

Untersuchungen über den Einfluß von Temperatur, Druck und Erhitzungsdauer auf die saure Hydrolyse von eiweißhaltigen Produkten.

I. Mitteilung.

Die Abspaltung von Amino-N in Abhängigkeit von Druck und Temperatur.

Von

KURT HEINTZE.

Mitteilung aus der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. August 1954.)

Die saure Hydrolyse von eiweißhaltigen Produkten unter Verwendung von Überdruck hat sowohl in der pharmazeutischen als auch in der Nahrungsmittelindustrie für die Herstellung von Eiweißpräparaten und reinen Aminosäuren sowie von Würzen und ähnlichen Produkten immer mehr an Bedeutung gewonnen, weil dadurch neben dem enzymatischen Abbau die biologisch hochwertigsten Hydrolysate bei Ergänzung mit Tryptophan erhalten werden¹. Durch die Anwendung von Überdruck kann die Dauer dieser Hydrolyse, die bei normalem Druck etwa 10—20, bei Temperaturen unter 100° C sogar bis zu 150 Std.² zur Erreichung einer maximalen Abspaltung erfordert, auf einen Bruchteil dieser Zeit herabgesetzt werden, während sich zugleich die Ausbeuten an löslichem Gesamt-Stickstoff sowie an Aminostickstoff in den meisten Fällen noch verbessern.

Auf diese Gründe ist es zurückzuführen, daß sich die Anwendung der Druckhydrolysen für industrielle Zwecke immer mehr verbreitet hat. Trotzdem bestehen noch beträchtliche Unklarheiten darüber, welche Drucke bzw. Temperaturen und Zeiten für die Hydrolysierung der einzelnen Ausgangsmaterialien am günstigsten sind, um die höchsten Ausbeuten, sowohl an Gesamtstickstoff als besonders auch an Aminostickstoff und damit an freien Aminosäuren zu erhalten. Weiterhin wäre noch der Einfluß der verschiedenen Drucke auf die Huminbildung zu berücksichtigen, da nach DIRR und v. SODEN³ sich der Anteil des Humin-N auch als weitgehend abhängig von der Hydrolysendauer erwies.

Die in der Literatur veröffentlichten, meist älteren Arbeiten über die Hydrolysierung von Proteinen unter Druck gehen allgemein von ganz anderen Problemstellungen aus. Am bekanntesten von diesen Veröffentlichungen sind wohl die Untersuchungen von SSADIKOW, ZELINSKY, GAWRILOW u. a.⁴, die sich mit dem Problem der Diketopiperazin- und Anhydridbildung bei Druckhydrolysen von Proteinen beschäftigten. Sie arbeiteten dementsprechend mit sehr verdünnten Säuren und werteten die Ergebnisse nur im Hinblick auf die Bildung von Ringverbindungen aus. Andere Arbeiten von HENRIQUES und GJALDBÄCK⁵ und VAN SLYKE⁶ befaßten sich mit dem Verlauf von Hydrolysen in saurem Medium unter normalem und erhöhtem Druck. VAN SLYKE stellte dabei fest, daß durch Hydrolysierung bei 100 und 150° C bei unterschiedlicher

¹ SAHYUN, M. A.: Amer. J. Digest. Dis. **14**, 230 (1947); ref. in Ber. ges. Physiol. **135**, 350 (1949).

² BIRD, E. I., u. L. I. MINOR: Food Ind. **118**, 216 (1948).

³ DIRR, K., u. O. v. SODEN: Biochem. Z. **309**, 329 (1941).

⁴ SSADIKOW, W. S., u. N. B. ZELINSKY: Biochem. Z. **136**, 241 (1922/23). — GAWRILOW, N. J.: Biochem. Z. **182**, 26 (1927). — SILAJEW, A. B.: Colloid J. (USSR) **4**, 593 (1938); ref. in Chem. Zbl. **1939 II**, 3889.

⁵ HENRIQUES, V., u. J. K. GJALDBÄCK: Hoppe-Seylers Z. **67**, 8 (1910).

⁶ VAN SLYKE, D. D.: J. of Biol. Chem. **12**, 295 (1912); ref. in Chem. Zbl. **1912 II**, 1220 (1912).

