

Über die Veränderungen des sogenannten bleischwärenden Schwefels im Verhältnis zum Gesamtschwefel bei der Keimung von Lupinen (*Lupinus angustifolius*).

Von
H. Sertz.

(Mitteilung aus dem chemischen Laboratorium der Kgl. Sächs. Forstakademie Tharandt.
(Der Redaktion zugegangen am 20. April 1903.)

In die komplizierte Zusammensetzung der Eiweißkörper gewähren bis jetzt eine Reihe aus denselben nach verschiedenen Methoden erhaltener Spaltungsprodukte einigen Einblick. Vor allem gilt dies für eine Anzahl stickstoff- und schwefelhaltiger Abbauprodukte und erscheinen von beiden letztere wieder als besonders geeignet, Rückschlüsse auf das Eiweißmolekül zu ziehen, da der Schwefel das in kleinster Menge in diesem enthaltene Element darstellt. Naturgemäß war im weiteren die Frage nach der Bindungsweise des Schwefels im Eiweiß eine sehr wichtige und gab Anlaß zu einer größeren Reihe diesbezüglicher Versuche. Zur Feststellung der Anzahl der Schwefelatome im Eiweißmolekül ist es einerseits erforderlich, die verschiedenen Formen, in denen sich der Schwefel daselbst vorfindet, wie andererseits deren gegenseitiges Verhältnis zu kennen.

Auf die Bedeutung des Schwefels im Eiweißmolekül wies zuerst Mulder¹⁾ hin. Er vertrat die Anschauung, daß der gesamte Schwefel des Eiweißes sich durch Kochen mit Alkali abspalten ließe. Fleitmann²⁾ indes bewies als erster, daß

¹⁾ Gmelin-Kraut's Handbuch der organischen Chemie, 7. Bd., 1870, S. 2198—2208.

²⁾ Liebig's Annalen, Bd. 61, J. 1847, S. 121—125 und Bd. 66, J. 1848, S. 380 u. 381.

durch noch so langes Kochen nur ein Teil des Gesamtschwefels als Schwefelmetall abspaltbar ist. Im Hinblick darauf nahm er im Eiweißmolekül zwei verschiedene Formen des Schwefels an, deren Mengeverhältnisse er bestimmte. Durch spätere anderweitige Untersuchungen erfuhren die Angaben Fleitmanns wiederholte Bestätigung, indes nur in qualitativem Sinne, indem die Angaben über die Mengeverhältnisse beider Schwefelformen häufig sehr weit auseinandergehen. Es mag dieser Umstand aber wohl in der verschiedenen Art bzw. Reinheit des Analysenmaterials wie auch in den Mängeln der einzelnen Untersuchungsmethoden seine Erklärung finden. Was den letztgenannten Faktor anlangt, so war es gleichfalls Fleitmann, der auf die nachträgliche Oxydation des beim Kochen mit Alkali als Schwefelmetall abspaltbaren Schwefels durch den Sauerstoff der Luft hinwies. Um diese Fehlerquelle auszuschließen, hat nun Fr. N. Schulz¹⁾ die Bestimmung des bleischwärenden Schwefels unter Zusatz schwefelfreien geraspelten Zinks als Reduktionsmittel vorgenommen und gestattet seine sogenannte Zinkmethode auf Grund verschiedener Versuche, mit hinreichender Genauigkeit eine quantitative Bestimmung des mit Alkali abspaltbaren Schwefels auszuführen, und zwar erhielt er z. B. aus Thioessigsäure und Sulfoharnstoff den gesamten Schwefel, aus Natriumthiosulfat, Cystin und Cystein die Hälfte des Gesamtschwefels. Bei krystallisiertem Serumalbumin ergab sich ein Verhältnis von Gesamtschwefel zu abspaltbarem Schwefel genau wie 3:2.

Schulz bewies somit durch seine Versuche das Vorhandensein zweier, verschiedenartig gebundener Schwefelformen im Eiweißmolekül und unterscheidet einen durch Kochen mit Alkali abspaltbaren Teil (sogenannten «bleischwärenden Schwefel»), während er für den nicht abspaltbaren Teil die Bezeichnung: «nicht durch Alkali abspaltbarer Schwefel» an Stelle der unzutreffenden Benennung: «oxydierter Schwefel» aufrecht hält.

