

283. Untersuchungen über die freien Aminosäuren im Blute bei verschiedener Ernährung¹⁾.

I. Die essentiellen Aminosäuren

von O. Wiss.

(20. X. 48.)

Aus Untersuchungen über die freien Aminosäuren des Blutes ist bekannt, dass verschiedene Ernährung im allgemeinen nur eine geringe Wirkung auf deren Gesamtkonzentration ausübt. In einigen Fällen liess sich eine Beeinflussung nachweisen; so haben *Van Slyke* und *Meyer*²⁾ und andere festgestellt, dass beim Hunde durch Verabreichung von eiweissreichem Futter der α -Aminostickstoff im Vergleich zu den Hungerwerten erheblich ansteigt.

In den folgenden Untersuchungen wurde an der Ratte geprüft, wie verschiedene Ernährung den Gehalt an den einzelnen Aminosäuren beeinflusst, denn es ist denkbar, dass die Konzentration der einzelnen Aminosäuren sich so ändert, dass der Gesamtgehalt davon nicht betroffen wird.

Experimenteller Teil.

Durchführung der Ernährungsversuche.

In wiederholten Versuchen wurde eine Anzahl männlicher weisser Ratten in 4 Gruppen unterteilt. 3 Gruppen erhielten während 3 Tagen verschiedenes Futter, während die vierte Gruppe während der gleichen Zeit ohne Futter blieb. Das kohlehydrat-reiche Futter bestand aus 80% Saccharose, 15% Cocosfett und 5% Salzgemisch (*Mc. Collum*³⁾); das eiweissreiche Futter aus 80% Pferdefleisch, 15% Weizen, 5% Hefe und NaCl; das fettreiche Futter aus 80% Schweineschmalz, 15% Weizen und 5% Salzgemisch (*Mc. Collum*). Das Futter und Wasser wurde den Tieren ad libitum gegeben. In einzelnen Versuchsreihen wurde das Gewicht vor und nach der Fütterungsperiode bestimmt, um festzustellen, ob eventuell die Futteraufnahme verweigert wurde.

Nach Ablauf der Fütterungsperiode wurden die Tiere decapitiert und das Blut von 2—4 Tieren gesammelt, so dass in der gleichen Probe mehrere Aminosäuren gleichzeitig bestimmt werden konnten. Das frisch entnommene Blut wurde durch Zusatz von einigen mg festem Natriumcitrat ungerinnbar gemacht und entweder nach *Schenck*⁴⁾ mit Sublimat oder nach *Folin*⁵⁾ mit Wolframat enteiweisst.

Die Bestimmung der einzelnen Aminosäuren erfolgte auf mikrobiologischem Wege⁶⁾.

¹⁾ Teilweise vorgetragen an der 32. Tagung des Schweizerischen Vereins der Physiologen und Pharmakologen (31. Januar 1948 in Basel).

²⁾ *D. D. Van Slyke* und *G. M. Meyer*, *J. Biol. Chem.* **12**, 399 (1912).

³⁾ *E. V. Mc. Collum* und *N. Simmonds*, *J. Biol. Chem.* **33**, 55 (1918).

⁴⁾ *Schenck*, *Pflügers Arch.* **47**, 621 (1890); **55**, 203 (1894).

⁵⁾ *O. Folin* und *H. Wu*, *J. Biol. Chem.* **38**, 81 (1919); **41**, 367 (1920); *Laborat. Manual of biol. Chemistry* S. 227, New York-London 1925.

⁶⁾ Die Stämme wurden bei der *American Type Culture Collection*, Washington, bezogen.

Valin.

Bestimmung nach Stokes und Mitarbeitern¹⁾ mit *Streptococcus faecalis*.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 5 cm³.Standard: 0—16 γ L-Valin.Analyse: 1,2 cm³ des enteweissten Blutes (*Schenck*).

Versuch Nr.	Valingehalt in mg%			
	Hunger	kohlehydrat-reiches Futter	eiveissreiches Futter	fettreiches Futter
1. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 2 Tieren vereinigt	—	2,8	8,5	—
		2,75	8,5	
		3,0	8,0	
		3,0	8,5	
		2,8	6,2	
2. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	—	—	6,5	—
		3,6	9,0	
		3,8	10,0	
		2,7	7,0	
3. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	—	2,7	7,0	—
		4,72	3,3	
		4,72	6,67	
4. Gruppen von je 6 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	—	3,55	6,8	—
		5,85	4,25	
		5,5	7,0	
5. Gruppen von je 9 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	—	5,75	8,0	4,65
		5,5	8,0	
		4,0	8,0	
6. Gruppen von je 6 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	—	4,1	6,35	4,0
		4,5	6,2	
7. Gruppen von je 6 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	—	4,0	6,2	4,8
		4,0	6,2	

