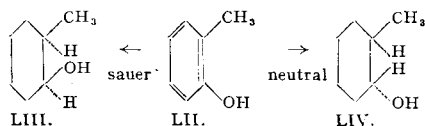


etwa vom Typ der Xylole ließ sich eine so eindeutige Lenkung nicht erreichen; es entstanden jedesmal Gemische, deren relative Zusammensetzung sich jedoch im Sinne der *Skilaschen Regel* verschieben ließ²⁶⁾.



Möglicherweise darf man darin eine Folge der schwierigen Bildung eines polaren Adduktes mit dem Reaktionsmedium sehen. Damit würde trefflich in Übereinstimmung stehen, daß sauerstoff-haltige Aromaten, also Phenole, eine starke Beeinflussbarkeit durch die zugesetzte Base oder Säure zeigen und entsprechend eindeutig cis- oder trans-Formen bilden²⁷⁾.



Daneben zeigt sich aber noch eine Nebenreaktion, die häufig zur Hauptreaktion werden kann: die Bildung von gesättigten Kohlenwasserstoffen. Das Auftreten von Über-

²⁶⁾ H. A. Weidlich u. U. Jacobshagen, erscheint demnächst in Ber. Dtsch. chem. Ges.
²⁷⁾ A. Skila u. A. Schneek, ebenda 55, 144 [1922].

hydrierungsprodukten, sowie Befunde, wie die Bildung gesättigter Ketone in neutralem oder alkalischem Medium¹⁰⁾ lassen den Gedanken berechtigt erscheinen, daß der Reaktionsablauf hier gleichartigen Gesetzen wie bei den α,β -ungesättigten Ketonen gehorcht: auch dort hatten wir das Auftreten von Kohlenwasserstoff beobachtet und die relative Beständigkeit der Ketone. Es ließe sich dabei denken, daß stets zunächst Keton und Kohlenwasserstoff nach dem bei den ungesättigten Ketonen gegebenen Schema nebeneinander entstehen und daß das gesättigte Keton bei weiterer Hydrierung erst die durch das Reaktionsmedium beeinflussten stereoisomeren Formen der entsprechenden Carbinole liefert. Damit wäre dann das Problem der Hydrierung der Phenole auf die gleichen Fragen zurückgeführt, die uns schon bei den cyclischen Ketonen beschäftigten.

Zum Schluß sei nochmals darauf hingewiesen, daß es sich im vorstehenden nur um einen Versuch handelt, zahlreiche Beobachtungen beim sterischen Verlauf der katalytischen Hydrierung von einem gemeinsamen Gesichtspunkt aus zu betrachten und die dabei gewonnenen Erfahrungen in Regeln zusammenzufassen, die eine einprägsame, bildliche Vorstellung erlauben sollen. Eine weitgehende theoretische Bedeutung soll diesen Regeln nicht zukommen. Wenn es aber gelingt, mit den so gefundenen Vorstellungen eine einfache Voraussage für einen Reaktionsverlauf zu ermöglichen oder eine Anregung zu neuen Versuchen in dieser Richtung zu geben, so soll damit der Zweck dieser Zeilen erreicht sein.

Eingeg. 5. August 1944. [A. 25.]

Neue Erkenntnisse über den biologischen Wert des Hefeeiweißes und seine Steigerung*)

Von Prof. Dr. HERMANN FINK, Inst. f. Gärungsgewerbe u. Stärkefabrikation, Berlin

Nachdem unsere 1934 begonnenen Versuche betreffend die biologischen und biotechnischen Grundlagen der heutigen Torula-Hefegewinnung aus Holzzucker¹⁾, Sulfita blaue²⁾ und Vorhydrolysaten (Pentosen-Vergärung³⁾) in großen Zügen abgeschlossen waren und der Industrie als Grundlage dienen konnten, sahen wir eine unserer Hauptaufgaben darin, einerseits genaue Kenntnis über den diätetischen Wert der Hefe zu erhalten, andererseits bei der Ausrichtung der Hefeherstellung in der Richtung Verbesserung der Qualität und Steigerung des diätetischen Wertes mitzuwirken.

Stufen dieser Entwicklung waren z. B.:

Die Erarbeitung der Verfahren zur Steigerung des Vitamin B₁-Gehaltes der relativ B₁-armen Torula-Zuchthefen⁴⁾ bis zur Höhe der Brauereiheden und noch weit darüber. Wir konnten eine bis zu 6fache Steigerung des Vitamin B₁-Gehaltes gegenüber den bisherigen Torula-Zuchthefen, und eine 7–8fache gegenüber normaler Bierhefe erreichen. Gleichzeitig fanden wir eine elegante Biosynthese von Vitamin B₅⁵⁾ und seines Phosphorsäure-Esters (Cocarboxylase) durch Hefen und andere Mikroorganismen.

Züchtung einer phosphat-armen Hefe⁶⁾, bei der nicht nur rd. 75% des bisher als notwendig erachteten, heute mangelnden Phosphats eingespart werden, sondern auch eine für die menschliche Ernährung diätetisch unbedenklichere Hefe erzielt wird.

Herabdrückung der Blei- und Arsen-Spuren auf ein erträglich erscheinendes Minimum, selbst, wenn diese Schwermetallspuren in der Züchtungsflüssigkeit (Sulfita-bleue) vorhanden sind⁷⁾. Ganz unabhängig von uns haben auf diesem Gebiete die Zellstoff-Fabrik Waldhof und die I. G.-Farbenindustrie, Werk Wolfen, beachtliche Fortschritte erzielt.

Die Erhöhung des Fettgehaltes⁸⁾ in Mikroorganismen, wobei ebenfalls von anderer Seite wesentliche Beiträge erzielt worden sind.