Dauer der gleiche Endeffekt, gemessen an der Freisetzung von Aminostickstoff erreicht wird, während HENRIQUES und GJALDBÄCK beobachten konnten, daß bei langer oder hoher Erhitzung eine starke Zerstörung von Aminosäuren eintritt. Weiterhin untersuchten GREENBERG und BURK¹ sowie NASSET und GREENBERG² die Reaktionskinetik von Proteinhydrolysen. Zu diesem Zweck führten sie Hydrolysen unter Rückfluß und im Autoklaven durch und verglichen dabei weiterhin die unterschiedliche hydrolytische Wirkung einzelner Säuren. Da jedoch auch hier die Versuche größtenteils mit sehr verdünnten Säuren durchgeführt wurden, erscheinen die Ergebnisse nicht ohne weiteres auf die gegebene Problemstellung übertragbar. Bei diesen Untersuchungen werden außerdem stets nur bestimmte Druckbereiche herausgegriffen, so daß ein genauer Überblick über die Druckabhängigkeit der Aminostickstoff-Abspaltung nicht erhalten werden kann. Ähnlich verhält es sich mit einer in neuerer Zeit veröffentlichten Arbeit von CRONHEIM³. Bei diesen Versuchen wurde die hier interessierende Seite des Hydrolysenproblems eingehender, wenn auch ebenfalls in anderem Zusammenhang untersucht. Jedoch läßt eine gleichzeitig dabei vorgenommene Veränderung der Hydrolysendauer bei Veränderung des Druckes einen Vergleich unterhalb von 2 Std. nicht zu. Außerdem arbeitete der Verfasser mit Phosphorsäure, so daß erst noch die Beziehungen zwischen der Reaktionskinetik von salzsauren und phosphorsauren Proteinhydrolysen geklärt werden müßten. Eine in letzter Zeit erschienene Veröffentlichung von NAKAJIMA und SKIDA⁴ beschreibt eine Hydrolyse unter sehr hohen Drucken, wobei das Hydrolysierensagens Wasser ist. KARAMBELKAR u. Mitarb.⁵ hydrolysierten Gelatine mit CO₂ unter einem Druck von 50—60 atü und Temperaturen zwischen 150 und 300° C. Ein ähnliches Verfahren wird auch von HALL⁶ beschrieben. Er fand weiterhin für seine Arbeiten eine Hydrolyse mit 16%iger Salzsäure bei 5—6 atü und Temperaturen nicht über 180° C am günstigsten.

Da diese Untersuchungen keine sicheren Rückschlüsse auf das eingangs angeführte spezielle Problem der Druckhydrolysen von eiweißhaltigen Substanzen erlauben, sollte es die Aufgabe der vorliegenden Untersuchungen sein, zunächst rein empirisch festzustellen, bei welchen Drucken und welcher Zeit die verschiedenen eiweißhaltigen Substanzen die besten Ausbeuten an den einzelnen Stickstoff-Fractionen ergeben.

Versuchsteil.

Durchführung der Hydrolyse.

Die Hydrolysen wurden in einem säurefesten Autoklaven von 2 l Rauminhalt durchgeführt. Substanz und Säure befanden sich dabei in einem 250 ml Standkolben, der mit einem lose übergestülpten Becherglas verschlossen war. Um ein Anbrennen bei der Hydrolyse zu vermeiden, wurde der Autoklav zu etwa $\frac{1}{4}$ mit Wasser gefüllt, so daß der Kolben schwamm und den Boden nicht berühren konnte. Als Hydrolysendauer wurde der Zeitraum von der Erreichung des gewünschten Druckes bis zum Abstellen des Brenners gerechnet, also Anheiz- und Abkühldauer unberücksichtigt gelassen. Durch möglichst gleichmäßiges Anheizen gelang es, diese Zeiten bei den einzelnen Hydrolysen weitgehend konstant zu halten. Bei den höheren Drucken waren sie selbstverständlich verlängert, jedoch war der Unterschied nicht allzu groß, da diese Drucke verhältnismäßig schnell durchlaufen werden. Die Abkühlung ging stets gleichmäßig vor sich, und das Öffnen des Autoklaven erfolgte nicht vor Erreichung des Normaldruckes.

Durchführung der Analyse.