Die Beurteilung der Signifikanz erfolgte nach dem t-Test von *Fisher*²⁾.

	t	Signi-fikanz
Hunger-Kohlehydrat	4,77	+
Hunger-Eiweiss	5,5	+
Hunger-Fett	2,815	—
Kohlehydrat-Eiweiss	11,83	+
Kohlehydrat-Fett	2,17	—
Eiweiss-Fett	6,23	+

Die Unterschiede der Zahlenreihen werden als signifikant angenommen, wenn das errechnete t grösser ist als der von *Fisher* angegebene Wert für $P \leq 0,01$.¹⁾ J. L. Stokes, M. Gunness, J. M. Dwyer und M. C. Caswell, J. Biol. Chem. **160**, 35 (1945).²⁾ R. A. Fisher, Statistical Methods for Research Workers, 1946.

Leucin.

Bestimmung nach *Dunn* und Mitarbeitern¹⁾ mit *Leuconostoc mesenteroides* P-60.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 10 cm³.Standard: 0—100 γ L-Leucin.Analyse: 5 cm³ des enteiweissten Blutes (*Folin*).

	Leucingehalt in mg%			
	Hunger	kohlehydrat-reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
Gruppen von je 20 Tieren, Blut von je 4 Tieren vereinigt	3,2	1,24	1,9	1,8
	2,4	1,4	2,1	1,3
	2,4	1,24	2,1	1,4
	1,9	1,1	2,2	1,7
	2,7	1,24	2,0	1,4
	t		Signifikanz	
Hunger-Kohlehydrat . .	5,88		+	
Hunger-Eiweiss	2,05		-	
Hunger-Fett.	4,23		+	
Kohlehydrat-Eiweiss . .	11,77		+	
Kohlehydrat-Fett . . .	2,59		-	
Eiweiss-Fett	4,93		+	

Isoleucin.

Bestimmung nach *Dunn* und Mitarbeitern mit *Leuconostoc mesenteroides* P-60.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 10 cm³.Standard: 0—100 γ L-Isoleucin.Analyse: 5 cm³ des enteiweissten Blutes (*Folin*).

	Isoleucingehalt in mg%			
	Hunger	kohlehydrat-reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
Gruppen von je 20 Tieren, Blut von je 4 Tieren vereinigt	2,2	0,86	1,5	0,9
	1,0	0,3	1,6	0,85
	1,2	0,3	1,7	0,85
	1,1	0,2	1,6	1,1
	1,7	0,3	1,5	1,1
	t		Signifikanz	
Hunger-Kohlehydrat . .	10,26		+	
Hunger-Eiweiss	1,7		-	
Hunger-Fett.	2,06		-	
Kohlehydrat-Eiweiss . .	9,66		+	
Kohlehydrat-Fett . . .	4,32		+	
Eiweiss-Fett	9,02		+	

¹⁾ *M. S. Dunn, S. Shankman, M. N. Camien, W. Frankl und L. B. Rockland, J. Biol. Chem. 156, 703 (1945).*

Methionin.

Bestimmung nach *Dunn* und Mitarbeitern mit *Leuconostoc mesenteroides* P-60.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 10 cm³.Standard: 0—100 γ DL-Methionin.Analyse: 5 cm³ des enteiweissten Blutes (*Folin*).

	Methioningehalt in mg%			
	Hun- ger	kohlehydrat- reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
Gruppen von je 20	0,315	0,13	0,15	0,15
Tieren, Blut von je	0,22	0,09	0,4	—
4 Tieren vereinigt	0,215	0,09	0,405	0,12
	0,24	0,125	0,32	0,1
	0,3	0,095	0,31	0,165
	t		Signifikanz	
Hunger-Kohlehydrat . .	7,0		+	
Hunger-Eiweiss	0,921		—	
Hunger-Fett	4,91		+	
Kohlehydrat-Eiweiss . .	4,49		+	
Kohlehydrat-Fett . . .	1,72		—	
Eiweiss-Fett	3,39		—	

Phenylalanin.

Bestimmung nach *Dunn* und Mitarbeitern mit *Leuconostoc mesenteroides* P-60.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 10 cm³.Standard: 0—80 γ L-Phenylalanin.Analyse: 5 cm³ des enteiweissten Blutes (*Folin*).

