

Die Werte kommen dem verlangten Mittelwert viel näher.  $H_2SO_4$  verhält sich sowohl mit wie ohne Zusatz von KJ sehr unbestimmt. Mit Phosphorsäure lassen sich recht gute Sauerstoffwerte erzielen, allerdings dürfte das hier angegebene Verfahren in der Praxis wohl kaum Anwendung finden können, da es viel zu zeitraubend ist. Worauf die zu hohen Sauerstoffwerte der mit  $H_3PO_4$  und KJ versetzten Proben zurückzuführen sind, müssen spätere Versuche zeigen.

Weil Schwefelsäure allein den Niederschlag nicht zu lösen vermag (Tab. 3, Fl. 6 nach *Alst.*), wurden folgende Versuche unternommen.

Tabelle 5.

Aqua dest. (durchlüftet) nach *Alsterberg*.

Fl. Nr.	O <sub>2</sub> cm <sup>3</sup> /l	gelöst mit	Zu- satz	Fl. Nr.	O <sub>2</sub> cm <sup>3</sup> /l	gelöst mit	Zu- satz
1	4,62	2 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	—	4	15,34	2 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	KJ
2	8,06	2 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	—	5	22,89	5 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	KJ
3	16,69	2 cm <sup>3</sup> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	KJ				

Der Versuch zeigt, daß  $H_2SO_4$  allein den Niederschlag nicht löst (Fl. 1). Die mit  $H_2SO_4$  gelösten Proben zeigten ferner ein starkes Nachbläuen. Fl. 2 wurde deshalb immer wieder titriert, bis kein Nachbläuen mehr eintrat. Der Sauerstoffwert fiel hier zu hoch aus. Wurde aber außer  $H_2SO_4$  noch KJ zugegeben, so stieg der Sauerstoffwert ins Unmögliche (Fl. 3, 4 und 5). Je größer das Quantum zugesetzter  $H_2SO_4$  war, desto höher lag der Sauerstoffwert. Deshalb war es ganz klar, daß das Brom<sup>2)</sup> unter Einwirkung der  $H_2SO_4$  mit dem Kalium des KJ eine Verbindung eingehen mußte, wodurch das Jod frei und bei der Titration mitbestimmt wurde. Ein ähnlicher Versuch, bei dem auch eine Probe nach *Winckler* genommen wurde, zeigte, daß die *Alsterberg*'schen Proben ohne KJ-Zusatz zu niedrige Sauerstoffwerte ergaben.

Es war jetzt noch folgende Frage zu prüfen: *Alsterberg* sagt über die *Winckler*'sche Methode, wenn man die Proben nicht sofort titrieren kann, was ja in den meisten Fällen zutrifft,

Tabelle 6.

Aqua dest. (durchlüftet)

nach <i>Winckler</i>				nach <i>Alsterberg</i>			
Fl. Nr.	O <sub>2</sub> cm <sup>3</sup> /l	gelöst mit	auf- gelöst	Fl. Nr.	O <sub>2</sub> cm <sup>3</sup> /l	gelöst mit	auf- gelöst
1	5,97	5 cm <sup>3</sup> HCl + KJ	sofort	7	6,01	5 cm <sup>3</sup> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + KJ	n. 24 h
2	5,90	5 cm <sup>3</sup> HCl + KJ	sofort	8	5,90	5 cm <sup>3</sup> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + KJ	n. 24 h
3	5,94	5 cm <sup>3</sup> HCl + KJ	sofort	9	3,40	5 cm <sup>3</sup> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	n. 24 h
4	6,13	5 cm <sup>3</sup> HCl + KJ	n. 24 h	10	4,23	10 cm <sup>3</sup> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	n. 24 h
5	6,14	5 cm <sup>3</sup> HCl + KJ	n. 24 h				
6	6,19	5 cm <sup>3</sup> HCl + KJ	n. 24 h				

