginin liefern — Atomgruppen, wie sie auch in den Protaminen sich finden, einer Gruppe von Proteinstoffen, bei deren Zersetzung durch Säuren man nach A. Kossel's schönen Untersuchungen<sup>1)</sup> nur Arginin und andere basische Produkte, nicht aber Amidosäuren erhält — und es fehlt jede Stütze für die Annahme, dass diese Atomgruppen unter irgend welchen Umständen sich in Amidosäuren oder Asparagin umzuwandeln vermögen. Wenn wir also zwar aus den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und einiger anderen Pflanzenspecies, nicht aber aus denjenigen von *Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius* und *Vicia sativa* Arginin darzustellen vermögen, so ist es das Wahrscheinlichste, dass in den zuletzt genannten drei Objecten Arginin zwar gebildet, aber bald nach seiner Bildung zersetzt worden ist.<sup>2)</sup>

Sollten aber die im Vorigen gemachten Darlegungen noch Zweifel an der Richtigkeit der oben ausgesprochenen Annahme übrig lassen, so können diese Zweifel durch die Resultate beseitigt werden, die wir bei der Untersuchung jüngerer Keimpflanzen erhielten. Ueber die Details dieser Untersuchung werde ich weiter unten im «Anhang» Angaben machen; hier beschränke ich mich auf die Mittheilung folgender Ergebnisse: Aus den Cotyledonen 6tägiger und 8tägiger etiolirter Keim-

1) Ebendasselbst, Bd. 22, S. 176.

2) Allerdings liegt es im Bereich der Möglichkeit, dass die Atomgruppen im Eiweissmolekül, welche bei *Lupinus luteus* etc. zur Bildung von Arginin verwendet wurden, in anderen Objecten (*Lupinus angustifolius* und *albus* und *Vicia sativa*) eine andere Base lieferten. Indessen geht aus quantitativen Bestimmungen hervor, dass bei *Lupinus angustifolius* und *Vicia sativa* überhaupt eine weit geringere Menge von Basen sich bildete, als bei *Lupinus luteus* (bei *Lupinus albus* wurden solche Bestimmungen bis jetzt nicht ausgeführt).

pflanzen von *Lupinus luteus* vermochten wir ohne Schwierigkeit nach dem früher beschriebenen Verfahren Amidosäuren darzustellen; die Ausbeute betrug bei dem zuerst genannten Object ca.  $\frac{1}{2}$  0/0, bei dem zweiten ca. 1 0/0 der Cotyledonentrockensubstanz. Das aus den Cotyledonen der 6tägigen Keimpflanzen erhaltene Amidosäurenpräparat bestand fast ausschliesslich aus Leucin, welches sich leicht in reinen Zustand überführen liess. Aus dem aus den Cotyledonen der 8tägigen Keimpflanzen dargestellten Amidosäurenpräparat liess sich neben Leucin, welches auch hier in grösster Menge vorhanden war, auch noch Tyrosin in Krystallen isoliren; dass Phenylalanin nicht völlig fehlte, wird durch die Bildung einer kleinen Quantität von Benzoesäure bei der Oxydation des Amidosäuregemenges wahrscheinlich gemacht. Vergleichen wir diese Versuchsergebnisse mit denjenigen, die wir an 2—3wöchentlichen etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* erhielten, so zeigt sich eine grosse Verschiedenheit; aus den letzteren, in der Entwicklung viel weiter vorgeschrittenen, Keimpflanzen konnten wir zwar Phenylalanin und Amidovaleriansäure, aber weder Tyrosin noch Leucin isoliren, obgleich wir grosse Quantitäten dieser Keimpflanzen verarbeiteten. Dass wir diese beiden Amidosäuren, nach denen wir in den älteren Keimpflanzen vergeblich suchten, in den Cotyledonen der jüngeren Keimpflanzen — also an dem Orte, an welchem die zerfallenden Reserveproteinstoffe sich befinden — nachzuweisen vermochten, kann doch kaum anders gedeutet werden, als dass diese beiden Verbindungen im Stoffwechsel der Keimpflanzen später bis auf einen zum sicheren Nachweis nicht mehr genügenden Rest zersetzt wurden. Ein ähnliches Resultat erhielten wir bei Untersuchung der Cotyledonen 6tägiger etiolirter Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius*; auch aus diesem Object liessen sich Amidosäuren in beträchtlicher Menge (ca. 1 0/0 der Trockensubstanz der Cotyledonen) gewinnen und auch hier bestand das Amidosäurenpräparat aus einem Gemenge von Leucin und Tyrosin, während wir aus 2—3wöchentlichen etiolirten Keimpflanzen der gleichen Species zwar Leucin, aber kein Tyrosin zu isoliren vermochten. Endlich konnten wir auch

aus dem Endosperm der Keimpflanzen von *Ricinus communis* Tyrosin isoliren, während die gleiche Keimpflanzen-Species in einem späteren Entwicklungsstadium, in welchem das Endosperm fast völlig aufgezehrt worden war, kein Tyrosin mehr lieferte.

Die im Vorigen mitgetheilten Ergebnisse unserer Untersuchung führen zu der Schlussfolgerung, dass wir das beim Zerfall der Eiweissstoffe während des Keimungsvorgangs entstandene Gemenge von stickstoffhaltigen Produkten bei Untersuchung der Keimpflanzen nicht so vorfinden, wie es sich gebildet hat, weil die Zusammensetzung dieses Gemenges sich dadurch verändert, dass einige Gemengtheile im Stoffwechsel der Keimpflanzen bald nach ihrer Bildung einer Umwandlung in andere Produkte unterliegen. Was für Produkte sind dies aber? Bei Discussion dieser Frage ist zunächst darauf hinzuweisen, dass in den Keimpflanzen Eiweisszersetzungsprodukte zu Eiweissstoffen regenerirt werden können. Gesetzt nun, dass für diesen Zweck einige jener Produkte rascher verbraucht werden als andere, so muss dies eine Verschiebung des Mengenverhältnisses, in welchem jene Produkte während des Keimungsvorganges entstanden sind, zur Folge haben.<sup>1)</sup>

---

1) Mit Hülfe der obigen Annahme lässt sich z. B. eine an den Keimpflanzen von *Abies pectinata* von uns gemachte Beobachtung erklären. Wir fanden in diesen Keimpflanzen von Produkten des Eiweissumsatzes fast nur Basen; und zwar war Arginin in relativ grosser Menge vorhanden. Das reichliche Auftreten dieser Base ist in diesem Falle leicht erklärlich; denn nach den in dieser Zeitschrift, Bd. 22, S. 435 schon von mir erwähnten und später von uns wiederholten Versuchen liefert die Proteinsubstanz der Samen von *Abies pectinata* auch bei der Zersetzung durch Salzsäure eine grosse Quantität von Basen, und speciell von Arginin; daneben aber entstehen auch Amidosäuren (Leucin etc.). Man kann selbstverständlich nicht annehmen, dass in den Keimpflanzen von *Abies* beim Zerfall der Proteinstoffe nur Basen entstanden sind; nimmt man aber an, dass in diesen Keimpflanzen die neben den Basen beim Eiweisszerfall noch entstandenen Stickstoffverbindungen später zu Eiweissstoffen regenerirt worden sind, so erklärt es sich, dass wir in ihnen fast nur Basen vorfanden. Dabei ist noch darauf aufmerksam zu machen, dass in diesen an Proteinstoffen ziemlich armen, an stickstofffreien Reservestoffen dagegen sehr reichen Keimpflanzen überhaupt keine starke Anhäufung von Eiweisszersetzungsprodukten erfolgte.

Um aber in solcher Weise die starke Anhäufung von Asparagin und Glutamin in eiweissarmen etiolirten Keimpflanzen erklären zu können, müsste man auch noch die Hypothese machen, dass in den Keimpflanzen eine wiederholte Zersetzung und Neubildung von Eiweissstoffen erfolgt und dass für die Eiweissbildung Asparagin und Glutamin nicht verwendet werden; dieser Hypothese stehen jedoch gewichtige Gründe entgegen. Eine befriedigende Erklärung der besprochenen Erscheinung ergibt sich aber aus der zum Ersatz jener Hypothese schon vor vielen Jahren<sup>1)</sup> von mir geäusserten Annahme, dass die bei der Spaltung der Eiweissmoleküle entstandenen Produkte in den Keimpflanzen zum grossen Theil weiter zerfallen und dass ein dabei übrig bleibender stickstoffhaltiger Rest (Ammoniak?) zur Synthese von Asparagin und Glutamin, vielleicht auch noch anderer Stickstoffverbindungen, verwendet wird. Nach dieser Annahme bilden sich jene beiden Amide bei ihrer Anhäufung in den Pflanzen, wenn nicht ausschliesslich, so doch zum grössten Theil,<sup>2)</sup> nicht als primäre Zersetzungsprodukte der Eiweissstoffe oder Peptone, sondern verdanken einer Umwandlung der primären Zersetzungsprodukte dieser Stoffe ihre Entstehung.

Zur Begründung dieser Annahme kann ich jetzt eine weit grössere Anzahl von Thatsachen anführen, als es mir früher möglich war. Von grösstem Gewicht sind die bei der quantitativen Analyse der Keimpflanzen erhaltenen Ergebnisse; zu Gunsten jener Annahme sprechen aber auch die Beobachtungen, die wir über die Vertheilung der Produkte des Eiweissumsatzes auf die verschiedenen Theile der Keimpflanzen gemacht haben. Diese Beobachtungen will ich im Folgenden zunächst mittheilen.

Bei Untersuchung der asparaginreichen etiolirten Keimpflanzen von *Lupinus luteus* fand ich schon vor langer Zeit, dass in den Cotyledonen, in denen doch die zerfallenden

---

1) Landwirthsch. Jahrbücher, 1888, Bd. 17, S. 708.

2) Es ist möglich, dass Asparagin und Glutamin in beschränkter Menge beim Zerfall der Eiweissstoffe direkt entstehen. Bekanntlich liefern die Eiweissstoffe beim Erhitzen mit Säuren oder Alkalien Asparaginsäure und Glutaminsäure.

Reserveeiweissstoffe sich befinden, dass Asparagin im Verhältniss zu den anderen nichteiweissartigen Stickstoffverbindungen in weit geringerer Quantität sich findet, als in den übrigen Theilen der Keimpflanzen.<sup>1)</sup> Die Cotyledonen enthalten dagegen in beträchtlicher Quantität eine in den Axenorganen der Keimpflanzen bis jetzt noch nicht nachgewiesene Stickstoffverbindung, nämlich das Arginin; daneben finden sich Amidosäuren vor, die aber auch in den Axenorganen nicht fehlen. Auch bei den Keimpflanzen von Cucurbita pepo zeigte sich ein ganz ungleicher Gehalt der Cotyledonen und der übrigen Theile an gewissen Produkten des Eiweissumsatzes.<sup>2)</sup> Aus den Cotyledonen liessen sich durch Ausfällung mittelst Mercurinitrat Asparagin, Tyrosin und Arginin gewinnen; Glutamin vermochte ich aus den Cotyledonen sogar dann nicht darzustellen, als ich aus dem Extract mit Hülfe von Phosphorwolframsäure Arginin und andere basische Stoffe entfernte, das von der überschüssigen Phosphorwolframsäure zuvor befreite Filtrat mit Mercurinitrat versetzte und den durch dieses Reagens hervorgebrachten Niederschlag sodann in bekannter Weise verarbeitete.<sup>3)</sup> Ganz

1) Zum Beweise können die folgenden Zahlen dienen (vergl. Landwirtschaftliche Jahrbücher, 1880, Bd. 9, S. 720, Anmerk.):

Bezeichnung der verwendeten Samensorte.	Vegetationsdauer der Keimpflanzen.	Vom Stickstoff des eiweissfreien Extracts aus Cotyledonen fallen		Vom Stickstoff des eiweissfreien Extracts aus den übrigen Pflanzentheilen fallen	
		auf Asparagin.	auf andere N-haltige Stoffe.	auf Asparagin.	auf andere N-haltige Stoffe.
		%	%	%	%
B	4 Tage	17,5	82,5	70,0	30,1
	6 „	20,5	79,5	68,8	31,2
	12 „	26,2	73,8	78,1	21,9
A	11 „	22,6	77,4	80,1	19,9

2) Ausser auf die schon im Journ. f. prakt. Chemie, N. F., Bd. 32, veröffentlichten Versuchsergebnisse stütze ich mich dabei auf eine Untersuchung der etiolirten Keimpflanzen von Cucurbita pepo, die ich zur Kontrolle der früher erhaltenen Resultate im Laufe des letzten Jahres ausgeführt habe. Diese Keimpflanzen waren 2 und 3 Wochen alt.

3) Auf völlige Abwesenheit des Glutamins kann aus diesem Resultat freilich nicht geschlossen werden; es ist möglich, dass eine geringe Glutaminmenge vorhanden war, aber durch Beimengungen am Auskrystallisiren verhindert wurde.

anders war das Resultat bei den übrigen Theilen dieser Keimpflanzen; ich konnte aus denselben mit Hülfe von Mercurinitrat Glutamin in ansehnlichen Quantitäten gewinnen. Neben diesem Amid lieferte der Mercurinitrat-Niederschlag Tyrosin und Arginin in sehr geringen Quantitäten; Asparagin konnte ich aus demselben nicht isoliren. Aehnliche Resultate ergaben sich bei Untersuchung der etiolirten Keimpflanzen von *Ricinus communis*. Bei den Ricinussamen sind die sehr dünnen Cotyledonen vom Endosperm wie von einem Sack umgeben. Nach längerer Vegetation der Keimpflanzen verschwindet das Endosperm unter Zurücklassung eines Häutchens, indem die in ihm enthaltenen stickstoffhaltigen und stickstofffreien Reservestoffe in lösliche Verbindungen übergeführt und dann von den Cotyledonen aufgesogen werden. Im Endosperm von Keimpflanzen, bei denen das hypocotyle Glied eine Länge von 10—12 cm. erreicht hatte, enthielt das Endosperm nichteiweissartige Stickstoffverbindungen in ansehnlicher Menge, wie aus den weiter unten aufgeführten quantitativen Bestimmungen zu ersehen ist. Ich konnte daraus kleine Quantitäten von Tyrosin und Arginin, aber weder Asparagin noch Glutamin isoliren. Dass von den beiden zuletzt genannten Amiden nur eine sehr geringe Quantität vorhanden sein konnte, lehrte die Bestimmung der Stickstoffmenge, die sich in einem wässerigen Extract des Endosperms nach dem Kochen mit Salzsäure in Ammoniakform vorfand; denn diese Stickstoffmenge betrug nur 0,1% der Trockensubstanz des Endosperms. Ein ganz anderes Resultat ergab sich bei Untersuchung der übrigen Keimpflanzentheile. Aus einem wässerigen Extract aus dem hypocotylen Glied und der Wurzel, welche zusammen verarbeitet wurden, liess sich leicht Glutamin in ansehnlicher Menge abscheiden; der in einem solchen Extract erhaltene Mercurinitrat-Niederschlag lieferte bei der Zerlegung eine Flüssigkeit, welche beim Verdunsten fast vollständig zu einer fast nur aus Glutamin bestehenden Krystallmasse eintrocknete; doch konnte ich aus der beim Umkrystallisiren des Rohprodukts erhaltenen Mutterlauge durch Ausfällung mittelst Phosphorwolframsäure eine kleine Quantität von Arginin gewinnen; Tyrosin vermochte ich

dagegen in jenem Produkt nicht nachzuweisen. Ganz das gleiche Resultat erhielt ich bei Untersuchung des hypocotylen Glieds und der Wurzel von Ricinus-Keimpflanzen, bei denen das Endosperm schon ganz aufgezehrt war. Auch aus den Cotyledonen dieser Keimpflanzen vermochte ich ohne Schwierigkeit Glutamin zu isoliren.

Nach den Vorstellungen, die man sich über die Stoffwanderung in den Pflanzen zu bilden hat, kann schon durch letztere eine ungleiche Vertheilung gewisser Stoffwechselprodukte innerhalb der Pflanzen hervorgebracht werden.<sup>1)</sup> Doch scheint es mir schwierig, nur mit Hülfe dieser Vorstellungen alle von mir mitgetheilten Beobachtungen in befriedigender Weise zu erklären; man kann doch z. B. kaum annehmen, dass bei Cucurbita pepo in den Cotyledonen und bei Ricinus communis im Endosperm Asparagin und Tyrosin vollständig oder fast vollständig zurückbleiben, während gleichzeitig Glutamin aus diesen Pflanzentheilen bis auf einen nicht mehr nachweisbaren Rest fortgeführt wird. Für solche Erscheinungen, sowie für die ausserordentlich starke Anhäufung von Asparagin in den Axenorganen der Keimpflanzen von Lupinus lässt sich viel leichter eine Erklärung finden, wenn man annimmt, dass gewisse Spaltungsprodukte der Eiweisssubstanzen später in Asparagin und Glutamin umgewandelt werden.

Für die Richtigkeit dieser Annahme sprechen noch weit entschiedener die Resultate, welche bei der quantitativen Analyse der Keimpflanzen erhalten wurden. Im Folgenden führe ich Zahlen aus einer von M. Merlis in meinem Laboratorium ausgeführten Versuchsreihe an,<sup>2)</sup> für welche etiolirte Keimpflanzen von Lupinus angustifolius als Object dienten. Die Ausführung der bezüglichen Bestimmungen geschah nach den früher von mir beschriebenen Methoden; das Mengenverhältniss der Keimpflanzen verschiedenen Alters zu den ungekeimten entschälten Samen ist theils direkt bestimmt, theils aus dem Stickstoffgehalt berechnet worden. Bei Berechnung des Asparagin-

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, I, S. 333.

2) Vergl. die in den Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 48, S. 419 ff. publicirte Abhandlung.

gehalts habe ich die geringe Ammoniakmenge, welche in den für die Analyse verwendeten getrockneten Keimpflanzen sich schon vorfand, in Abzug gebracht, obwohl in Folge davon wahrscheinlich die Asparagin-Bestimmungen etwas zu niedrig ausgefallen sind.<sup>1)</sup> Die in der dritten Horizontalreihe der nachfolgenden Tabelle aufgeführten Zahlen repräsentiren die Stickstoffmengen, welche den aus eiweissfreiem Extract durch Phosphorwolframsäure gefällten Verbindungen angehörten. Da dies zweifellos hauptsächlich Basen waren, so schien es zweckmässig, jene Stickstoffmengen als «Stickstoff in basischen Verbindungen» zu bezeichnen, obwohl diese der Kürze halber gewählte Bezeichnung nicht völlig correct ist.<sup>2)</sup> Die Anordnung der Tabelle wird im Uebrigen verständlich sein.