	Phenylalaniningehalt in mg%			
	Hun- ger	kohlehydrat- reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
Gruppen von je 20	1,9	0,9	1,1	0,8
Tieren, Blut von je	1,6	0,84	1,15	0,9
4 Tieren vereinigt	1,4	0,8	1,3	0,9
	1,04	0,76	1,3	1,0
	1,4	0,6	1,2	0,8
	t		Signifikanz	
Hunger-Kohlehydrat . .	4,62		+	
Hunger-Eiweiss	1,7		—	
Hunger-Fett	4,05		+	
Kohlehydrat-Eiweiss . .	6,61		+	
Kohlehydrat-Fett . . .	1,59		—	
Eiweiss-Fett	6,17		+	

Histidin.

Bestimmung nach Stokes und Mitarbeitern mit *Streptococcus faecalis*.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 5 cm³.Standard: 0—8 γ L-Histidin.Analyse: 1,2 cm³ des enteweissten Blutes (*Schenck*).

Versuch Nr.	Histidingehalt in mg%			
	Hunger	kohlehydratreiches Futter	eiwissreiches Futter	fettreiches Futter
1. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 2 Tieren vereinigt	—	1,7	1,5	—
		1,6	1,8	
		1,8	1,65	
		1,6	1,8	
		1,45	1,5	
		—	1,8	
2. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	—	1,5	1,75	—
		1,47	1,47	
		1,37	1,75	
		1,6	1,87	
3. Gruppen von je 9 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	1,75	1,98	1,88	1,5
	1,65	2,0	2,13	1,65
	0,93	1,5	1,5	1,13
4. Gruppen von je 6 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	2,13	2,23	2,38	2,13
	2,03	1,93	2,55	—
		t	Signifikanz	
Hunger-Kohlehydrat . .		0,0601	—	
Hunger-Eiweiss		0,649	—	
Hunger-Fett		0,332	—	
Kohlehydrat-Eiweiss . .		1,21	—	
Kohlehydrat-Fett . . .		0,528	—	
Eiweiss-Fett		1,157	—	

Arginin.

Bestimmung nach *Stokes* und Mitarbeitern mit *Streptococcus faecalis*.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 5 cm³.Standard: 0—16 γ L-Arginin.Analyse: 1,2 cm³ des enteweissten Blutes (*Schenck*).

Versuch Nr.	Arginingehalt in mg%			
	Hunger	kohlehydratreiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
1. Gruppe von je 12 Tieren, Blut von je 2 Tieren vereinigt	—	4,65 4,75 5,45 5,15 5,15 —	6,05 6,5 6,4 7,35 6,95 6,05	—
2. Blut von 3 Tieren vereinigt	—	5,0 4,0	—	—
3. Gruppen von je 6 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	6,5 5,7	5,85 5,7	9,0 8,5	—
4. Gruppen von je 9 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	7,25 7,5 7,25	5,5 5,8 8,0	8,0 7,5 7,5	6,35 8,0 8,0
5. Gruppen von je 6 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	9,0 9,0	7,5 8,5	9,0 9,5	8,5 8,0
		t	Signifikanz	
Hunger-Kohlehydrat . .		2,835	—	
Hunger-Eiweiss		0,36	—	
Hunger-Fett		0,508	—	
Kohlehydrat-Eiweiss . .		3,04	+	
Kohlehydrat-Fett . . .		3,16	+	
Eiweiss-Fett		0,878	—	

Lysin.

Bestimmung nach Stokes und Mitarbeitern mit *Streptococcus faecalis*.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 5 cm³.

Standard: 0—100 γ L-Lysin.

Analyse: 2,5 cm³ des enteweissten Blutes (*Schenck*).

Versuch Nr.	Lysingehalt in mg%			
	Hunger	kohlehydratreiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
1. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 2 Tieren vereinigt	—	6,7 6,7 6,5 7,7 7,7 —	11,0 11,8 12,5 11,3 12,5 11,3	—
2. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt •	—	8,85 9,35 8,15 8,15	15,3 15,4 14,4 15,4	—
3. Gruppen von je 9 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	9,6 8,65 7,9	8,4 9,35 —	12,7 12,7 12,0	8,9 9,6 7,4
4. Gruppen von je 6 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	9,6 8,2	8,9 9,35	18,0 13,4	8,2 8,9
		t	Signifikanz	
Hunger-Kohlehydrat . .		1,285	—	
Hunger-Eiweiss		4,86	+	
Hunger-Fett		0,387	—	
Kohlehydrat-Eiweiss . .		8,43	+	
Kohlehydrat-Fett . . .		0,886	—	
Eiweiss-Fett		5,07	+	

Tryptophan.