<sup>2)</sup> *Alsterberg* schreibt eine Vorbehandlung mit Brom und Salicylsäure vor.

ist es besser, den Niederschlag der Proben sofort aufzulösen und sie dann so aufzubewahren. Es wurde daher der Versuch in Tab. 6 ausgeführt. Als Vergleichswerte dienten nach *Alsterberg* behandelte Proben. Diese wurden mit  $H_3PO_4$  mit und ohne Zusatz von KJ aufgelöst, weil diese Lösungsart (besonders + KJ) im Laufe der Untersuchungen als die beste erkannt war. Alle Flaschen wurden nach etwa 25 h titriert.

Es ist also keine Zehrung eingetreten (*Alsterberg*), sondern im Gegenteil, der Wert für den Sauerstoff ist noch höher geworden, wenn die Flaschen mit ungelöstem Niederschlag 24 h stehen. Bis jetzt bot sich mir leider noch keine Gelegenheit, dieses aufzuklären. Da die nach *Alsterberg* angesetzten Proben, in denen der Niederschlag mit 5 cm<sup>3</sup>  $H_3PO_4$  unter Zusatz von KJ gelöst wurde, immer den besten Sauerstoffwert ergaben, habe ich die Sauerstoffwerte (Fl. 1, 2 und 3 nach *W.*) auch als die richtigen angenommen, das heißt also die Flaschen, in denen der Niederschlag sofort aufgelöst wurde, und die dann etwa 25 h bis zur Titration standen. Andererseits beträgt der Fehler, wenn man die *Winckler*'schen Flaschen mit dem ungelösten Niederschlag 24 h stehen läßt, im Höchsthalle 3—4 %. Dieser Fehler bleibt anscheinend immer konstant. Fl. 9 und 10 zeigen uns dann wiederum, daß  $H_3PO_4$  ohne KJ den Niederschlag nicht ganz zu lösen vermag. Je mehr Säure (Fl. 10) den Proben zugesetzt wird, desto höher ist der Prozentsatz des gelösten Niederschlags.

### Zusammenfassung.

Im Seewasser, das durch Stoffe, die die *Winckler*'sche Sauerstoffreaktion stören könnten, nicht erheblich verunreinigt ist, ist die *Winckler*'sche Methode der *Alsterberg*'schen immer vorzuziehen. In Süßwasser, das nicht zu sehr verunreinigt ist, sind beide Methoden, wenn man bei der *Alsterberg*'schen gewisse Vorsichtsmaßregeln beachtet, etwa gleichzustellen, obwohl auch hier die *Winckler*'sche Methode vorzuziehen ist, weil sie einfacher zu handhaben ist und mehr untereinander übereinstimmende Werte ergibt. In stark mit Abwasser verunreinigten Wässern mag die *Alsterberg*'sche Methode mit besserem Erfolg angewandt werden als die *Winckler*'sche, allerdings haben wir hierüber keine Untersuchungen angestellt. [A. 45.]

### Literaturverzeichnis.

G. *Alsterberg*, *Biochem. Z.* **159**, 36 [1925]; **170**, 30 [1926]. — G. *Bruhns*, *Chemiker-Ztg.* **39**, 485 [1915] u. **40**, 985 [1916]. — H. *Noll*, diese Ztschr. **30**, 105 [1917]. — H. *Noll*, diese Ztschr. **18**, 1767 [1905]. — L. W. *Winckler*, diese Ztschr. **25**, 1563 [1912]. — L. W. *Winckler*, *Z. analyt. Chem.* **53**, 665 [1914]. — L. W. *Winckler*, *Z. Unters. Nahrungs- u. Genußmittel* **29**, 121 [1915].

## Über die Bestimmung der Verdaulichkeit des Proteins in Fischmehlen usw.

Von Dr. OTTO WAGNER, Hamburg-Kl. Borstel.

(Eingeg. 8. April 1935.)