Für die Hydrolysen wurde 15%ige Salzsäure verwendet. Diese verhältnismäßig niedrige Konzentration wurde gewählt, um einen zu hohen Kochsalzgehalt nach erfolgter Neutralisierung zu vermeiden, der bei einer Weiterverarbeitung der Hydrolysate störend wirken und bei evtl. Eindicken durch starkes Auskristallisieren zu Verlusten an Stickstoffsubstanz führen kann. Im allgemeinen erwies sich diese Säurekonzentration als völlig ausreichend. Lediglich bei schwer angreifbaren oder cellulosereichen Substanzen wie Hornspäne bzw. Rapsschrot wurde mit 20% iger

¹ GREENBERG, D. M., u. N. F. BURK: J. Amer. Chem. Soc. **49**, 275 (1927).

² NASSET, E. S., u. D. M. GREENBERG: J. Amer. Chem. Soc. **51**, 836 (1929).

³ CRONHEIM, K.: Biochem. Z. **222**, 198 (1930).

⁴ NAKAJIMA, K., u. M. SKIDA: J. Bull. Agric. Chem. Soc. Japan **17**, 295 (1941); ref. in Ber. ges. Physiol. exp. Pharmakol. **128**, 15 (1942).

⁵ KARAMBELKAR, P. V. u. a.: Arch. of Biochem. **26**, 97 (1950).

⁶ HALL, L. A.: Food Technol. **3**, 51 (1949); ref. in Chem. Abstr. **44**, 5024 (1950).

Salzsäure eine etwas bessere Ausbeute erzielt. Schwefelsäure erwies sich in jedem Falle als ungünstiger¹. Das Verhältnis von Substanz zu Säure lag bei 2:5; diese Flüssigkeitsmenge war nötig, da sonst in vielen Fällen die untersuchten Materialien stark quollen, so daß die für Versuchszwecke unbedingt erforderliche gleichmäßige Durchfeuchtung unmöglich wurde.

Die Hydrolysendauer betrug, wenn nicht besonders vermerkt, stets 30 min. Die Temperaturen lagen, den Drucken entsprechend, zwischen 100 und 195° C.

Nach vollständiger Abkühlung wurde der Standkolben herausgenommen, sein Inhalt auf eine Porzellannutsche gebracht und scharf abgesaugt. Die Menge des erhaltenen Filtrats wurde bestimmt und der schwarze Rückstand feucht mit Filter gewogen. Danach erfolgte im Filtrat die Bestimmung der einzelnen Stickstoff-Fraktionen. Bei der ersten Versuchsreihe mit Hefeflocken wurde vor der Analysierung das gesamte Filtrat mit 20% iger Natronlauge neutralisiert, da für die Bestimmung des Amino- und Ammoniak-N neutrale Lösungen erforderlich sind. Später erwies sich dies jedoch als unmöglich, da die übrigen Hydrolysate bereits bei sehr niedrigen p_H -Werten starke Fällungen gaben. Im folgenden wurde das saure Hydrolysat direkt für die verschiedenen Bestimmungen eingewogen und erst dann die einzelnen Proben für die Amino- bzw. Ammoniak-N Analysen neutralisiert.

Die Bestimmung der N-Fraktionen erfolgte nach den bekannten Methoden: Gesamt-N nach KJELDHAL, in der Apparatur von WAGNER und PARNASS², Amino-N mittels der Formoltitration nach SÖRENSEN³ und Ammoniak-N durch Destillation mit Magnesiumoxyd. Die zur Bestimmung des Ammoniaks erforderliche Destillation unter Zusatz von Magnesiumoxyd wurde bei normalem Druck durchgeführt. Vergleichsbestimmungen im Vakuum ergaben keine bemerkenswerten Unterschiede.

Durchführung der Amino-N-Bestimmung.

