

Lineare Programmierung (Berlin 1963). — 9. LORENZ, G., Kraftfutter **46**, Nr. 3 (1963). — 10. MADDY, K. H., R. B. GRAINGER, W. A. DUDLEY, and F. PUCHAL, Feedstuffs **1963**, April 6, 28. — 11. REISCH, E., Die lineare Programmierung in der landwirtschaftlichen Betriebswirtschaft (München 1962). — 12. SCHOLTYSEK, S., G. LORENZ und H. HÄNDLER, Kraftfutter **46**, Nr. 3 (1963). — 13. TRÉMOLIÈRES, J., Annales Nestlé, 252–263 (Lausanne 1961). — 14. WAUGH, J., Farm Economics **33**, 299 (1951). — 15. WEINSCHENK, G. und E. NEANDER, Agrarwirtschaft **8**, 321 (1959); Kraftfutter **43**, Nr. 2, 60 (1960). — 16. British Medical Association, Report of the Committee on Nutrition (London 1950). — 17. Canadian Council on Nutrition, Bulletin Nutrition, 2. Jg., 1 (1950). — 18. Die wünschenswerte Höhe der Nahrungszufuhr, Empfehlungen des Ausschusses für Nahrungsbedarf der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e. V., Frankfurt/M., 2. überarb. Ausgabe, (Frankfurt/M. 1962). — 19. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Nutritional Studies on Calorie Requirements (Rome 1957). — 20. Kleine Nährwerttabelle der Deutschen Gesellschaft für Ernährung, zusammengestellt von WIRTHS, W., 9. verb. Auflage (Frankfurt/M. 1962). — 21. Nederlandse Voedingsmiddelem Tabel, Uitgave van het Voorlichtingsbureau voor de Voeding. Dir. Prof. Dr. C. DEN HARTOG (Uitgave 1957). — 22. Physiologische Ernährungsnormen, bestätigt vom Ministerium für Gesundheitsschutz (Moskau 1951). Als Anhang wiedergegeben in der deutschen Bearbeitung von: SCHTENBERG, A., G. M. GELLER und H. F. KAZPRSHAK, Chemische Zusammensetzung und Nährwert der Lebensmittel (Red. BOLDYREW, T. J. und O. P. MOLSCHANOWA) (Moskau 1954), deutsche Bearbeitung von H. K. GRÄFE (Berlin 1959). — 23. Recommended Dietary Allowances, Food and Nutrition Board, National Research Council, Publication 589, Revised 1958 (Washington D. C. 1958). — 24. Statistisches Bundesamt, Preise, Löhne, Wirtschaftsrechnungen, Reihe 13, Wirtschaftsrechnungen II. Verbrauch in Haushalten von Renten- und Fürsorgeempfängern 1962 (Stuttgart 1963).

Anschriften der Verfasser:

Priv.-Doz. Dr. WILLI WIRTHS, Max-Planck-Institut für Ernährungsphysiologie, Dortmund, Rheinlanddamm 201  
Dr. med. ALFONS BECHER, DEGUSSA, Frankfurt (Main), Weißfrauenstraße  
WALTER PRINZ, Hanau (Main), Uferstraße 17.

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz  
(Direktor: Prof. Dr. Dr. K. Lang)

## Physiologische Wirkungen und Stoffwechsel dimerer Fettsäuren

### II. Mitteilung: Stoffwechsel\*)

Von A. FRICKER, E. SCHÄFFNER und K. LANG

Mit 1 Abbildung und 3 Tabellen

(Eingegangen am 19. 3. 1964)

Der Stoffwechsel von Fetten im tierischen und menschlichen Körper ist ein noch nicht in allen Einzelheiten geklärter Vorgang. Zwar weiß man, daß Nahrungsfette praktisch unverändert aus dem Magen in den Darm gelangen. Dort werden sie teilweise enzymatisch aufgespalten in Diglyzeride, Monoglyzeride und – in sehr geringem Umfang – in freie Fettsäuren und Glycerin. (Die frühere Annahme einer praktisch vollständigen Spaltung in freie Fettsäuren und Glyze-

\*) I. Mitteilung: CZOK, G., GRIMM, W., KIECKEBUSCH, W., BÄSSLER, K. H. und K. LANG, Physiologische Wirkungen und Stoffwechsel dimerer Fettsäuren (Physiologische Wirkungen) folgt in Bd. 5, Heft 2.