Die von Drechsel ausgesprochene Vermutung, wonach ein Teil des Schwefels im Eiweiß als vierwertiger Schwefel,

1) Diese Zeitschrift, Bd. XXV, 1898, Heft 1 u. 2, S. 16 ff.

etwa in Form der Thetinkörper enthalten sei, widerspricht den Schulzschen Versuchen nicht. Anscheinend gelangt dieser Schwefel als Alkylsulfid zur Abspaltung und würde derselbe beim Kochen mit Alkali nicht bleischwärend wirken.

Nach den Mitteilungen von H. Mörner¹⁾ ist bei reinem Cystin = $\frac{3}{4}$ des Gesamtschwefels als bleischwärender Schwefel vorhanden und befindet sich vermutlich die Hauptmasse des bleischwärenden Schwefels der Eiweißkörper in diesen in Cystinbindung. Wie bereits vorstehend dargelegt, wurde die Tatsache, daß nur ein Teil des Schwefels der Protein-substanzen als bleischwärender Schwefel abspaltbar ist, darauf zurückgeführt, daß sich der Schwefel in denselben in zweierlei Bindungsformen befindet. Da nun aber auch aus dem Cystin nur $\frac{3}{4}$ (nach Schulz nur die Hälfte) des Gesamtschwefels als bleischwärender Schwefel erhalten werden kann, so muß auch in der Cystin gebenden Gruppe des Eiweißmoleküls, die fast den gesamten bleischwärenden Schwefel der Proteinstoffe enthält, noch festgebundener Schwefel vorhanden sein. Man hält es für wahrscheinlich, daß u. a. im Serumalbumin, Globulin etc. fast sämtlicher Schwefel in der Cystin gebenden Gruppe, also in einer Bindungsform enthalten ist. Für das krystallisierte Serumalbumin fand er, übereinstimmend mit den Untersuchungen von Schulz, das Verhältnis von Gesamtschwefel zu bleischwärendem Schwefel wie 3 : 2.

Von einigem Interesse erschien nun für den Verfasser nachstehender kleinen Versuchsreihe die Frage, ob sich vielleicht bei der Keimung von Samen, wobei bekanntlich ein rascher und energischer Zerfall der Eiweißstoffe eintritt und eine Anzahl stickstoffhaltiger Abbau- oder Zwischenprodukte (u. a. z. B. Asparagin) aufgefunden wurden, mit Hilfe der Schulzschen Zinkmethode etwas Näheres über das Schicksal des Schwefels feststellen ließe. Es wurde demgemäß die allgemeine Frage: In welcher Weise wird der Schwefel beim Abbau des Eiweißes in keimenden Pflanzen verändert? zunächst dahin gestellt:

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXIV, S. 207—338. — (Stockholm, Medizin.-chem. Laborat. d. Karolin. Instituts.)

1. Nimmt die Menge des bleischwärenden Schwefels während der Keimung ab?

2. Wenn ja, in welchem Grade?

E. Schulze¹⁾ fand, daß bei der etiolierten Keimung der gelben Lupine der Gehalt der Keimlinge an Schwefelsäure sich auf Kosten der organischen schwefelhaltigen Stoffe vermehrte.

So ergaben:

Ungekeimte Samen . . . 0,385 % (mit warmem Wasser extrahierbarer) SO_2
in etiolierten Keimpflanzen

nach 12 tägiger Keimung

hatten sich 1,510 % SO_2

in etiolierten Keimpflanzen

nach 15 tägiger Keimung 1,703 % SO_2 gebildet,

die ursprüngliche Schwefelsäuremenge erschien demnach mehr als vierfach.

Auf Grund eingehendster Versuche nahm er mit größter Wahrscheinlichkeit an, daß sich die Schwefelsäure aus dem Schwefel der zersetzten Eiweißstoffe gebildet hatte. Er ermittelte die Zusammensetzung der Lupinensamen betreffs Schwefelgehalt, wie folgt:

Gesamtschwefelgehalt 1,028 % S

In Form von Conglutin (bezw.