Bei der praktischen Beurteilung des Eiweißes in Nähr- oder Futtermitteln, so auch in der Hefe, kann man drei Hauptkriterien unterscheiden:

1. Die Konzentration, in der das Eiweiß vorliegt.

2. Die Verdaulichkeit oder Resorbierbarkeit.
 3. Den biologischen Wert bzw. die biologische Wertigkeit.

Konzentration des Eiweißes in der Hefe. Mit ihrem 50–60% Rohprotein oder 40–50% verdaulichem Eiweiß in der Trockensubstanz ist die Hefe ein Eiweißhöchstkonzentrat, das kaum von einem anderen Nähr- oder Futtermittel aus dem Pflanzenreich übertroffen wird. Demgemäß ist das sog. Nährstoffverhältnis verdauliches Eiweiß : Stärkewert außerordentlich eng und liegt bei etwa 1 : 0,6, während es vergleichsweise bei anderen Erzeugnissen aus dem Pflanzenreich bei

Hafer.....	bei 1 : 7,2,
Gerste.....	„ 1 : 10,3,
Kartoffel.....	„ 1 : 17,2,
Zuckerrübe.....	„ 1 : 23,1

liegt. Die Hefe kommt mit ihrem sehr engen Nährstoffverhältnis sogar schon an tierische Nahrungs- und Futtermittel heran, so z. B.

Fischmehl.....	1 : 0,6,
Fleischmehl.....	1 : 0,4,
Magermilch.....	1 : 1,3,
Vollmilch.....	1 : 3,7.

Bekanntlich rechnet man in der Fütterungspraxis mit einem Nährstoffverhältnis verdauliches Eiweiß : Stärkewert 1 : 5 bis 1 : 7, um höchste Milchleistungen oder besten Fleischansatz zu erzielen. Derartige Eiweißkonzentrate wie die Hefe sind deshalb in der Ernährung von Tier und Mensch besonders geeignet, eiweißarme, kohlenhydratreiche oder ballastreiche Rationen mit zu weitem Nährstoffverhältnis eiweißreicher zu machen und auf ein engeres oder sogar optimales Nährstoffverhältnis einzustellen. Die Bedeutung der hohen Konzentration eines Eiweißes geht z. B. auch daraus hervor, daß das an und für sich leicht verdauliche und gute Eiweiß der Kartoffel sich nicht auswirken kann, da es in der Kartoffel durch Kohlenhydrate zu stark verdünnt ist (Nährstoffverhältnis ~ 1 : 17!).

Verdaulichkeit oder Resorbierbarkeit. Hefeeiweiß ist ein zu rd. 90% und somit hochverdauliches und auch leicht verdauliches Eiweiß. Schon in der Zeit vor diesem Kriege, als man noch auf die Herstellung von Futterhefe abzielte, wurde von namhaften Vertretern der Tierernährungslehre⁹⁾ in guter Übereinstimmung für das Eiweiß der Torula-Hefen eine Verdaulichkeit von rd. 90% sowohl beim Wieder-

*) Vorgetragen auf der Arbeitstagung „Mikrobiologie im Vierjahresplan“ in Hannover am 9. Juli 1943 und anlässlich der Hefetagung im Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg am 30. Juli 1943.

¹⁾ H. Fink, R. Lechner u. E. Heinisch, Biochem. Z. 278, 23, 372 [1935].

²⁾ H. Fink, Z. Spiritusind. 1936, 373; diese Ztschr. 49, 775 [1936]; 51, 475 [1938].

³⁾ R. Lechner, diese Ztschr. 53, 163 [1940]; Vorratspflege u. Lebensmittelforsch. 5, Heft 3/4, S. 100 [1942].

⁴⁾ H. Fink u. F. Just, Biochem. Z. 308, 15 [1941]; H. Fink, F. Just, A. Scheunert u. K. H. Wagner, ebenda 309, 1 [1941]; H. Fink u. F. Just, ebenda 309, 212, 219 [1941]; 311, 61 [1942].

⁵⁾ H. Fink, ebenda 311, 287 [1942]; 313, 39 [1942]; Ber. dtsch. chem. Ges. 75, 2101 [1942].

⁶⁾ H. Fink, Biochem. Z. 310, 311 [1942].

⁷⁾ Unveröffentlicht: 2 Patentanmeldungen. Erf.: H. Fink u. F. Just.

⁸⁾ H. Fink, H. Haehn u. W. Hoerburger, Chemiker-Ztg. 61, 689, 723, 744 [1937]; Forschungsdienst 5, 115 [1938]; neuerdings E. Damm, Chemiker-Ztg. 67, 47 [1943].

⁹⁾ F. Honcamp, Vortrag Würzburg 1933, Verlag C. Heinstorff, Rostock 1933; G. Fingerling u. F. Honcamp, Versuchsstation 118, 263 [1934]; 121, 215 [1935]; H. Büniger, W. Kirsch u. K. Richter, Versuchsstation 121, 191 [1934]; Deutsche landwirtsch. Presse 62, 195 [1935]; K. Richter u. Mitarb., Versuchsstation 121, 215 [1934]; Tierernährung 8, 597 [1936]; 9, 95 [1937]; Z. Tierernähr. Futtermittelkunde 6, 79 [1942]; A. Scheunert u. M. Schieblich, Tierernährung 8, 113 [1934].

käuer wie beim Schwein gefunden. Auch in vitro ergaben sich ähnliche Werte. Dabei verhielten sich diese neuen Torula-Zuchthefen wie Holzzuckerhefe, Zellstoffablaugehefe und Vorhydrolysathefe in bezug auf die Eiweißverdaulichkeit praktisch gleich wie die Bierhefe, deren hohe Verdaulichkeit schon längst bekannt war.