rin hat sich als unrichtig herausgestellt.) Dieses Gemisch wird zusammen mit unveränderten Triglyzeriden von den Mucosazellen resorbiert, wobei eine Resynthese von Triglyzeriden stattfindet. Über den Mechanismus dieser Resynthese ist man nur mangelhaft unterrichtet. Die Triglyzeride werden dann an die Lymphe abgegeben, woraus sie in Form von Chylomikronen in das Blut gelangen. Hieraus verschwinden diese aber ziemlich rasch, wobei für diese „Klärungsreaktion“ das Heparin eine Rolle spielt. Es tritt eine durch Heparin aktivierte Lipase auf, die die Triglyzeride spaltet, wodurch das getrübbte Plasma wieder klar wird. Die entstandenen freien Fettsäuren werden an Plasma-Albumin gebunden, verbleiben aber nur ganz kurze Zeit im Blut. Die nächste Station im Stoffwechsel ist die Leber; Leberzellen sind in großem Umfange zur Aufnahme von Fettsäuren aus dem Blut befähigt. Daneben konnte – bei Versuchen mit isotonenmarkierten Fetten – auch bald in anderen Organen, allerdings in wesentlich geringerem Umfange, aus den Chylomikronen stammendes Fett nachgewiesen werden [LANG (1)].

Die in den Chylomikronen enthaltenen Fettsäuren werden, soweit sie der Verbrennung im Körper unterliegen, rasch oxydiert; bei der Ratte z. B. beginnt praktisch sofort nach einer i. v.-Injektion von mit  $^{14}\text{C}$  markierten Chylomikronen die Ausatmung von  $^{14}\text{CO}_2$ . Die Art der Nahrungszusammensetzung ist von Einfluß auf die Oxydationsgeschwindigkeit [LANG (1)]. Nicht für die Oxydation benötigtes Nahrungsfett wird im Körper als Depotfett gespeichert.

Die Zusammensetzung des Depotfettes ist also in gewissem Umfang von der Art des Nahrungsfettes abhängig, wie man leicht durch Verfütterung von markierten Fetten und durch Analyse des Depotfettes nach Verfütterung von Fetten mit charakteristischer Fettsäurezusammensetzung [siehe z. B. KINGSBURY und Mitarb. (2), BHALERAO, ENDERS und KUMMEROW (3), CENTURY und Mitarb. (4)] beweisen kann.

Art und Menge des verfütterten Nahrungsfettes sind aber auch von Bedeutung für die Höhe der Blutlipidwerte (Gesamt-Lipid-, Cholesterin- und Gesamt-Lipidphosphor-Gehalt). Insbesondere die Beeinflussung des Cholesteringehaltes war schon Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Dabei wirken im allgemeinen solche Fette, die einen niedrigen Schmelzpunkt und eine hohe Jodzahl aufweisen, cholesterinsenkend, solche mit hohem Schmelzpunkt und niedriger Jodzahl cholesterinsteigernd. Die Ursache liegt im verschiedenen Gehalt an Polyensäuren. Eine sichere Gesetzmäßigkeit existiert allerdings nicht; auch können andere Nahrungsbestandteile wie Proteine ebenfalls einen Einfluß haben.

Auch chemische Veränderungen des Nahrungsfettes können sich im Hinblick auf den Stoffwechsel bemerkbar machen. Damit verbunden besteht die Möglichkeit, daß auch die Blutlipid-Werte beeinflußt werden. So wurde von LANG und Mitarb. (5) gezeigt, daß durch Verfütterung von mehr oder weniger stark epoxidiertem Sojaöl an Ratten z. T. signifikante Änderungen im Gehalt des Blutes an den genannten Lipiden eintraten. Ebenso führte die Verfütterung autoxydierten Sojaöls (6) zu signifikant verschiedener Zusammensetzung des Körperfettes, was am Beispiel der darin enthaltenen Polyensäuren demonstriert wurde.

Untersuchungen, die sich mit den Veränderungen der Blutlipidwerte bei Verfütterung von dimeren Fettsäuren befaßten, sind unseres Wissens noch nicht bekannt geworden. Es schien daher von Interesse zu sein, zu untersuchen, ob eine Verfütterung solcher dimeren Fettsäuren, die ja das charakteristische

Reaktionsprodukt bei der Hitzepolymerisierung von Fetten darstellen, einen Einfluß auf die genannten Kriterien hat. Auch sollte geprüft werden, ob und gegebenenfalls in welchem Umfang ein Einbau der Dimeren in das Körperfett erfolgt bzw. in welcher Weise die sonstige Zusammensetzung des Körperfettes beeinflusst wird.