Conglutin und sehr kleinen

Mengen Albumin) 0,496 % S (= 48,25 % des Gesamt-S.)

In Form von Sulfaten : 0,154 % S (= 14,98 % » » »)

In Form von schwefelhaltigen Ver-

bindungen unbekannter Art . 0,378 % S (= 36,77 % » » »)

Da der Gehalt an Albumin in Samen und Keimpflanzen ziemlich der gleiche war, so erschien ferner die Annahme, daß nur das Conglutin zur Zersetzung gelangte, berechtigt.

Für das Conglutin der gelben Lupine wurde nun durch Ritthausen ein Schwefelgehalt von 1,1 % S im Mittel (bezw. auch 0,91 %), für das der blauen Lupine (*angustifolius*) zu 0,45 % ermittelt: das Conglutin der blauen Lupine enthielt demnach etwa nur die Hälfte (bezw. noch etwas weniger) des Schwefels im Vergleich zur gelben.

¹⁾ Landwirtschaftliche Jahrbücher, J. 1876, S. 821 ff. — Landwirtschaftliche Versuchsstationen, Bd. 19, 1876, S. 172.

N. Schulz¹⁾ gibt für das Conglutin der gelben Lupine 0,52%, für das der blauen 0,32% Schwefel an. Obwohl nun einerseits der Schwefelgehalt des zersetzten Conglutins vollständig ausreichte, bezw. der neugebildeten Schwefelsäure entsprach, so erschien doch andererseits die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die schwefelhaltigen Verbindungen unbekannter Art das Material hierzu geliefert hatten, entweder teilweise oder ganz, und zwar umsomehr, als die in ihnen enthaltene Schwefelmenge ebenfalls zu genannter Umwandlung hinreicht. Es ließ sich also nicht der sichere Beweis dafür erbringen, daß die während der Keimung gebildete Schwefelsäure aus dem Schwefel der zersetzten Eiweißkörper entstanden ist. Schulze fügt diesem hinzu, daß für letztere Annahme (der Entstehung der Schwefelsäure aus dem Schwefel des zersetzten Eiweißes) noch der Umstand spricht, daß der sichere Beweis für den Zerfall der Eiweißstoffe während der Keimung vorliegt, während wir über die Zersetzung der anderen schwefelhaltigen Lupinenbestandteile nichts wissen, ferner die Tatsache, daß zwischen der wirklich gebildeten Schwefelsäure und der aus dem Schwefel des Conglutins berechneten Menge eine annähernde Übereinstimmung besteht.

Verfasser dieses führte die Versuche, deren Ergebnisse in nachstehender Tabelle zum Ausdruck gelangen, in dreifacher Reihe: je zwei Proben mit, eine Probe ohne Samenschalen zur Untersuchung verwendend, in der Weise aus, daß zunächst ungekeimte Samen, hierauf solche am 4., 7., 9., 11., 15. und 18. Keimtage der Analyse unterworfen wurden. Die Keimung erfolgte etioliert, ohne Vorkeimung oder Vorquellung. Als Keimbett diente Seesand, dem zuvor durch wiederholte Behandlung mit Salzsäure etwa vorhandene sehr geringe Mengen schwefelsaurer Salze entzogen worden waren. Die fortlaufende Untersuchung des zu den einzelnen Keimversuchen verwendeten Seesandes ergab stets übereinstimmend, daß derselbe auch nach Abschluß des jeweiligen Keimversuches keine weiter in Betracht zu ziehenden Mengen Schwefelsäure enthielt.

¹⁾ Näheres siehe: Agrikulturchem. Centralbl. 1899, Heft 3, S. 167.

Behufs Gewinnung entsprechender Mittelproben für die einzelnen Keimtage (worin bereits eine nicht zu geringe Schwierigkeit lag) wurden zunächst die nicht oder doch nur sehr mangelhaft gekeimten Samen ausgeschlossen, der Rest der Keimlinge durch rasches Abspülen mit destilliertem Wasser auf einem Drahtnetz von anhaftendem Sand befreit und zwischen dicken Lagen von Filtrierpapier durch leichtes und vorsichtiges Andrücken getrocknet.