	Aus 100 Th. ungekeimter Samen (excl. Schalen) <sup>3)</sup> waren entstanden		
	89,2 Th. 6 tägiger Keim- pflanzen, mit	72,72 Th. 15 tägiger Keim- pflanzen, mit	70,69 Th. 18 tägiger Keim- pflanzen, mit
1. N in Proteinstoffen	3,19 Th.	1,49 Th.	1,51 Th.
2. „ im Asparagin	1,83 „	3,63 „	4,02 „
3. „ in basischen Verbindungen	0,49 „	0,45 „	0,43 „
4. „ in andern Verbindungen (Diff.)	1,10 „	1,04 „	0,65 „
5. Gesamtstickstoff	6,61 Th.	6,61 Th.	6,61 Th.

Aus der vorstehenden Tabelle ist zu ersehen, dass die aus 100 Th. ungekeimter Samen entstandenen Keimpflanzen im

1) Weil nach den w. oben mitgetheilten Beobachtungen beim Trocknen der Keimpflanzen durch Zersetzung von Asparagin schon eine geringe Ammoniakmenge sich bildet. Bei Berechnung des Asparagin-gehalts der Keimpflanzen hatte M. Merlis (l. c.) das ursprünglich vorhandene Ammoniak nicht in Abzug gebracht.

2) Denn es können in die Phosphorwolframsäure-Niederschläge neben organischen Basen und Ammoniak auch noch andere Stickstoffverbindungen in geringer Menge eingegangen sein.

3) 100 Th. der ungekeimten schalenfreien Samen enthielten 6,61 Th. Gesamtstickstoff, 6,14 Th. Stickstoff in Form von Proteinstoffen und 0,42 Th. Stickstoff in Form von Verbindungen, welche aus eiweissfreiem Extract durch Phosphorwolframsäure gefällt wurden.

Alter von 6 Tagen nach Abrechnung des Asparagins noch 1,59 Th. Stickstoff in Form nichtproteinartiger Verbindungen enthielten, im Alter von 18 Tagen nur 1,08 Th. Die auf diese Verbindungen (Amidosäuren etc.) fallende Stickstoffmenge hatte also mit der fortschreitenden Entwicklung der Keimpflanzen sich verringert. Da nun gleichzeitig der Proteingehalt der Pflänzchen abgenommen, ihr Asparagingehalt dagegen sehr stark zugenommen hatte, so ergibt sich, dass Asparagin auf Kosten anderer nichtproteinartiger Stickstoffverbindungen gebildet worden war. Dass an diesem Process die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Stickstoffverbindungen beteiligt waren, ist aus den Zahlen der Tabelle leicht zu ersehen.

Für eine zweite Versuchsreihe wurde *Lupinus luteus* verwendet. Ausser 6tägigen und 15tägigen etiolirten Keimpflanzen untersuchten wir Pflänzchen, welche zuerst ca. 14 Tage lang im Dunkeln, dann ca. 10 Tage lang in einem nicht verdunkelten Raume vegetirt hatten, so dass ihre Vegetationsdauer im Ganzen 24 Tage betrug.<sup>1)</sup> Die bei der Analyse dieser Objecte erhaltenen Zahlen sind in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt. Auch in diesem Falle ist das Mengenverhältniss der Keimpflanzen zu den ungekeimten Samen aus ihrem Stickstoffgehalt berechnet worden.<sup>2)</sup>

1) Die Pflänzchen wurden während der letzten zehn Tage dem Licht ausgesetzt, um sie länger am Leben erhalten zu können; im Dunkeln gehen sie in der Regel früher zu Grunde. Da sie nach dem Ergrünen auf Kosten von Kohlensäure und Wasser organische Substanz zu bilden vermochten, so betrug ihr Stickstoffgehalt nach 24tägiger Vegetationsdauer nur 11,36%, während die 15tägigen etiolirten Keimpflanzen 12,10% Stickstoff enthielten.

2) Ein Verfahren, gegen welches Einwände nicht erhoben werden können, da die Keimpflanzen von *Lupinus luteus* während ihrer Entwicklung einen nachweisbaren Stickstoffverlust nicht erleiden. Die Ausführung der Berechnung ist einfach. Die Samen enthielten 9,34%, die 15tägigen Keimpflanzen 12,1% N (vgl. die analytischen Belege). Nimmt man an, dass die absolute Stickstoffmenge keine Veränderung erlitten hatte, so müssen aus 100 Th. Samen 77,2 Th. 15tägiger Keimpflanzen entstanden sein, nach der Proportion

$$12,10 : 9,34 = 100 : X.$$

Aus 100 Th. ungekeimter Samen (excl. Schalen)<sup>1)</sup> waren entstanden:

	95,02 Th. 6 tägiger Keim- pflanzen, mit	77,20 Th. 15 tägiger Keim- pflanzen, mit	82,22 Th. 24 tägiger Keim- pflanzen, mit
1. N in Proteinstoffen . . . .	5,49 Th.	1,71 Th.	1,78 Th.
2. „ im Asparagin . . . . .	1,16 „	4,02 „	5,09 „
3. „ in basischen Verbindungen . . . . .	0,97 „	1,22 „	1,03 „
4. „ in anderen Verbindungen (Diff.) . . . . .	1,72 „	2,39 „	1,40 „
5. Gesamtstickstoff . . . . .	9,34 Th.	9,34 Th.	9,34 Th.

Dass auch in diesen Keimpflanzen Asparagin auf Kosten anderer nicht proteinartiger Stickstoffverbindungen gebildet worden war, ist aus den Zahlen der Tabelle leicht zu ersehen. Besonders lehrreich ist es, die 15tägigen und die 24tägigen Keimpflanzen in Bezug auf ihren Stoffgehalt zu vergleichen. Die ersteren enthielten neben Asparagin und neben Basen noch 2,39 Th. Stickstoff in Form anderer nicht proteinartiger Verbindungen (Amidosäuren etc.), die letzteren dagegen nur 1,40 Th. Der «Asparagin-Stickstoff» ist in den Keimpflanzen in den letzten 9—10 Tagen ungefähr um ebensoviel gestiegen, wie die auf andere nicht proteinartige Verbindungen fallende Stickstoffmenge sich verringert hat.

Wahrscheinlich übersteigt die Differenz im Asparagingehalt der 15tägigen und der 24tägigen Keimpflanzen noch den aus den Zahlen der Tabelle sich berechnenden Betrag. Denn bei Ermittlung des Asparagingehalts ist die in den Extracten aus getrockneten Keimpflanzen schon vor dem Kochen mit Salzsäure in Ammoniakform vorhandene Stickstoffmenge in Abzug gebracht worden. Dieselbe betrug bei den 15tägigen Keimpflanzen 0,150%, bei den 24tägigen 0,277% der Pflanzentrockensubstanz. In frischen 24tägigen Keimpflanzen<sup>2)</sup> wurden

1) 100 Th. der ungekeimten schalenfreien Samen enthielten 9,34 Th. Gesamtstickstoff, 8,72 Th. Stickstoff in Form von Proteinstoffen und 0,46 Th. Stickstoff in Form von Verbindungen, welche aus eiweissfreiem Extract durch Phosphorwolframsäure gefällt wurden.

2) Dieselben gehörten einer anderen, aber in völlig gleicher Weise behandelten Cultur an.

aber nur 0,039% Stickstoff in Ammoniakform gefunden; es ist also wahrscheinlich während des Trocknens der 24tägigen Keimpflanzen 0,28% Ammoniak (= 0,23% N) aus Asparagin abgespalten worden. Wollte man bei der Berechnung des Asparagingehalts das für die frischen Keimpflanzen erhaltene Resultat zu Grunde legen, so würde die für den «Asparagin-Stickstoff» der 24tägigen Keimpflanzen in der Tabelle angegebene Zahl auf 5,47 Th. steigen, während bei den 15tägigen Keimpflanzen eine gleich grosse Steigerung nicht eintreten würde.

Die grosse Differenz im Asparagingehalt der 15tägigen und der 24tägigen Keimpflanzen ergibt sich aber auch aus der ungleichen Ausbeute an krystallisirtem Asparagin, die ich aus den Keimpflanzen-Extracten erhielt.<sup>1)</sup> Die 15tägigen Pflänzchen lieferten 20,7%, die 24tägigen dagegen 25,9% Asparagin (wasserfrei und in Procenten der Keimpflanzen-Trockensubstanz in Rechnung gestellt).

Ganz ähnliche Zahlen erhielt ich früher<sup>2)</sup> bei Bestimmung der Asparagin-Ausbeute aus Keimpflanzen von *Lupinus luteus*. Aus zwei Culturen solcher Keimpflanzen, welche zuerst ca. 10 Tage lang im Dunkeln, dann etwas länger als 2 Wochen in einem nicht verdunkelten Raume sich befunden hatten, konnte ich 27,9 und 28,7% Asparagin (wasserfrei in Rechnung gestellt) durch Krystallisation gewinnen, während aus 15tägigen etiolirten Pflänzchen in maximo 22—23% Asparagin zur Abscheidung zu bringen waren.

Mit *Lupinus angustifolius* haben wir, unter Benutzung eines zweiten Samenmusters, noch einen ähnlichen Versuch

1) Wie ich bei der Abscheidung des Asparagins verfuhr, ist im Anhang neben den analytischen Belegen mitgetheilt. Das Verhältniss der Ausbeute zu den nach Sachsse's Methode gefundenen Zahlen ist aus folgender Zusammenstellung zu ersehen:

	Asparagin-Menge, in Procenten der Keimpflanzen-Trockensubstanz	
	bestimmt nach	Ausbeute an
	Sachsse's Methode	Krystallen
15tägige Pflänzchen	24,5%	20,7%
24 " "	29,2%	25,9%

2) Vgl. Journal f. prakt. Chemie, N. F. Bd. 27, S. 340 u. 341.

angestellt. Neben 14tägigen etiolirten Keimpflanzen wurden Pflänzchen untersucht, welche zuerst 13—14 Tage bei Lichtabschluss und sodann 8—9 Tage in einem nicht verdunkelten Raume vegetirt hatten. Die bei der Analyse derselben erhaltenen Resultate sind in der nachfolgenden Tabelle in der Weise zur Anschauung gebracht, dass die Vertheilung des Gesamtstickstoffs auf Proteinstoffe, Asparagin und nicht proteinartige Verbindungen anderer Art angegeben wird.<sup>1)</sup>

	Vom Gesamtstickstoff fallen		
	auf Proteinstoffe	auf Asparagin	auf andere Verbindungen (Diff.)
in 14tägigen Keimpflanzen	20,77%	51,63%	27,60%
„ 22 „ „	19,40%	66,20%	14,40%

Auch diese Zahlen lassen es deutlich erkennen, dass Asparagin auf Kosten anderer nicht proteinartiger Stickstoffverbindungen gebildet worden ist.

Dass Glutamin in der gleichen Weise entstehen kann, wird durch die Resultate bewiesen, die wir an etiolirten Keimpflanzen von *Ricinus communis* erhielten. Wir untersuchten diese Keimpflanzen zunächst in einer Periode, in welcher das Endosperm nur theilweise entleert, das hypocotyle Glied bis zu einer Länge von 10—12 cm. entwickelt, aber noch gekrümmt war; die Cotyledonen waren noch vom Endosperm umgeben. Bei diesen Pflänzchen stand die im Endosperm enthaltene Trockensubstanzmenge zur Trockensubstanz des hypocotylen Glieds und der Wurzeln in einem Verhältniss = 100 : 71,9. Für den Stoffgehalt dieser Trockensubstanzmengen berechnen

<sup>1)</sup> Dies ist geschehen, weil in diesem von E. Winterstein und mir ausgeführtem Versuche der Stickstoffgehalt der ungekeimten Samen nicht bestimmt wurde; in Folge davon konnte auch das Mengenverhältniss der Samen zu den Keimpflanzen nicht in der in den anderen Versuchen zur Anwendung gebrachten Art und Weise berechnet werden. Zu erwähnen ist noch, dass in diesem Falle bei Berechnung des Asparagingehalts der Pflänzchen von der nach dem Kochen mit Salzsäure erhaltenen Ammoniakmenge diejenige Quantität in Abzug gebracht wurde, die sich in den frischen Pflänzchen vorfand.

sich aus den in früher beschriebener Weise ausgeführten quantitativen Bestimmungen folgende Zahlen:

	100 Th. Endosperm enthalten	71,9 Th. hypocotylen Glied und Wurzel enthalten
Stickstoff in Proteinstoffen	1,69 Th.	1,09 Th.
„ im Glutamin <sup>1)</sup>	0,24 „ ?	0,61 „
„ in anderen Verbindungen (Diff.)	1,21 „	0,65 „
Gesammtstickstoff	<u>3,14 Th.</u>	<u>2,35 Th.</u>

Aus diesen Zahlen ist zu ersehen, dass nicht nur im hypocotylen Glied und der Wurzel, sondern auch im Endosperm neben Proteinstoffen eine sehr beträchtliche Quantität von nicht proteinartigen Stickstoffverbindungen sich vorfand; auf Glutamin fiel aber im Endosperm ein viel geringerer Theil des Gesammtstickstoffs, als im hypocotylen Glied und der Wurzel. Dies tritt noch deutlicher in der nachfolgenden Tabelle hervor:

	Vom Gesammtstickstoff fallen		
	auf Proteinstoffe	auf Glutamin	auf andere Verbindungen (Diff.)
im Endosperm.....	53,8%	7,6%	38,6%
im hypocotylen Glied und der Wurzel .....	46,4%	26,0%	27,6%

Während der weiteren Entwicklung der Ricinus-Keimpflanzen wird das Endosperm bis auf ein zurückbleibendes Häutchen aufgezehrt, indem die bei der Umwandlung seiner stickstoffhaltigen und stickstofffreien Reservestoffe entstandenen Produkte in die Cotyledonen, später in das hypocotyle Glied und die Wurzeln übergehen. In Folge der Aufsaugung der stickstoffhaltigen Produkte müsste, falls nicht eine partielle Umwandlung dieser

1) Wie früher von mir angegeben wurde, vermochte ich aus dem Endosperm kein Glutamin darzustellen. Da jedoch dieses negative Resultat nicht als ein Beweis für die völlige Abwesenheit von Glutamin gelten kann, so habe ich auch bei diesem Object aus dem nach dem Kochen mit Salzsäure im wässerigen Extract vorgefundenen Ammoniak den Glutamingehalt berechnet. Es ist klar, dass die Zahlen der Tabelle noch mehr zu Gunsten der von mir daraus abgeleiteten Schlussfolgerung sprechen würden, wenn man annehmen wollte, dass im Endosperm das Glutamin wirklich vollkommen fehlte.

Produkte in Glutamin stattfände, im hypocotylen Glied und in der Wurzel der Glutamingehalt gegenüber dem Gehalt an anderen nicht proteinartigen Stickstoffverbindungen sich verringern; die Verringerung müsste eine sehr starke sein, weil nach der obigen Tabelle 100 Th. Endosperm neben etwas Glutamin eine viel grössere Stickstoffmenge in Form anderer nicht proteinartiger Verbindungen enthielten, als die dazu gehörenden 71,9 Th. hypocotylen Glied und Wurzel.<sup>1)</sup> Von einer solchen Verringerung liess sich nichts bemerken; bei der Analyse des hypocotylen Glieds und der Wurzel von Ricinus-Keimpflanzen, deren Endosperm aufgezehrt war, ergaben sich für die Vertheilung des Stickstoffs auf die verschiedenen Stoffe bzw. Stoffgruppen folgende Zahlen:

Vom Gesamtstickstoff fallen:

auf Proteinstoffe	auf Glutamin	auf andere nicht proteinartige Verbindungen (Diff.)
48,2 %	25,2 %	26,6 %

Aus den Zahlen der vorstehenden Tabellen ergibt sich, dass im hypocotylen Glied und der Wurzel der Ricinus-Keimpflanzen in den beiden Entwicklungsperioden, in denen die Untersuchung erfolgte, von der im Ganzen den nicht proteinartigen Verbindungen angehörenden Stickstoffmenge fast genau der gleiche Theil, nämlich 48—49 %, auf Glutamin fiel. Dies könnte nicht der Fall sein, wenn nicht die aus dem Endosperm jenen Pflanzentheilen zufließenden Stickstoffverbindungen partiell in Glutamin umgewandelt würden.

Dass an diesem Process Peptone sich betheiligen, liegt zwar im Bereich der Möglichkeit; es ist aber nicht anzunehmen, dass die Glutaminbildung lediglich auf Kosten von Peptonen,

<sup>1)</sup> Der Glutamingehalt der Cotyledonen, aus denen das genannte Amid leicht in Substanz darzustellen war, berechnete sich aus der nach dem Kochen mit Salzsäure im Extract vorgefundenen Ammoniakmenge auf 5,1% (= 0,50% Stickstoff). Auf die Cotyledonen fiel übrigens nur ein relativ geringer Theil vom Gesamtgewicht der Ricinus-Keimpflanzen. Die Sachlage würde sich daher kaum ändern, wenn ich oben, statt die Cotyledonen unberücksichtigt zu lassen, dem Stoffgehalt des Endosperms denjenigen der Cotyledonen + des hypocotylen Glieds + der Wurzel gegenüberstellen wollte.

welche aus dem Endosperm den anderen Pflanzentheilen zufflossen, erfolgte. Im Endosperm der von uns untersuchten Keimpflanzen fielen vom Gesamtstickstoff nur 17,5 % auf Verbindungen, welche aus eiweissfreiem Extract durch Phosphorwolframsäure fällbar waren. Unter diesen Verbindungen fanden sich zweifellos organische Basen vor (Arginin konnte im Endosperm nachgewiesen werden); gesetzt, dass daneben auch Peptone vorhanden waren, so kann doch ihre Quantität nicht so gross gewesen sein,<sup>1)</sup> dass sie allein als Material für das im hypocotylen Glied und der Wurzel entstandene Glutamin gedient haben können.

Die Schlussfolgerungen, welche ich aus den an den Ricinus-Keimpflanzen von mir gemachten Beobachtungen abgeleitet habe, erhalten noch eine Stütze durch die Thatsache, dass diese Keimpflanzen neben Glutamin noch einen stickstoffreichen Körper enthalten, welcher sich gleich dem Glutamin im hypocotylen Glied und der Wurzel, sowie in den Cotyledonen in beträchtlicher, im Endosperm dagegen nur in sehr geringer Menge vorfindet. Diesen, wegen seiner Schwerlöslichkeit leicht in Krystallform isolirbaren Körper will ich bis auf Weiteres als Ricidin bezeichnen; seine Zusammensetzung entspricht der Formel  $C^{12}H^{13}N^3O^3$  (mit 17,0 % N). Sollte man trotz der von mir gemachten Darlegungen etwa annehmen wollen, dass in den Keimpflanzen von Ricinus das Glutamin nicht auf Kosten anderer nicht proteinartiger Stickstoffverbindungen, sondern auf Kosten von Eiweissstoffen und Peptonen sich gebildet habe, so wird diese Annahme doch unmöglich gemacht, wenn man berücksichtigt, dass neben dem Glutamin noch Ricidin sich anhäufte.

