

6. HORN, V. u. Th. PREIS: Schweinemastversuche mit Gerste und Roggen. — Tierernähr. 2 (1931) S. 487.
7. KRONACHER, C. u. J. KLIESCH: Fütterungsversuche mit Roggen und Gerste an Schweinen. — Dt. landw. Tierzucht 34 (1930) Nr. 41, S. 741—744.
8. LEHMANN, F.: Roggen als Futtermittel. Unterlagen zur Bewertung des Roggens in der Schweinemast. — Mitt. DLG 44 (1929) H. 49, S. 1090.
9. RICHTER, K.: Roggen in der Schweinefütterung. — Futter u. Fütterung 10 (1959) Nr. 2, S. 11—12.
10. RICHTER, K. u. J. ANTONI: Roggen in der Schweinemast. Schweinezucht u. Schweinemast 8 (1960) S. 105.
11. RICHTER, K. u. K. E. FERBER: Roggenfütterung an Schweine. — Mitt. DLG 46 (1931) S. 129—131.
12. RICHTER, K. u. K. E. FERBER: Roggen in der Schweinemast. — Mitt. DLG 46 (1931) S. 407—408.
13. RICHTER, K., K. E. FERBER u. K. CHRZASZCZ: Fütterungsversuche mit Roggen und Gerste bei Schweinen. — Mitt. DLG 45 (1930) S. 545—547.
14. RICHTER, K., K. E. FERBER u. K. CHRZASZCZ: Ein weiterer Beitrag zur Roggenfütterung an Schweine. — Mitt. DLG 45 (1930) S. 804.
15. RICHTER, K., K. L. CRANZ u. J. ANTONI: Kälberaufzuchtversuche mit gestaffelten Vollmilchgaben. — Mitt. 1—3. Züchtungskde. 29 (1957) H. 5, S. 191—199; 30 (1958) H. 7, S. 319—324; 31 (1959) H. 4, S. 153—157.
16. SCHMIDT, J. u. H. VOGEL: Fütterungsversuche mit Zucker und mit Roggen. — Tierernähr. 2 (1931) S. 289.

Kläre Schiller, Institut für Tierernährung

ÜBER DIE CHEMISCHE ANALYSE ALS HILFSMITTEL ZUR BIOLOGISCHEN BEWERTUNG VON EIWEISS

Der Grad der Verwertung eines mit der Nahrung zugeführten Eiweißstoffes durch den tierischen Organismus hängt, abgesehen von der Verdaulichkeit, bekanntlich davon ab, inwieweit die zum Aufbau von arteigenem Eiweiß notwendigen Aminosäuren in adäquaten Mengen darin enthalten sind. Da der Körper in der Lage ist, einen Teil dieser Aminosäuren selbst aufzubauen, besteht je nach Tierart und Entwicklungsstadium nur für höchstens elf Aminosäuren die unbedingte Notwendigkeit der Zufuhr durch die Nahrung. Fehlt in einem Eiweißträger eine dieser essentiellen (= lebensnotwendigen) Aminosäuren, oder ist sie nicht in ausreichender Menge vorhanden, so kann nach dem Gesetz des Minimums über ihn nur solange ein Eiweißaufbau stattfinden, wie diese limitierende (= begrenzende) Aminosäure ausreicht. Darüber hinaus sind auch alle übrigen nicht verwertbar.

Als Grundlage für die Eiweißbewertung muß danach einmal die Höhe des Bedarfes einer Tierart an jeder Aminosäure und zum anderen der Gehalt an den einzelnen Aminosäuren in einem Eiweißträger dienen. Aus dieser Schlüsselstellung der Aminosäuren erklären sich die allgemeinen Bemühungen um ihre quantitative Bestimmung.

Der Bedarf an den einzelnen Aminosäuren ist zwar für jede Tierart und sogar für jedes Entwicklungsstadium derselben spezifisch, bleibt aber für bestimmte Einmäger innerhalb gewisser Grenzen, so daß z. B. Rückschlüsse von Rattenversuchen auf Schwein oder Mensch möglich sind. Wegen des sehr komplexen physiologischen Ablaufes muß der Bedarf empirisch bestimmt werden. Eine chemisch-analytische Methode wird hier kaum je zum Ziele führen (1).

Für die quantitative Bestimmung von Aminosäuren

ist es im allgemeinen notwendig, sie aus dem Peptidverband im Eiweiß hydrolytisch in Freiheit zu setzen. Dies geschieht im Verdauungstrakt durch die Einwirkung proteolytischer Enzyme. Der beste Weg wäre ein entsprechend gesteuerter Vorgang *in vitro*, doch führt er bisher noch nicht zu einer befriedigenden Aufspaltung. Die bevorzugte verwendete Methode bleibt daher die Salzsäurehydrolyse, bei der durch verschiedene Zusätze versucht wird, die durch Zerstörung auftretenden Aminosäurenverluste so niedrig wie möglich zu halten. Es ist jedoch bisher nicht gelungen, sie ganz verlustfrei durchzuführen (2).

Für die Bestimmung freier Aminosäuren kommen hauptsächlich zwei Methoden zur Anwendung. Zur säulenchromatographischen Analyse werden die in einem Gemisch vorhandenen freien Aminosäuren durch Adsorption und anschließende Elution an einer Ionenaustauschersäule getrennt und nach Anfärben mit einem Reagenz (Ninhydrin) kolorimetrisch bestimmt. Seitdem es gelungen ist, diese Methode voll zu automatisieren, ist sie für Routineanalysen gut geeignet (Bild 1) (3).