Über die Anwendbarkeit der Formoltitration nach SÖRENSEN zur Bestimmung der freien Aminogruppen bestehen schon seit ihrer Einführung im Jahre 1908 gewisse Meinungsverschiedenheiten. Verschiedentlich kam die Ansicht zum Ausdruck, daß die erhaltenen Werte oft zu hoch und nicht zu verlässlich seien. Jedoch wurde sie wegen ihrer einfachen Durchführungsweise immer wieder verwendet und leistete, besonders bei Reihenversuchen, bei denen es hauptsächlich auf untereinander vergleichbare Werte ankommt, gute Dienste. In neuerer Zeit konnten LEVY⁴ und DUNN⁵ zeigen, daß bei Einhaltung optimaler Bedingungen in bezug auf Aminosäuren- und Formaldehydkonzentration sehr genaue Werte erhalten werden können (Fehlergrenze $\pm 1\%$ ⁴ bzw. $\pm 0,1\%$ ⁵), besonders bei Verwendung der Wasserstoff- bzw. Glaselektrode zur Bestimmung des Endpunktes. So empfahlen auch kürzlich BERSIN und MAYER⁶ die Formoltitration, um den Verlauf von proteolytischen Reaktionen zu verfolgen. Für die vorliegenden Untersuchungen, bei denen es auf Vergleiche ankam, wurde daher diese Methode zur Bestimmung des Amino-N gewählt. Sie ist schnell und einfach durchführbar im Gegensatz zu anderen Verfahren (nach VAN SLYKE⁷ mit salpetriger Säure oder die Ninhydrinmethoden⁸). Aus technischen Gründen konnte kein Ionometer benützt werden, jedoch wurden auch mit Phenolphthalein als Indicator, unter Verwendung von Vergleichslösungen gut reproduzierbare Ergebnisse erhalten. Bei vergleichenden Bestimmungen mit salpetriger Säure im VAN SLYKESchen Apparat ergaben sich im allgemeinen etwas niedrigere Amino-N-Werte, die jedoch ebenfalls die gleichen Veränderungen wie die durch Formoltitration erhaltenen Werte zeigten. Diese können daher als durchaus zuverlässige Vergleichswerte angesehen werden.

Ergebnisse.

Die Amino-N-Werte der verschiedenen Substanzen steigen nicht (Abb. 1—6), wie zu erwarten gewesen wäre, fortlaufend bis zu einem Höhepunkt an, sondern bilden mehrere Maxima und Minima. Sie zeigen teils durchaus ähnliche, teils untereinander

¹ Vgl. hierzu u. a. H. B. VICKERY: J. of Biol. Chem. **53**, 495 (1922); ref. in Chem. Zbl. **1923 I**, 853. — SSADKOW, W. S., u. N. B. ZELINSKY: Zit. S. 253, Anm. 4 — GAWRILOW, N. J.: Zit. S. 253, Anm. 4. — SILAJEW, A. B.: Zit. S. 253, Anm. 4.

² PARNASS, J. K.: Z. analyt. Chem. **114**, 261 (1938).

³ Handbuch der Lebensmittelchemie. Bd. II/2, S. 617.

⁴ LEVY, M.: J. of Biol. Chem. **105**, 157 (1934); **109**, 365 (1935); **118**, 723 (1937).

⁵ DUNN, M. S.: J. of Biol. Chem. **113**, 359 (1936).

⁶ BERSIN, T., u. H. J. MAYER: Hoppe-Seylers Z. **282**, 21 (1947).

⁷ KLEIN, G.: Handbuch der Pflanzenanalyse. Bd. IV/1, 3. Teil, S. 104. Wien: Springer 1933.

⁸ Handbuch der Lebensmittelchemie. Bd. II/2, S. 624.

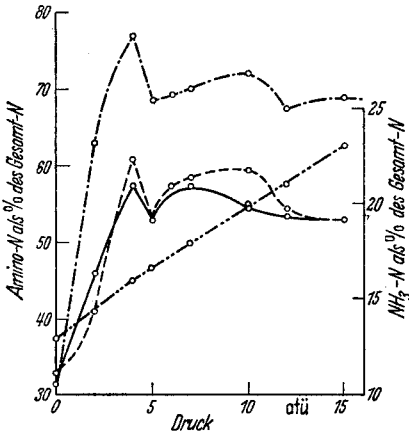


Abb. 1. Die Abspaltung von Amino-N bei der Druckhydrolyse von pflanzlichen Materialien. — Leinschrot, - - - Rapschrot, Mohnschrot, — · — · Ammoniak-N.

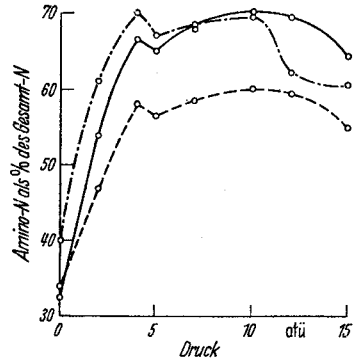


Abb. 2. Die Abspaltung von Amino-N bei der Druckhydrolyse von Casein, Sojamehl und Hefeflocken. - - - Casein, — Sojamehl, Hefeflocken.