### Methodik

#### a) Gewinnung des Blutserums

Nach 30–32 Wochen Fütterungszeit mit den in der I. Mitteilung (Versuch A) angegebenen Diäten wurden die Tiere in Äthernarkose getötet und entblutet. Die Serumgewinnung erfolgte durch 20 Minuten langes Zentrifugieren bei etwa 2000 g.

#### b) Bestimmung des Gesamt-Lipid-Gehaltes, des Cholesterins und des Gehaltes an Gesamt-Lipidphosphor im Serum

Sie erfolgte nach der von DEGWITZ und LANG (7) angegebenen Methodik.

#### c) Extraktion der Gesamt-Körperfettsäuren aus den Tieren

Die Tiere wurden im gefrorenen Zustand (bei  $-20^{\circ}$  in der Tiefkühltruhe eingefroren) zerkleinert und mit 400 ml 20%iger KOH (je Tier)  $3\frac{1}{2}$  Stunden in Stickstoffatmosphäre am Rückflußkühler zur Zerstörung und Lösung organischer Bestandteile sowie zur Verseifung des Fettes gekocht. Nach dem Abkühlen wurde mit 4n Schwefelsäure angesäuert, die Lösung in 4 Zentrifugengläser verteilt und 3 mal mit Petroläther (120, 70, 50 ml) ausgeschüttelt. Nach dem Zentrifugieren wurde die Petrolätherschicht abgehebert. Anschließend erfolgte ein Ausschütteln der vereinigten Petrolätherfraktionen mit Wasser. Die mit Natriumsulfat (wasserfrei) getrockneten Lösungen wurden zur Trockne gedampft und bis zur Gewichtskonstanz über Paraffinspänen getrocknet.

#### d) Gaschromatographische Bestimmung der Fettsäurezusammensetzung

Etwa 1 g der nach c) gewonnenen freien Fettsäuren wurde mit aus 2,15 g p-Tolylsulfonylmethylnitrosamid hergestellter Diazomethanolösung (nach Merck-Vorschrift Nr. 248) versetzt. Nach Stehen über Nacht wurden die Lösungsmittel i. V. unter Stickstoff abgezogen und die zurückbleibenden Methylester im Perkin-Elmer-Gerät 116 bei  $183^{\circ}$ , 8 Volt Detektorspannung und 1 atü Trägergasdruck (Wasserstoff) an einer 2 m BDS-Säule chromatographiert. Die Einspritzmengen betrugen 3 bzw. 5  $\mu$ l. Die quantitative Auswertung erfolgte durch Bestimmung der Bandenfläche aus Höhe mal Breite in halber Höhe.

#### e) Bestimmung des Gehaltes an dimeren Fettsäuren

Nach ROST (8).

### Untersuchungsergebnisse

#### 1. Ergebnisse der Blutuntersuchungen

Tabelle 1. Gehalt des Blutserums an Gesamt-Lipid, Cholesterin und Gesamt-Lipid-P (Angaben in mg%, Mittelwerte).

	Männchen			Weibchen		
	Cholesteringehalt	Gesamt-Lipid	Gesamt-Lipid-P	Cholesteringehalt	Gesamt-Lipid	Gesamt-Lipid-P
Kontrolle	71,5	415	3,5	57,4	419	4,5
Versuch	61,7	339	4,6	51,9	311	4,2

Bezüglich des Cholesteringehaltes ergab sich eine geringe Erniedrigung in den Versuchsgruppen, die aber statistisch nicht signifikant war (*t*-Test). Der

Gesamt-Lipid-Gehalt des Serums wurde durch die Fütterung der Dimeren signifikant erniedrigt, wobei aber die statistische Sicherung bei den Männchen nur schwach war ( $p < 0,05$ ). Was den Lipidphosphor anbetrifft, so war bei den Männchen eine mit  $p < 0,05$ , also schwach gesicherte Differenz zwischen Kontrolle und Versuch zu beobachten, während die Differenz bei den Weibchen statistisch nicht gesichert war.