Auch in Versuchen am Menschen sind für die Torula-Zuchthefen in der letzten Zeit Verdaulichkeitswerte bzw. Resorbierbarkeitswerte von rd. 90%¹⁰⁾ gefunden worden.

Der biologische Wert hängt von dem Gehalt an lebenswichtigen Aminosäuren ab, die der tierische bzw. menschliche Organismus selbst nicht synthetisieren kann und deshalb durch Verdauungsprozesse aus dem Eiweiß der Nahrung herausholen muß¹¹⁾. Unter den 30 bis heute bekannten, Eiweiß aufbauenden Aminosäuren gelten folgende als lebensnotwendig: Valin, Leucin, Isoleucin, Lysin, Cystin oder Methionin, Threonin, Phenylalanin, Tryptophan und Histidin¹²⁾.

Verdaulichkeit eines Eiweißkörpers und biologischer Wert, die häufig miteinander verwechselt werden, sind definitionsgemäß grundverschieden. Natürlich ist, ernährungspraktisch gesehen, Verdaulichkeit Voraussetzung für einen biologischen Wert. Aber weitgehende Verdaulichkeit kann andererseits durchaus mit biologischer Unterwertigkeit verbunden sein. Keratin (Horn) wäre z. B. auf Grund des reichlichen Vorhandenseins lebensnotwendiger Aminosäuren ein biologisch hochwertiger Eiweißkörper, da es aber ganz unverdaulich ist, können die lebensnotwendigen Aminosäuren durch die Verdauungssäfte nicht herausgelöst und somit durch den Darm auch nicht aufgenommen werden, so daß es praktisch wertlos ist. Gelatine dagegen ist praktisch vollständig verdaulich, da aber nur wenige lebensnotwendige Aminosäuren enthalten sind, ist sie biologisch minderwertig und muß durch andere Eiweißkörper ergänzt werden, wenn sie als Eiweißnahrung genügen soll.

Wir haben uns nun in den letzten Jahren, besonders im Zusammenwirken mit dem Oberkommando des Heeres, eingehend mit der Frage des biologischen Wertes von Hefeeiweiß beschäftigt. Hierfür gibt es grundsätzlich zwei Wege, den chemischen und das tierphysiologische Experiment.

Im ersteren Falle sind die einzelnen lebenswichtigen Aminosäuren, die am Aufbau des betreffenden Eiweißkörpers beteiligt sind, quantitativ zu bestimmen, nachdem man sie meist zuvor durch Säurehydrolyse oder enzymatische Spaltung aus dem Molekelverband des Eiweißes freizulegen versucht hat.

1937 bereits untersuchten *Kraut u. Schlottmann*¹³⁾ das Eiweiß der Bierhefe nach der *van Slyke*-Methode und etwas später *Fink u. Just*¹⁴⁾ erstmals das Eiweiß verschiedener Torula-Hefen, die im „Belüftebottich-Verfahren“ in verschiedenen kohlenstoffhaltigen Nährsubstraten, wie reinem Alkohol¹⁵⁾, Holzzucker nach *Scholler* und nach *Bergius*, Sulfitablaugen und Alkohol nach dem Prinzip von *Fink u. Lechner*¹⁶⁾ mit nur Ammoniak-Stickstoff

und sonstigen anorganischen Nährsalzzusätzen ohne irgendwelche Wuchsstoffgaben in infektionsfreier Dauerzüchtung unter Erzielung von konstanten Höchstaussbeuten erzeugt worden waren.

Danach dürften bezüglich der Eiweißzusammensetzung wohl keine nennenswerten Unterschiede zwischen Bierhefe und Torula-Zuchthefen bestehen, und die Torula-Hefen zeigen unter sich wieder ziemlich weitgehende Übereinstimmung in der Zusammensetzung des Eiweißes, trotz der Verschiedenheit der verwendeten Kohlenstoff-Quellen. Dieses Ergebnis war eigentlich überraschend. Stehen doch der Bierhefe zum Aufbau ihres Zelleiweißes in der gehopften Malzwürze alle stickstoffhaltigen Stoffe des Gerstenmalzes und des Hopfens zur Verfügung, während die Torula-Hefen in den oben genannten, wuchsstoff-freien Substraten und sogar in chemisch reinem Alkohol nur mit Ammoniak und sonstigen anorganischen Salzen ihre ganze Zellsubstanz und vor allem ihr Eiweiß aufbauen müssen.

Für das Cystin fanden wir damals im Eiweiß der Torula-Hefen 1,5—1,7%, Werte, die in guter Übereinstimmung mit dem *Kraut*-schen Wert für Bierhefe 1,5—1,6 stehen. *Kraut* hält diesen Wert für eine gute biologische Wertigkeit als hinreichend. Wir schlossen uns dieser Ansicht nicht an.

1941 haben *Dirr u. von Soden*¹⁷⁾ ebenfalls chemische Untersuchungen über den physiologischen Wert des Eiweißes einer in *Bergius*-Holzzucker industriell erzeugten Hefe (*Bergin*-Hefe) angestellt. Sie bestimmten folgende 5 Aminosäuren: Arginin, Histidin, Cystin, Tryptophan, Tyrosin, vorwiegend mit colorimetrischen Methoden (Einzelbestimmung), die sie auf Grund ihrer Erfahrungen für sehr zuverlässig halten. Ihre Werte für das Eiweiß der *Bergin*-Hefe wichen für manche Aminosäuren von denen von uns an den damals gezüchteten Holzzuckerhefen erhaltenen und auch von den *Kraut*-schen Werten an der Bierhefe ab. Für Cystin fanden *Dirr u. v. Soden* im Eiweiß der *Bergin*-Hefe 0,33% mit einer colorimetrischen Methode, die sie im Gegensatz zu anderen Autoren für sehr zuverlässig halten. (Wir halten diesen Wert für zu niedrig.)