Bericht aus dem Forschungsinstitut für die Fischindustrie e. V., Altona (Leiter: Dr. phil. H. Metzner, beeid. Handelschemiker).

Bei der Bestimmung der Verdaulichkeit des Proteins in Fischmehlen usw. wurden verschiedentlich erhebliche Unterschiede in den Ergebnissen beobachtet, die zu einer Nachprüfung der Methoden von *Abderhalden*<sup>1)</sup> und *Oshima*<sup>2)</sup> führten.

Außer diesen beiden Arbeiten wurde noch die Veröffentlichung von H. *Wevers*<sup>3)</sup> berücksichtigt, da hier auf die Wichtigkeit der vorherigen Extraktion des vorhandenen Fettes hingewiesen wurde.

Allen bekannten Methoden gemeinsam ist die Einwirkung von reinem Pepsin in salzsaurer Lösung auf feinverteiltes Versuchsmaterial in einer Zeitspanne von 44—48 h bei einer Temperatur von 37—40°; man sucht so den natürlichen Verdauungsgang nach Möglichkeit nachzuahmen.

Als Material für die Verdauungsversuche wurden feingemahlene, gedarrte Garnelen, die an sich fettarm sind, und

Walmehl mit einem Fettgehalt von etwa 25% verwandt. Die Wahl des Materials geschah aus der Erwägung, daß die unveränderte Aufbewahrung leicht war und dadurch die Werte jederzeit leicht nachkontrolliert werden konnten.

Bei der Durchführung der Verdauungsproben fiel von vornherein auf, daß die Ergebnisse bei der Verdauung nach den Angaben der erwähnten Autoren in jeder Serie (jeder Versuch wurde mit zwei bzw. vier Einzelproben durchgeführt) sehr gut übereinstimmten, jedoch untereinander oft verschiedene Werte ergaben. Bei der Nachprüfung stellte sich heraus, daß das Umrühren (*Abderhalden*) bzw. das Umschütteln (*Oshima*) von größerer Wichtigkeit ist als angegeben<sup>4)</sup>. Wie Tab. 2 zeigt, ergeben sich zwischen viermaligem Umschütteln der Probe nach *Oshima* und fünfzehnmaligem Umschütteln während der Verdauungszeit Unterschiede bis zu 10%. Diese Tatsache tritt bei der *Abderhalden*-Methode nicht so sehr hervor, da hier bei dem

<sup>1)</sup> *Abderhalden*, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. 4, Teil 9, S. 743.

<sup>2)</sup> *Kokichi-Oshima*, School of Fishery, Hokeida Imp. University, Japan, Vol. 4, July 1934.

<sup>3)</sup> Diese Ztschr. **47**, 822 [1934].

<sup>4)</sup> Vgl. hierzu die Zuschift von E. *Waltzinger*, diese Ztschr. **48**, 215 [1935].

größeren Volumen mit breiten Bechergläsern gearbeitet wird, auf deren Boden die Substanz dünn ausgebreitet liegt. Bei dem relativ kleinen Volumen der *Oshima*-Proben verwendet man durchweg hohe, schmale Erlenmeyerkolben mit stark eingewölbtem Boden, wodurch die Substanz in einem schmalen, hohen Ring am Boden festliegt und wenig Angriffsfläche bietet.

Tabelle 1. *Abderhalden*.\*)

Substanz	Unverdautes Protein
Garnelenmehl, nicht entfettet .....	20,8 %
Garnelenmehl, nicht entfettet .....	23,8 %
Garnelenmehl, jedoch vor der Filtration auf 90° erhitzt .....	27,0 %
Garnelenmehl, jedoch vor der Filtration auf 90° erhitzt .....	26,2 %
Garnelenmehl, nicht entfettet + Filterpapier, nach der Verdauung .....	20,9 %
Garnelenmehl, nicht entfettet + Filterpapier, jedoch vor der Verdauung .....	21,2 %
Garnelenmehl + 2 g Bleicherde vor der Verdauung .....	62,3 %
Garnelenmehl + 2 g Bleicherde vor der Verdauung .....	51,5 %
Garnelenmehl + 2 g Bleicherde nach d. Verdauung .....	42,0 %
Garnelenmehl + 2 g Filtercel vor der Verdauung .....	27,8 %

\*) Da Abweichungen von halben Prozenten zwischen den einzelnen Versuchen nichts Seltenes sind, genügt die Angabe der ersten Dezimale.