Die im Vorigen mitgetheilten Ergebnisse unserer Untersuchungen beweisen, dass in den Keimpflanzen Asparagin und Glutamin auf Kosten anderer nicht proteinartiger Stickstoffverbindungen sich bilden und dass an diesem Process Stoffe sich betheiligen, welche durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt werden und also keine Peptone sind. Auf die Frage, welche einzelne Stickstoffverbindungen in Asparagin und Glutamin umgewandelt werden,

<sup>1)</sup> M. vgl. die w. o. auf S. 120 gemachten Angaben.

lässt sich eine erschöpfende Antwort zur Zeit nicht geben. Letzteres wäre vielleicht möglich, wenn in den Keimpflanzen neben Asparagin und Glutamin keine anderen Produkte des Eiweissumsatzes sich vorfänden als Arginin und die früher genannten Amidosäuren der fetten und der aromatischen Reihe.

Es ist aber kaum zu bezweifeln, dass daneben noch andere Produkte solcher Art vorhanden sind, deren Isolirung bis jetzt nicht gelungen ist. Nach den oben mitgetheilten quantitativen Bestimmungen fallen z. B. in den 6tägigen Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* und *luteus* nach Abrechnung des Asparagins noch 1,1 bezw. 1,7 % Stickstoff auf lösliche Verbindungen, welche durch Phosphorwolframsäure nicht fällbar sind. Wenn dieser ganze Betrag Amidosäuren, wie Leucin, Amidovaleriansäure Tyrosin etc., angehörte, so müssten jene 6tägigen Keimpflanzen mindestens 10 % solcher Amidosäuren enthalten. Die aus ihnen abscheidbare Amidosäuren-Quantität betrug aber höchstens 1 %, also nur  $\frac{1}{10}$  jener Menge. Ist nun auch nicht zu bezweifeln, dass die Amidosäuren aus diesen Objecten sich nur unvollständig gewinnen liessen,<sup>1)</sup> so ist doch andererseits nicht anzunehmen, dass die wirklich vorhandene Menge das Zehnfache der Ausbeute betragen hat. Es ist daher höchst wahrscheinlich, dass in jenen Keimpflanzen noch andere nicht-eiweissartige Stickstoffverbindungen sich vorfanden, deren Abscheidung bis jetzt nicht gelungen ist — möglicherweise nur deshalb, weil diese Verbindungen sehr leicht löslich in Wasser sind. Vielleicht sind es Substanzen, welche mit den Glykoproteinen Schützenberger's verwandt sind. Es liegt aber auf der Hand, dass auch diese Verbindungen in jenen Keimpflanzen als Material für die Asparaginbildung gedient haben können.

In welcher Weise Asparagin und Glutamin aus anderen nicht-eiweissartigen Stickstoffverbindungen entstehen, ist eine

---

<sup>1)</sup> Nach Abscheidung der Amidosäuren aus den bei Verarbeitung der Cotyledonen dieser Keimpflanzen erhaltenen Extracten blieb eine dickflüssige Mutterlauge übrig, welche auch Kohlenhydrate einschloss; dass darin noch Amidosäuren sich vorfanden, welche durch die Beimengungen am Auskrystallisiren verhindert wurden, ist zweifellos.

noch offene Frage. Es ist indessen aus den Versuchen Kinoshita's<sup>1)</sup> und Suzuki's<sup>2)</sup> zu schliessen, dass im pflanzlichen Stoffwechsel Asparagin aus Ammoniak und stickstofffreien organischen Stoffen synthetisch gebildet werden kann; was aber für Asparagin gilt, hat höchstwahrscheinlich auch für das Glutamin seine Geltung. Gesetzt nun, dass gewisse Eiweisszersetzungserzeugnisse unter Bildung von Ammoniak zerfallen, so würde damit das für die Synthese von Asparagin und Glutamin erforderliche stickstoffhaltige Material geschaffen sein. Dass aber im Stoffwechsel der Keimpflanzen Spaltungsprodukte der Eiweissstoffe einer zur Ammoniakbildung führenden Zersetzung unterliegen können, muss für möglich erklärt werden — umso mehr, als das Vorhandensein von Ammoniaksalzen in Keimpflanzen schon nachgewiesen ist.<sup>3)</sup> Gesetzt aber, dass Asparagin und Glutamin in den Pflanzen nicht aus Ammoniak, sondern aus einem anderen, beim Zerfall gewisser Eiweisszersetzungserzeugnisse entstehenden, stickstoffhaltigen Rest sich bilden, so braucht deshalb doch an den aus den Ergebnissen unserer Untersuchungen von mir abgeleiteten Schlussfolgerungen nichts geändert zu werden.

Welchen Nutzen bringt aber den Pflanzen die Umwandlung gewisser löslicher Stickstoffverbindungen in Asparagin und Glutamin? Auf diese Frage lässt sich zur Zeit eine Antwort geben und zwar auf Grund einer vor Kurzem von B. Hansteen<sup>4)</sup> ausgeführten Untersuchung. Hansteen fand, dass eine phanerogame Pflanze, nämlich *Lemna minor*, reichlich Eiweiss bildet, wenn man ihr neben Traubenzucker Asparagin oder Harnstoff oder ein Ammoniaksalz zuführt. Ein Gemisch von Rohrzucker und Asparagin hatte nicht

---

1) Mitgetheilt von O. Loew in der Chemikerzeitung, 1896, Nr. 16.

2) Bulletin der Imperial university, college of agriculture, Tokio 2, 409. (1897).

3) Ammoniaksalze sind von uns in Keimpflanzen von *Lupinus luteus* und von *Cucurbita pepo* nachgewiesen worden. Als beweiskräftig betrachte ich selbstverständlich nur die Ammoniakbestimmungen, die in frischen Keimpflanzen ausgeführt worden sind.

4) Bericht der D. Botanischen Gesellschaft, 1896, Bd. 14, S. 362.

die gleiche Wirkung, wohl aber ein solches von Rohrzucker und Glycocoll. Bei Darreichung von Leucin oder Kreatin neben Traubenzucker oder Rohrzucker konnte eine Zunahme des Eiweissgehalts der Versuchspflanze nicht constatirt werden. Wenn nun auch, wie Hansteen selbst hervorhebt, aus diesen Beobachtungen nicht geschlossen werden darf, dass Leucin und Kreatin für die Eiweissbildung in der Pflanze gar nicht zu verwerthen sind,<sup>1)</sup> so berechtigen sie doch zu der Schlussfolgerung, dass die obengenannten Stickstoffverbindungen für die Eiweissbildung in der Pflanze einen ungleichen Werth besitzen. Zu den für diesen Zweck am leichtesten verwendbaren Verbindungen gehört allem Anschein nach das Asparagin;<sup>2)</sup> da das Glutamin in Bezug auf seine Constitution dem Asparagin sehr ähnlich ist und in manchen Keimpflanzen ganz ebenso auftritt wie in anderen das Asparagin, so darf man vermuthen, dass es in jener Hinsicht dem Aspa-

1) Die Gründe, welche einer solchen Schlussfolgerung entgegenstehen, will ich hier zusammenstellen. Was das Kreatin betrifft, so genügte dasselbe in den Versuchen Wagner's (Landw. Versuchsstation, Bd. 11, S. 296, u. Bd. 13, S. 69) für Maispflanzen, die in einer Nährstofflösung gezogen wurden, als Stickstoffquelle. Leucin genügte in den Versuchen Knop's und Wolf's (Landw. Versuchsstationen Bd. 10, S. 13) für Gerstpflanzen, in den Versuchen Loew's und Bokorny's (J. f. prakt. Chem. Bd. 36, S. 279) für Algen, in den Versuchen von A. Likiernik und mir (diese Zeitschrift, Band 17, S. 518) für einen Schimmelpilz, nämlich für *Penicillium glaucum*, als Stickstoffquelle. In ebenso entschiedener Weise spricht für die Verwerthbarkeit des Leucins in der Pflanze die von mir gemachte Beobachtung, dass diese Amidosäure in den Cotyledonen 6- und 8tägiger Keimpflanzen von *Lupinus luteus* neben Asparagin etc. sich findet, in den älteren Keimpflanzen der gleichen Species aber kaum nachzuweisen ist. Endlich ist noch darauf aufmerksam zu machen, dass die von Hansteen in Anwendung gebrachte mikroskopische Methode eine nur schwache Zunahme des Eiweissgehalts der Versuchspflanze doch schwerlich nachzuweisen gestattet; also kann aus den von ihm gemachten Beobachtungen auch nicht geschlossen werden, dass *Lemna minor* aus Leucin und Kreatin Eiweiss überhaupt nicht zu bilden vermochte.

2) Es sei hier daran erinnert, dass O. Loew schon vor dem Bekanntwerden der Untersuchung Hansteen's in seinen Abhandlungen wiederholt die Wichtigkeit des Asparagins für die Eiweissynthese in der Pflanze hervorgehoben hat.

ragin gleichsteht. Die Umwandlung anderer Produkte des Eiweissumsatzes in Asparagin, bezw. in Glutamin, ist demnach ein Process, der gewissermaassen schon eine Phase der Regeneration von Eiweissstoffen bildet und also von Wichtigkeit für die Pflanze ist.

Man darf wohl annehmen, dass Stickstoffverbindungen wie Leucin und Kreatin erst dann für die Eiweiss-synthese verwendet werden, wenn sie zuvor in Asparagin bezw. Glutamin umgewandelt worden sind. Es ist aber möglich, dass diese Umwandlung unter gewissen Umständen nur langsam erfolgt. Dies scheint man aus der Thatsache schliessen zu müssen, dass in Keimpflanzen, welche mehrere Wochen lang im Dunkeln oder am Licht vegetirten, neben Asparagin oder Glutamin zuweilen noch Leucin und ähnliche Stickstoffverbindungen in nicht unbeträchtlichen Quantitäten sich vorfinden.

Die Untersuchungen, deren Ergebnisse im Vorigen mitgetheilt worden sind, betrafen die Qualität der beim Umsatz der Eiweissstoffe in den Keimpflanzen entstehenden Stickstoffverbindungen und die Bildungsweise des Asparagins und des Glutamins. Wir haben aber auch noch bei einigen Keimpflanzenarten die allmähliche Verringerung des Gehalts an Eiweiss-substanzen und anderen Proteinstoffen durch quantitative Bestimmungen zu verfolgen gesucht. Zu diesem Zweck wurde in etiolirten Keimpflanzen verschiedenen Alters ausser dem Gesamtstickstoff die auf Proteinstoffe fallende Stickstoffmenge nach Stutzer's Methode bestimmt; aus der Differenz ergab sich die auf nicht proteinartige Verbindungen fallende Stickstoffquantität.

Es schien angezeigt, für diese Bestimmungen Keimpflanzenarten von ungleichem Stickstoffgehalt zu verwenden. Um diesem Postulat zu genügen, benutzten wir als Object neben *Lupinus luteus* und *Lupinus angustifolius* noch *Zea Mais*. Der Stickstoffgehalt der bezüglichen Samen ist aus den nachfolgenden Angaben zu ersehen:

Samen von <i>Lupinus luteus</i> (entschält) . . .	9,34%	Stickstoff
„ „ „ „ <i>angustifolius</i> (entschält)	6,61%	„
„ „ <i>Zea Mais</i> . . . . .	1,95%	„

Wie die Keimpflanzen gezogen und wie sie für die Analyse vorbereitet wurden, ist zwar schon aus den w. o. gemachten Angaben zu ersehen. Doch sei hier noch erwähnt, dass die Keimpflanzen auf paraffinirten Gaze-Netzen, welche über flache, mit Wasser gefüllte Glasgefäße gespannt waren, bei einer Temperatur von 18—20° gezogen wurden.<sup>1)</sup> Selbstverständlich verwendeten wir zur Untersuchung nur Pflänzchen von gesundem Aussehen; auch wurden alle im Wachsthum stark zurückgebliebenen Exemplare beseitigt. Für alle Pflänzchen ist im Folgenden das Alter angegeben; die Vegetationsdauer ist selbstverständlich von dem Zeitpunkt an gerechnet, in welchem der Beginn der Keimung zu bemerken war. Zur Charakterisirung des Entwicklungsstadiums, in welchem die Pflänzchen untersucht wurden, können ferner noch folgende Längenmaasse dienen: Die Länge des hypocotylen Glieds betrug bei den 6tägigen Keimpflanzen von *Lupinus luteus* ca. 40 mm., bei den 15tägigen Pflänzchen 100—110 mm., bei den 24tägigen nur wenig mehr. Die Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* waren stets etwas grösser, als die gleichaltrigen Pflänzchen von *L. luteus*; so betrug z. B. die Länge des hypocotylen Glieds bei 15tägigen Pflänzchen 120—140 mm. Bei den 4—5tägigen Keimpflanzen von *Zea Mais* betrug die Länge des Würzelchens 30—40 mm.; bei den älteren Keimpflanzen von *Zea* wurde die Länge excl. Wurzel gemessen, und zwar mit folgendem Resultat:<sup>2)</sup>

9tägige Keimpflanzen . . . .	40— 60 mm.
12 „ „ . . . .	100—130 „
16 „ „ . . . .	140—180 „

---

1) Eine Ausnahme machen die 24tägigen Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, welche in Sand gezogen wurden.

2) Die verwendeten Maissamen gehörten der unter dem Namen „Pferdezahn-Mais“ bekannten Varietät an. Bei der Keimung derselben war, im Gegensatz zu den an einer andern Varietät (vgl. w. u.) gemachten Beobachtungen, eine Zunahme des procentigen Stickstoffgehalts der Keimlinge kaum zu constatiren (m. vgl. die analytischen Belege), obwohl doch der mit dem Keimprocess verbundene Verbrauch stickstoffreicher Stoffe eine solche Zunahme hätte verursachen sollen. Dies könnte auf einen Stickstoffverlust während der Keimung deuten. Indessen konnte auch durch Wägung der Pflänzchen eine mit der Keimung fortschreitende Ab-

Die Resultate der Untersuchung theile ich im Folgenden in tabellarischer Zusammenstellung in der Weise mit, dass ich die für die Vertheilung des Stickstoffs auf Proteinstoffe und nicht proteinartige Verbindungen gefundenen Zahlen angebe.<sup>1)</sup>

		Vom Gesamtstickstoff fallen	
		auf Proteinstoffe	auf nicht proteinartige Verbindungen.
		%	%
Lupinus luteus.	in ungekeimten Samen	93,36	6,64
	„ 6 tägigen Keimpflanzen	58,80	41,20
	„ 15 tägigen „	18,39	81,61
	„ 24 tägigen „ <sup>2)</sup>	18,96	81,04
Lupinus angustifolius.	„ ungekeimten Samen	92,89	7,11
	„ 3 tägigen Keimpflanzen	84,13	15,87
	„ 6 tägigen „	48,31	51,69
	„ 9 tägigen „	34,73	65,27
	„ 12 tägigen „	28,67	71,33
	„ 15 tägigen „	22,33	77,67
Zea Mais.	„ 18 tägigen „	22,78	77,22
	„ ungekeimten Samen	97,95	2,05
	„ 4—5 tägig. Keimpflanzen	95,82	4,18
	„ 9 tägig. „	91,62	8,38
	„ 12 tägigen „	85,30	14,70
	„ 16 tägigen „	66,67	33,33

Aus den Zahlen der vorstehenden Tabelle ergibt sich zunächst, dass bei *Lupinus luteus* und *angustifolius*

nahme der Trockensubstanzmenge nicht constatirt werden; es zeigten sich vielmehr Schwankungen. Wahrscheinlich war hier die ungleiche Grösse und eine damit verbundene ungleiche Zusammensetzung der einzelnen Samenkörner von Einfluss. Gesetzt, dass während der Keimung Stickstoffverlust stattfand, so würden die für den Gehalt der Keimpflanzen an „Nichtproteinstickstoff“ angegebenen Zahlen etwas zu niedrig sein. Die betreffende Zahl ist aber bei den 16 tägigen Keimpflanzen nicht niedriger, als bei den 15 tägigen Keimpflanzen einer andern Mais-Varietät, bei denen Stickstoffverlust höchst wahrscheinlich nicht stattgefunden hatte.

1) Die für *Lupinus angustifolius* angegebenen Zahlen sind der schon früher erwähnten Untersuchung entnommen, welche M. Merlis in meinem Laboratorium ausführte.

2) Dass diese 24 tägigen Keimpflanzen nur während der ersten 14 Tage bei Lichtabschluss, während der letzten 10 Tage aber in einem nicht verdunkelten Zimmer vegetirt hatten, ist w. o. schon von mir angegeben worden.

die Proteinstoffe während des Keimungsvorganges einem sehr raschen Zerfall unterliegen. Während in den ungekeimten Samen 93,36 bezw. 92,89 % des Gesamtstickstoffs in Form von Proteinstoffen sich vorfanden, fallen in 6tägigen Keimpflanzen nur 58,80 bezw. 48,31 % des Stickstoffs auf Proteinsubstanzen, in 15tägigen Keimpflanzen nur 18,39 bezw. 22,33 %. Insbesondere aus der für *Lupinus angustifolius* ausgeführten Versuchsreihe, die eine grosse Zahl von Einzelbestimmungen einschliesst, lässt sich erkennen, dass der Zerfall der Proteinstoffe anfangs etwa bis zum neunten Tage der Keimung ein sehr schneller ist, dann aber sich beträchtlich verlangsamt. 18tägige Keimpflanzen enthielten ungefähr die gleiche Stickstoffmenge in Form von Proteinstoffen wie 15tägige Pflänzchen.

Die gleiche Erscheinung ist auch an den von D. Prianischnikow<sup>1)</sup> untersuchten Keimpflanzen von *Vicia sativa* hervorgetreten.

Weit langsamer erfolgt der Zerfall der Proteinstoffe bei *Zea Mais*. Hier fanden sich in 9tägigen Keimpflanzen noch 91,62 %, in 16tägigen Keimpflanzen noch 66,67 % des Gesamtstickstoffs in Form von Proteinstoffen vor.