Auch an diesem Beispiel zeigt sich, daß bezüglich der chemischen Bestimmung der einzelnen Aminosäuren noch erhebliche Unsicherheiten bestehen. Dazu kommt noch, daß nicht alle 10 lebenswichtigen Aminosäuren mit den einzelnen Arbeitsmethoden quantitativ bestimmt werden können, und selbst wenn alle Aminosäuren einer quantitativen Ermittlung leicht zugänglich wären, dann könnte man heute aus den Zahlenwerten mangels hinreichenden statistischen Materials noch nicht sicher schließen, ob die einzelnen Aminosäuren im Hinblick auf den biologischen Wert auch in hinreichender Menge und untereinander im wirksamsten harmonischen Mengenverhältnis vorhanden wären. Es gibt bis heute noch keine allen Anforderungen genügenden chemischen Methoden.

Der zweite Weg zur Bestimmung des biologischen Wertes eines Eiweißes ist das sinngemäß angestellte Tierexperiment. Es ist, da es unmittelbar Aussagen über den biologischen Wert eines Eiweißkörpers zunächst für das betreffende Versuchstier gestattet, wirklichkeitsnäher; es läßt aber auch Aussagen für den Menschen zu, besonders dann, wenn wir es bezüglich der Auswahl der Versuchstiere (Ratte, Schwein, Hund) und bezüglich der Zusammenstellung der Versuchsnahrung den Verhältnissen der menschlichen Ernährung anpassen. In erster Näherung läßt sich sagen, daß der biologische Wert eines Eiweißkörpers um so höher liegt, je ähnlicher in seiner Zusammensetzung das betreffende Nahrungs- oder Futtereieiweiß dem Körper- bzw. Organeieiweiß des zu ernährenden Tieres ist. Für den Menschen und den nicht ausschließlichen Pflanzenfresser ist pflanzliches Eiweiß (und somit auch unser Hefeeiweiß) i. allg. dem tierischen Eiweiß (Fleisch, Milch, Ei, Fisch) bezüglich seines biologischen Wertes unterlegen, also unterwertig.

Es wurde daher eine eigene ernährungsphysiologische Station am Institut geschaffen, in der ständig mehrere hundert Versuchstiere, vorwiegend Ratten, aber auch Schweine und Hammel zur Verfügung standen; mit der Durchführung wurde *Dr. Hock*¹⁸⁾ betraut.

Zur Bestimmung des biologischen Wertes des Eiweißes verschiedener Hefarten und Pilze bedienten wir uns einer Arbeitsweise, die im Prinzip erstmalig von *McCullum*¹⁹⁾ angewandt wurde und die unseres Erachtens²⁰⁾ den Fütterungs- bzw. ernährungspraktischen Verhältnissen näher kommt als die Methode von *Thomas*²¹⁾-*Mitchel*²²⁾, die allerdings auch ganz andere Aussagen macht, worauf hier nicht eingegangen werden kann. Als Ver-

	Probe I	Probe II	Probe III	Probe IV	Probe V	Bierhefe, Durchschnittswert nach <i>Kraut</i>	Bierhefe, wahrscheinlichste Werte nach <i>Kraut</i>
	%	%	%	%	%	%	%
Hum-N	5,91	5,60	5,73	5,71	5,62	3—4	—
Ammoniak-N....	12,75	12,28	12,46	12,55	16,05	16,0	—
Gesamt-N der Basenlösung...	28,13	29,46	28,49	27,93	24,42	25—29	—
Amino-N der Basenlösung...	17,34	18,10	15,63	16,42	14,28	15—16	—
Nicht-Amino-N d. Basenlösung...	10,79	11,36	12,86	11,51	10,14	9,6—12,6	11
Arginin	11,23	10,92	11,31	12,07	10,77	11—11,8	11
Histidin	4,06	5,26	5,94	3,93	1,67	2,3—5,9	3
Lysin	11,75	11,60	9,70	10,48	8,14	10,0	11
Cystin	1,62	1,71	1,58	1,48	1,67	1,5—1,6	1,6
Gesamt-N des Basenfiltrats ..	52,36	51,18	52,72	52,96	53,66	53—54	—
Amino-N des Basenfiltrats ..	47,50	46,03	47,95	48,86	49,31	48,4—49,3	—
Nicht-Amino-N d. Basenfiltrate ..	4,86	5,15	4,77	4,10	4,35	4,5—4,7	—
Tryptophan	1,34	1,35	1,22	1,26	1,36	0,9	0,9
Tyrosin	2,50	2,93	2,74	3,35	3,39	2,5	2,5

Probe I in Alkohol als einzige Kohlenstoff-Quelle.
 Probe II in *Bergius*-Holzzucker.
 Probe III in Holzzuckerwürze nach *Scholler*.
 Probe IV in Sulfitablauge (Laboratoriumszüchtung).
 Probe V in Sulfitablauge (technische Züchtung).

Tabelle 1. Torula-Hefen, gezüchtet mit sonst nur mineralischen Zusätzen nach dem Lüftungsverfahren.

¹⁰⁾ A. Bickel, Biochem. Z. 310, 354 [1942]; K. Dirr, ebenda 312, 233 [1942]; Albers, unveröffentlichte Privatmitteilung.

¹¹⁾ E. Abderhalden: Lehrbuch der physiolog. Chemie Berlin-Wien 1931, Urban u. Schwarzenberg, 6. Auflage.

