

# Über die Verwertung der Abbauprodukte des Caseins im tierischen Organismus.

Von

**Emil Abderhalden und Peter Rona.**

(Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 13. März 1906.)

In einer früheren Mitteilung<sup>1)</sup> haben wir gezeigt, daß es gelingt, Mäuse mit einem durch Pankreatinverdauung aus Casein gewonnenen, biuretfreien, zum größten Teil aus Aminosäuren bestehenden Produkte ebenso lange am Leben zu erhalten, wie mit unverändertem Casein selbst. Dagegen verhielten sich diejenigen Versuchstiere, welche mit durch Säure total hydrolysiertem Casein gefüttert wurden, wie Hungertiere. Dieselben Beobachtungen machten wir bei der Ausdehnung dieser Versuche auf Ratten. Allerdings lebten hier diejenigen Versuchstiere, welche durch Säure hydrolysiertes Casein erhielten, durchschnittlich einige Tage länger als die Hungertiere, aber bei weitem nicht so lange als die mit durch Trypsin abgebautem Casein ernährten Ratten. Um einen exakteren Einblick in die Verwertung von abgebautem Eiweiß zu erhalten, haben wir Stoffwechselversuche mit den genannten Produkten am Hunde ausgeführt. Es kam uns bei unseren Versuchen in erster Linie darauf an, das hydrolysierte Casein in eine Form zu bringen, welche vom Versuchstiere gerne genommen wurde und vor allem keine Verdauungsstörungen verursachte. Das Hauptgewicht legten wir ferner auf genaue Kenntnis der Zusammensetzung des verfütterten Produktes. Wir begnügten uns nicht mit der bloßen Feststellung der Abwesenheit der Biuretreaktion, sondern wir stellten möglichst exakt fest, wieviel

<sup>1)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 528, 1904.

noch nicht bis zu den Aminosäuren abgebaute Produkte («Polypeptide»)<sup>1)</sup> vorhanden waren. Zu den Versuchen wurden zwei Präparate verwendet; einmal durch Pankreatin verdautes und zweitens durch 25%ige Schwefelsäure hydrolysiertes Casein. Das erstere wurde auf folgendem Wege gewonnen: 1 kg Casein wurde in 8 l Wasser suspendiert und mit 50 g Pankreatin bei schwach alkalischer Reaktion ( $\text{NH}_3$ ) und Zusatz von Toluol  $2\frac{1}{2}$  Monate im Brutraum bei  $36^\circ$  verdaut. Die Reaktion der Verdauungsflüssigkeit wurde von Zeit zu Zeit kontrolliert. Sie zeigte nach Ablauf dieser Zeit keine Spur einer Biuretreaktion und reagierte zum Schluß ganz schwach sauer. Das gesamte Gemisch mit Einschluß der ausgeschiedenen Aminosäuren wurde zunächst nach Neutralisation mit Soda auf dem Wasserbade auf etwa die Hälfte eingengt, und hierauf unter stark vermindertem Druck bei einer  $40^\circ$  nicht übersteigenden Temperatur zur Trockne eingedampft. Der zum Teil kristallinische, zum Teil amorphe Rückstand wurde sorgfältig gemischt. Er enthielt 8,5% Stickstoff (Mittel aus 8 sehr gut übereinstimmenden Analysen).<sup>2)</sup> 100 g des Gemisches wurden zur Feststellung der «Polypeptide» in 2 l Wasser gelöst und in der bekannten Weise<sup>1)</sup> mit Phosphorwolframsäure gefällt. Aus dem Filtrat der mit Baryt zerlegten Phosphorwolframsäurefällung wurden 10% an «Polypeptiden» erhalten, deren Hydrolyse mit Salzsäure die bekannten Monoaminosäuren gab. Der ermittelte Wert ist natürlich der ganzen Methode der Isolierung entsprechend ein nur annähernder, dürfte aber, der Menge der nicht durch Phosphorwolframsäure fällbaren Produkte entsprechend, ziemlich genau sein. In Betracht zu ziehen ist außerdem, daß den «Polypeptiden» freie Diaminosäuren beigemischt sein können, jedenfalls ist das verfütterte Produkt als ein sehr weit abgebautes zu betrachten.