Die Samen von *Zea Mais* sind weit ärmer an Proteinstoffen, weit reicher an stickstofffreien Reservestoffen, als die der *Lupinus*-Samen. Der Gedanke liegt nahe, dass damit die

1) Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 45, S. 247. Wie stark in älteren Keimpflanzen von *Vicia sativa* der Eiweisszerfall sich verlangsamt, können neben den von Prianischnikow mitgetheilten Zahlen auch die folgenden Resultate lehren, die wir an *Vicia sativa* erhielten:

	Vom Gesamtstickstoff fallen	
	auf Proteinstoffe	auf nicht- proteinartige Verbindungen
In 21 tägigen etiolirten Keimpflanzen	41,10 %	58,90 %
„ 31 „ „ „	31,30 „	68,70 „
„ 38 „ „ „	27,85 „	72,15 „

Die Keimpflanzen von *Vicia sativa* sind dadurch ausgezeichnet, dass sie auch bei Lichtabschluss fast 6 Wochen lang gesund bleiben (man vgl. auch Prianischnikow's Angabe, loc. cit.).

grosse Verschiedenheit zusammenhänge, die zwischen den Keimpflanzen von *Lupinus* und denjenigen von *Zea* in Bezug auf die Schnelligkeit des Proteinzerfalls sich zeigt. Der Annahme, dass die stickstofffreien Substanzen die Proteinstoffe vor dem Zerfall schützen, stehen jedoch manche That-sachen entgegen. Die Samen von *Lupinus angustifolius* sind beträchtlich ärmer an Proteinstoffen, reicher an stickstofffreien Reservestoffen, als die Samen von *Lupinus luteus*; trotzdem zerfällt in den ersteren während des Keimungsvorganges das Protein schneller als in den letzteren, wie daraus zu ersehen ist, dass bei *L. angustifolius* nach 6tägiger Dauer der Keimung nur 48,31 % des Gesamtstickstoffs in Form von Proteinsubstanzen sich vorfanden, bei *L. luteus* dagegen 58,80 %. Auch würde jene Annahme nicht in Einklang mit der sowohl bei *Lupinus* wie bei *Vicia* constatirten Thatsache stehen, dass der Zerfall der Proteinstoffe in der ersten Keimungsperiode am stärksten war, obwohl doch der Gehalt der Keimpflanzen an den allmählich zum Verbrauch gelangenden stickstofffreien Reservestoffen in dieser Periode grösser war als später.

Damit soll jedoch nicht gesagt sein, dass der Gehalt der keimenden Samen an gewissen stickstofffreien Stoffen ohne Einfluss auf die Grösse des Proteinverlusts der Keimpflanzen sei. Dass ein solcher Einfluss in der That besteht, wird im letzten Abschnitt dieser Abhandlung dargelegt werden.

Wenn ich im Vorigen nicht von Eiweisssubstanzen, sondern Proteinstoffen spreche, so liegt der Grund dafür darin, dass in den von uns angeführten quantitativen Bestimmungen nur die Vertheilung des Gesamtstickstoffs auf Proteinstoffe und nicht proteinartige Verbindungen ermittelt worden ist. Nach dem über den Stoffgehalt der Samen früher Gesagten kann es aber keinem Zweifel unterliegen, dass es vorzugsweise Eiweissstoffe sind, die in den Keimpflanzen zerfallen, und dass der mit dem Keimungsvorgang verbundene Verlust an Proteinstoffen hauptsächlich ein Eiweissverlust ist. Die Ungleichheit in der Schnelligkeit des Eiweisszerfalls in verschiedenen Keimpflanzen würde sich durch die Annahme erklären lassen, dass es trypsinartige Enzyme sind, welche die Eiweiss-

stoffe zum Zerfall bringen,<sup>1)</sup> und dass der Gehalt verschiedener Keimpflanzen an solchen Enzymen ein ungleicher ist. Doch müsste man, um diese Annahmen bestimmt aussprechen zu können, zuvor das Vorhandensein solcher Enzyme in den Keimpflanzen nachweisen.

Mag nun aber durch künftige Untersuchungen die Zersetzung der Eiweissstoffe in den Keimpflanzen auf die Wirkung von Enzymen oder auf andere Ursachen zurückgeführt werden, so kann es doch schon jetzt für sehr wahrscheinlich erklärt werden, dass diese Zersetzung in einer hydrolytischen d. h. unter Wasseraufnahme erfolgenden, Spaltung der Eiweissmoleküle besteht. Zu dieser Behauptung berechtigen die Beobachtungen, welche über die Qualität der beim Eiweisszerfall in den Keimpflanzen entstehenden Produkte gemacht worden sind.

Aus den w. o. von mir gemachten Darlegungen geht hervor, dass man über die Natur dieser Produkte am sichersten Aufschluss erhalten kann, indem man die Keimpflanzen in ihrer ersten Entwicklungsperiode untersucht; denn später werden ja, wie von mir bewiesen worden ist, manche jener Produkte in Asparagin oder Glutamin umgewandelt. Auch liegt auf der Hand, dass für eine zu diesem Zweck angestellte Untersuchung stickstoffreiche Keimpflanzen, wie diejenigen der Leguminosen, in denen ein rascher Zerfall der Eiweissstoffe erfolgt, viel günstigere Objecte bilden, als stickstoffarme Keimpflanzen, in denen die Eiweissstoffe sich langsam zersetzen; denn in letzteren werden die Produkte des ersten Zerfalls, die ja auch hier wieder einer allmählichen Umwandlung in Asparagin oder Glutamin unterliegen, in der Zeiteinheit in so geringer Menge vorhanden sein, dass ihr Nachweis auf Schwierigkeiten stösst. Werfen wir nun einen Blick auf die Resultate, welche z. B. bei der Untersuchung 6- und 8 tägiger Keimpflanzen von *Lupinus luteus* erhalten wurden, so sehen wir, dass in diesen Keimpflanzen neben ziemlich viel Asparagin, das jedoch in den Cotyledonen in viel geringerer Menge enthalten ist, als in den Axenorganen, noch Amidosäuren (Leucin, Tyrosin etc.) und

<sup>1)</sup> Die gleiche Annahme ist auch von O. Loew (Chemikerzeitung, 1896, Nr. 16) ausgesprochen worden.

organische Basen (Arginin etc.) sich vorfinden. In 6tägigen Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* treten im Wesentlichen die gleichen Produkte auf (vgl. den Anhang). Solche Produkte entstehen aber bekanntlich auch, wenn man Eiweisssubstanzen durch Erhitzen mit Salzsäure zersetzt; man erhält dann neben Amidosäuren der fetten und der aromatischen Reihe, wie Leucin, Asparaginsäure, Tyrosin etc., auch organische Basen (Arginin etc.). Die Zersetzung, welche die Eiweissstoffe beim Kochen mit Salzsäure erleiden, hat man stets als eine unter Wasseraufnahme erfolgende hydrolytische Spaltung der Moleküle aufgefasst; so lange man an dieser Auffassung festhält, ist man auch berechtigt, die in den keimenden Leguminosensamen erfolgende Zersetzung der Eiweisssubstanzen für eine hydrolytische Spaltung zu erklären. Es sind aber keine Thatsachen bekannt, welche uns zu der Annahme zwingen könnten, dass die Eiweisszersetzung in anderen keimenden Samen von derjenigen in Leguminosensamen verschieden sei.

Die hin und wieder geäusserte Annahme, dass der zur Bildung der früher genannten krystallisirenden Stickstoffverbindungen in den Keimpflanzen führende Process in einer Oxydation der Eiweissstoffe bestehe, entspricht nicht den Thatsachen. Amidosäuren der fetten und der aromatischen Reihe und Arginin entstehen bei Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure unter Zusatz einer reducirenden Substanz, nämlich Zinnchlorür, und sind demnach keine Oxydationsprodukte. Ein in der Pflanze vorgehender Process, welcher aus Eiweissstoffen die gleichen Produkte entstehen lässt, kann kein Oxydationsprocess sein. Denkbar aber ist es, dass gewisse Produkte dieses Processes später der Oxydation verfallen. Davon wird w. u. noch die Rede sein.

Es ist wahrscheinlich, dass Albumosen und Peptone die ersten Produkte der hydrolytischen Zersetzung der Eiweissstoffe in den Keimpflanzen sind. In den letzteren sind Peptone nachgewiesen worden, freilich nur in kleinen Quantitäten;<sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> M. vgl. unsere Mittheilungen im Journ. f. Landwirthschaft Bd. 29, S. 285, sowie auch Journ. f. prakt. Chemie, N. F. Bd. 27, S. 358, und Bd. 32, S. 449; endlich die Angaben Neumeister's, Zeitschr. f. Biologie, 1894.

Albumose findet sich nach S. Frankfurt<sup>1)</sup> in den ruhenden Keimlingen von *Triticum vulgare* vor. Es scheint aber, dass die genannten Substanzen sich nicht in den Keimpflanzen anhäufen, sondern bald nach ihrer Bildung in krystallisirende Spaltungsprodukte (Amidosäuren etc.) zerfallen.

Die im Vorigen über den Verlauf des Eiweissumsatzes in den Keimpflanzen von mir ausgesprochenen Anschauungen lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen: Während des Keimungsvorgangs entsteht beim Zerfall der Eiweissstoffe, bzw. der bei ihrer hydrolytischen Spaltung zuerst gebildeten Albumosen und Peptone, ein Gemenge von Stickstoffverbindungen, in welchen aromatische Amidosäuren, Amidosäuren der fetten Reihe und Arginin wahrscheinlich niemals fehlen; ob bei diesem Process Asparagin und Glutamin in gewisser Menge direkt sich bilden, kann zwar in Frage gestellt werden, doch ist es keineswegs unwahrscheinlich.<sup>2)</sup> Ein grosser Theil dieser Spaltungsprodukte zerfällt weiter im Stoffwechsel der Keimpflanzen; ein dabei entstehender stickstoffhaltiger Rest (Ammoniak?) wird zur synthetischen Bildung von Asparagin und Glutamin, vielleicht auch noch anderer Stickstoffverbindungen, verwendet. Der Zweck des letzteren Vorgangs ist es, diejenigen Eiweisszeretzungsprodukte, welche zur Eiweissregeneration nicht direkt brauchbar sind, in ein dazu geeignetes Material umzuwandeln.

Die im Vorigen von mir dargelegten Anschauungen sind vereinbar mit der Annahme, dass die Zersetzung der Eiweissstoffe in allen Keimpflanzen in der gleichen Weise erfolgt; durch sie ist ferner diese Zersetzung auf einen bekannten und auch ausserhalb des Organismus leicht realisirbaren Vorgang, nämlich

---

1) Landwirthsch. Versuchsstat. Bd. 47, S. 453.

2) Möglich ist, dass beim Eiweisszerfall Asparaginsäure und Glutaminsäure entstehen und dass diese dann in Asparagin und Glutamin übergehen.

auf eine hydrolytische Spaltung, zurückgeführt; diese Anschauungen schmiegen sich also den Kenntnissen an, die wir über das chemische Verhalten der Eiweissstoffe ausserhalb des Organismus besitzen.

Die für die Entstehung des Asparagins und Glutamins von mir gegebene Erklärung gestattet es ferner, anzunehmen, dass diese beiden Amide in den Keimpflanzen in der gleichen Weise sich bilden, wie in Pflanzentheilen, in denen sie auf Kosten der in die Pflanzen eingewanderten anorganischen Stickstoffverbindungen entstehen; hier wie dort verdanken sie nach diesen Vorstellungen ihre Entstehung synthetischen Processen, an denen stickstofffreie organische Substanzen sich betheiligen.

Die oben von mir entwickelten Ansichten lassen es endlich als möglich erscheinen, dass die Zersetzung der Eiweissstoffe in den Keimpflanzen im Wesentlichen mit derjenigen übereinstimmt, welche die Eiweissstoffe im Thierkörper erleiden. Denn nach den Darlegungen E. Drechsel's<sup>1)</sup> ist es das Wahrscheinlichste, dass im Thierkörper aus den Eiweissstoffen durch hydrolytische Spaltung zunächst Hemialbumosen und Peptone, dann durch Zerfall der letzteren Amidosäuren der Fettreihe, aromatische Amidosäuren, organische Basen, Ammoniak und Schwefelwasserstoff entstehen. Als organische Basen nennt Drechsel das Lysin und Lysatin; nach unseren heutigen Kenntnissen muss unter jenen Produkten auch das Arginin aufgeführt werden. Amidosäuren der Fettreihe, aromatische Amidosäuren und Arginin sind aber Stickstoffverbindungen, die wir auch in den Keimpflanzen auftreten sehen.

Es ist von Interesse, noch einen Blick auf das Schicksal der beim Eiweisszerfall entstehenden Produkte im thierischen wie im pflanzlichen Stoffwechsel zu werfen. Wie Drechsel darlegt, unterliegen im Thierkörper jene Spaltungsprodukte mit Ausnahme des Ammoniaks wahrscheinlich der Oxydation; dabei entstehen aus den Amidosäuren der Fettreihe als Endprodukte Ammoniak, Kohlensäure und Wasser; die organischen Basen

1) E. Drechsel, der Abbau der Eiweissstoffe, Archiv für Anatomie und Physiologie, physiolog. Abtheilung, 1891, S. 248—278.

liefern wahrscheinlich die gleichen Endprodukte, nachdem aus dem Lysatin (und Arginin) zuvor Harnstoff abgespalten worden ist. Bei den aromatischen Spaltungsprodukten werden die Seitenketten gleich den Amidosäuren der Fettreihe oxydirt; der aromatische Kern kann entweder oxydirt oder synthetisch weiter verarbeitet werden (bei letzterem Vorgang können Aetherschwefelsäuren entstehen). Der Schwefelwasserstoff wird grösstentheils zu Schwefelsäure oxydirt. Aus Kohlensäure und Ammoniak bildet sich durch Synthese carbaminsaures Ammon, welches dann durch Entziehung von 1 Atom O (Reduction) und von 2 Atomen H (Oxydation) in Harnstoff und Wasser übergeführt wird.

Dass auch in den Pflanzen die beim Eiweisszerfall entstandenen organischen Stickstoffverbindungen der Oxydation verfallen können, wird kaum als eine gewagte Annahme zu bezeichnen sein, wenn freilich auch das Vorkommen von Leucin, Amidovaleriansäure und anderen Amidosäuren in Keimpflanzen, welche mehrere Wochen lang im Dunkeln oder im Lichte vegetirt haben, wohl als ein Beweis dafür gelten kann, dass die genannten Stickstoffverbindungen im pflanzlichen Organismus unter Umständen nur langsam durch Oxydation zerstört werden. Das bei diesen Oxydationsprocessen entstandene Ammoniak wird dann nach der oben aufgestellten Hypothese zur synthetischen Bildung von Asparagin und Glutamin verwendet. Sind diese Annahmen berechtigt, so würde trotz der gänzlichen Verschiedenheit der stickstoffhaltigen Endprodukte auch in Bezug auf das Schicksal der beim Eiweisszerfall entstehenden Stickstoffverbindungen zwischen Keimpflanze und Thier in manchen Punkten Uebereinstimmung bestehen. Eine Uebereinstimmung zeigt sich auch darin, dass der Schwefel der zerfallenen Eiweissstoffe im Thierkörper wie in den Keimpflanzen schliesslich in schwefelsaure Salze übergeführt wird.

Entsprechen alle diese Annahmen der Wirklichkeit, so würden in gewissem Sinne auch Diejenigen Recht haben, welche, wie W. Palladin,<sup>1)</sup> die Entstehung des Asparagins in den

---

1) Berichte der D. Botanischen Gesellschaft, 1888, Bd. 6, S. 205 u. 296.

Pflanzen auf eine Oxydation der Eiweissstoffe zurückführen wollten.

Schliesslich habe ich noch darauf aufmerksam zu machen, dass die in Bezug auf die Bildungsweise des Asparagins im Vorigen von mir ausgesprochene Ansicht sich in der Hauptsache schon in einigen früher von mir gemachten Publicationen findet. Schon im Jahre 1878 habe ich bei Mittheilung der an den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* von mir gemachten Beobachtungen geäussert: «Es sehe so aus, als ob in diesen Keimpflanzen die anderen Eiweisszersetzungsprodukte sich grösstentheils nach und nach in Asparagin verwandeln.»<sup>1)</sup> Diese Erscheinung suchte ich damals durch eine Hypothese zu erklären, welche die Annahme involvirte, dass in den Keimpflanzen eine oft sich wiederholende Zersetzung und Neubildung von Eiweissstoffen stattfindet. Da diese Annahme auf Widerspruch stiess, so habe ich im Jahre 1888<sup>2)</sup> darauf aufmerksam gemacht, dass man die Anhäufung des Asparagins in den genannten Keimpflanzen auch in einer Weise erklären kann, welche in den wesentlichen Punkten mit der jetzt von mir ausgesprochenen Annahme übereinstimmt.

In ganz ähnlicher Weise sucht auch O. Loew in einer im Jahre 1896 publicirten Abhandlung<sup>3)</sup> die Entstehung des Asparagins in den Keimpflanzen zu erklären. Er nimmt an, dass die Eiweissstoffe zunächst durch ein trypsinartiges Ferment in die gewöhnlichen Produkte (Leucin, Tyrosin etc.) gespalten werden, dass aber diese Produkte später zum grossen Theil unter Bildung von Ammoniak zerfallen und dass letzteres dann zur Synthese von Asparagin verwendet wird.

## **II. Ueber den Umsatz der Eiweissstoffe in Pflanzen, welche sich nicht mehr im Keimungsstadium befinden.**

Im pflanzlichen Stoffwechsel zerfallen Eiweisssubstanzen nicht allein während des Keimungsvorganges. Es ist angezeigt, hier noch einen Blick auf die über den Eiweissumsatz in

---

1) Landwirthsch. Jahrbücher, Bd. 7, S. 435.

2) Ebendasselbst, Bd. 17, S. 708, sowie Bd. 21, S. 120.

3) Chemikerzeitung, 1896, Nr. 16.

anderen Entwicklungsperioden an den Pflanzen gemachten Beobachtungen zu werfen. Doch ist hier gleich zu bemerken, dass diese Beobachtungen viel weniger zahlreich sind, als diejenigen, für welche Keimpflanzen als Objecte dienten.

Mit Hülfe mikrochemischer Reactionen hat Borodin<sup>1)</sup> nachgewiesen, dass in den unter normalen Verhältnissen im Freien sich entwickelnden Blattknospen vieler Holzgewächse Asparagin auftritt, dass man aber auch Gewächse, deren junge Triebe gewöhnlich kein Asparagin enthalten, zur Asparaginanhäufung bringen kann, indem man ihre mit Knospen besetzten Zweige vom Stamme abtrennt und sie im Zimmer in Wasser cultivirt; die jungen Sprossen und Blätter werden dann in der Regel reich an Asparagin. Dass letzteres einem Zerfall von Eiweissstoffen seine Entstehung verdankt, ist eine Annahme, welche von Borodin ausgesprochen und mit einer Reihe von Gründen gestützt wurde. Dass die in solcher Weise behandelten Blattknospen während ihrer Entwicklung in der That einen Verlust an Proteinstoffen erleiden, geht aus einer von E. Kisser und mir<sup>2)</sup> an *Fagus silvatica* und *Acer pseudoplatanus* ausgeführten Untersuchung hervor. Ueber die Qualität der löslichen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen, welche in den in der beschriebenen Weise zur Entwicklung gebrachten Knospen auftreten, habe ich in Verbindung mit J. Barbieri und E. Bosshard<sup>3)</sup> Untersuchungen angestellt; als Objecte dienten uns dabei *Platanus orientalis*, *Acer pseudoplatanus*, *Acer campestre*, *Aesculus hippocastanum*, *Fagus silvatica*, *Tilia parvifolia*, *Populus nigra*, *Betula alba*, *Alnus* (*glutinosa*?) und *Vitis vinifera*. Aus allen diesen Objecten konnten wir Asparagin, aus den drei zuerst genannten auch Allantoin darstellen; Glutamin liess sich in keinem Falle isoliren. Auf Amidosäuren haben wir nur bei *Aesculus hippocastanum* geprüft; wir konnten hier in geringer Menge eine Substanz isoliren, welche das Verhalten des Leucins zeigte.