Bestimmung nach Stokes und Mitarbeitern mit *Streptococcus faecalis*.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 5 cm³.Standard: a) 0—2,5 γ L-Tryptophan.b) 0—1,6 γ L-Tryptophan.Analyse: a) 0,75 cm³ des enteiweissten Blutes (*Folin*).b) 0,3 cm³ des enteiweissten Blutes (*Schenck*).

a) Tryptophangehalt in mg%				
	Hunger	kohlehydratreiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
Gruppen von je 20 Tieren, Blut von je 4 Tieren vereinigt	0,66	0,48	0,69	0,53
	0,66	0,37	0,67	0,54
	0,66	0,58	0,54	0,53
	0,58	0,48	—	—
	0,75	0,33	0,69	0,37
	t		Signifikanz	
Hunger-Kohlehydrat . .	4,03		+	
Hunger-Eiweiss	0,227		—	
Hunger-Fett	1,14		—	
Kohlehydrat-Eiweiss . .	3,36		—	
Kohlehydrat-Fett . . .	0,647		—	
Eiweiss-Fett	2,92		—	

b) Tryptophangehalt in mg%			
Versuch Nr.	Hunger	kohlehydratreiches Futter	eiweissreiches Futter
1. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 2 Tieren vereinigt	—	1,02	1,72
		1,02	2,12
		1,1	2,08
		0,92	1,96
		0,92	1,68
		—	1,76
2. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	—	1,5	3,2
		1,6	3,4
		0,8	2,44
		0,58	2,3
3. Gruppen von je 6 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	2,1	1,54	2,82
	2,0	2,0	2,98
	t aus Versuch 1		Signifikanz
Kohlehydrat-Eiweiss . .	10,0		+

Threonin.

Bestimmung nach Stokes und Mitarbeitern mit *Streptococcus faecalis*.Ansätze: Gesamtflüssigkeitsvolumen = 5 cm³.Standard: a) 0—60 γ DL-Threonin.b) 0—32 γ DL-Threonin.Analyse: a) 2,5 cm³ des enteweissten Blutes (*Folin*).b) 2,5 cm³ des enteweissten Blutes (*Schenck*).

a) Threoningehalt in mg%				
	Hunger	kohlehydrat-reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
Gruppen von je 20 Tieren, Blut von je 4 Tieren vereinigt	2,8	1,8	3,0	—
	2,8	—	3,44	—
	2,64	1,5	—	2,2
	2,66	1,76	3,0	—
	3,2	1,6	3,2	1,6
	t		Signifikanz	
Hunger-Kohlehydrat . .	8,6		+	
Hunger-Eiweiss	2,46		—	
Hunger-Fett	3,87		—	
Kohlehydrat-Eiweiss . .	12,0		+	
Kohlehydrat-Fett . . .	1,13		—	
Eiweiss-Fett	5,23		+	

b) Threoningehalt in mg%			
Versuch Nr.	Hunger	kohlehydrat-reiches Futter	eiweissreiches Futter
1. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 2 Tieren vereinigt	—	ca. 1,0	4,7
			4,55
			4,7
			5,0
			3,7
			3,9
2. Gruppen von je 12 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	—	ca. 2,0	5,45
			4,9
			5,65
			5,5
3. Gruppen von je 6 Tieren, Blut von je 3 Tieren vereinigt	3,75	1,85	4,15
	3,6	2,15	4,6

In der folgenden Tabelle sind die Durchschnittswerte und deren Summen zusammengestellt.

Alle Werte sind in mg% angegeben	Hunger	kohlehydrat- reiches Futter	eiweissreiches Futter	fettreiches Futter
Valin	5,1	3,5	7,54	4,33
Leucin	2,51	1,24	2,06	1,52
Isoleucin	1,44	0,39	1,58	0,96
Methionin	0,27	0,106	0,317	0,134
Phenylalanin	1,47	0,78	1,22	0,88
Histidin	1,7	1,69	1,82	1,6
Arginin	7,46	5,78	7,26	7,78
Lysin	8,8	8,14	13,3	8,6
Tryptophan	0,86	0,45	0,65	0,49
Threonin	2,8	1,66	3,16	1,9
	32,21	23,736	38,907	28,194

Bei einer Versuchsreihe, in welcher Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Methionin, Tryptophan und Threonin geprüft wurden, wurden die Tiere vor und nach der Fütterungsperiode gewogen. Wie aus nachfolgender Zusammenstellung hervorgeht, hat Kohlehydrat-, Eiweiss- und Fettfütterung keinen wesentlichen Einfluss auf die Durchschnittsgewichte, während nach der dreitägigen Hungerperiode das Gewicht erheblich abfiel.