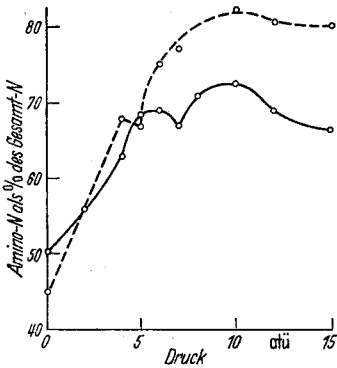


Abb. 3. Die Abspaltung von Amino-N bei der Druckhydrolyse von tierischen Proteinen. — Tierkörpermehl, - - - Fischeiweiß.

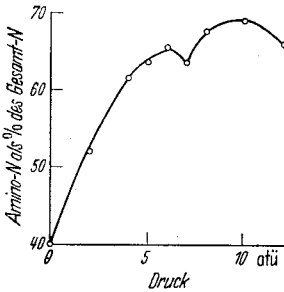


Abb. 5. Die Abspaltung von Amino-N bei der Druckhydrolyse von Gelatine.

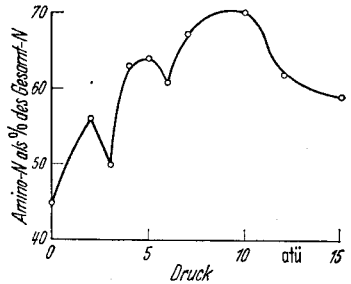


Abb. 4. Die Abspaltung von Amino-N bei der Druckhydrolyse von Hornspänen.

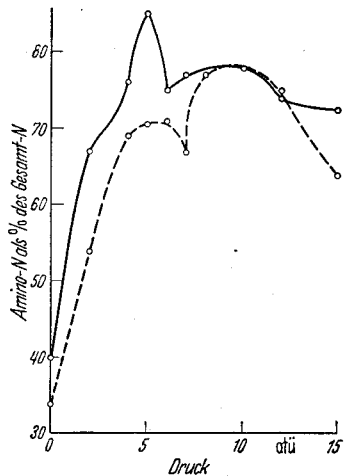


Abb. 6. Die Abspaltung von Amino-N bei der Druckhydrolyse von Bohnen und Erbsen. — Bohnen, - - - Erbsen.

völlig verschiedene Formen und sind, innerhalb gewisser Grenzen, für die jeweiligen Substanzen durchaus charakteristisch.

Zur Feststellung, ob diese bei den Hydrolysen unter Überdruck beobachtete Erscheinung der wechselnden Amino-N-Abspaltung auch bei Hydrolysen unter normalem Druck auftritt, wurden Versuche am Rückflußkühler mit Hefeflocken, Rapschrot und Fischeiweiß durchgeführt (Abb. 7). Hierbei erhält man Kurven, die einen regelmäßigen Verlauf ohne Bildung von Spitzen zeigen und bei allen 3 untersuchten Substanzen weitgehend übereinstimmen. Eine entsprechende Kurve enthielt auch DUNN¹ bei der sauren Hydrolyse unter Rückfluß von Casein.

Die unter Überdruck erhaltenen Ergebnisse lassen deutlich erkennen, daß hier andere Verhältnisse als bei der Hydrolyse in offenen Gefäßen vorliegen. Um dies sicher zu belegen, wurden verschiedene Versuchsreihen unter Verwendung neu beschaffter Ausgangsmaterialien gleicher Art wiederholt. Es zeigte sich, daß die Amino-N-Kurven für die betreffenden Substanzen charakteristisch sind. Selbstverständlich können die Werte innerhalb gewisser Grenzen auf Grund der unterschiedlichen Qualität des Ausgangsmaterials, besonders hinsichtlich des Eiweißgehaltes, schwanken, jedoch treten stets die verschiedenen Maxima und Minima der Amino-N-Werte bei den gleichen Überdrücken auf. Die bei den einzelnen Substanzen sehr unterschiedliche Höhe der erreichten Amino-N-Abspaltung ist bei der notwendigen Bezugnahme auf den Gesamt-N-Gehalt durch die Anwesenheit anderer, nicht zu den Proteinen gehörenden Stickstoffverbindungen wie z. B. der Purine der Hefe bedingt. Auch der Gehalt an Aminosäuren mit einem oder mehreren Atomen Stickstoff im Molekül außerhalb der Aminogruppe wie Arginin, Histidin, Tryptophan und Prolin kann dabei schon eine Rolle spielen, so daß die Vollständigkeit der Hydrolyse auf diese Weise nicht unbedingt abgeschätzt werden kann.