Zur Klärung der Differenz zwischen beiden Methoden wurde die Wasserstoffionenkonzentration der Lösungen geprüft, außerdem bei der *Oshima*-Methode während der Verdauung nachkontrolliert. Ferner wurde eine Serie mit gestaffelter Säurekonzentration durchgeführt.

Dabei ergaben sich für die *Abderhalden*-Lösung  $p_H = 1,2$  im Anfang und  $p_H = 0,9$  nach dem zweiten Säurezusatz, während sich bei *Oshima* ein  $p_H = 0,9$  ergab.

Als dann wurde mit Garnelenmehl eine Verdauungsserie durchgeführt (Tab. 3). Hierbei ergaben sich die

Tabelle 2. *Oshima*.

Substanz	Unverdautes Protein
Garnelenmehl, extrahiert ohne Toluol, 4× geschüttelt .....	25,5 %
Garnelenmehl, extrahiert ohne Toluol, + Filterpapier, 4× geschüttelt .....	24,5 %
Garnelenmehl, nicht extrahiert, ohne Toluol, 15× geschüttelt .....	18,9 %
Garnelenmehl, nicht extrahiert, ohne Toluol, + Filterpapier, 15× geschüttelt .....	18,9 %
Garnelenmehl, ohne Toluol, nicht extrahiert + 2 cm <sup>3</sup> Toluol, 15× geschüttelt .....	28,5 %
Garnelenmehl, extrahiert + 2 cm <sup>3</sup> Toluol, 15× geschüttelt .....	22,3 %

günstigsten Werte mit einem Anfangs- $p_H = 1,1$  und einem End- $p_H = 1,5$ .

Um die Filtration zu beschleunigen, wurde mit Büchnertrichter oder Nutsche gearbeitet. Zusätze anorganischer Natur zur Auflockerung des abzufiltrierenden Materials wie Filtercel (Scheibler, Elberfeld) und Bleicherde (Terrana), Erhitzen der Flüssigkeit auf 90°, versagten, da einmal diese Körper stickstoffhaltige Produkte, die bereits verflüssigt waren, absorbierten und ein andermal die Erhitzung diese Produkte koagulierte und dadurch eine geringere Verdaulichkeit vortäuschte (s. Tab. 1). Dagegen beeinflusst ein Zusatz von feingerissem Filtrierpapier (etwa 20 cm<sup>2</sup>) (Schleicher & Schüll, Düren) die Resultate fast gar nicht (s. Tab. 1 und 2).

Diese Hilfsmittel wurden aber überflüssig, wenn man einmal bei dem geringsten Vakuum, das zur Aufrechterhaltung einer guten Filtriergeschwindigkeit notwendig war, abnutschte und außerdem zum Auswaschen des unverdauten Restes eine Waschflüssigkeit verwandte, die in Temperatur und Säurekonzentration möglichst der Verdauungslösung

angepaßt war. Es wurde deshalb einfach mit einer der Säurekonzentration der Verdauungsflüssigkeit angepaßten verdünnten Salzsäure von 40–45° ausgewaschen und jedesmal das 1,5fache der Menge der Verdauungsflüssigkeit zum Auswaschen verwandt. Wasser von Zimmertemperatur verhindert in kurzem die Filtration, und 80–90° heißes

Tabelle 3.

Garnelenmehl mit verschiedener Säurekonzentration.