Sodann entnahm man je eine Probe zur Bestimmung des Gesamtschwefels, eine weitere für den bleischwärenden Schwefel und eine dritte zur Trockenverlustbestimmung (bei 105°) für beide vorhergehende. Eine vierte Probe diente nach dem Trocknen bei 105° zur Ermittlung des Gesamtstickstoffs.

Die unter Gesamt- und bleischwärender Schwefel angegebenen Zahlen können somit, da beide Proben stets von angenähert gleichem Wassergehalt waren, auch direkt in Proportion gesetzt werden.

Der Gesamtschwefel wurde nach der Liebigschen Methode ermittelt, der bleischwärende Schwefel nach der eingangs erwähnten Schulzschen Zinkmethode, anlehnd an das dort beschriebene Verfahren von Fleitmann. Das Kochen wurde jedesmal 10 Stunden fortgesetzt; nach dem Übersäuern mit Essigsäure, Filtrieren und Auswaschen wurden Rückstand und Filter mit Soda und Salpeter geschmolzen und zwar erfolgte die Schmelze in Schalen aus Eisen, da sich dieses Material (worauf in einer kleinen Mitteilung in der Chemikerzeitung noch besonders hingewiesen werden soll) für vorgenannten Zweck u. a. ganz besonders eignet. Durch vorhergehende blinde Schmelze erfolgte die Feststellung, daß die bei der Analyse zur Verwendung gelangten Eisenschalen zwar sehr geringe Mengen Schwefels abgaben, diese indes bei weitem zu gering waren, um einen erheblicheren Fehler bedingen zu können, wobei ferner noch dadurch ein gewisser Ausgleich stattfindet, daß wohl stets angenähert der gleiche geringe Fehler bei den einzelnen Bestimmungen angenommen werden kann. Schalen aus chemisch reinem bzw. nahezu chemisch reinem Eisen waren zur Zeit der Durchführung der Versuche leider nicht erhältlich.

Der Substanzverlust der Samen während der Keimung wurde wohl in Berücksichtigung gezogen, indes da nur das Verhältnis von Gesamtschwefel zu bleischwärendem in gleichem Ausgangsmaterial in Betracht kam, in der Tabelle nicht weiter aufgeführt.

Die Gesamtstickstoffbestimmungen (nach Kjeldahl) erfolgten, um zugleich mit einen Anhaltspunkt für den normalen Verlauf der Keimung zu haben.

Schimmelung der Keimpflanzen wurde nur in einem Falle und zwar in stärkerem Maße (9. Tag, Probe b) beobachtet und demgemäß dieselbe von der Analyse ausgeschlossen.

Von Bedeutung erschien ferner die Beantwortung der Frage, ob in Lupinen derselben (wie vorliegender) Spezies (*angustifolius*), indes von verschiedener Herkunft, wesentliche Verschiedenheiten im Gesamtschwefelgehalt bestehen (was eigentlich zu erwarten ist), und vor allem, ob wesentliche Schwankungen im Verhältnis bleischwärender Schwefel zu Gesamtschwefel zutage treten würden. Nach dieser Richtung hin wurden zwei weitere Lupinenproben in ungekeimtem Zustande untersucht und sind die dabei erhaltenen Resultate wie die nachstehend des näheren erörterten Versuche der unter analytischen Belegen aufgeführten Tabelle angereiht. Zur Beurteilung wie Bewertung der aus vorliegendem Versuche gewonnenen Ergebnisse erschien es ferner angezeigt, eine Bestimmung des Conglutins im verwendeten Lupinenmaterial vorzunehmen, sowie im erhaltenen Conglutin das Verhältnis von bleischwärendem zu Gesamtschwefel wiederum festzulegen.

Die Darstellung wie Bestimmung des Conglutins, letztere indes nur in möglichst angenäherter Weise, erfolgte nach Ritthausen.

Eine Betrachtung der in der Tabelle zusammengestellten, wie auch der nachfolgenden Zahlen ergibt nun folgendes:

Der Stickstoffgehalt der Samen bzw. Keimpflanzen blieb während der ganzen Keimung angenähert derselbe, mit ein Zeichen für den normalen Keimverlauf.