¹²⁾ W. C. Rose, Science [New York] 86, 298 [1937].

¹³⁾ Biochem. Z. 291, 406 [1937].

¹⁴⁾ Ebenda 300, 84 [1938]; 303, 234 [1939]; 312, 390 [1942].

¹⁵⁾ H. Fink, J. Krebs u. R. Lechner, ebenda 290, 135, 447 [1937]; 300, 59 [1938].

¹⁶⁾ H. Fink, R. Lechner u. E. Heinisch, ebenda, 278, 23, 372 [1935]; Z. Spiritusind. 1935, 139, 160; diese Ztschr. 49, 775 [1936]; 51, 475 [1938]; Z. Spiritusind. 1936, 373.

¹⁷⁾ Biochem. Z. 309, 329 [1941].

¹⁸⁾ Ebenda 311, 385 [1942]; 314, 54 [1943].

¹⁹⁾ E. W. McCullum u. N. Simmonds: The newer Knowledge of nutrition. 3. Aufl., Berlin-Wien 1928.

²⁰⁾ vgl. A. Hock, Wschr. Brauerei 1941, 164.

²¹⁾ K. Thomas, Arch. Anatomie 25, 219 [1909].

²²⁾ H. H. Mitchel, J. biol. Chemistry 58, 873, 905, 923 [1924].

suchstiere dienen dabei junge weiße Ratten. Gleichmäßiges Tiermaterial von gleich alten Würrn wurde zur Zusammenstellung der Gruppen von meist je 30 Versuchstieren verwendet. In jeder Gruppe bekommen die Tiere gleichviel eines in bezug auf Eiweiß, Kohlenhydrate, Fett, Salze und Ergänzungsstoffe kompletten Futters. Sie können sich satt fressen. Übriges Futter wird zurückgewogen.

Während alle Bedingungen möglichst gleichgehalten werden, ist die Art bzw. Herkunft des Eiweißes in der Nahrung verschieden. Dabei ist die Menge des insgesamt verabreichten Eiweißes gleich, sie ist hinreichend, aber nicht überschüssig. Das Nährstoffverhältnis liegt bei etwa 1 : 10, was nach McCollum zur Aufzucht von jungen Ratten ohne Nährschäden eben noch ausreicht. Hierdurch wird auch die Empfindlichkeit der Methode gewährleistet.

Nun wurden bei unseren Versuchen in Anlehnung an unsere deutsche Volksernährung, in der normalerweise ungefähr $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{6}$ des Eiweißverzehrs durch Broteiwieß gedeckt wird, bei allen Gruppen etwa 15% des Futtereiweißes in Form von Weizen- und Roggeiwieß gegeben. Gleichzeitig sollte dadurch eine zu einseitige Eiweißversorgung der Tiere verhindert werden. Die übrigen 85% waren das jeweils zu untersuchende Futtereiweiß und stellten die eigentliche Variable bei unseren Versuchen dar. In einem Fall bestanden sie nur aus Hefe- oder Pilzeiwieß oder aus Gemischen von Hefeiweiß mit tierischem Eiweiß oder aus Hefeiweiß unter Zulage einzelner Aminosäuren z. B. Cystin; im anderen Fall zum Vergleich nur aus tierischem Eiweiß, z. B. aus Fisch- oder Milcheiwieß. Die Versuchsdauer betrug, soweit die Tiere bei einigen Gruppen nicht vorher verendeten, bis zu 180 Tagen. Die von den Muttertieren abgesetzten jungen Ratten mit einem ungefähren Gewicht von 50 g wurden nach Beginn der Versuche in regelmäßigen Abständen gewogen und Zeit/Gewicht-Kurven aufgestellt. Das Wachstum der Ratten dient also bei dieser Versuchsanordnung als Gradmesser für die biologische Qualität des jeweiligen Nahrungseiweißes.

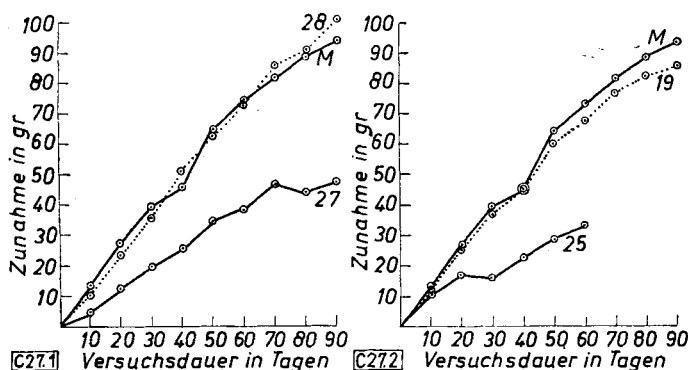


Abb. 1. Gewichtszunahmen der Gruppen M, 27, 28.

Gruppe M: Milcheiweiß (7,1%).
Gruppe 27: Brauerhefe-Eiweiß (7,5%).
Gruppe 28: Wie Gruppe 27 + 0,2% Cystin.

Abb. 2. Gewichtszunahmen der Gruppen M, 25, 19.

Gruppe M: Milcheiweiß (7,1%).
Gruppe 25: Holzzuckerhefe-Eiweiß (11,6%).
Gruppe 19: Wie Gruppe 25 + 0,2% Cystin.