Das gleiche gilt für die mikrobiologische Methode, bei der das Wachstum von aminosäurespezifischen Mikroorganismen als Maß dient (4). Die Genauigkeit beider Methoden liegt bei etwa 3 bis 5%, was für biologische Zwecke als ausreichend angesehen werden kann. Es darf allerdings bei einer Beurteilung auf Grund derartiger Analysen nicht außer acht gelassen werden, daß, wie schon erwähnt, in der vorbereitenden Hydrolyse Fehlerquellen liegen können.



Bild 1: Apparatur zur vollautomatischen säulenchromatographischen Bestimmung freier Aminosäuren.

Um diese zu umgehen, ist man bemüht, Methoden zu entwickeln, die eine direkte Bestimmung von Aminosäuren im intakten Eiweißverband ermöglichen. Beim Lysin ist dies gelungen, da diese Aminosäure außer der α -ständigen Aminogruppe, die in der Peptidbindung festgelegt ist, noch eine freie ϵ -ständige Aminogruppe besitzt, die mit einem Reagenz (2,4-Dinitrofluorbenzol) zu einer farbigen Komplexverbindung (ϵ -Dinitrophenyl-Lysin) führt. Diese ist kolorimetrisch quantitativ bestimmbar (5). Die direkte Bestimmung speziell von Lysin ist deswegen von besonderer Bedeutung, weil Lysin in allen Cerealien limitierend und daher für die Höhe der biologischen Wertigkeit entscheidend ist. Außerdem ist diese Aminosäure Ursache für die auf der Maillard-Reaktion beruhende biologische Abwertung bestimmter Eiweißträger, wie man sie etwa beim Milchpulver beobachtet (6). Es tritt hier eine Anlagerung an die freie ϵ -ständige Aminogruppe des Lysins ein, wodurch dessen enzymatische Freisetzung im Verdauungstrakt und damit ihre Verwertung verhindert wird. Durch Salzsäurehydrolyse wird diese Anlagerung ohne Schwierigkeiten gesprengt, so daß eine Bestimmung des Lysins auf diesem Wege nicht den biologischen Gegebenheiten entspräche, während die direkte Methode nur das im Körper wirklich „verwertbare Lysin“ erfaßt.

Auch für die in vielen Eiweißträgern limitierenden schwefelhaltigen Aminosäuren Methionin und Cystin ist die direkte Bestimmung von besonderer Bedeutung, da sie bei

der Säurehydrolyse besonders leicht der Zerstörung anheimfallen. Die getrennte Bestimmung dieser beiden Aminosäuren ist möglich (7). Nachdem jedoch nachgewiesen wurde, daß nur Methionin notwendig durch die Nahrung zugeführt werden muß, Cystin aber bei ausreichendem Vorhandensein von Methionin entbehrlich ist (8), wird im allgemeinen eine gemeinsame Bestimmung beider Aminosäuren genügen.

In Fällen, in denen mit Sicherheit angenommen werden kann, daß der gesamte organische Schwefel in Form von Methionin bzw. Cystin vorliegt, genügt zu deren Erfassung eine übliche Schwefelbestimmung (9). Ist Schwefel jedoch auch noch in anderer Form zu erwarten, wie etwa in einigen Cruciferen im Senföl, so muß die Bestimmung im gefällten Eiweiß vorgenommen werden (10). Liegen dagegen Futterstoffe vor, die schwerverdauliche Keratine enthalten, ist eine direkte Methode nicht mehr anwendbar.

Die chemische Analyse der Aminosäuren kann mithin zwar sehr wichtige Aufschlüsse über den Wert eines Eiweißstoffes geben, doch müssen für dessen Beurteilung allein auf dieser Grundlage die inneren Zusammenhänge bekannt sein und entsprechende Berücksichtigung finden.

Schriftumsnachweis

1. Protein and Amino Acid Requirements of Mammals. Ed.: A. A. Albanese. — New York: Acad. Press 1950.
2. KRAMPNITZ, G.: Vergleichende Untersuchungen zur Frage der Proteinhydrolyse im Hinblick auf die Herabsetzung des Zerstörungsgrades der Eiweißbausteine: Mitt. 2. 3. — Z. Tierphysiol., Tierernähr. u. Futtermittelkde. **15** (1960) S. 76—95.
3. SPACKMAN, D. H., W. H. STEIN u. St. MOORE: Automatic Recording Apparatus for Use in the Chromatography of Amino Acids. — Anal. Chem. **30** (1958) S. 1190—1206.
4. DUNN, M. S.: Determination of Amino Acids by Microbiological Assay. — Physiol. Rev. **29** (1949) S. 219—259.
5. CARPENTER, K. J. u. G. M. ELLINGER: The Estimation of "Available Lysine" in Protein Concentrates. — Biochem. J. **61** (1955) p. 11.
BRUNO, D. u. K. J. CARPENTER: A Modified Procedure for the Estimation of "Available Lysine" in Food Proteins. — Biochem. J. **11** (1956) p. 13.
6. SCHILLER, K.: Veränderungen in Magermilchpulver während der Lagerung. — Z. Tierphysiol., Tierernähr. u. Futtermittelkde. **11** (1956) S. 264—267.
7. EVANS, R. J.: Determination of Cystine and Methionin Content of Plant and Animal Material by a Differential Oxidation Procedure. — Arch. Biochem. **7** (1946) S. 439.
8. WOMACK, M. u. W. C. ROSE: The Partial Replacement of Dietary Methionin by Cystine Purposes of Growth. — J. Biol. Chem. **141** (1941) S. 375.
9. HUMPHRIES, E. C.: Mineral Components and Ash Analysis. In: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse. — Berlin: Springer Bd. 1, S. 486.
10. SCHARRER, K. u. J. JUNG: Zur Bestimmung des Gesamt-, Protein- und Sulfat-Schwefels in pflanzlichen Futtermitteln. — Z. Tierphysiol., Tierernähr. u. Futtermittelkde. **10** (1955) S. 25—31.