## 2. Untersuchung des Körperfettes

### a) Gesamt-Gehalt an Fettsäuren

In Tab. 2 sind die für den Gehalt der Tiere an Fett bzw. an Gesamtfettsäuren erhaltenen Werte eingetragen. Bei der Beurteilung dieser Werte muß allerdings in Betracht gezogen werden, daß die inneren Organe bzw. zumindest Teile hiervon zur histologischen Untersuchung entnommen worden waren und deren Fettgehalt daher nicht berücksichtigt ist.

Tabelle 2.

Tiergruppe	Mittleres Gewicht der Tiere	g Fettsäure je Tier	% Fettsäure je Tier
Kontrolle ♂	262	34,5	13,7
Kontrolle ♀	204	19,6	9,6
Versuch ♂	160	10,4	6,5
Versuch ♀	155	13,5	8,7

Es ergab sich ein deutlich niedrigerer Gehalt an Fettsäuren je Tier bei den Versuchsgruppen gegenüber den Kontrollen, was bedeutet, daß bei Fütterung der dimeren Säuren ein geringerer Aufbau von Depotfett stattfindet bzw. daß ein Teil des Depotfettes abgebaut wird. Die zahlenmäßigen Unterschiede zwischen den Geschlechtern dürften zufallsbedingt sein.

### b) Einbau der dimeren Säuren in das Körperfett

Die Analyse der aus den Tieren isolierten Fettsäuregemische auf den Gehalt an dimeren Säuren<sup>1)</sup> ergab, daß bei den Versuchsgruppen etwa 2% (bei den Männchen) bzw. etwa 1,8% (bei den Weibchen) dimere Fettsäuren im Gemisch enthalten waren, während erwartungsgemäß bei den Kontrollgruppen keine solchen Säuren gefunden werden konnten. Es erfolgt also, wenn auch in geringem Umfang, nach Fütterung dimerer Säuren an Ratten ein Einbau dieser Substanzen in das Körperfett.

### c) Fettsäure-Zusammensetzung des Körperfettes

Deutliche Unterschiede ergaben sich bezüglich der Fettsäurezusammensetzung des Körperfettes, die gaschromatographisch ermittelt wurde, zwischen Versuchs- und Kontrollgruppen, wie aus nachfolgender Tab. 3 hervorgeht.

<sup>1)</sup> Anmerkung: Für die Durchführung dieser Analysen sind wir Herrn Dr. BECKER und Herrn Diplomchemiker ROST, Hauptlaboratorium der Margarine-Union Hamburg, sehr zu Dank verpflichtet.

Tabelle 3. Fettsäure-Zusammensetzung des Körperfettes.  
(Angaben in Prozenten der Gesamt-Fettsäuren)

Fettsäure	Tiergruppe			
	Kontrolle ♂	Kontrolle ♀	Versuch ♂	Versuch ♀
Myristinsäure	0,5	0,5	2	2
unbekannt (C <sub>15</sub> ?)	Spur	Spur	1	1
Palmitinsäure	13	12	21	23
Palmitoleinsäure	7	7	20	16
Stearinsäure	3	3	6	4
Ölsäure	33	33	41	43
Linolsäure	37	38	8	9
Linolensäure	4	7	0,5	2
unbekannt	4	1	2	2

Die gesättigten Fettsäuren (Palmitin- und Myristin-Säure) sowie die Monoensäuren (Palmitoleinsäure und Ölsäure) hatten gegenüber der Kontrolle

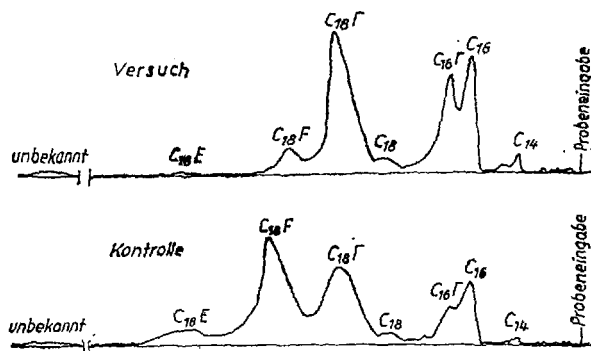


Abb. 1. Gaschromatogramme der Fettsäure-Methylester.

erheblich zugenommen, während die Werte für die Polyensäuren (Linol- und Linolensäure) bei den Versuchsgruppen erheblich niedriger lagen als bei den Kontrollen.

Abb. 1 gibt 2 Gaschromatogramme der Fettsäuren wieder.