Das auf genannte Art gewonnene Präparat wurde vom Versuchstiere sehr gern genommen. Irgend welche Verdauungs-

<sup>1)</sup> E. Fischer und E. Abderhalden, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIX, S. 81, 1903 und Bd. XL, S. 215, 1903.

<sup>2)</sup> Sämtliche N-Bestimmungen wurden nach der Kjeldahlschen Methode ausgeführt.

störungen haben wir nie beobachtet. Der Versuchshund war während der ganzen Versuchsdauer stets munter und frisch. Durch einen Vorversuch mit Schabefleisch suchten wir festzustellen, mit welcher Stickstoffmenge bei gegebener stickstofffreier Nahrung der Hund sich ins Gleichgewicht setzt. Das kleine, sehr lebhaftes Versuchstier<sup>1)</sup> stellte sich mit rund 2 g N ein. Von dieser Stickstoffmenge wurde nun zunächst  $\frac{1}{4}$ , dann die Hälfte und schließlich  $\frac{2}{3}$  durch das genannte Verdauungsgemisch ersetzt. Diese Versuchsanordnung erwies sich nicht als günstig. Es gelang zwar, den Hund im Stickstoffgleichgewicht zu erhalten. Bei der langen Dauer des Versuches verweigerte das Versuchstier jedoch schließlich die Nahrungsaufnahme, noch bevor der gesamte Stickstoff durch das verdaute Casein ersetzt war. Aus diesem Grunde deckten wir bei einem weiteren Versuche gleich von Anfang an den gesamten Stickstoff der Nahrung mit dem Verdauungsprodukt. Die folgende Tabelle gibt den Verlauf des Versuches wieder. Zu bemerken ist, daß der Hund die Mischung von gequollener Stärke, Fett und verdaulichem Casein, die täglich auf 3 Portionen verteilt gereicht wurde, bis zum Schlusse des Versuches stets sehr gierig auffraß und nie Diarrhöen hatte, sondern einen Kot von normaler, fester Beschaffenheit ausschied. Erbrechen trat auch nie auf. Seinen Urin ließ das Versuchstier spontan. 2—2 $\frac{1}{2}$  Stunden vor der Morgenfütterung erhielt das Tier reichlich Wasser. Bei der Entnahme des Harnes wurde der Käfig täglich mit viel heißem Wasser nachgespült. Der Urin war stets eiweiß- und zuckerfrei. Das verabreichte Fett, ausgelassenes Schweineschmalz, war stickstofffrei, die Stärke enthielt 0,04% N. Der Stickstoffgehalt der einzelnen Bestandteile der Nahrung wurde natürlich sehr oft kontrolliert.

Dieser Versuch zeigt, daß das Versuchstier das durch Pankreasferment zum weitaus größten Teil zu Aminosäuren abgebaute Casein vollständig verwertet hat, d. h. mit anderen Worten, der tierische Organismus vermag aus Aminosäuren und komplizierteren, biuretfreien Produkten seinen Bedarf an Eiweiß vollkommen zu decken.

<sup>1)</sup> Alter: 1 $\frac{1}{2}$  Jahre.

Tabelle I.