	Durchschnittsgewichte in g von 20 Tieren	
	vor dem Versuch	nach dem Versuch
Hunger	283	245
kohlehydratreiches Futter	302	294
eiweissreiches Futter	299	298
fettreiches Futter	310	321

Besprechung und Zusammenfassung der Ergebnisse.

Im Blut verschieden ernährter Ratten wurde der Gehalt an freiem Valin, Leucin, Isoleucin, Methionin, Phenylalanin, Histidin, Arginin, Lysin, Tryptophan und Threonin bestimmt. Zwischen den einzelnen Aminosäuren bestehen grosse Unterschiede. Das Lysin zeigt mit ca. 10 mg% die höchsten Werte, während Methionin in einer Konzentration von nur ungefähr 0,2 mg% vorliegt.

Verschiedene Ernährung hat einen deutlichen Einfluss auf den Aminosäuregehalt. Die Gesamtkonzentration der untersuchten Aminosäuren, die bei Kohlehydrat-Fütterung im Durchschnitt 24 mg% beträgt, ist bei eiweissreichem Futter um ca. 60% erhöht. Bei fettreichem Futter ist der Gehalt wenig verschieden von demjenigen bei Kohlehydrat-Kost, während im Hungerzustand die Gesamtkonzentration deutlich erhöht ist. Die einzelnen Aminosäuren verhalten sich

im allgemeinen gleich. Es findet sich eine Erhöhung bei Eiweiss-Fütterung und im Hungerzustand im Vergleich zu Kohlehydrat-Kost. Etwas weniger deutlich ist der Anstieg gegenüber den mit Fett gefütterten Tieren.

Im Gegensatz dazu verhalten sich Histidin und Arginin anders. Der Histidingehalt ist bei allen Ernährungsformen und im Hungerzustand gleich. Das Arginin ist nur wenig beeinflussbar; bei Kohlehydrat-Fütterung ist der Gehalt etwas geringer als bei Hunger, Eiweiss- oder Fett-Fütterung.

Es kommt somit auch in dieser Versuchsanordnung zum Ausdruck, dass Valin, Leucin, Isoleucin, Methionin, Phenylalanin, Lysin, Tryptophan und Threonin für den Organismus unentbehrlich sind. Ihr Gehalt sinkt ab, wenn sie nicht mit der Nahrung zugeführt oder durch Abbau des Körpereiwisses im Blute angereichert werden. Dass Histidin und Arginin sich anders verhalten, steht in Übereinstimmung mit der Tatsache, dass sie unter den essentiellen Aminosäuren eine Sonderstellung einnehmen. Das Histidin ist nach Untersuchungen von Rose und Mitarbeitern¹⁾ für den erwachsenen Organismus entbehrlich. Das Arginin kann von jungen Ratten vollständig, vom ausgewachsenen Tier teilweise synthetisiert werden²⁾ und hat zudem als Stoffwechselzwischenprodukt der Harnstoffbildung besondere Aufgaben.

Physiologisch-chemisches Institut der Universität Basel.

284. Sur les enzymes amylolytiques X³⁾.

Isolement et cristallisation de l' α -amylase de salive humaine

par Kurt H. Meyer, Ed. H. Fischer⁴⁾, A. Staub, et P. Bernfeld.

(20 X 48)

Après avoir purifié⁵⁾ et cristallisé⁶⁾ l' α -amylase de pancréas de porc, il nous a semblé intéressant d'étendre nos recherches à des amylases d'autres provenances. C'est ainsi que l' α -amylase de bactérie

¹⁾ W. C. Rose, W. J. Haines, J. E. Johnson und D. T. Warner, J. Biol. Chem. **148**, 457 (1943).

²⁾ E. W. Burroughs, H. S. Burroughs und H. H. Mitchell, J. Nutr. **19**, 363 (1940); M. Womack und W. C. Rose, J. Biol. Chem. **141**, 375 (1941); W. C. Rose und T. R. Wood, J. Biol. Chem. **141**, 381 (1941).

³⁾ IXme communication, Helv. **31**, 1839 (1948).

⁴⁾ Boursier de la «Fondation pour des recherches scientifiques dans le domaine de la chimie».

⁵⁾ K. H. Meyer, Ed. H. Fischer et P. Bernfeld, Exper. **2**, 362 (1946); Helv. **30**, 64 (1947).

⁶⁾ K. H. Meyer, Ed. H. Fischer et P. Bernfeld, Exper. **3**, 106 (1947); Arch. Biochem. **14**, 149 (1947); Helv. **31**, 1831 (1948).