Die ungekeimten Samen mit Schalen zeigten einen Gesamtschwefelsäuregehalt von 1,027 %, ohne Schalen einen

solchen von 1,26 %; der bleischwärende Schwefel betrug im ersteren Falle 60,82 %, im letzteren 64,12 % des Gesamtschwefels.

Wie die der Tabelle angefügten Zahlen besagen, scheint das Verhältnis von bleischwärendem zu Gesamtschwefel bei Lupinensamen derselben Spezies, indes von verschiedener Provenienz, einigen nicht unerheblichen Schwankungen unterworfen zu sein.

Die zu vorliegenden Versuchen verwendeten Lupinen enthielten (im entschälten Zustande) ca. 33,7 % Conglutin. Das Conglutin wies einen Schwefelsäuregehalt von 1,55 % auf, wovon 68,3 % auf bleischwärenden Schwefel entfielen.

Wie aus Tabelle ersichtlich, ergaben:

8,710 g entschälte Lupinen = 0,3200 g BaSO_4 (= 1,26 % SO_3).
In obigen 8,710 g Lupinen sind 2,9354 g Conglutin enthalten.

Letzteres weist einen Gesamtschwefelsäuregehalt von 1,545 % auf, lieferte also zu obigen 0,3200 g BaSO_4 = 0,1322 g BaSO_4 = 41,3 % der Gesamtschwefelsäure.

Es verbleiben somit für 5,7746 g der übrigen schwefelhaltigen Verbindungen = 0,1878 g BaSO_4 entsprechend 58,7 % der gesamten Schwefelsäure.

Ferner lieferten:

4,9127 g entschälte Lupinen = 0,1158 g BaSO_4 in Form von bleischwärendem Schwefel.

Von genannten 4,9127 g entfallen 1,6556 g auf Conglutin; dieses wiederum enthält ca. 68,3 % bleischwärenden Schwefel, lieferte also zu den angegebenen 0,1158 g BaSO_4 = 0,0330 g BaSO_4 in Form von bleischwärendem Schwefel, entsprechend 28,5 % des gesamten bleischwärenden Schwefels.

Der Rest bzw. die Hauptmenge des bleischwärenden Schwefels (71,5 %) (für 3,2571 g Substanz = 0,0828 g BaSO_4 ergebend) trifft somit auf die übrigen schwefelhaltigen Verbindungen, meist schwefelhaltige organische Verbindungen unbekannter Constitution.

Inwieweit nun diese letzteren, ihre eventuellen Spaltungsprodukte, sowie auch Abbauprodukte der Eiweißkörper am bleischwärenden Schwefel teilnehmen, liegt noch nicht fest und müßte erst eine Reihe weiterer eingehenderer Untersuchungen lehren. Darin lag und liegt aber die Schwierigkeit, bzw. Unmöglichkeit, bestimmte Schlüsse aus vorliegenden Analyseergebnissen auf den Abbau der Eiweißkörper (im besonderen

des Conglutins) zu ziehen; denn obwohl die Gesamtabnahme des bleischwärenden Schwefels nach Ablauf der Keimungsperiode den in Betracht kommenden Prozentgehalt des Conglutins an bleischwärendem Schwefel übertrifft, darf dieser Rückgang nicht ohne weiteres ausschließlich oder hauptsächlich auf Kosten des zersetzten Conglutins gesetzt werden. Es gewinnt aber die Annahme, daß letzteres doch sehr wohl der Fall sein kann bzw. wird, einen um so größeren Grad von Wahrscheinlichkeit, als, wie bereits in den erwähnten Mitteilungen von Schulze dargelegt, über das Schicksal der übrigen schwefelhaltigen organischen Verbindungen während der Keimung nichts Näheres bekannt ist, für den daselbst stattfindenden Zerfall der Eiweißkörper, im besonderen hier des Conglutins, indes sichere Beweise vorliegen.