---

1) Botanische Zeitung, 1878, S. 802.

2) Landwirthsch. Jahrbücher, Bd. 17 (1888), S. 701 u. 702.

3) Journ. f. prakt. Chemie (2), Bd. 25, S. 145; diese Zeitschrift, Bd. 9, S. 420.

Es ist ferner nachgewiesen, dass in lebenskräftigen grünen Pflanzen, wenn man sie ins Dunkle bringt, ein starker Zerfall von Eiweissstoffen stattfindet. Wie bedeutend der Eiweissverlust sein kann, welchen junge grüne Pflanzen bei 6—7tägigem Verweilen in einem dunkeln Raume erleiden, ist aus den von mir in Verbindung mit E. Bosshard und E. Kisser<sup>1)</sup> an *Trifolium pratense* und *Avena sativa* ausgeführten Bestimmungen zu ersehen. Was die Natur der dabei entstehenden Zersetzungsprodukte betrifft, so konnten wir aus den genannten Objecten leicht Asparagin gewinnen. Andere Objecte, nämlich junge Pflanzen von *Saponaria officinalis*, Blätter von *Beta vulgaris* und von *Brassica oleracea* var. *gongyloides* sowie einige Farnkräuter (*Pteris aquilina*, *Aspidium filix masc.* und *Asplenium filix femina*) lieferten Glutamin.<sup>2)</sup> In einem Falle, nämlich bei *Pteris aquilina*, war das Glutamin begleitet von Tyrosin. Ob auch in den anderen Objecten neben dem Glutamin bzw. neben dem Asparagin Amidosäuren sich vorfanden, ist bis jetzt nicht von uns untersucht worden; ebensowenig ist auf das Vorhandensein von organischen Basen (Arginin etc.) geprüft worden.

Verläuft auch in diesen Objecten der Eiweissumsatz in der Weise, dass, ebenso wie in den Keimpflanzen, beim Zerfall der Eiweissstoffe zunächst ein Gemenge von Amidosäuren, organischen Basen etc. sich bildet, und dass später ein Theil dieser Produkte in Asparagin, bzw. in Glutamin, umgewandelt wird? Eine Antwort auf diese Frage kann zur Zeit nicht gegeben werden, da wir über die Qualität der beim Eiweissumsatz in jenen Objecten entstehenden Produkte bis jetzt nur unzureichende Kenntnisse besitzen. Doch darf behauptet werden, dass keine Thatsachen bekannt sind, welche uns zwingen könnten, jene Frage zu verneinen. Beim Aussprechen dieser Behauptung will ich noch darauf hinweisen, dass, wie

---

1) Diese Zeitschrift, Bd. 17, S. 434 u. 435, Landwirthsch. Versuchstationen, Bd. 36, S. 1.

2) Diese Zeitschrift, Bd. 20, S. 327, Landw. Versuchstationen, Bd. 48, S. 49.

in keiner Keimpflanze, so auch in keinem der im Vorigen genannten Objecte, Asparagin und Glutamin nachweislich die einzigen Produkte des Eiweissumsatzes waren. Nach den von E. Kisser und mir<sup>1)</sup> ausgeführten Bestimmungen fanden sich z. B. in verdunkelten Pflanzen von *Avena sativa*, in denen neben einer sehr beträchtlichen Asparaginmenge bis jetzt kein anderes stickstoffhaltiges Produkt des Eiweissumsatzes nachgewiesen worden ist, vom Stickstoff der zerfallenen Proteinstoffe doch nur 59% in Form von Asparagin (und Glutamin?) vor; es war also ein beträchtlicher Theil jener Stickstoffmenge in andere Verbindungen übergegangen.

### III. Ueber das Vorkommen der in den Keimpflanzen als Produkte des Eiweissumsatzes auftretenden Stickstoffverbindungen in Wurzeln und Knollen.

Bei Ausführung unserer Untersuchungen über die aus den Pflanzensäften und -Extracten darstellbaren krystallisirenden Stickstoffverbindungen haben wir auch unterirdische Pflanzentheile, nämlich Wurzeln und Knollen, als Objecte benutzt; aus solchen Pflanzentheilen sind auch von Anderen mehrfach Stickstoffverbindungen der gleichen Art dargestellt worden. Ueberblicken wir die dabei erhaltenen Resultate, so tritt uns die bemerkenswerthe Erscheinung entgegen, dass Wurzeln und Knollen ein Gemenge von löslichen, krystallisirbaren Stickstoffverbindungen enthalten, welches in seiner Zusammensetzung demjenigen sehr ähnlich ist, das sich in etiolirten Keimpflanzen vorfindet. Als Stütze für diesen Ausspruch können die im Folgenden angeführten Thatsachen dienen:

Wie wir früher gezeigt haben, ist in manchen Keimpflanzen Asparagin, in anderen Glutamin das in grösster Quantität auftretende Amid. Ganz das Gleiche gilt für die Wurzeln und Knollen. So findet sich z. B. Asparagin in beträchtlicher Quantität in den Wurzeln von *Althäa officinalis* und *Scorzonera hispanica* sowie in den Knollen von *Solanum tuberosum*,

---

1) Landw. Versuchsstationen, Bd. 36, S. 5.

*Dahlia variabilis* und *Helianthus tuberosus*; <sup>1)</sup> reich an Glutamin sind nach unseren Untersuchungen <sup>2)</sup> die Wurzeln von *Beta vulgaris*, *Daucus carota* und *Raphanus sativus* var. *rapiferus*, sowie die Knollen von *Brassica oleracea* var. *gongyloides* und *Stachys tuberifera*. Wie in manchen Keimpflanzen, z. B. in denjenigen von *Helianthus annuus*, ein Gemenge von Asparagin und Glutamin sich findet, so auch in den Wurzeln von *Apium graveolens* und in den Knollen von *Brassica Napus* var. *napobrassica*. Wie die gleiche Keimpflanzenart zuweilen Asparagin, zuweilen Glutamin enthält, so hat man auch in den Wurzeln von *Beta vulgaris*, welche gewöhnlich reich an Glutamin sind, zuweilen viel Asparagin gefunden. Wie Asparagin und Glutamin in den Keimpflanzen in der Regel von Amidosäuren der fetten und der aromatischen Reihe begleitet werden, so sind solche neben jenen Amiden auch in Wurzeln und Knollen gefunden worden. Sowohl die Knollen von *Solanum tuberosum* <sup>3)</sup> als die Wurzeln von *Beta vulgaris* <sup>4)</sup> enthalten Leucin und Tyrosin; die zuletzt genannte Amidosäure ist auch in den Knollen von *Dahlia variabilis*, <sup>5)</sup> *Stachys tuberifera* <sup>6)</sup> und *Brassica Napus* var. *napobrassica* <sup>7)</sup> gefunden worden. Ohne Zweifel würden sich noch mehr Beispiele für das Vorkommen solcher Amidosäuren in Wurzeln und Knollen anführen lassen, wenn eine grössere Anzahl solcher Objecte speciell auf das Vorhandensein von Amidosäuren untersucht worden wäre.

---

1) Ueber den Asparagingehalt der Knollen von *Helianthus tuberosus* und *Dahlia variabilis* sind von mir in den Landw. Versuchsstationen, Bd. 48, S. 45, Mittheilungen gemacht worden (daselbst ist auch eine Angabe Leitgeb's über *Dahlia variabilis* citirt); über den Asparingehalt der anderen obengenannten Objecte finden sich Angaben in den bezüglichen Handbüchern.

2) Landwirthschaftl. Versuchsstationen, Bd. 48, S. 33.

3) Ebendasselbst, Bd. 24, S. 167, u. Bd. 27, S. 357.

4) Nach Otto, Bericht der Deutschen Chem. Gesellschaft, Bd. 17, Ref. 171.

5) H. Leitgeb, Botan. Centralblatt, 1888, S. 356; m. vgl. auch meine Mittheilung in den Landw. Versuchsstationen. Bd. 48, S. 45.

6) A. v. Planta, Bericht der Deutschen Chem. Gesellschaft, Bd. 23, S. 1699.

7) Vgl. meine Mittheilung, Landw. Versuchsstationen, Bd. 48, S. 41.

Neben diesen Stoffen tritt wie in den Keimpflanzen, so auch in den Wurzeln und Knollen das Arginin auf. Ich habe dasselbe in den Wurzeln von *Cichorium Intybus* und *Ptelea trifoliata*, sowie in den Knollen von *Helianthus tuberosus* und *Brassica Napus* var. *napobrassica* nachgewiesen.<sup>1)</sup> E. v. Lippmann<sup>2)</sup> fand es auch in den Wurzeln von *Beta vulgaris*.

Neben den im Vorigen genannten Stickstoffverbindungen treten in den etiolirten Keimpflanzen auch Nucleinbasen (Xanthinstoffe) auf. Diese als Produkte der Zersetzung des Nucleins zu betrachtenden Stoffe sind aber auch in den Knollen von *Solanum tuberosum*<sup>3)</sup> und in den Wurzeln von *Beta vulgaris*<sup>4)</sup> nachgewiesen worden.

Im Abschnitt I dieser Abhandlung habe ich es für wahrscheinlich erklärt, dass das in den Keimpflanzen sich vorfindende Gemenge von löslichen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen überall im Wesentlichen die gleiche qualitative Zusammensetzung besitze und dass es nur die Quantität der einzelnen Gemengtheile sei, welche sehr grosse Verschiedenheiten aufweist. Diese Anschauung involvirt die Annahme, dass man wahrscheinlich aus jeder Keimpflanze alle dort aufgeführten Stickstoffverbindungen, nämlich Asparagin, Glutamin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin, Arginin u. s. w., würde darstellen können, wenn man sehr grosse Quantitäten dieser Keimpflanze in Arbeit nähme. Es ist keineswegs unwahrscheinlich, dass für die Wurzeln und Knollen das Gleiche gilt. Als Stütze für diese Vermuthung können die Resultate dienen, zu denen E. v. Lippmann in seiner bemerkenswerthen Untersuchung über die stickstoffhaltigen Bestandtheile der Rübensäfte gelangte — einer Untersuchung, bei deren Ausführung sehr grosse Quantitäten von Rohmaterial in Arbeit genommen wurden. E. v. Lippmann fand im Rübensaft nebeneinander fast alle die löslichen Stickstoffverbindungen, welche wir nach und nach aus ver-

1) Vgl. meine Mittheilung, Landw. Versuchsstationen, Bd. 46, S. 451, sowie Bd. 48, S. 46.

2) Bericht der Deutschen Chem. Gesellschaft, Bd. 29, S. 2645.

3) Vgl. meine Mittheilung, Landw. Versuchsstationen, Bd. 28, S. 111.

4) E. v. Lippmann, l. c.

schiedenen Keimpflanzen u. s. w. dargestellt haben, nämlich Glutamin, Asparagin, Leucin, Tyrosin, Arginin, Allantoin, Vernin, Guanidin, Nucleinbasen und Cholin.

Wie erklärt sich die Uebereinstimmung, die hinsichtlich des Gehalts an löslichen Stickstoffverbindungen zwischen den etiolirten Keimpflanzen und den eben genannten unterirdischen Pflanzentheilen hervorgetreten ist? Bei Discussion dieser Frage ist zunächst darauf aufmerksam zu machen, dass man eine Erklärung für die besprochene Erscheinung haben würde, wenn folgende Hypothese als annehmbar bezeichnet werden könnte: «Die aus dem Boden in die Pflanzen einwandernden anorganischen Stickstoffverbindungen werden in den Wurzeln sofort zur Synthese von Eiweissstoffen und anderen Proteinstoffen verwendet. Ein grosser Theil dieser Stoffe zerfällt später wieder, wobei diejenigen Stickstoffverbindungen sich bilden, die wir auch in den Keimpflanzen als Produkte des Umsatzes der Proteinstoffe auftreten sehen. Diese Stickstoffverbindungen werden den oberirdischen Pflanzentheilen zugeleitet, um hier wieder zur Synthese von Proteinstoffen verwendet zu werden.»

Dieser Hypothese stehen jedoch einige Bedenken entgegen. Es müsste doch als auffallend bezeichnet werden, wenn die Pflanze zur Gewinnung der krystallisirbaren Stickstoffverbindungen, welche als Material zur Eiweissynthese in die oberirdischen Pflanzentheile transportirt werden sollen, zunächst Eiweissstoffe in den Wurzeln bildete, diese aber bald darauf wieder zerfallen liesse. Wahrscheinlicher ist es, dass die aus dem Boden in die Wurzeln einwandernden anorganischen stickstoffhaltigen Nährstoffe hier sofort zur synthetischen Bildung der zum Transport in die oberirdischen Pflanzentheile geeigneten organischen Stickstoffverbindungen (Asparagin, Glutamin etc.) verwendet werden. Die letztere Annahme finden wir denn auch bei verschiedenen Autoren.

Es kann aber doch kaum als wahrscheinlich bezeichnet werden, dass sich in diesen synthetischen Processen der Wurzeln ein Gemenge krystallisirender Stickstoffverbindungen bildet, welches in seiner Zusammensetzung mit demjenigen genau übereinstimmt, das in den Keimpflanzen beim Umsatz der

Eiweissstoffe entsteht. Diese Uebereinstimmung lässt sich aber vielleicht durch folgende Annahmen erklären: «Der in Form anorganischer Verbindungen aus dem Boden aufgenommene Stickstoff wird in den Wurzeln zum grössten Theil zur synthetischen Bildung von Amidem (Asparagin und Glutamin) verwendet; neben letzteren bilden sich in den Wurzeln aber auch Eiweissstoffe. Ein Theil dieser Eiweissstoffe zerfällt später unter Bildung der auch beim Eiweissumsatz in den Keimpflanzen entstehenden Produkte. In dem in den Wurzeln sich vorfindenden Gemenge krystallisirender Stickstoffverbindungen prävaliren daher Asparagin und Glutamin; neben diesen beiden Amidem finden wir nun in jenem Gemenge auch Leucin, Tyrosin, Arginin und andere beim Zerfall der Eiweissstoffe entstehende Stickstoffverbindungen vor. Die in den Wurzeln auftretenden Nucleinbasen sind als Produkte des Zerfalls von Nucleinen anzusehen.»

Wenn ich annehme, dass der in Form von Nitraten etc. aus dem Boden aufgenommene Stickstoff in den Wurzeln nicht bloss zur Bildung von Amidem, sondern auch zur Eiweissbildung verwendet wird, so stütze ich mich dabei auf die Thatsache, dass auch in den Wurzeln beträchtliche Eiweissmengen sich vorfinden, welche doch wohl nicht aus den oberirdischen Pflanzentheilen in die Wurzeln gelangt sind. Ich befinde mich dabei in Uebereinstimmung mit Müller-Thurgau<sup>1)</sup> welcher auf Grund der von ihm ausgeführten Versuche es für höchst wahrscheinlich erklärt, dass die Wurzeln Eiweissstoffe zu bilden vermögen.<sup>2)</sup>

Allerdings hat E. Godlewski aus seiner vor Kurzem publicirten Untersuchung über die Eiweissbildung aus Nitraten

---

1) Vierter Jahresbericht der Versuchsstation für Obst- und Weinbau in Wädenswil, S. 48—52.

2) Als Beweis dafür betrachtet Müller-Thurgau das stärkere Wachstum der mit stickstoffhaltigen Nährstoffen versorgten Wurzeln, gegenüber anderen Wurzeln der gleichen Pflanzen, denen solche Nahrung fehlte. Das stärkere Wachstum jener Wurzeln lässt sich, wie der genannte Forscher zeigt, nicht durch die Annahme erklären, dass sie die Eiweissstoffe aus den Blättern erhielten.

in der Pflanze<sup>1)</sup> die Schlussfolgerung abgeleitet, dass die höheren Pflanzen nur im Licht Eiweissstoffe zu bilden vermögen — eine Schlussfolgerung, welche, wie Godlewski selbst hervorhebt, im Widerspruch mit den bezüglichen Resultaten der w. o. schon erwähnten Versuche Hansteen's an *Lemna minor* stehen.<sup>2)</sup> Liessen sich gegen diese Schlussfolgerung keine Einwände erheben, so würde man die Annahme, dass in den Wurzeln Eiweissstoffe sich bilden, fallen lassen müssen. Ich glaube aber, dass die grosse Verschiedenheit, welche in Bezug auf den Eiweissgehalt zwischen den im Dunkeln und im Licht in nitrathaltiger Nährstofflösung gezogenen Pflänzchen in den Versuchen Godlewski's sich zeigte, auf die von Anderen und von mir nachgewiesene Thatsache zurückzuführen ist, dass oberirdische Theile lebenskräftiger Pflanzen einen starken Eiweissverlust erleiden, wenn man sie im Dunkeln vegetiren lässt.<sup>3)</sup> Es ist daher erklärlich, dass die im Dunkeln gezogenen Versuchspflanzen Godlewski's, auch wenn sie aus Nitraten Eiweissstoffe zu bilden vermochten, doch viel weniger Eiweiss enthielten, als die im Licht erwachsenen Pflänzchen gleicher Art. Die Beobachtungen Godlewski's sind demnach nicht unvereinbar mit der auf manche Thatsachen sich stützenden Annahme, dass die höheren Pflanzen auch im Dunkeln Eiweissstoffe zu bilden vermögen.

#### IV. Ueber die Beziehungen der Kohlenhydrate zum Eiweissumsatz und zur Eiweissbildung in den Pflanzen.

Nach der Theorie, welche Pfeffer auf Grund seiner schon in der Einleitung von mir erwähnten Untersuchungen im Jahre 1872 aufstellte, findet in den Keimpflanzen der Leguminosen eine Ansammlung von Asparagin erst dann statt, wenn Mangel an stickstofffreien Stoffen eingetreten ist; nachdem

---

1) Anzeiger der Akademie der Wissenschaften in Krakau, März 1897, S. 104.

2) In den Versuchen Hansteen's vermochte *Lemna minor* aus Traubenzucker und Asparagin etc. bei Lichtabschluss Eiweiss zu bilden.