### Diskussion der Ergebnisse

Bei Fütterung von fettarmen Diäten an Ratten hatten DUPONT und LEWIS (9) eine Erniedrigung des Gesamt-Lipid-Gehaltes im Blut gefunden, ein Ergebnis, das wir auch bei der Verfütterung der dimeren Säuren erhielten. Wenn man davon ausgeht, daß diese Säuren kein Fett im eigentlichen Sinne sind, so daß man deshalb unsere Futterzusammensetzung ebenfalls als „fettarm“ bezeichnen könnte, so ist dieser Befund nicht überraschend. Allerdings fanden DUPONT und LEWIS (9) auch eine Erniedrigung des Lipid-P-Gehaltes, während dieser bei unseren Versuchen zumindest bei den Männchen signifikant erhöht

war. Die Menge an Phospholipiden wurde also durch Zuführung von dimeren Säuren vergrößert. Ob diese allerdings im Verlauf der Resorption in die Phospholipide eingebaut werden, wurde nicht untersucht.

Wenn man die Analogie „Dimeren-Fütterung – Fettarme-Ernährung“ auf die Beeinflussung der Zusammensetzung des Körperfettes ausdehnt, so sind auch hier Parallelen festzustellen, denn MACHLIN und GORDON (10) fanden bei ihren Versuchen mit fettarmen Diäten im Gewebefett ebenfalls Abnahmen an Linoleat und Linolenat sowie Zunahmen an Ölsäure. CENTURY und Mitarb. (4) beobachteten, daß fettarme Diäten zu einer Zunahme an Palmitin-, Palmitolein- und Ölsäure sowie zu einer Abnahme an Linolsäure in den Skelett-Muskeln führte, wie dies auch bei unseren Versuchen der Fall war. Ähnliche Befunde wurden von BRENNER, VAZZA und DETHOMAS (11) bei Fischen erhoben.

Besonders interessant scheint uns die Beobachtung zu sein, daß im Körperfett der Ratten nur etwa 2% an dimeren Säuren enthalten waren. Rechnet man aus Futterraufnahme und Futterzusammensetzung aus, wieviel dimere Säuren im Verlaufe der 32 Fütterungswochen je Tier (bei den Männchen) zugeführt wurden, und zieht davon den infolge schlechterer Ausnützung (nur 59,6%) wieder ausgeschiedenen Anteil ab, so ergibt sich, daß je Tier 49,5 g dimere Säuren aufgenommen wurden. Der Durchschnittsgehalt der Tiere an Fettsäuren betrug 10,4 g, wovon 2% = 0,208 g aus Dimeren bestanden. Rechnet man dazu, daß in den zur histologischen Untersuchung entnommenen Organen grob geschätzt noch weitere 0,1 g je Tier an Dimeren enthalten sind, so kommt man auf insgesamt rund 0,3 g. Das wären nur etwa 0,6% der im Verlaufe der Fütterungszeit zugeführten Säuren. Dies bedeutet andererseits, daß über 99% der zugeführten Dimeren irgendwo im Stoffwechselgeschehen verarbeitet worden sind. Der Körper muß also die Möglichkeit haben, auch solche Säuren in irgendeiner Weise abzubauen. Wie dies geschieht, ist ungeklärt; es soll jedoch in nächster Zeit versucht werden, mit Hilfe von polymerisierter  $^{14}\text{C}$ -markierter Linolsäure diesen Stoffwechselmechanismus einer Klärung näher zu bringen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung der Durchführung dieser Arbeit.

### *Zusammenfassung*

Die Fütterung von Methylestern dimerer Fettsäuren an Ratten führt zwar nur zu relativ geringfügigen Gehaltsveränderungen des Blutserums bezüglich der Gesamt-Lipide, des Cholesterins und des Gesamt-Lipid-Phosphors. Der Gehalt der Tiere an Gesamt-Fett wird aber deutlich erniedrigt und die Fettsäurezusammensetzung des Körperfettes ändert sich in erheblichem Umfang. Auch wird ein geringer Teil der dimeren Säuren in das Körperfett eingebaut. Dieser Anteil ist jedoch so niedrig, daß ein Abbau der Säuren im Körper angenommen werden muß.