Wie eine Betrachtung der in nachstehender Tabelle zusammengestellten Resultate ergibt, sank der Prozentgehalt an bleischwärendem Schwefel bis zum 4. Keimtage ziemlich bedeutend, stieg bis zum 7. Tage wieder um ein geringes, um bis zum 9. Tage abermals einen kleinen Rückgang aufzuweisen. Dann erfolgte bis zum 11. Tage gewissermaßen ein Stillstand, um am 15. Tage einem bedeutenden Rückgange Platz zu machen. Der 18. Keimtag zeigte keine wesentliche Veränderung gegenüber seinem Vorgänger.

Bemerkt muß hierbei allerdings werden, daß bei der Schwierigkeit der Erzielung einer richtigen Durchschnittsprobe (gleichmäßig gekeimter Samen), wie im Hinblick auf die verhältnismäßig geringen zu den Analysen verwendeten Substanzmengen Unterschiede innerhalb weniger Prozente wohl erklärlich sind und bei der Beurteilung keinen ausschlaggebenden Faktor bilden können. Ebenso gilt dies von der Berechnung des Gesamtschwefels auf Trockensubstanz, wobei der hohe Wassergehalt der Proben ebenfalls etwas größere Schwankungen bedingt.

Es wäre zu erwarten gewesen, daß die stärkste Abnahme des bleischwärenden Schwefels etwa für den 9. oder 11. Keimtag sich gezeigt hätte, da nach Prianischnikow¹⁾ das

¹⁾ Landwirtschaftl. Versuchsstation, Bd. LII, S. 137, 1900.

Maximum des Eiweißzerfalls für Lupinen etwa am 8. Tage liegt.

Allein es ist einerseits nicht ausgeschlossen, daß die den bleischwärenden Schwefel liefernden Gruppen bereits früher eine Abspaltung bezw. Veränderung erfahren, wie andererseits Umlagerungen bezw. teilweise Rückbildungen möglich sind, was für die beobachtete kleine Zunahme des bleischwärenden Schwefels vom 4. auf den 7., bezw. auch auf den 11. Tag eine Erklärung bieten könnte.

Als Ergebnis aus vorstehender Untersuchung kann demnach nur der Schluß gezogen werden, daß der bleischwärende Schwefel während der Keimung von *Lupinus angustifolius* eine beträchtliche Abnahme erfährt.

Am Ende vorstehender kleinen Versuchsreihe angelangt, fühle ich mich noch Herrn Prof. Siegfried, Leipzig, für seinerzeitige gütige Anregung zu besonderem Danke verpflichtet, den ich hiermit bestens erstatte.

Analytische Belege.

(Siehe Tabelle Seite 334 u. 335.)

Conglutin.

24.0 g entschälte Lupinen = 8.09 g Conglutin = 33.7 %.

1. Gesamtschwefelsäurebestimmung im Conglutin:

2.4684 g Conglutin (Trockensubstanz b. 105°) lieferten 0.1112 g BaSO₄
1.545 % SO₃.

2. Bestimmung des bleischwärenden Schwefels:

3.3812 g Conglutin (Trockensubstanz b. 105°) (umgerechnet) lieferten
0.1040 g BaSO₄ = 1.055 % SO₃.

Bestimmung von Gesamt- und bleischwärendem Schwefel
in *Lupinus angustifolius* verschiedener Provenienz.

(Beide Proben ohne Schalen.)

Probe I: a) Gesamtschwefel:

4.5251 g Trockensubstanz b. 105° ergaben 0.1702 g BaSO₄
= 1.29 % SO₃.

b) Bleischwärender Schwefel:

6.0178 g Trockensubstanz b. 105° (umgerechnet) ergaben
0.1265 g BaSO₄ = 0.72 % SO₃.

Der bleischwärende Schwefel betrug hier ca. 55,8% des Gesamtschwefels.

Probe II: a) Gesamtschwefel:

3.3189 g Trockensubstanz b. 105° ergaben 0.1106 g BaSO₄
= 1,14% SO₂;

b) Bleischwärender Schwefel:

5.1843 g Trockensubstanz b. 105° ergaben 0.0886 g BaSO₄
= 0,588% SO₂.

Im letzteren Falle belief sich der bleischwärende Schwefel auf 51,6% im Vergleiche zum Gesamtschwefel.