3) Man vergleiche den vorhergehenden Abschnitt dieser Abhandlung.

solche Stoffe sich im Assimilationsprocess in genügender Menge wieder gebildet haben, erfolgt mit ihrer Hülfe die Ueberführung des Asparagins in Eiweiss. Diese Theorie ist nicht ohne Widerspruch geblieben. Auch ich habe im Jahre 1878 gegen dieselbe Einwände erhoben, denen ausser der Wahrnehmung, dass in unterirdischen Pflanzentheilen Asparagin und Glutamin oft neben grossen Quantitäten von «plastischen» stickstofffreien Stoffen sich vorfinden, vorzugsweise einige Beobachtungen zu Grunde lagen, welche ich an Keimpflanzen von *Lupinus luteus* gemacht hatte. Im hypocotylen Glied und in der Wurzel solcher Keimpflanzen fand sich eine sehr beträchtliche Asparaginmenge schon in einer Entwicklungsperiode, in welcher die Pflänzchen zweifellos plastische stickstofffreie Stoffe noch in einer ansehnlichen Menge enthielten. Bei Untersuchung von *Lupinus*-pflänzchen, welche zuerst 10 Tage lang im Dunkeln, dann 3 Wochen lang bei Lichtzutritt vegetirt hatten, fand ich ferner, dass während der Vegetation am Licht trotz der Bildung einer beträchtlichen Quantität von stickstofffreien Stoffen im Assimilationsprocess in den Pflänzchen neben dem Protein auch das Asparagin an Menge zugenommen hatte; abgenommen hatte dagegen die auf andere Verbindungen fallende Stickstoffmenge, wie aus der nachfolgenden, der oben citirten Abhandlung entnommenen Tabelle zu ersehen ist:

	Vom Gesamtstickstoff fielen		
	auf	auf	auf andere
	Proteinstoffe	Asparagin	Verbindungen
a) In den 10tägigen etiolirten Pflänzchen	25,2 %	34,2 %	40,6 %
b) In Pflänzchen, welche 10Tage im Dunkeln, dann 3 Wochen im Licht vegetirt hatten	33,2 „	42,0 „	24,8 „

Erst in Pflänzchen, welche ca. 6 Wochen lang in einem nicht verdunkelten Zimmer vegetirt hatten, war eine Abnahme der Asparaginmenge zu constatiren.

Die volle Erklärung für diese Beobachtungen werde ich unten noch geben; hier sei zunächst angeführt, dass Borodin<sup>2)</sup>

1) Landwirthsch. Jahrbücher, Bd. 7, S. 411.

2) Botanische Zeitung, 1878, S. 802.

dieselben mit Pfeffer's Theorie in Einklang zu bringen suchte, indem er annahm, dass erstens nur wenigen stickstofffreien Stoffen, vielleicht nur der Glucose, die Fähigkeit zukomme, bei der Verarbeitung des Asparagins zu Eiweiss in Wirksamkeit zu treten, dass zweitens die Glucose in manchen Fällen der Eiweissbildung deshalb nicht zu Gute komme, weil sie für andere Stoffbildungen in Anspruch genommen werde, und dass drittens eine Bildung von Asparagin nicht nur in den Cotyledonen keimender Leguminosensamen, sondern vielmehr in allen lebenskräftigen Pflanzentheilen stattfinden könne. Dass mit Hülfe dieser Sätze die an den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* gemachten Beobachtungen sich im Sinne der Pfeffer'schen Theorie erklären lassen, wurde von mir<sup>1)</sup> zugegeben. Auch machte ich darauf aufmerksam, dass für diese Theorie auch noch eine in meinen Untersuchungen zu Tage getretene Erscheinung spreche, die Erscheinung nämlich, dass in stickstoffreichen Keimpflanzen die Anhäufung von Amidin in der Regel um so stärker ist, je ärmer die bezüglichen Samen an stickstofffreien Reservestoffen waren. Ich wies darauf hin, dass hier eine merkwürdige Analogie des pflanzlichen und des thierischen Stoffwechsels sich zeige. Denn bekanntlich wird im thierischen Organismus durch einseitige Steigerung des Gehalts der Nahrung an stickstofffreien Stoffen der Eiweissumsatz verringert, der Eiweissansatz dagegen gesteigert.

Als Stützen für den obigen Satz dienten mir die von mir und meinen Mitarbeitern an den Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, *Soja hispida* und *Cucurbita pepo* gemachten Beobachtungen; später konnte ich jedoch auch auf die Zahlen verweisen, welche B. Schulze und E. Flechsig<sup>2)</sup> in einer Untersuchung über die Grösse der Amidbildung bei einigen im Dunkeln keimenden Pflanzensamen erhalten haben. Aber auch die in den letzten Jahren über den Eiweissumsatz in den Pflanzen von mir und meinen Mitarbeitern ausgeführten Untersuchungen gaben Gelegen-

---

1) Botanische Zeitung, 1879, S. 210; Landwirthsch. Jahrbücher Bd. 9 S. 727.

2) Landwirthsch. Versuchsstationen, Bd. 32, S. 187.

heit, den obigen Satz auf seine Richtigkeit zu prüfen. Die dabei erhaltenen Resultate führten zunächst zu der schon w. o. von mir ausgesprochenen Schlussfolgerung, dass auch durch reichliches Vorhandensein von stickstofffreien Reservestoffen die Eiweisssubstanzen in den keimenden Samen nicht vor dem Zerfall geschützt werden. Als Stützen für diesen Satz können zahlreiche Thatsachen dienen. Auch in keimenden Samen, welche sehr reich an Stärkmehl, arm an Eiweissstoffen sind, findet man krystallisirende Stickstoffverbindungen vor, welche dem Eiweissumsatz ihre Entstehung verdanken. Sowohl an *Lupinus luteus* und *angustifolius* wie an *Vicia sativa* ist nachgewiesen worden, dass der Eiweisszerfall in der ersten Keimungsperiode am stärksten ist, später aber sich sehr bedeutend verlangsamt, obwohl doch die während der Keimung zum Verbrauch gelangenden stickstofffreien Reservestoffe anfangs in grösserer Menge vorhanden sind, als später. Vergleicht man ferner verschiedene stickstoffreiche Keimpflanzen mit einander, so zeigt sich in der ersten Keimungsperiode, in welcher der Eiweisszerfall ein sehr starker ist, keineswegs in allen Fällen umgekehrte Proportionalität zwischen der Grösse des Eiweissverlustes und dem Gehalt der Samen an stickstofffreien Reservestoffen; dagegen tritt solche Proportionalität hervor, wenn man Keimpflanzen von längerer Vegetationsdauer mit einander vergleicht. Zum Beweise können die an *Lupinus luteus* und *Lupinus angustifolius* von uns gemachten Beobachtungen dienen. Die Samen dieser beiden Lupinensorten differiren ziemlich stark im Gehalt an Proteinstoffen, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist:

	Samen von <i>Lupinus luteus</i> (entschält)	Samen von <i>Lupinus angustifolius</i> (entschält)
Stickstoff in Proteinstoffen	8,72 %	6,14 %
„ „ nicht protein- artigen Verbindungen. }	0,62 %	0,47 %
Gesamtstickstoff	9,34 %	6,61 %

Auf Nuclein und andere in Pepsin-Salzsäure unlösliche Verbindungen fiel in beiden Samenarten nur ungefähr 0,1<sup>3</sup>/<sub>10</sub>

Stickstoff;<sup>1)</sup> die Annahme, dass der nach Abzug dieses kleinen Betrags vom Proteinstickstoff übrig bleibende Rest, nämlich 8,62, bzw. 6,04%, Eiweissstoffen angehörte, darf hier als eine zulässige angesehen werden.<sup>2)</sup>

Während die Samen von *Lupinus luteus* reicher an Eiweissstoffen sind, als die von *Lupinus angustifolius*, enthalten die letzteren dagegen mehr stickstofffreie Reservestoffe. Die Qualität dieser Stoffe ist in beiden Samensorten die gleiche;<sup>3)</sup> neben Glyceriden finden sich ein in Wasser leicht lösliches Polysaccharid, die Lupeose, und eine von uns als Paragalaktan oder Paragalaktoaraban bezeichnete Hemicellulose vor; dass die letztere während des Keimungsvorganges verbraucht wird und daher zu den Reservestoffen zu zählen ist, wurde von uns mit Sicherheit nachgewiesen.<sup>4)</sup> Ueber den Gehalt der genannten Samen an diesen Stoffen gibt die nachfolgende Tabelle Aufschluss; doch muss bemerkt werden, dass die für die Kohlenhydrate angegebenen Procentzahlen nur approximative sind.<sup>5)</sup>

	Samen von <i>Lupinus luteus</i> (entschält)	Samen von <i>Lupinus angustifolius</i> (entschält)
Glyceride (und freie Fettsäuren)	6,2%	7,5%
Lupeose	8,4%	11,4%
Paragalaktoaraban	9,6%	27,8%

1) Die bezüglichen Bestimmungen wurden nach dem Stutzer'schen Verfahren ausgeführt.

2) Es kann hier unberücksichtigt bleiben, dass möglicherweise Nucleoalbumine vorhanden waren, welche bei Einwirkung des Pepsins unter Abspaltung von Nuclein sich lösten.

3) M. vgl. unsere Mittheilungen, Landw. Versuchsstat. Bd. 39, S. 271, und Bd. 48. S. 419.

4) Diese Zeitschrift, Bd. 21, S. 392.

5) Die Zahlen sind nur approximativ, weil genaue Methoden zur Bestimmung der hier in Rede stehenden Substanzen nicht existiren. Es ist noch zu bemerken, dass die für *Lupinus luteus* angegebenen Gehaltszahlen die Mittel aus den bei Untersuchung von zwei Samenmustern erhaltenen Zahlen sind. Die für den Lupeosegehalt angegebenen Procentzahlen schliessen vielleicht auch das von Ritthausen (Ber. d. D. Chem.

Für das Mengenverhältniss der stickstoffhaltigen zu den stickstofffreien Reservestoffen berechnen sich folgende abgerundete Zahlen:

	Lupinus luteus	Lupinus angustifolius
Protein : N-freien Stoffen =	1 : 0,5	1 : 1,2

Da diese Samen demnach Reservestoffe von gleicher Qualität in ungleichen Quantitäten enthalten, so bilden sie ein Material, das für Untersuchungen über die obige Frage sich sehr gut eignet.

Die Ergebnisse unserer Versuche theile ich nun in der nachfolgenden Tabelle in der Weise mit, dass ich den Stoffgehalt der aus 100 Th. Samen bei 6tägiger und bei 15tägiger Dauer der Keimung entstandenen Keimpflanzen im Vergleich mit dem Stoffgehalt der ungekeimten Samen angebe. Alle Zahlen beziehen sich auf die schalenfreie Trockensubstanz.

a) Lupinus luteus.

	100 Th. Samen enthalten	95,02 Th. 6tägig. Keimpflanzen enthalten	77,20 Th. 15tägig. Keimpflanzen enthalten
Stickstoff in Proteinstoffen	8,72 Th.	5,49 Th.	1,71 Th.
„ „ nichtproteinarti- gen Verbindungen	0,62 „	3,85 „	7,63 „
Gesamtstickstoff . . . . .	9,34 Th.	9,34 Th.	9,34 Th.

b) Lupinus angustifolius.

	100 Th. Samen enthalten	89,20 Th. 6tägig. Keimpflanzen enthalten	72,72 Th. 15tägig. Keimpflanzen enthalten
Stickstoff in Proteinstoffen	6,14 Th.	3,19 Th.	1,49 Th.
„ „ nichtproteinarti- gen Verbindungen	0,47 „	3,42 „	5,12 „
Gesamtstickstoff . . . . .	6,61 Th.	6,61 Th.	6,61 Th.

Zur Berechnung des Proteinverlusts der Keimpflanzen habe ich die für den Verlust an «Proteinstickstoff» aus vorstehen-

Gesellschaft, Bd. 29 S. 896) in einem alkoholischen Extract aus den Samen von Lupinus luteus aufgefundenen Galaktid ein; doch ist es fraglich, ob letzteres ein constanter Bestandtheil dieser Samen ist.

der Tabelle abgeleiteten Zahlen mit 6 multiplicirt.<sup>1)</sup> Es ergeben sich dann folgende Werthe:

Verlust an Proteinstoffen

	bei 6tägiger Dauer der Keimung	bei 15tägiger Dauer der Keimung
Lupinus luteus . . . . .	19,4 Th.	42,1 Th.
„ angustifolius . . . . .	17,7 „	27,9 „

Wie man sieht, hat in den ersten 6 Tagen Lupinus angustifolius trotz höheren Gehalts an stickstofffreien Reservestoffen fast ebensoviel Proteinstoffe verloren, wie Lupinus luteus; ein Einfluss der stickstofffreien Stoffe auf den Protein- bzw. Eiweissverlust tritt also in der ersten Keimungsperiode nicht hervor. In Uebereinstimmung mit der Annahme, dass der Protein- bzw. Eiweissverlust der Keimpflanzen ihrem Gehalt an stickstofffreien Stoffen umgekehrt proportional ist, stehen dagegen die an 15tägigen Keimpflanzen erhaltenen Resultate. Lupinus luteus hat bei 15tägiger Keimungsdauer 42,1 Th. Proteinstoffe (= 80,4 % der ursprünglich vorhandenen Menge) verloren, Lupinus angustifolius dagegen nur 27,9 Th. (= 75,7 % der ursprünglichen Menge).

Ganz das Gleiche ergibt sich, wenn man die Keimpflanzen von Lupinus angustifolius mit denjenigen von Cucurbita pepo vergleicht. Auch die Samen von Cucurbita sind reich an Proteinstoffen, enthalten daneben aber eine sehr grosse Quantität von Fett, wie aus folgenden, auf die Trockensubstanz der entschälten Samen sich beziehenden Zahlen zu ersehen ist:

	Samen von Cucurbita pepo (enthält)
Stickstoff in Proteinstoffen . . . . .	5,96 %
Fett (Aetherextract) . . . . .	52,50 „

Demnach enthalten die Samen von Cucurbita pepo ungefähr die gleiche Proteinmenge, wie die Samen von Lupinus angustifolius; sie sind aber reicher an stickstofffreiem Reservematerial, denn sie enthalten über 52 % Fett, während in den

<sup>1)</sup> Die aus den Lupinensamen darstellbaren Eiweissstoffe besitzen einen so hohen Stickstoffgehalt, dass der gewöhnlich angewendete Multiplicationsfactor 6,25 hier zu hoch erschien. Uebrigens kommt es hier nur darauf an, vergleichbare Werthe zu gewinnen.

Samen von *Lupinus angustifolius* 7,5 % Fett und ca. 39 % Kohlenhydrate sich vorfinden. Wenn das Plus an Fett (= 45 %) bei *Cucurbita* während der Keimung in Kohlenhydrate umgewandelt wird, was zweifellos der Fall ist, so kann daraus eine Kohlenhydratmenge entstehen, welche vielleicht doppelt so gross ist, wie die in *Lupinus angustifolius* sich vorfindende Quantität. Dementsprechend ist nach 15tägiger Keimungsdauer der Proteinverlust bei *Cucurbita* ein weit geringerer, als bei *Lupinus angustifolius*, wie aus den nachfolgenden Angaben zu ersehen ist.<sup>1)</sup>

	Cucurbita pepo	
	100 Th. Samen enthalten	84,9 Th. 15tägiger Keimpflanzen <sup>1)</sup> enthalten
Stickstoff in Proteinstoffen	5,96 Th.	4,30 Th.
„ „ nichtproteinartigen Verbindungen	0,16 „	1,82 „
Gesamtstickstoff . . . . .	6,12 Th.	6,12 Th.

Der Proteinverlust der Keimpflanzen von *Cucurbita*, berechnet in der gleichen Weise wie bei *Lupinus angustifolius* (vgl. oben), beziffert sich nur auf 9,96 Th. = 27,9 % der ursprünglichen Proteinmenge,<sup>2)</sup> während er bei *Lupinus angustifolius* 27,9 Th. = 75,7 % der ursprünglichen Proteinmenge betrug.

Auch die an Proteinstoffen armen, an Stärkmehl sehr reichen Samen von *Zea Mais* erleiden während der Keimung nur einen relativ geringen Proteinverlust, wie aus folgenden Angaben zu ersehen ist.<sup>3)</sup>

1) Es sei erwähnt, dass die 15tägigen Keimpflanzen von *Cucurbita* eine Länge von 170—200 mm. erreicht hatten.

2) Bei diesen *Cucurbita*-Keimpflanzen war der Proteinverlust bedeutend geringer als bei denjenigen, welche für die früher von mir ausgeführten quantitativen Bestimmungen (vgl. Landw. Jahrbücher, 1880, S. 733) benutzt wurden. Der Grund dafür liegt darin, dass die letzteren bei einer höheren Temperatur gezogen wurden (vgl. S. 735 der citirten Abhandlung).

3) Für diese Versuche wurde eine andere Varietät von Maissamen verwendet, als für die Versuche, deren Ergebnisse w. o. mitgeteilt worden sind. Das Mengenverhältniss der Keimpflanzen zu den ungekeimten Samen ist auch hier aus ihrem Stickstoffgehalt berechnet. Die 15tägigen Keimpflanzen hatten ohne die Wurzeln eine Länge von 170—180mm.

	100 Th. Samen enthalten	82,0 Th. 15tägiger Keimpflanzen enthalten
Stickstoff in Proteinstoffen	1,94 Th.	1,41 Th.
„ „ nichtproteinarti- gen Verbindungen	0,07 „	0,60 „
Gesamtstickstoff . . . . .	2,01 Th.	2,01 Th.

Der Proteinverlust, berechnet in der früher angegebenen Weise, beziffert sich auf 3,18 Th. = 27,4 % der ursprünglichen Proteinmenge.

Die Keimpflanzen, an denen die im Vorigen mitgetheilten Versuchsergebnisse erhalten wurden, waren sämmtlich unter gleichen Versuchsbedingungen gezogen worden, so dass die Resultate direkt vergleichbar sind.

Es liegen mir auch noch Beobachtungen vor, welche an Keimpflanzen von *Abies pectinata* und *Picea excelsa* gemacht wurden. Da die bezüglichen Samen im Gehalt an stickstofffreien Reservestoffen sich ziemlich gleich stehen, aber ungleiche Proteinmengen enthalten,<sup>1)</sup> so sind auch sie geeignet für Untersuchungen über die hier vorliegende Frage. Die Keimpflanzen wurden untersucht, nachdem sie mehrere Wochen lang unter Lichtabschluss vegetirt hatten.<sup>2)</sup> Es zeigte sich, dass die stickstoffreicheren Keimpflanzen von *Picea* beträchtlich mehr nichtproteinartige Stickstoffverbindungen enthielten, als die proteinärmeren, an stickstofffreien Stoffen reicheren Keimpflanzen von

1) Bei Untersuchung der Samen ergaben sich folgende, auf die Trockensubstanz inclusive Schalen sich beziehende Zahlen (vgl. diese Zeitschrift, Bd. 22, S. 443 und 447):

	<i>Abies pectinata</i>	<i>Picea excelsa</i>
Stickstoff in Proteinstoffen	1,55 %	3,27 %
„ „ nichtproteinarti- gen Verbindungen	0,05 „	0,04 „
Fett (Aetherextract) . . . . .	32,88 „	29,95 „

Beide Samensorten enthalten auch noch lösliche Kohlenhydrate, deren Quantität aber vermuthlich nicht stark differirt. Zu bemerken ist noch, dass bei *Abies* die Schalen einen weit grösseren Theil vom Gewicht der Samen ausmachen, als bei *Picea*.