Die Fehlergrenzen der einzelnen Versuchsreihen liegen je nach Beschaffenheit des Ausgangsmaterials zwischen 0,3—0,7% (absolut). Letzterer Wert bezieht sich auf einige der pflanzlichen Ausgangsmaterialien.

Das bei den vorliegenden Untersuchungen beobachtete Verhalten der Eiweißsubstanzen legt die Vermutung nahe, daß bereits zwischen 4 und 7 atü ein Teil der schon freigesetzten Aminosäuren zerstört wird, während andere sich noch in Peptidbindung befinden und erst bei den höheren Drücken abgespalten werden. Oberhalb von 10 atü scheint dann eine Zerstörung in großem Umfang einzusetzen, die nicht mehr durch eine evtl. noch erfolgende Aufspaltung letzter Peptidbindungen ausgeglichen werden kann, wie der teilweise ziemlich steile Abfall der Kurven zeigt. Als einzige Ausnahme weist Mohnschrot noch einmal zwischen 12 und 15 atü einen ganz geringen Anstieg der Amino-N-Werte auf (Abb. 1).

Zerstörung einzelner Aminosäuren.

Ob nun bei dieser möglichen, bereits bei niedrigen Drücken einsetzenden Zerstörung einzelne Aminosäuren oder bestimmte Aminosäuregruppen betroffen werden,

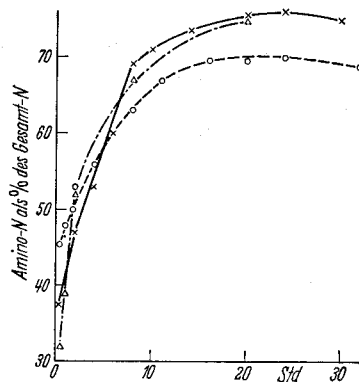


Abb. 7. Die Abspaltung von Amino-N bei Hydrolysen unter normalem Druck. — Rapsschrot, - - - Hefeflocken, - - - - Fischeiweiß.

¹ DUNN, M. S.: J. Amer. Chem. Soc. 47, 2565 (1925).

ist ohne weiteres nicht zu entscheiden, ebensowenig wie die Frage, wie weit die bei verschiedenen Aminosäuren beobachtete, im Vergleich zum freien Zustand größere Empfindlichkeit in Peptidbindung dabei eine Rolle spielt. Diese Probleme sollen durch weitere Untersuchungen geklärt werden^{1, 2}. So ist beispielsweise schon lange Zeit bekannt, daß Tryptophan und Tyrosin, besonders in Gegenwart von Kohlenhydraten fast vollkommen zerstört werden (vgl dazu^{3, 4, 5}). Auch die Empfindlichkeit der schwefelhaltigen Aminosäuren Cystin und Cystein wird mehrfach erwähnt. Im Zusammenhang damit kann vielleicht die nur bei der Hydrolyse der sehr cystinreichen Hornspäne (Abb. 4) auftretende Abnahme der Amino-N-Werte bei Druckhydrolysen zwischen 2 und 3 atü mit einer weitgehenden Zerstörung des Cystins erklärt werden, während diese Zerstörung bei anderen Proteinen mit geringem Cystingehalt nicht sichtbar in Erscheinung tritt. HENRIQUES und GJALDBÄCK stellten in einer bereits eingangs angeführten Untersuchung⁶ bei hoher Erhitzung im Autoklaven (180° C) eine starke Abnahme des Amino-N bei entsprechender Zunahme des Ammoniak-N fest und führen diese Erscheinung auf eine Zerstörung von Aminosäuren zurück. Ferner führen sie kurz einige Ergebnisse aus Arbeiten anderer Autoren an, die sich auf die Widerstandsfähigkeit einzelner Aminosäuren bei sauren Druckhydrolysen beziehen. In einer anderen Arbeit von GAWRILOW und BLAGINA¹ wird der Einfluß einer Erhitzung im Autoklaven auf einzelne Aminosäuren untersucht. Weiterhin beschäftigt sich eine ganze Anzahl von Veröffentlichungen aus neuester Zeit mit der Zerstörung einzelner Aminosäuren bei der sauren Hydrolyse, besonders im Hinblick auf die Analytik der Proteine. Wieweit eine Übertragung dieser Ergebnisse, die teilweise unter völlig abweichenden Bedingungen erhalten wurden, auf den vorliegenden Fall möglich ist, bedarf noch der Klärung. Weitere Versuche in dieser Richtung werden durchgeführt.