Datum	Nahrungs- N	Harn		Kot getrocknet		Ge- samt- N-Aus- fuhr	N- Bilanz	Ge- wicht	Bemerkungen
		Menge	N	Menge	N				
12 I. 05	—	—	—	—	—	—	—	—	Hunger
13	—	—	—	—	—	—	—	—	
14	2 g	120	2.30	14.7	0.27	2.57	- 0.57	2.740	Erhielt pro Tag: 33,3g Schabefleisch, 25,0 • Fett, 50,0 • Stärke, 10,0 • Rohrzucker, 5,0 • Traubenzucker
15	•	115	2,00		0.27	2.27	- 0.27	2.750	
16	•	130	1,98	0.27	2.25	- 0.25	2.785		
17	•	118	1,46	7.3	0.38	1.84	+ 0.06	2.790	
18	•	105	1,85	10.0	0.14	1.99	+ 0.01	2.800	
19	•	110	1,50		0.14	1.64	+ 0.36	2.820	
20	2 g	100	1,72	16.6	0.23	1.95	+ 0.05	2.825	Erhielt pro Tag: 23,5 g verdautes Casein, 25,0 • Fett, 50,0 • Stärke, 10,0 • Rohrzucker, 5,0 • Trauben- zucker.
21	•	95	1,55		0.23	1.78	+ 0.22	2.830	
22	•	110	1,38	20.1	0.47	1,85	+ 0.15	2,840	
23	•	115	1,35	20.4	0,36	1,71	+ 0.29	2,870	
24	•	110	1,39		0,36	1,75	+ 0.25	2,880	
25	•	120	1,50	23.6	0,37	1,87	+ 0.13	2,900	
26	•	105	1,31		0,37	1,68	+ 0,32	2,945	
27	•	100	1,29	15.3	0,34	1,63	+ 0,37	2,960	
28	•	120	1,34		0,34	1,68	+ 0,32	2,970	
29	•	105	1,39	15.9	0,35	1,74	+ 0,26	2,985	
30	•	100	1,64	12.6	0,19	1,83	+ 0,17	3,010	
31	•	90	1,36	28.8	0,52	1,88	+ 0,12	3,030	
1 II. 05	•	100	1,35		0,52	1,87	+ 0,13	3,045	
2	•	105	1,51	20.4	0,38	1,89	+ 0,11	3,030	
3	•	95	1,53		0,38	1,91	+ 0,09	3,040	
4	•	110	1,58	16.1	0,45	2,03	- 0,03	3,010	
Summa	32 g	—	23.19	—	5.86	29.05	+ 3.01	—	
Mittel	2 g	—	1.45	—	0.36	1.81	+ 0.19	—	

Eine andere Deutung der Versuche ist wohl bei der langen Dauer des Versuches und dem eindeutigen Verlauf desselben ausgeschlossen.

In einem weiteren Versuche suchten wir die Frage zu entscheiden, wie sich durch Säure total abgebautes Casein verhält. Zu diesem Zwecke wurde 1 kg Casein mit 5 l 25%iger Schwefelsäure 12 Stunden lang erhitzt. Nach dem Abkühlen der Flüssigkeit wurde dieselbe auf das doppelte Volumen verdünnt, und nun die Schwefelsäure quantitativ mit Baryt gefällt. Das Filtrat vom Baryumsulfat wurde hierauf mit Soda neutralisiert und nun bei stark vermindertem Druck bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur vollständig zur Trockne verdampft. Der Stickstoffgehalt des Gemisches betrug (Mittel aus 5 Bestimmungen) 10%.

Tabelle II.

Datum	Nahrungs- N	Harn		Kot getrocknet		Ge- samt- N-Aus- fuhr	N- Bilanz	Ge- wicht	Bemerkungen
		Menge	N	Menge	N absolut				
9. II. 05	—	—	—	—	—	—	—	—	Hunger
10.	2 g	105	2,0	9,60	0,09	2,09	— 0,09	2,995	Erhielt pro Tag: 40 g Schabefleisch, 50 » Stärke, 25 » Fett, 10 » Rohrzucker, 5 » Traubenzucker.
11.	»	100	1,72		0,09	1,81	+ 0,19	3,050	
12.	»	95	1,96		0,09	2,05	— 0,05	3,050	
13.	»	110	1,93		0,09	2,02	— 0,02	3,040	
14.	2 g	120	2,73	8,70	0,09	2,82	— 0,82	3,020	
15.	»	100	2,48		0,09	2,57	— 0,57	3,050	
16.	»	95	2,41	10,40	0,09	2,50	— 0,50	3,050	Erhielt pro Tag: 20 g hydrolysiertes Casein, 50 » Stärke, 25 » Fett, 10 » Rohrzucker, 5 » Traubenzucker.
17.	»	110	2,16		0,21	2,37	— 0,37	3,040	
18.	»	115	2,38		0,16	2,54	— 0,54	3,050	
19.	»	105	2,09	13,05	0,16	2,25	— 0,25	3,050	
20.	»	120	2,15		0,16	2,31	— 0,31	3,020	
21.	»	100	2,40	8,23	0,21	2,61	— 0,61	3,010	
22.	»	105	2,16		0,27	2,43	— 0,43	3,040	
23.	»	90	2,18	12,8	0,27	2,45	— 0,45	3,020	
Summa	20 g	—	23,14	—	1,71	24,85	— 4,85	—	
Mittel	2 »	—	2,31	—	0,171	2,48	— 0,48	—	