Die Ergebnisse, wie sie sich aus den Wachstumskurven ergeben, waren in Kürze die folgenden²³⁾:

1. Bei vollem Ersatz des tierischen Eiweißes durch Hefeiweiß war das Wachstum um rd. 50% schlechter als bei tierischem Eiweiß allein. (Daran ändert auch eine 50%ige Erhöhung der Hefeiweißgabe unter Verengung des Nährstoffverhältnisses nur wenig (Gruppe 19); die Wirkung stärkerer Erhöhungen muß noch untersucht werden.) Das Hefeiweiß ist somit bezüglich seiner Wachstumswirkung wie eine Reihe anderer pflanzlicher Eiweiße auch eindeutig unterwertig und bedarf um vollwertig zu sein der Ergänzung durch andere Eiweißkörper oder Aminosäuren.
2. Bei teilweisem Ersatz des tierischen Eiweißes durch Hefeiweiß in gestuften Mischungsverhältnissen fanden wir, daß z. B. bei Fischeiweiß bis zu einem Mischungsverhältnis von etwa $\frac{2}{3}$ Hefeiweiß und $\frac{1}{3}$ Fischeiweiß die gleiche Wachstumsgeschwindigkeit erzielt wird wie mit Fischeiweiß allein. Dieser, der allgemeinen Mischungsregel scheinbar zuwiderlaufende Befund, der für den praktischen Einsatz von Hefe in die Ernährung oder Fütterung sehr wichtig ist, erklärt sich damit, daß die im Hefeiweiß fehlenden oder in zu geringer Menge vorhandenen, lebenswichtigen Aminosäuren, schon durch relativ geringe Mengen von tierischem Eiweiß bis zur physiologisch nötigen Menge ergänzt werden.

Welche Schlußfolgerungen ergeben sich nun aus diesen Versuchen bezüglich der Zusammensetzung und bezüglich des physiologischen Wertes des verfütterten Ei-

weißes, insbes. des Hefeiweißes? D. h. zunächst, welche lebensnotwendigen Aminosäuren fehlen oder sind in zu geringer Menge vorhanden?

Nach unseren chemisch-analytischen Untersuchungen aus dem Jahre 1938¹⁴⁾, besonders aber den Befunden von Dirr u. Mitarb.¹⁷⁾ aus dem Jahre 1941 stand bereits fest, daß der Cystin-Gehalt im Hefeiweiß niedriger ist als in anderen Eiweißkörpern. Da aber von den etwa 10 lebenswichtigen Aminosäuren von uns nur 6, von Dirr nur 5 zahlenmäßig ermittelt worden waren, war nicht mit Sicherheit zu schließen, daß nun gerade das Cystin fehle. Wichtig war daher der Befund von Skinner u. Mitarb.²⁴⁾, daß besonders durch Zulagen von Cystin das Wachstum der Ratten, die mit Schimmelpilzeiwieß gefüttert wurden, verbessert wird. Wie liegen nun die Verhältnisse bei der Hefe?

Unsere systematischen Versuche mit gestuften Cystin-Zulagen ergaben in Kürze folgendes:

Legt man zur Nahrung unserer vorwiegend (85%) mit Hefeiweiß ernährten Ratten Cystin zu, u. zw. in einer Menge von 0,2%, bezogen auf die Nahrung, oder 2%, bezogen auf das Eiweiß, so wird die Gewichtszunahme enorm gesteigert, und man erhält den gleichen Wachstumseffekt wie mit tierischem Eiweiß (Milcheiweiß). Die Wachstumskurven, die sich bisher etwa wie 50 : 100 verhielten, decken sich bei Bierhefe nunmehr praktisch vollständig mit denen bei Milcheiweiß (Abb. 1).

Danach fehlt dem Hefeiweiß, wenigstens dem Bierhefeiweiß, tatsächlich nur 1 lebenswichtige Aminosäure, das Cystin (oder Methionin). Fügt man diese Aminosäure in einer Menge von 2% dem Hefeiweiß zu, so wird dieses dem Milcheiweiß gleichwertig. Sein biologischer Wert steht dann in nichts dem als vollwertig angenommenen tierischen Eiweiß, dem Milcheiweiß, nach.

Dieses glatte Ergebnis wurde allerdings bisher nur mit Bierhefe erreicht. Bei einer in Holzzucker industriell gezüchteten Torula-Hefe (Bergin-Hefe) (Abb. 2) konnte durch gleich große Cystin-Zulagen bisher noch kein ebenso eindeutiger Effekt erreicht werden. Vielleicht gelingt dies durch höhere Cystin-Gaben, Versuche in dieser Richtung sind im Gange. Immerhin muß man bei den Torula-Zuchthefen mit dem Fehlen oder, was wahrscheinlicher ist, zu geringem Vorhandensein weiterer Aminosäuren rechnen. Auch mit anderen, in verschiedenen technischen Substraten gezüchteten Hefen, laufen Fütterungsversuche in unserem Laboratorium.

Das bessere Abschneiden der Bierhefe erklärt sich wahrscheinlich damit, daß diese aus dem äußerst günstigen Nährboden, in dem sie wächst, nämlich der gehopften Malzwürze, sich auch die biosynthetisch schwierig zugänglichen Eiweißbausteine, die aus dem Gerstenmalz²⁵⁾ oder gar aus dem Hopfen stammen, einverleiben kann, während die Torula-Zuchthefer sich ihr Zelleiweiß aus den Zuckerarten des Holzzuckers oder der Sulfitablauge mit nur anorganischen Ammonium-Salzen und anderen Nährsalzen aufbauen muß.

In methodischer Hinsicht ist hervorzuheben, daß sich unsere Versuchsanordnung als recht empfindlich erwiesen hat. Sie macht nach allen bisherigen Ergebnissen differenzierter Aussagen über den biologischen Wert und den Aufbau und die Zusammensetzung der Eiweißarten als die rein chemischen Methoden, denn bei unseren damaligen analytisch-chemischen Untersuchungen, unter Verwendung der *van Slyke*-Analyse, konnten wir an Hefen verschiedener Herkunft keine ins Gewicht fallenden Unterscheidungsmerkmale im Eiweiß entdecken.