Verhalten des Ammoniak-Stickstoffs.

Entsprechend der Abnahme des Amino-N bei der Autoklavenhydrolyse zwischen 4 und 5 atü von Rapsschrot (Abb. 1) wäre zu erwarten, daß der Gehalt der Hydrolysate an Ammoniak-N stark zunimmt. Dies ist jedoch nicht der Fall, sondern der Gehalt an Ammoniak-N nimmt innerhalb des untersuchten Druckbereiches nur gleichmäßig, fast linear zu. Bei der Hydrolyse anderer Substanzen verhält er sich etwas abweichend, teilweise nimmt er bei einer starken Verminderung des Amino-N tatsächlich stärker zu, einmal dagegen nimmt er sogar ab. Es ist also noch keine ausgesprochene Gesetzmäßigkeit in seinem Verhalten zu finden. Auch DIRR und von SODEN⁷ beobachteten bei der Hydrolyse von Hefen ein nicht ganz eindeutiges Verhalten des NH₃-N. Es mußte möglicherweise an eine Ringbildung, d. h. die Entstehung von Anhydrid- oder Diketopiperazinverbindungen der freien Aminosäuren gedacht werden, die eine Blockierung der NH₂-Gruppen ohne ihre Zerstörung zur Folge hätte. Nach einer Arbeit von ZELINSKY und GAWRILOW⁸ ist dies jedoch,

¹ GAWRILOW, N. J., u. N. W. BLAGINA u. a.: Bull. Soc. chim. France **5**, 442 (1938).

² NICOLET, B. H., u. L. A. SHINN: J. of Biol. Chem. **140**, 685 (1941).

³ Vgl. hierzu u. a. H. B. VICKERY: Zit. S. 255, Anm. 1. — SSADIKOW, W. S., u. N. B. ZELINSKY: Zit. 253, S. 4. — GAWRILOW, N. J.: Zit. S. 253, Anm. 4. — SILAJEW, A. B.: Zit. S. 253, Anm. 4.

⁴ DUNN, M. S.: Zit. S. 255, Anm. 5.

⁵ LUGG, I. W. H.: Biochemic. J. **32**, 775 (1938).

⁶ HENRIQUES, V., u. J. K. GJALDBÄCK: Zit. S. 353, Anm. 5.

⁷ DIRR, K., u. O. v. SODEN: Zit. S. 253, Anm. 3.

⁸ ZELINSKY, N. D., u. N. J. GAWRILOW: Biochem. Z. **182**, 18 (1927).

besonders in konzentrierter Säure nicht sehr wahrscheinlich. Eine Untersuchung der Hydrolysate ergab dementsprechend einen negativen Befund. Eine Erklärung des Verhaltens des $\text{NH}_3\text{-N}$ muß also in anderer Richtung gesucht werden.

Unterschiede bei pflanzlichen und tierischen Produkten.

Noch eine weitere Erscheinung fällt im Zusammenhang mit der zu vermutenden Zerstörung einzelner Aminosäuren bei der Autoklavenhydrolyse auf, nämlich die teilweise stark ausgeprägten Unterschiede zwischen den Amino-N-Kurven der pflanzlichen und der tierischen Produkte. Während von den untersuchten proteinhaltigen Materialien pflanzlicher Herkunft alle mit Ausnahme der Erbsen bei 4 bzw. 5 atü das absolute Maximum an Amino-N erreichen, dem ein steiler Abfall bis zu 5 bzw. 6 atü und ein zweites niedrigeres Maximum bei 10 atü folgen, zeigen der Kurvenverlauf der tierischen Produkte entweder nur eine kleine Spitze bei 4 atü (Abb. 3), oder wie Horn (Abb. 4), Tierkörpermehl (Abb. 3) und Gelatine (Abb. 5) einen langsamen An- und anschließenden geringen Abstieg der Werte zwischen 4 und 7 atü. Alle mit Ausnahme von Casein (Abb. 2) erreichen ihren maximalen Gehalt an Amino-N erst bei 10 atü. Die Hydrolysenkurven von Hefeflocken und Sojamehl liegen mit ihrer kleinen Spitze bei 4 atü und ihrem etwas höheren Maximum bei 10 atü zwischen diesen beiden Extremen. Endgültiges über diese Zusammenhänge kann erst die genaue Analyse der Aminosäurezusammensetzung der einzelnen Hydrolysate ergeben, die jedoch auf erhebliche Schwierigkeiten stößt.