$p_H$ v. d. Verdauung	$p_H$ n. d. Verdauung	Protein verdaut
1,9	5,3	36,6 %
2,0	4,7	44,4 %
1,2	3,3	64,8 %
1,5	2,3	76,8 %
0,2	1,6	80,5 %
1,1	1,5	83,0 %
1,0	1,3	68,4 %
0,9	1,2	63,8 %
0,8	1,1	65,4 %
0,7	0,9	60,0 %
0,55	0,7	56,5 %

Wasser verändert die Werte, die dann durchweg zu hoch ausfallen.

Aus diesen Versuchen ergab sich folgende **Arbeitsvorschrift**: „In einem 300-cm<sup>3</sup>-Erlenmeyerkolben wird 1 g Pepsin „Merck reinst“ in 150 cm<sup>3</sup>  $n_{10}$  Salzsäure gelöst und 2 g (genau gewogen) Substanz (Fischmehl usw.) zuge-setzt. Die Flasche wird, mit einem Korkstopfen geschlossen, in einem Brutschrank bei 37–40° während 44–48 h aufbewahrt. Zu beachten ist dabei, daß mindestens 15mal in dieser Zeit gut umgeschüttelt wird in möglichst regelmäßigen Abständen. Zu empfehlen ist dabei die Verwendung eines langsam laufenden Rühr- oder Schüttelwerkes. Am Schluß der Verdauung wird die Lösung bei möglichst geringem Vakuum über ein stickstoffreies Filter abgesaugt und mit 200 cm<sup>3</sup>  $n_{10}$  Salzsäure, die auf 40–45°

Tabelle 4. Wal-Mehl mit  $p_H = 1,1$  verdaut.

Substanz	Unverdautes Protein
Wal-Mehl, nicht entfettet .....	8,0 %
Wal-Mehl, nicht entfettet .....	7,9 %
Wal-Mehl, nicht entfettet + 2 cm <sup>3</sup> Toluol .....	15,8 %
Wal-Mehl, entfettet (Äther) .....	7,0 %
Wal-Mehl, entfettet (Äther) .....	7,1 %
Wal-Mehl, entfettet + 2 cm <sup>3</sup> Toluol .....	14,5 %

erwärmt ist, ausgewaschen. Der feuchte Rückstand wird dann mit dem Filter nach *Kjeldahl* zur Bestimmung des unverdauten Proteins verbrannt.“

Eine Entfettung der Materialien ist dabei nicht nötig, da nach den Versuchen die Werte dadurch nicht beeinflusst werden (Tab. 4), ein Zusatz von Toluol (*Oshima*) ist nur schädlich (Tab. 2 und 4) und kann deshalb in Wegfall kommen. [A. 50.]

### Einige thermodynamische Eigenschaften von Wasserstoff und Deuterium.

In der oben erwähnten Arbeit von *Harold C. Urey* wird auf Wunsch des Autors noch folgender Satz nachgetragen, der auf Seite 315, rechte Spalte, Ende des zweiten Absatzes, einzufügen ist:

Seitdem dies niedergeschrieben wurde, hat *Aston* sein mit dem Massenspektrograph erhaltenes Atomgewicht des Wasserstoffs (H) von 1,0078 auf 1,0081 abgeändert<sup>1)</sup>. Mit dieser neuen Angabe für die Wasserstoffmasse verliert die von *Birge* und *Menzel* aufgestellte Betrachtung ihre Gültigkeit. Wenn auch die Schlußfolgerung dieses Abschnitts jetzt nicht mehr richtig zu sein scheint, möchte ich sie doch unverändert lassen, weil sie in der Entdeckung des Deuteriums von Bedeutung war. Es ist wahrscheinlich, daß wir ohne diese Voraussage kaum das Deuterium gesucht hätten, und seine Entdeckung wäre möglicherweise auf einige Zeit hinausgeschoben worden.

<sup>1)</sup> F. W. Aston, Nature **135**, 541 [1935].