Die zweite Frage, nach dem Schicksal der nur kümmerlich vegetierenden „Hefetiere“, die z. B. nach 90 Tagen nur das halbe Gewicht gegenüber den Milcheiweißtieren hatten, führte zu einer für die Physiologie neuartigen Beobachtung.

Die Tiere fraßen ebenso gut und zeigten keinerlei Anzeichen für Hungerödem, lediglich der Kopf war verhältnismäßig groß; bei gelegentlich verendeten Tieren konnte sogar unbedeutende Fettanlagerung beobachtet werden. Sämtliche Tiere starben vor Beendigung der Versuche, u. zw. erfolgte der Zusammenbruch ganz plötzlich, oft innerhalb weniger Stunden. Wir dachten zunächst an Paratyphus oder andere Infektionskrankheiten und übergaben die verendeten Tiere dem Veterinär-Pathologischen Institut der Universität Berlin,

²³⁾ C. E. Skinner u. A. E. Müller, Zbl. Bakteriell., Parasitenkunde Infektionskrankh., Abt. I, Orig. 91, 488 [1941].

²⁵⁾ Nach neueren Untersuchungen von A. Hock¹⁸⁾ zählt das Gersteneiweiß bezüglich seines biologischen Wertes zu den allerbesten Eiweißen pflanzlicher Herkunft. Es ist dem Hefeiweiß glatt überlegen.

das in pathologischen Fragen mit uns zusammen arbeitet. Dort stellte Prof. *Dobberstein*²⁶⁾ fest, daß neben anderen Organveränderungen eine ganz spezifische Form des Leberzerfalls vorliegt, ähnlich dem bei der Eklampsie der schwangeren Frau. Diese Beobachtung ist inzwischen immer wieder an den mit Hefeeiweiß oder anderem cystin-armen Eiweiß aufgezogenen Ratten gemacht worden. Es liegen bisher rd. 200 Sektionsbefunde vor; bei ~ 80% der verendeten Tiere mußte dieser charakteristische Leberzerfall als Todesursache angenommen werden.

Bei den mit Hefeeiweiß + 2% Cystin aufgezogenen Tieren traten diese Leberveränderungen nicht auf, Cystin verhindert somit sowohl das Kümmerwachstum als auch die beschriebenen spezifischen Ausfallserscheinungen. Ähnliche Erscheinungen bei der Fütterung mit anderen cystin-armen Eiweißkörpern, auch tierischer Herkunft, entlasten die Hefe von dem Vorwurf, daß speziell nur ihr Eiweiß die beobachteten Schäden auslöse.

Bezüglich des Mechanismus der Cystin-Wirkung sind wir bisher noch auf Vermutungen angewiesen. Einige diesbezügliche Arbeitshypothesen sind in unseren Originalarbeiten^{23, 26)} ausgesprochen worden.

Unsere neuartigen Befunde über die Wirkung des Cystins veranlaßten uns unlängst, für unsere weiteren Versuche die Arbeitshypothese auszusprechen, daß nicht nur bei Mangel an Cystin, sondern auch bei Mangel an anderen lebensnotwendigen Aminosäuren spezifische Ausfallserscheinungen ausgelöst werden, ähnlich denen, wie sie bisher bei Mangel an Vitaminen beobachtet worden sind.

Ganz ähnliche Befunde wurden auch bei dem Eiweiß von *Schimmelpilzmycel* erhalten. Untersucht wurde bisher besonders der im ostasiatischen Gärungs- und Nahrungsmittelgewerbe seit mehreren tausend Jahren gebräuchliche Reisschimmel *Aspergillus oryzae*. Bei einigen wenigen Versuchen damit, die noch erweitert werden müssen, war das Wachstum der Ratten als Gradmesser für den physiologischen Wert dieses Schimmelpilzeiweißes sogar etwas günstiger als bei Hefeeiweiß. Die Steigerung durch Cystin war aber weniger ausgeprägt. Auch hier traten die spezifischen Ausfallserscheinungen auf.

Da es nicht erwiesen ist, daß in unserer Kriegsernährung das an und für sich wenige tierische Eiweiß oder anderes pflanzliches Eiweiß²⁷⁾ die Komplettierung des Hefeeiweißes durchführen kann, wäre an eine Ergänzung der fehlenden Aminosäure zu denken.

Hier liegen die Verhältnisse insofern günstig, als unter den lebenswichtigen Aminosäuren das Cystin relativ leicht zu-

gänglich ist. Es findet sich besonders reichlich in den Gerüsteiweißkörpern oder Skleroproteiden, besonders in den Keratinen und Pseudokeratinen wie Haaren, Wolle, Horn usw. und könnte am einfachsten durch geeignete Säurehydrolyse aufgeschlossen werden.

	%		%
Haare	8,9—15,5	Federn	6,8
Wolle	11,9—13,1	Schildpatt	8,6
Horn	8,2—8,7	Waalborsten	9,5
Nägel	12,0	Haut	3,8
Stacheln	9,4	Hefe	0,3—1,5

Tabelle 2. Cystin-Gehalt verschiedener Keratine²⁸⁾.