2) Die Keimpflanzen von *Abies* hatten eine Länge von ca. 90 mm, diejenigen von *Picea* eine solche von ca. 70 mm. erreicht. Sie wurden in Sand gezogen.

Abies. Die im Folgenden angegebenen Zahlen beziehen sich auf die schalenfreie Trockensubstanz der Pflänzchen:

	Keimpflanzen von <i>Abies pectinata</i>	Keimpflanzen von <i>Picea excelsa</i>
Stickstoff in Proteinstoffen	3,31%	3,13 %
„ „ nichtproteinarti- gen Verbindungen	1,75 „	2,60 „
Gesamtstickstoff . . . . .	5,06 %	5,73 %

Da in den ungekeimten Samen nur eine äusserst geringe Stickstoffmenge auf nichtproteinartige Verbindungen fiel (vgl. die Anmerkung), so macht man nur einen ganz unwesentlichen Fehler, wenn man annimmt, dass die in der zweiten Horizontalreihe aufgeführten Zahlen (1,75 bzw. 2,60 %) den Verlust der Keimpflanzen an «Proteinstickstoff» repräsentiren. Wie man sieht, ist der Verlust bei *Picea* bedeutend grösser gewesen, als bei *Abies*.

Wenn ich sowohl hier wie bei den vorher aufgeführten Objecten nur von einem Verlust von Proteinstoffen spreche, weil nur dieser quantitativ bestimmt worden ist, so kann doch nicht bezweifelt werden, dass der Proteinverlust hauptsächlich ein Verlust an Eiweissstoffen war.

Aus den im Vorigen gemachten Mittheilungen ist zu ersehen, dass in Keimpflanzen, welche 14 Tage oder länger bei Lichtabschluss vegetirten, der Verlust an Proteinstoffen, bzw. an Eiweisssubstanzen, um so geringer ist, je reicher an stickstofffreien Stoffen die Keimpflanzen sind — oder, genauer gesagt, je mehr stickstofffreie Reservestoffe auf die gleiche Eiweissmenge in den ungekeimten Samen kommen. Diese Erscheinung steht im Einklang mit der durch die Versuche Hansteen's und Kinoshita's<sup>1)</sup> fest begründeten Annahme, dass gewisse Produkte des Eiweissumsatzes durch Einwirkung der physiologisch thätigen stickstofffreien Stoffe zu Eiweissstoffen regenerirt werden. Mit Hülfe dieser Annahme sowie der in Bezug auf den Verlauf des Eiweissumsatzes aus meinen Untersuchungen sich ableitenden Schlussfolgerungen

<sup>1)</sup> Die bezügllichen Abhandlungen sind w. o. schon von mir citirt worden.

erklären sich die oben besprochenen Erscheinungen in folgender Weise: Der Keimungsvorgang ist mit einer Umwandlung der stickstoffhaltigen und stickstofffreien Reservestoffe der Samen verbunden. Der Zerfall von Eiweissstoffen, welcher auch durch reichlichstes Vorhandensein stickstofffreier Reservestoffe nicht verhütet wird, aber in verschiedenen Samenarten mit ungleicher Intensität eintritt, liefert als Produkt ein Gemenge von Stickstoffverbindungen; diese Stickstoffverbindungen werden später zum grossen Theil in Asparagin, bezw. in Glutamin, umgewandelt. Bei der Umwandlung des stickstofffreien Reservematerials werden aus unlöslichen Stoffen (Stärkmehl, Fett etc.) lösliche Kohlenhydrate gebildet; ein Theil der letzteren wird in die physiologisch thätige Form, d. h. in Glucose, übergeführt. Diese Produkte strömen ebenso wie die beim Umsatz der Eiweissstoffe entstandenen Stickstoffverbindungen den im Wachstum begriffenen Pflanzentheilen zu. Durch die Glucose, vielleicht auch noch durch andere reactionsfähige Kohlenhydrate, werden Asparagin und Glutamin (vielleicht auch noch andere Produkte des Eiweissumsatzes) zu Eiweissstoffen regenerirt. Je reicher an stickstofffreien Reservestoffen die keimenden Samen sind, desto grösser wird im Allgemeinen das in den Keimpflanzen sich vorfindende Quantum physiologisch thätiger Kohlenhydrate sein, desto mehr Asparagin, bezw. Glutamin, kann zu Eiweiss regenerirt werden. So erklärt es sich, dass in Keimpflanzen, welche längere Zeit im Dunkeln vegetirt haben, der Eiweissverlust um so geringer ist, je weiter in den Samen das Nährstoffverhältniss, d. h. das Mengenverhältniss zwischen stickstoffhaltigen und stickstofffreien Reservestoffen, war.

Mit Hülfe dieser Vorstellungen lassen sich auch die an den Keimpflanzen von *Lupinus luteus* beobachteten Erscheinungen verstehen, welche mich im Jahre 1878 veranlassten, Einsprache gegen die von Pfeffer aufgestellte Theorie zu erheben. In den genannten Keimpflanzen erfolgt schon während der ersten Entwicklungsperiode ein intensiver Zerfall von Eiweissstoffen.<sup>1)</sup> Die dabei entstehenden Amidosäuren etc. werden später zum

---

1) Wie aus den w. o. gemachten Angaben zu ersehen ist.

grössten Theil in Asparagin übergeführt; letzteres tritt demnach hier als Hauptprodukt des Eiweissumsatzes auf. Da nun weder der Zerfall von Eiweissstoffen noch die Umwandlung gewisser Eiweisszersetzungsprodukte in Asparagin durch das Vorhandensein von stickstofffreien Stoffen irgend welcher Art verhindert wird, so findet bei *Lupinus luteus* schon während der ersten Keimungsperiode lebhaft Asparaginbildung statt. Wegen der Armut der *Lupinus*-Samen an stickstofffreien Reservestoffen findet sich aber in den Keimpflanzen nicht genug Glucose, um das Asparagin vollständig oder auch nur zum grössten Theil zu Eiweiss zu regeneriren; daher häuft sich schon in der ersten Entwicklungsperiode das Asparagin in den Keimpflanzen an, und zwar vorzugsweise im hypocotylen Glied und in der Wurzel. Ebenso leicht wie diese Erscheinung erklärt sich mit Hülfe unserer gegenwärtigen Kenntnisse auch die Thatsache, dass in den nach 10tägigem Verweilen im Dunkeln an's Licht gebrachten Keimpflanzen trotz der im Assimilationsprocess erfolgenden Bildung von Kohlenhydraten die Asparaginmenge sich noch vermehrte. Denn wenn auch durch die im Assimilationsprocess erzeugte Glucose, von welcher übrigens wahrscheinlich ein beträchtlicher Theil für die Bildung von Zellhäuten etc. verbraucht wurde, ein Theil des vorhandenen Asparagins zu Eiweiss regenerirt wurde, so entstand doch daneben neues Asparagin auf Kosten anderer Produkte des Eiweissumsatzes;<sup>1)</sup> es kann also nicht Wunder nehmen, dass in den an's Licht gebrachten Keimpflanzen in den ersten Wochen nicht nur das Protein, sondern auch das Asparagin sich vermehrte.

Stellt man die Frage, wie im Lichte unserer gegenwärtigen Kenntnisse die Pfeffer-Borodin'sche Theorie sich darstellt, so ist Folgendes zu antworten: Es ist zur Zeit als bewiesen zu betrachten, dass bei genügendem Zufluss von Glucose das Asparagin zu Eiweiss regenerirt wird und demgemäss aus den Pflanzen verschwindet. Die Annahme, dass eine Anhäufung von Asparagin erst erfolgt, nachdem die verwendbaren stick-

---

1) In dem von mir w. o. nachgewiesenen Process.

stofffreien Stoffe verbraucht worden sind, entspricht dagegen den an den Keimpflanzen gemachten Beobachtungen nicht.

Man kann daher auch in dem Mangel solcher stickstofffreien Stoffe nicht die Ursache für den Zerfall der Eiweissstoffe und für die Bildung des Asparagins sehen. Auch eine mit der letzteren Annahme in Zusammenhang stehende Hypothese lässt sich zur Zeit nicht mehr aufrecht halten. Bekanntlich hat Pfeffer (loc. cit.) darauf hingewiesen, dass ein kohlenstoff- und wasserstoffhaltiger Rest übrig bleiben muss, wenn bei der Spaltung eines Eiweissstoffes Asparagin als einziges stickstoffhaltiges Produkt entsteht;<sup>1)</sup> bildet sich statt des Asparagins Glutamin, so muss das Gleiche eintreten, doch würde weniger Kohlenstoff und Wasserstoff übrig bleiben. Gestützt auf diese That-sachen, haben einige Autoren angenommen, dass im Lebens-process der Pflanzen ein Zerfall von Eiweissstoffen in Amide und Kohlenhydrate stattfindet.

Schon vor vielen Jahren habe ich darauf aufmerksam gemacht,<sup>2)</sup> dass die Grundlage jener auf die Elementarzusammensetzung der Eiweissstoffe und des Asparagins bezw. Glutamins sich gründenden Rechnung erschüttert ist, seitdem man weiss, dass beim Eiweissumsatz in den Pflanzen neben Asparagin und Glutamin noch Stickstoffverbindungen wie Leucin, Amido-valeriansäure, Tyrosin etc. entstehen, welche weit stickstoffärmer sind als Asparagin und Glutamin. Noch stärker wird jene Grundlage durch die in dieser Abhandlung mitgetheilten Versuchsergebnisse erschüttert. Denn ich habe nachgewiesen, dass Asparagin und Glutamin in den Keimpflanzen durch Umwandlung

1) Gesetzt z. B., dass in Erbsen- oder Bohnen-Keimpflanzen Legumin in Asparagin verwandelt wird, so könnte für diese Umwandlung folgendes gelten:

	126 Th. Legumin enthaltend	können liefern	100 Th. Asparagin enthaltend	Differenz
C	64,9 Th.		36,4 Th.	+ 28,5 Th.
H	8,8 „		6,1 „	+ 2,7 „
N	21,2 „		21,2 „	0
O	30,6 „		36,3 „	— 5,7 „
S	0,5 „		—	—

2) Landwirthschaftl. Jahrbücher, 1885, Bd. 14, S. 725.

anderer Produkte des Eiweissumsatzes entstehen. Gesetzt auch, dass diese beiden Amide beim Zerfall der Eiweissstoffe oder der Peptone direkt in beschränkter Menge sich bilden, so entstehen bei diesem Zerfall doch zweifellos daneben noch zahlreiche andere Produkte; von einer Spaltung von Eiweiss in ein Kohlenhydrat und Asparagin oder Glutamin während des Keimungsvorgangs kann also nicht mehr die Rede sein.

Damit soll selbstverständlich nicht gesagt sein, dass nicht im pflanzlichen Stoffwechsel aus Eiweissstoffen Kohlenhydrate entstehen können. Dass dies möglich ist, muss für sehr wahrscheinlich erklärt werden. In welcher Weise aber dieser Process verläuft, das entzieht sich bis jetzt unserem Wissen.

### **Anhang.**

Im Folgenden theile ich die Einzelheiten einiger Untersuchungen mit, deren Hauptresultate schon im Abschnitt I dieser Abhandlung Erwähnung gefunden haben. Die Gründe, aus denen diese Mittheilungen in den Anhang verwiesen werden, habe ich schon in der Einleitung angegeben.

#### **A. Untersuchung von sechstägigen und achttägigen Keimpflanzen von *Lupinus luteus*.**

Die unter Lichtabschluss erwachsenen Keimpflanzen wurden nach der Ernte in die Cotylodonen und die übrigen Theile zerlegt, dann getrocknet und zerrieben.

##### **a) Sechstägige Keimpflanzen.**

Ein Quantum von ca. 400 gr. lufttrockener Cotylodonen = ca. 360 gr. Trockensubstanz wurden mit kochendem Weingeist extrahirt, der Extract in früher beschriebener Weise auf Amidosäuren verarbeitet. Ich erhielt ca. 2 gr. Amidosäuren (Rohprodukt). Dieselben lösten sich fast ohne Rückstand in heissem, ammoniakhaltigem Weingeist; die Lösung lieferte beim Verdunsten eine krystallinische Ausscheidung. Letztere verwandelte sich beim Umkrystallisiren aus dem genannten Lösungsmittel in glänzende Krystallblättchen, welche im Aussehen und

Verhalten mit Leucin übereinstimmten. Beim Erhitzen im Glasröhrchen gaben sie ein weisses wolliges Sublimat; sie lösten sich nicht in einer gesättigten wässrigen Leucinlösung; ihre wässrige Lösung gab beim Erhitzen mit Kupferacetat eine krystallinische, dem Leucinkupfer gleichende Ausscheidung (Unterschied von Amidovaleriansäure).

Die beim Umkrystallisiren dieses Amidosäurenpräparates verbliebene Mutterlauge wurde eingedunstet, der Rückstand mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure erhitzt. Zwar trat während des Erhitzens der Geruch des Benzaldehyds schwach auf, aber die ca. 2 Stunden am Rückflusskühler gekochte Flüssigkeit lieferte beim Erkalten keine Benzoesäure.

Das in der beschriebenen Weise gewonnene Amidosäurenpräparat bestand also zweifellos fast ausschliesslich aus Leucin. Hätte es Amidovaleriansäure in irgendwie erheblicher Menge eingeschlossen, so würde auch das daraus erhaltene Leucin durch Amidovaleriansäure verunreinigt gewesen sein und hätte dann beim Erhitzen seiner wässrigen Lösung mit Kupferacetat keine Ausscheidung von Leucinkupfer gegeben; das Vorhandensein einer erheblichen Menge von Phenylalanin hätte sich bei der Oxydation mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure durch das Entstehen einer nachweisbaren Benzoesäure-Quantität zu erkennen gegeben.

Aus dem hypocotylen Glied und der Wurzel dieser Keimpflanzen erhielt ich gleichfalls Amidosäuren; die Ausbeute betrug etwas mehr als  $\frac{1}{2}$  0/0. Allem Anschein nach war das bezügliche Präparat ein Gemenge mehrerer Amidosäuren. Bei der Oxydation mittelst Chromsäure lieferte es Benzoesäure.

#### b) Achttägige Keimpflanzen.

Die Cotyledonen dieser Keimpflanzen wurden in derselben Weise verarbeitet, wie diejenigen der 6tägigen Pflänzchen. Auch sie lieferten Amidosäuren; die Ausbeute daran betrug ca. 1 0/0 der Keimpflanzentrockensubstanz. Bei Behandlung des Rohproduktes mit ammoniakhaltigem Weingeist blieb ein in diesem Lösungsmittel schwer löslicher Rückstand, aus welchem sich leicht Tyrosin isoliren liess. Dasselbe bildete kleine

Nadeln, war schwer löslich in Wasser, leicht löslich in Salzsäure und in wässrigem Ammoniak; es gab die Hoffmann'sche und die Piria'sche Reaction.

Aus der bei Behandlung des Rohprodukts mit ammoniakhaltigem Weingeist erhaltenen Lösung liess sich leicht Leucin gewinnen. Dasselbe bildete nach dem Umkrystallisiren aus dem genannten Lösungsmittel glänzende Krystallblättchen, welche das Aussehen und das Verhalten des Leucins (vergl. oben) zeigten; sie lösten sich nicht in einer gesättigten wässrigen Leucinlösung. Die in bekannter Weise dargestellte Kupferverbindung besass einen der Formel des Leucinkupfers entsprechenden Gehalt an Kupfer, wie folgende Angaben beweisen:

0,1810 gr. Substanz gaben 0,0443 gr. Cu O.

	Berechnet für	
	$(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$	Gefunden
Cu	19,55	19,53 %.

Die beim Umkrystallisiren des Rohproduktes übrig gebliebene Mutterlauge wurde der Verdunstung überlassen, das dabei erhaltene Produkt mit Kaliumbichromat und verdünnter Schwefelsäure am Rückflusskühler erhitzt. Dabei trat der Geruch des Benzaldehyds auf; aus der einige Stunden lang erhitzten Flüssigkeit schied sich beim Erkalten eine Substanz aus, welche das Verhalten der Benzoesäure zeigte. Daraus ist zu schliessen, dass jenes Amidosäurenpräparat etwas Phenylalanin einschloss. Doch war die Menge desselben ohne Zweifel nur gering; denn 1 gr. jenes Produktes lieferte bei der Oxydation nur 0,03 gr. Benzoesäure.

Das aus den Cotyledonen der 8tägigen Keimpflanzen dargestellte Amidosäurenpräparat schloss also neben Leucin etwas Tyrosin, wahrscheinlich auch ein wenig Phenylalanin, ein. Doch bestand die Hauptmasse auch dieses Präparates ohne Zweifel aus Leucin.

#### **B. Untersuchung sechstägiger Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius*.**

Die Cotyledonen dieser Keimpflanzen, in der gleichen Weise verarbeitet wie diejenigen der Keimpflanzen von *Lupinus luteus*, lieferten gleichfalls Amidosäuren; die Ausbeute daran betrug 1% der Keimpflanzentrockensubstanz. Die Qualität der Amidosäuren war hier die gleiche wie bei den Cotyledonen

der 8 tägigen Keimpflanzen von *Lupinus luteus*; neben Leucin fand sich Tyrosin, wahrscheinlich auch ein wenig Phenylalanin, vor. Die Trennung und die Identificirung des Tyrosins und des Leucins wurden ebenso ausgeführt, wie es dort beschrieben worden ist. Zur Identificirung des Leucins diente auch eine in der Kupferverbindung ausgeführte Kupferbestimmung, welche folgendes Resultat lieferte:

0,1845 gr. der Substanz lieferte 0,0445 gr. Cu O.

	Berechnet für	
	(C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N O <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> Cu	Gefunden
Cu	19,55	19,24 %.

Wahrscheinlich enthielten diese Cotyledonen auch etwas Arginin. Der bei Extraction der zerriebenen Cotyledonen mit Weingeist verbliebene Rückstand wurde mit Wasser extrahirt, der Extract mittelst Bleiessig gereinigt und sodann mit Phosphorwolframsäure versetzt. Die bei Zerlegung des Phosphorwolframsäure-Niederschlags mittelst Kalkmilch in bekannter Weise erhaltene Basenlösung neutralisirte ich mit Salpetersäure, dunstete sie auf ein geringeres Volumen ein und fügte dann Mercurinitrat zu. Es entstand ein Niederschlag, welcher mit Schwefelwasserstoff zerlegt wurde. Die vom Schwefelquecksilber abfiltrirte Flüssigkeit lieferte beim Verdunsten weisse Krystalle, welche die Reactionen des Argininnitrats gaben. Die Quantität derselben war aber nur gering; ich konnte daher auch ihre Identität mit Argininnitrat nicht zweifellos machen.