### *Schrifttum*

1. LANG, K., in *Künstliche radioaktive Isotopen in Physiologie, Diagnostik und Therapie*, Herausgegeben von H. SCHWIEGK und F. TURBA, 2. Aufl., S. 752–772 (Berlin-Göttingen-Heidelberg 1961). — 2. KINGSBURY, K. J., T. O. HEYER, D. M. MORGAN, C. AYLOTT, P. A. BURTON, R. EMERSON, and P. J. A. ROBINSON, *Biochem. J.* **84**, 124 (1962). — 3. BHALERAO, V. R., J. ENDERS und F. A. KUMMEROW, *J. Dairy Sci.* **44**, 1283 (1961). — 4. CENTURY, B., L. A. WITTING, L. C. HARVEY und M. K. HORWITT, *J. Nutrit.* **75**, 341 (1961). — 5. KIECKEUSCH, W., K. JAHR, G. CZOK, E. DEGKWITZ und K. LANG, *Fette-*

Seifen-Anstrichmittel **65**, 919 (1963). — 6. DEGWITZ, E. und K. LANG, *Klin. Wschr.* **40**, 542 (1962). — 7. DEGWITZ, E. und K. LANG, *Klin. Wschr.* **40**, 515 (1962). — 8. ROST, H.E., *Fette-Seifen-Anstrichmittel* **64**, 427 (1962). — 9. DUPONT, J. und H. LEWIS, *J. Nutrit.* **80**, 397 (1963). — 10. MACHLIN, L. J. und R. S. GORDON, *J. Nutrit.* **75**, 157 (1961). — 11. BERNER, R. R., D. V. VAZZA und M. E. DETHOMAS, *J. Lipid. Res.* **4**, 341 (1963).

Anschrift der Verfasser:

Privatdozent Dr. A. FRICKER, Dipl. Chem. E. SCHÄFFNER, Prof. Dr. Dr. K. LANG, 6500 Mainz  
Physiolog.-chemisches Institut der Universität

## KURZE MITTEILUNG

*Aus dem II. Institut für medizinische Chemie der Karls-Universität Prag  
(Direktor: Prof. Dr. J. Šulc)*

### Vitamine mit Funktionen in Wachstums- und Entwicklungsprozessen

#### Vorläufige Mitteilung

VON JIŘÍ BERNÁSEK

Mit 2 Tabellen

(Eingegangen am 16. Februar 1964)

Zwecks Feststellung, ob sämtliche fettlöslichen Vitamine bereits bekannt sind oder ob noch weitere fettlösliche Stoffe mit Vitaminfunktionen existieren, untersuchten wir in Rattenversuchen die die Naturfette begleitenden Substanzen auf etwaige biologische Funktionen. Zu diesem Zwecke wurden Versuchsratten mehrere Generationen mit einer Kost gefüttert, aus der sämtliche Naturfette entzogen und durch Margarine ersetzt wurden und welche mit allen bis jetzt als essentielle Nahrungsbestandteile erkannten Stoffen ergänzt wurde.

#### Experimentelles

Bis dahin mit normaler Kost (= Kontrolldiät) gefütterte Wistar-Rattenweibchen wurden am Entbindungstage auf die Versuchsdiät überführt und ihre Jungen wurden nach dem Abstillen zur ersten Versuchsgeneration. In jeder Generation wurden die wichtigsten Lebensäußerungen der Jungen, vor allem Wachstum und Entwicklung, verfolgt. In der ersten und zweiten Generation wurde die Anzahl der Neugeborenen in jedem Wurf gleich nach Geburt immer auf je 3 Männchen und 3 Weibchen beschränkt und als Grundlage folgender Generationen wurde aus jedem Wurf immer das bestentwickelte Weibchen ausgewählt. Von der dritten Generation an wurden alle lebend geborenen Jungen weiter gezüchtet und sämtliche die Geschlechtsreife erreichenden Weibchen wurden gedeckt. Im Alter von 6 Wochen wurden die Jungen immer von der Mutter getrennt.

Die Versuchsdiät bestand aus 600 g Weizenstärke (entfettet), 285 g Kasein (entfettet), 82 g Margarine (angereichert mit 3000 I.E. Vitamin A + 3000 I.E. Vitamin D + 150 mg Vitamin E + 4 g Äthyllinolat + 0,15 mg Vitamin K + 4 mg Ubichinon + 10 mg  $\alpha$ -Liponsäure), 15 g  $\text{CaCO}_3$ , 4 g NaCl, 4 g KCl, 4 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 4 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1,7 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,25 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,04 g  $\text{MnSO}_4$  und 0,01 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ . Weizenstärke und Kasein wurden durch wiederholte Äther-Extraktion entfettet: Die Stärke wurde