Praktische Folgerungen.

Zur Erreichung einer befriedigenden Ausbeute an Amino-N darf bei den Hydrolysen nicht einfach mit dem gerade verfügbaren Höchstdruck gearbeitet werden, sondern es ist notwendig, gewisse optimale Bedingungen einzuhalten, die vorher genau festzulegen sind. Besondere Beachtung fordern dabei die bei den pflanzlichen Produkten häufig bei 4 atü auftretenden Spitzen der Amino-N-Werte. Ob in den anderen Fällen, falls es technisch möglich ist, mit dem Hydrolysendruck stets bei 10 atü heraufgegangen werden soll, ist eine Frage, die sehr davon abhängig gemacht werden muß, inwieweit die schon unterhalb dieser Drucke zu beobachtende Zerstörung von Aminosäuren die lebensnotwendigen Aminosäuren betrifft. Wird auch nur eine von ihnen dabei schon in größerem Umfange zerstört, so ist die biologische Wertigkeit der Hydrolysate dadurch stark herabgesetzt. Zwar wird der Wert gerade der pflanzlichen Proteine von vornherein nicht sehr hoch angesetzt, jedoch erscheint es möglich, daß durch Mischung verschiedener, sich in ihrer Aminosäurezusammensetzung möglichst weitgehend ergänzender Hydrolysate oder durch Zusatz von Hydrolysaten zu anderen Nahrungsmitteln eine erhöhte biologische Wertigkeit erreicht werden kann. So berichtet beispielsweise FINK¹ über die Aufwertung der Proteine von Bierhefe durch einen Zusatz von Cystin. Ein ähnliches Resultat könnte auch durch Zusatz von Hornhydrolysaten an Stelle des reinen Cystins erreicht werden, vorausgesetzt, daß das Cystin in den Hydrolysaten noch unzerstört vorliegt.

Um dieses Ziel einer Verbesserung der biologischen Wertigkeit minderwertiger Produkte erreichen zu können, ist auf jeden Fall eine genaue Kenntnis der Aminosäurezusammensetzung der einzelnen Ausgangsmaterialien und Hydrolysate notwendig. Zwar bringt BLOCK² Zahlen über die Aminosäurezusammensetzung einer

¹ FINK, H.: Milchwiss. 1, 66 (1946).

² BLOCK, R. J.: Advances in Protein Chemistry. Bd. II, S. 119. New York: Academic Press, Inc. 1945.

ganzen Reihe von Nahrungsmitteln und auch zahlreiche andere Autoren geben einzelne Daten an, jedoch ist der Wert der Methoden, nach denen diese Ergebnisse erhalten wurden, sehr unterschiedlich und deshalb ein Vergleich verschiedener Nahrungsmittel auf dieser Basis noch unsicher.

Zusammenfassung.

Es wurden die Beziehungen zwischen dem bei der sauren Hydrolyse von eiweißhaltigen Substanzen angewendeten Überdruck und der Abspaltung des Aminostickstoffes untersucht. Dabei ergab sich, daß die Amino-N-Werte nicht mit steigendem Druck fortlaufend zunehmen, sondern mehrere Maxima und Minima aufweisen. Es muß daher mit einer schon bei verhältnismäßig niedrigen Drucken eintretenden Zerstörung von einzelnen Aminosäuren oder Aminosäuregruppen gerechnet werden. Hydrolysen bei gewöhnlichem Druck zeigten diese Erscheinung nicht. Bei der großtechnischen Herstellung von Hydrolysaten unter Verwendung von Überdruck sollte auf diese optimalen Werte geachtet werden.