Die Cotyledonen dieser Keimpflanzen enthielten also neben Asparagin wahrscheinlich die gleichen krystallisirbaren Stickstoffverbindungen wie die Cotyledonen der 8 tägigen Keimpflanzen von *Lupinus luteus*.

Zu erwähnen ist noch, dass nach dem Auskrystallisiren der Amidosäuren (Leucin, Tyrosin etc.) aus den in oben beschriebener Weise dargestellten Extracten stets dickflüssige Mutterlaugen übrig blieben, in denen Kohlenhydrate nachzuweisen waren. Es kann keinem Zweifel unterliegen, dass aus diesen Extracten die Amidosäuren nur unvollständig auskrystallisirten, und dass in Folge davon die Ausbeute an Amidosäuren hinter der wirklich vorhandenen Quantität beträchtlich zurückgeblieben ist.

Analytische Belege.

Die Stickstoffbestimmungen wurden nach der Kjehldahl'schen Methode ausgeführt. Beim Abdestilliren des Ammoniaks wurde verdünnte Schwefelsäure vorgeschlagen; zum Zurücktitriren derselben diente verdünnte Ammoniaklauge; 1 ccm. der letzteren entsprach einer Stickstoffmenge von 0,001427 gr.<sup>1)</sup> Für die Analyse wurden alle Substanzen in lufttrockenem Zustande abgewogen; zur Stickstoffbestimmung diente in der Regel je 1 gr. lufttrockene Substanz. Im Folgenden gebe ich nur die dem verwendeten Quantum entsprechende Trockensubstanzmenge an.

		Gesamtstickstoff.			
		Angewendet.		Gefunden.	
Lupinus luteus	Entschälte	{ 0,9353 gr.	0,087332 gr.	N = 61,2 ccm. Lauge = 9,34% N.	
	Samen	{ 0,9353 „	0,087332 „	= 61,2 „	= 9,34 „
	6 tägige	{ 0,9525 „	0,09304 „	= 65,2 „	= 9,77 „
	Keimpfl.	{ 0,9525 „	0,09420 „	= 66,0 „	= 9,89 „
	15 tägige	{ 0,9405 „	0,11416 „	= 80,0 „	= 12,11 „
	Keimpfl.	{ 0,9405 „	0,1134 „	= 79,5 „	= 12,06 „
	24 tägige	{ 0,9492 „	0,10816 „	= 75,8 „	= 11,39 „
	Keimpfl.	{ 0,9492 „	0,10703 „	= 75,0 „	= 11,28 „
	14 tägige	{ 0,9395 „	0,089472 „	= 62,7 „	= 9,52 „
	Keimpfl.	{ 0,9395 „	0,09047 „	= 63,4 „	= 9,63 „
Lupinus angusti- folius	22 tägige	{ 0,9310 „	0,09004 „	= 63,1 „	= 9,67 „
	Keimpfl.	{ 0,9310 „	0,091328 „	= 64,0 „	= 9,81 „
	Samen	{ 0,8945 „	0,01727 „	= 12,1 „	= 1,93 „
Zea Mais A		{ 0,8945 „	0,01755 „	= 12,3 „	= 1,96 „
	4—5 täg.	{ 0,9366 „	0,01798 „	= 12,6 „	= 1,92 „
	Keimpfl.	{ 0,9366 „	0,01776 „	= 12,4 „	= 1,89 „
	9 tägige	{ 0,9410 „	0,01656 „	= 11,6 „	= 1,76 „
	Keimpfl.	{ 0,9410 „	0,01713 „	= 12,0 „	= 1,82 „
	12 tägige	{ 0,9365 „	0,01984 „	= 13,9 „	= 2,12 „
	Keimpfl.	{ 0,9365 „	0,01827 „	= 12,8 „	= 1,95 „
	16 tägige	{ 0,9406 „	0,01784 „	= 12,5 „	= 1,90 „
Keimpfl.	{ 0,9406 „	0,01927 „	= 13,5 „	= 2,05 „	

1) Bei einigen Bestimmungen wurde für die Berechnung der gefundenen Stickstoffmenge ein Liter der Ammoniaklauge verwendet, welcher von der oben angegebenen Zahl in der letzten Decimale abweicht.

Keimpflanzen von <i>Zea Mais</i>	B	Samen	{ 0,9223 gr. 0,01855	gr. N = 13,0	ccm. Lauge = 2,01%	N.	
		15 tägige	{ 0,9191 „ 0,01598	„ = 11,2	„	„ = 1,74	„
Cucurbita	pepo	Entschälte	{ 1,6810 „ 0,10274	„ = 72,0	„	„ = 6,11	„
		Samen	{ 1,6810 „ 0,10282	„ = 72,1	„	„ = 6,12	„
Keimpflanzen von <i>Ricinus communis</i>	I. Periode	15 tägige	{ 0,9258 „ 0,06664	„ = 46,7	„	„ = 7,19	„
		Keimpfl.	{ 0,9267 „ 0,06721	„ = 47,1	„	„ = 7,25	„
Keimpflanzen von <i>Ricinus communis</i>	II. Periode	Endosperm	{ 0,9482 „ 0,02982	„ = 21,0	„	„ = 3,14	„
		Hypocotyl. Glied und Wurzel	{ 0,9482 „ 0,02982	„ = 21,0	„	„ = 3,14	„
Keimpfl. v. <i>Abies pectinata</i>		Hypocotyl. Glied und Wurzel	{ 0,9162 „ 0,029962	„ = 21,1	„	„ = 3,27	„
		Hypocotyl. Glied und Wurzel	{ 0,9162 „ 0,029962	„ = 21,1	„	„ = 3,27	„
Keimpfl. v. <i>Abies pectinata</i>		Hypocotyl. Glied und Wurzel	{ 0,8875 „ 0,040526	„ = 28,4	„	„ = 4,57	„
		Hypocotyl. Glied und Wurzel	{ 0,8875 „ 0,039671	„ = 27,8	„	„ = 4,47	„
Keimpfl. v. <i>Abies pectinata</i>		Keimpfl. v. <i>Abies pectinata</i>	{ 0,8965 „ 0,04567	„ = 32,0	„	„ = 5,09	„
		Keimpfl. v. <i>Abies pectinata</i>	{ 0,8965 „ 0,04510	„ = 31,6	„	„ = 5,03	„

Stickstoff in Proteinstoffen.

Angewendet.

Gefunden.

Keimpflanzen von <i>Lupinus luteus</i>	Lupinus luteus	Entschälte	{ 0,9353 gr. 0,08134	gr. N = 57,0	ccm. Lauge = 8,70%	N.	
		Samen	{ 0,9353 „ 0,08177	„ = 57,3	„	„ = 8,74	„
Keimpflanzen von <i>Lupinus angustifolius</i>	Lupinus angustifolius	6 tägige	{ 0,9525 „ 0,05337	„ = 38,8	„	„ = 5,81	„
		Keimpfl.	{ 0,9525 „ 0,054654	„ = 38,3	„	„ = 5,74	„
Keimpflanzen von <i>Lupinus angustifolius</i>	Lupinus angustifolius	15 tägige	{ 0,9405 „ 0,02141	„ = 15,0	„	„ = 2,28	„
		Keimpfl.	{ 0,9405 „ 0,020267	„ = 14,2	„	„ = 2,15	„
Keimpflanzen von <i>Lupinus angustifolius</i>	Lupinus angustifolius	24 tägige	{ 0,9492 „ 0,021114	„ = 14,8	„	„ = 2,22	„
		Keimpfl.	{ 0,9492 „ 0,01969	„ = 13,8	„	„ = 2,08	„
Keimpflanzen von <i>Lupinus angustifolius</i>	Lupinus angustifolius	14 tägige	{ 0,9395 „ 0,01884	„ = 13,2	„	„ = 2,00	„
		Keimpfl.	{ 0,9395 „ 0,01855	„ = 13,0	„	„ = 1,97	„
Keimpflanzen von <i>Lupinus angustifolius</i>	Lupinus angustifolius	22 tägige	{ 0,9310 „ 0,01798	„ = 12,6	„	„ = 1,93	„
		Keimpfl.	{ 0,9310 „ 0,017124	„ = 12,0	„	„ = 1,85	„
Keimpflanzen von <i>Zea Mais</i>	Zea Mais A	Samen	{ 0,8945 „ 0,01741	„ = 12,2	„	„ = 1,94	„
		4—5 täg.	{ 0,8945 „ 0,01684	„ = 11,8	„	„ = 1,88	„
Keimpflanzen von <i>Zea Mais</i>	Zea Mais A	Keimpfl.	{ 0,9366 „ 0,01741	„ = 12,2	„	„ = 1,86	„
		Keimpfl.	{ 0,9366 „ 0,01684	„ = 11,8	„	„ = 1,79	„
Keimpflanzen von <i>Zea Mais</i>	Zea Mais A	9 tägige	{ 0,9410 „ 0,01556	„ = 10,9	„	„ = 1,65	„
		Keimpfl.	{ 0,9410 „ 0,01527	„ = 11,7	„	„ = 1,62	„
Keimpflanzen von <i>Zea Mais</i>	Zea Mais A	12 tägige	{ 0,9365 „ 0,01684	„ = 11,8	„	„ = 1,80	„
		Keimpfl.	{ 0,9365 „ 0,01570	„ = 11,0	„	„ = 1,67	„
Keimpflanzen von <i>Zea Mais</i>	Zea Mais A	16 tägige	{ 0,9406 „ 0,01213	„ = 8,5	„	„ = 1,29	„
		Keimpfl.	{ 0,9406 „ 0,01270	„ = 8,9	„	„ = 1,35	„
Keimpflanzen von <i>Zea Mais</i>	B	Samen	{ 0,9223 „ 0,01750	„ = 12,3	„	„ = 1,89	„
		15 tägige	{ 0,9223 „ 0,01840	„ = 12,9	„	„ = 1,99	„
Keimpflanzen von <i>Zea Mais</i>	B	Keimpfl.	{ 0,9191 „ 0,01598	„ = 11,2	„	„ = 1,74	„
		Keimpfl.	{ 0,9191 „ 0,01555	„ = 10,9	„	„ = 1,69	„

Keimpflanzen von <i>Ricinus communis</i>	Cucurbita pepo	Entschälte	1,6810 gr. 0,09989	gr. N = 70,0	ccm. Lauge = 5,94%	N.	
			1,6810 „ 0,10032	„ = 70,3	„ „ = 5,97	„	
	I. Periode	Samen	1,6810	„ 0,100604	„ = 70,5	„ „ = 5,98	„
			15 tägige	0,9258	„ 0,04723	„ = 33,1	„ „ = 5,07
	II. Periode	Keimpfl.	0,9258	„ 0,04666	„ = 32,7	„ „ = 5,04	„
			Endosperm	0,9482	„ 0,01562	„ = 11,0	„ „ = 1,65
	Hypocotyl. Glied und Wurzel	0,9482		„ 0,01633	„ = 11,5	„ „ = 1,72	„
		Hypocotyl. Glied und Wurzel	0,9162	„ 0,0142	„ = 10,0	„ „ = 1,55	„
	Keimpfl. v. <i>Abies pectinata</i>		0,9162	„ 0,01349	„ = 9,5	„ „ = 1,47	„
		0,8875	„ 0,019978	„ = 14,0	„ „ = 2,25	„	
0,8875	„ 0,0188364	„ = 13,2	„ „ = 2,12	„			
0,8965	„ 0,02940	„ = 20,6	„ „ = 3,28	„			
0,8965	„ 0,02997	„ = 21,0	„ „ = 3,34	„			

Stickstoff im Phosphorwolframsäure-Niederschlag.

		Angewendet.	Gefunden.					
Lupinus luteus.	Keimpflanzen. I. Periode.	Entschälte	0,9353 gr. 0,00428	gr. N = 3,0	ccm. Lauge = 0,46%	N.		
			0,9353 „ 0,00428	„ = 3,0	„ „ = 0,46	„		
			6 tägige	0,9525	„ 0,008562	„ = 6,0	„ „ = 0,90	„
			Keimpfl.	0,9525	„ 0,00999	„ = 7,0	„ „ = 1,05	„
			15 tägige	0,9405	„ 0,01598	„ = 11,2	„ „ = 1,70	„
			Keimpfl.	0,9405	„ 0,01398	„ = 9,8	„ „ = 1,47	„
			24 tägige	0,9492	„ 0,01170	„ = 8,2	„ „ = 1,23	„
			Keimpfl.	1,1780	„ 0,014413	„ = 10,1	„ „ = 1,22	„
Endosperm von <i>Ricinus-Keimpflanzen</i> . I. Periode.	1,1830	„ 0,015270	„ = 10,7	„ „ = 1,29	„			
	0,9482	„ 0,04828	„ = 3,4	„ „ = 0,50	„			
0,9482	„ 0,05680	„ = 4,0	„ „ = 0,59	„				

Asparaginbestimmungen.

a) Ammoniakgehalt der mit HCl erhitzten Extracte.

		Angewendet	N in Ammoniakform	
Lupinus luteus	Keimpflanzen.	6 tägige	4,067 gr. Trockens., 50 ccm. d. Extr. gaben	0,006564 gr. = 4,6 ccm. Lauge
		Keimpfl.	Extract = 202,5 ccm. 50 „ „ „	0,006706 „ = 4,7 „ „
		15 tägige	3,060 gr. Trockens., 50 „ „ „	0,02069 „ = 14,5 „ „
		Keimpfl.	Extract = 200 ccm. 50 „ „ „	0,02098 „ = 14,7 „ „
		24 tägige	3,131 gr. Trockens., 50 „ „ „	0,02640 „ = 18,5 „ „
		Keimpfl.	Extract = 200 ccm. 50 „ „ „	0,02626 „ = 18,4 „ „
Lupinus angustifolius	Keimpflanzen.	desgl.	3,397 gr. Trockens., 50 „ „ „	0,022832 „ = 16,0 „ „
		Keimpfl.	Extract = 250 ccm. 50 „ „ „	0,022975 „ = 16,1 „ „
		14 tägige	3,251 gr. Trockens., 100 „ „ „	0,032964 „ = 23,1 „ „
		Keimpfl.	Extract = 250 ccm. 100 „ „ „	0,032964 „ = 23,1 „ „
		22 tägige	3,091 gr. Trockens., 50 „ „ „	0,020121 „ = 14,1 „ „
		Keimpfl.	Extract = 250 ccm. 50 „ „ „	0,020263 „ = 14,2 „ „

b) Ammoniakgehalt der nicht mit HCl erhitzten Extracte.

		Angewendet	N in Ammoniakform
Lupinus luteus	6 tägige Keimpfl.	{ 2,060 gr. Trockens., Extract = 100 ccm. }	80 ccm. des Extr. gaben 0,00086 gr. = 0,6 ccm. Lauge
	15 tägige Keimpfl.	{ 1,922 gr. Trockens., Extract = 100 ccm. }	80 " " " 0,001855 " = 1,3 " "
	24 tägige Keimpfl.	{ 1,863 gr. Trockens., Extract = 100 ccm. }	80 " " " 0,004138 " = 2,9 " "
	14 tägige Keimpfl.	{ 66,0 gr. frische Pflz. = 3,689 gr. Trockens., Extract = 200 ccm. }	100 " " " 0,00114 " = 0,8 " "
Lupinus angustifolius	22 tägige Keimpfl.	{ 114,2 gr. frische Pflz. = 6,733 gr. Trockens., Extract = 350 ccm. }	a. 125 " " " 0,0010 " = 0,7 " "
			b. 125 " " " 0,0010 " = 0,7 " "

**Bestimmung der aus den Extracten durch Krystallisation gewinnbaren Asparaginmenge.**

Eine abgewogene Menge der fein zerriebenen Keimpflanzen wurde unter Zusatz von etwas Ca CO<sub>3</sub> mit heissem Wasser extrahirt, der Extract zum dünnen Syrup eingengt (während des Eindunstens wurde noch einmal filtrirt). Die nach 1—2 Tagen aus dem Syrup ausgeschiedenen Asparaginkrystalle wurden nach dem Abgiessen der Mutterlauge mit kaltem Wasser und verdünntem Weingeist gewaschen, dann bei 105° getrocknet und gewogen. Die Mutterlauge und die Waschflüssigkeit wurden zum Syrup eingedunstet. Aus letzterem schied sich noch etwas Asparagin aus, welches durch Aufstreichen auf eine Thonplatte von der dickflüssigen Mutterlauge befreit, sodann aus Wasser umkrystallisirt und hierauf mit der zuerst erhaltenen Krystallmenge vereinigt und gewogen wurde. Vom Gesamtgewicht wurde die darin enthaltene, sehr geringe Aschenmenge in Abzug gebracht.

Lupinus luteus	4,807 gr. Trockens. der 15tägig. Keimpfl. lieferten 0,995 gr. = 20,7 % wasserfreies Asparagin.
	4,586 " " " 24 " Keimpfl. lieferten 1,186 gr. = 25,9 % wasserfreies Asparagin.

**Bestimmung des Glutamins in Keimpflanzen von Ricinus communis.**

		Angewendet	N in Ammoniakform
Endosperm	{ 4,741 gr. Trockens., Extract = 200 ccm. }	100 ccm. d. Extr. gaben 0,002854 gr. = 2,0 ccm. Lauge	
I. Periode			
Hypocotyl-Glied u.	{ 4,092 gr. Trockens., Extract = 200 ccm. }	75 " " " 0,00628 " = 4,4 " "	
Wurzel, I. Periode	{ 4,268 gr. Trockens., Extract = 250 ccm. }	100 " " " 0,009561 " = 6,7 " "	
desgl.			
II. Periode		100 " " " 0,009846 " = 6,9 " "	

Bei der Berechnung sind hier die kleinen Ammoniakmengen, die sich schon vor dem Kochen mit Salzsäure in den Extracten vorfanden, nicht in Abzug gebracht worden.

Zu erwähnen ist noch, dass den in Sandkultur gewonnenen Keimpflanzen etwas Sand anhaftete, der durch Abwaschen mit Wasser sich nicht völlig entfernen liess. Daher wurde in der Asche der Sandgehalt bestimmt; derselbe betrug jedoch meistens nur einige Zehntel Procent der Pflanzentrockensubstanz. Auf Grund dieser Bestimmungen sind dann die für den Gehalt der Pflänzchen an Stickstoff etc. gefundenen Zahlen auf «sandfreie Substanz» umgerechnet worden.

Betreffs der analytischen Belege zu dem grössten Theil der an den Keimpflanzen von *Lupinus angustifolius* ausgeführten Bestimmungen ist auf die früher citirte Abhandlung von M. Merlis zu verweisen.