Auf den ersten Blick mag die schon früher vorgeschlagene Verwendung derartiger natürlicher Cystin-Quellen zu Ernährungszwecken, in unserem Fall zur Aufwertung des Hefeeiweißes, ungewöhnlich erscheinen. Keratinhydrolysate haben aber seit einiger Zeit sowohl in der Therapie z. B. in Form des Detoxins der Firma Wülfing als auch in der Diätetik und besonders in der Fütterungspraxis Eingang gefunden. So dürfen z. B. Hornhydrolysate nach dem Nahrungsmittelgesetz seit 1936 zur Herstellung von Suppenwürzen verwendet werden. Weiterhin sind vor allem in der amerikanischen Fütterungspraxis mit der Beifütterung von Keratinhydrolysaten besonders bei Schweinen gute Ergebnisse erzielt worden.

Da der größte Teil der Bierhefe und besonders auch der aus Zellstoffabläugen, Vorhydrolysaten und Holzzucker gewonnenen Hefe künftig mehr und mehr in Form von Hefextrakten, Hefepasten, Brotaufstrichen, Hefewürzen in den Handel kommen wird, dürfte auch das Zufügen der nur geringen Mengen von Cystin- oder cystin-reichen Keratin-Aufschlüssen technisch keine nennenswerten Schwierigkeiten machen.

Der einfachste Weg wäre natürlich, eine mit physiologisch vollwertigem Eiweiß ausgestattete cystin-reichere Hefe zu züchten. Versuche in dieser Richtung sind in unserem Laboratorium im Gange. Es ist gemeinsam mit Frl. Dr. *Schlie* bisher gelungen, den Gehalt an organischem Schwefel in der Hefe zu verdoppeln. Aber auch eine rein chemisch-industrielle Synthese dürfte, soweit sie das Cystin oder Methionin zu entsprechenden Preisen zur Verfügung stellen könnte, nach den durch unsere Arbeiten eröffneten Aussichten lohnend sein.

Jedenfalls sind durch diese Versuche neue Möglichkeiten und gangbare Wege aufgezeigt, wie man das biologisch unterwertige Hefeeiweiß zu biologisch vollwertigem Eiweiß aufwerten kann.

Eingeg. 21. Februar 1944. [A. 27.]

²⁶⁾ *Dobberstein* u. *Hock*, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **280**, 21 [1943].

²⁷⁾ Diesbezügliche Versuche mit verschiedenen Pflanzeiweißen sind im Gange.

²⁸⁾ *Block*, J. biol. Chemistry **127**, 685 [1939]; **128**, 181 [1939].

Analytisch-technische Untersuchungen

Eine neue photometrische Methode zur Phosphorsäure-Bestimmung

Von Prof. Dr. G. KORTÜM, Dr. M. KORTÜM-SEILER und B. FINCKH.

Physikalisch-chemisches Institut der Universität Tübingen.

I. Messprinzip.

Das Prinzip der Methode beruht auf der lange bekannten Tatsache, daß Phosphat-Ionen in Lösung mit Eisen(III)-Ionen Komplexe bilden. Die Phosphorsäure stört deshalb bei einer Reihe von Eisen-Bestimmungen insofern, als sie die Bildung anderer Eisen-Komplexe teilweise verhindert. Z. B. kann eine Eisen(III)-rhodanid-Lösung unter geeigneten Bedingungen durch Phosphorsäure praktisch entfärbt werden¹⁾. Ähnlich wirkt Phosphorsäure auch auf andere farbige Eisen-Verbindungen. Aus der Abnahme der Farbintensität einer solchen Eisen-Verbindung kann daher umgekehrt auf die Menge der zugesetzten Phosphat-Ionen geschlossen werden. Je lockerer die betreffende farbige Eisen-Verbindung ist, um so leichter wird ihr Gleichgewicht zugunsten der Bildung des Eisenphosphat-Komplexes verschoben, um so stärker wirkt sich also ein bestimmter Phosphorsäure-Zusatz aus. Da die Liganden im Eisenphosphat-Komplex an und für sich schon schwach gebunden sind, sollte die farbige Eisen-Verbindung nach Möglichkeit lockerer sein. Andererseits soll die Farbe möglichst stabil, d. h. zeitlich konstant sein, was bei der Eisenrhodanid-Färbung nicht der Fall ist. Dagegen bilden Eisen(III)-Ionen mit Salicylat-Ionen in saurer Lösung eine violette

Komplexverbindung, deren Farbe zeitlich konstant und sehr phosphorsäure-empfindlich ist. Unter geeigneten Versuchsbedingungen nimmt die Farbintensität der Eisen(III)-salicylat-Verbindung bei Zugabe der zweifach äquivalenten Phosphat-Menge (bezogen auf die Eisen(III)-Konzentration) um mehr als 50% ab; sie ist sofort nach Herstellung der Lösung konstant und bleibt tagelang unverändert. Mit Hilfe einer Eichkurve kann somit aus der Farbintensität einer Eisen(III)-salicylat-Lösung bekannter Konzentration die Phosphat-Konzentration ermittelt werden.

II. Allgemeine Versuchsbedingungen.

Die beschriebene Methode ist nur unter Einhaltung bestimmter Versuchsbedingungen, d. h. in einem bestimmten pH-Bereich und unter bestimmten Konzentrationsverhältnissen anwendbar. Für die Wahl dieser Bedingungen sind folgende Gesichtspunkte maßgebend:

a) Die Geschwindigkeit der Bildung des Eisenphosphat-Komplexes ist pH-abhängig. Die Gleichgewichtseinstellung erfolgt nur unterhalb von pH ~ 2 momentan. Schon bei pH = 2,7 stellt sich auch innerhalb von 24 h kein Gleichgewicht ein. Es wäre aus diesem Grunde erwünscht, die Messungen in möglichst saurem Medium durchzuführen.

¹⁾ R. F. Weinland u. F. Ensgraber, Z. anorg. allg. Chem. **84**, 349 [1913].