Der Fütterungsversuch wurde in genau derselben Weise ausgeführt wie der vorhergehende. Die vorstehende Tabelle gibt die erhaltenen Resultate wieder. Zu bemerken ist, daß auch dieses Futter vom Hunde anfangs sehr gern gefressen wurde. Gegen Ende des Versuches nahm seine Freßlust ab, auch war das Versuchstier weniger lebhaft als sonst.

Die vorliegenden Resultate zeigen ohne weiteres, daß das mit Säure hydrolysierte Casein das Versuchstier nicht vor Stickstoffverlust zu schützen vermochte. Dies beweist der folgende Versuch, welcher zeigt, daß das oben festgestellte Plus an Stickstoffausfuhr ungefähr der Stickstoffausscheidung bei stickstofffreier Kost (bei gleicher Kalorienzufuhr) entspricht.

Tabelle III.

Datum	Nahrungs- N	Harn		Kot getrocknet		Ge- samt- N-Aus- fuhr	N- Bilanz	Ge- wicht	Bemerkungen
		Menge	N	Menge	N				
25. II. 05	0	95	0,49	4,16	0,03	0,52	- 0,52	3,005	Erhielt pro Tag: 50 g Stärke, 10 » Rohrzucker, 5 » Traubenzucker 31 » Fett.
26.	0	80	0,52		0,03	0,55	- 0,55	2,970	
27.	0	100	0,48		0,03	0,51	- 0,51	2,940	
28.	0	75	0,51		0,03	0,54	- 0,54	2,900	
Summa	—	—	2,00	—	0,12	2,12	- 2,12	—	
Mittel	—	—	0,5	—	0,03	0,53	- 0,53	—	

Aus dem Ausfall dieser Versuche darf natürlich nicht unmittelbar geschlossen werden, daß der tierische Organismus nicht imstande ist, total abgebautes Eiweiß zu verwerten. Bei der Hydrolyse durch Säuren sind sekundäre Zersetzungen vielleicht wichtiger Verbindungen nicht ausgeschlossen. Vielleicht ist die teilweise Racemisierung der Aminosäuren auch nicht ohne Bedeutung. Wir beabsichtigen, diese Versuche mit verdautem, von komplizierten Produkten befreitem Casein fortzusetzen.

Zu der Ausarbeitung dieser Versuche hatte uns die Frage geführt, bis zu welchen Verdauungsstufen das Eiweiß abgebaut sein darf, um im tierischen Organismus noch Verwendung zu finden. Auf diesem Wege hofften wir einen Einblick zu gewinnen

in den Eiweißabbau der normalen Verdauung. Wie der eine<sup>1)</sup> von uns jüngst gezeigt hat, findet höchstwahrscheinlich im Darmkanal keine totale Hydrolyse des Eiweißes statt, wohl aber finden sich freie Aminosäuren. Die vorliegenden Versuche sprechen nicht gegen die Annahme, daß normalerweise der Abbau der Eiweißkörper im Darmkanal über die Peptone hinaus bis zu biuretfreien Komplexen und Aminosäuren geht. Es darf aber nicht umgekehrt aus den Versuchen direkt auf einen solchen weitgehenden Abbau geschlossen werden.

Mit unseren Versuchsergebnissen stehen die Folgerungen, die Loewi<sup>2)</sup> aus seinen Versuchen gezogen hat, in Einklang. In jüngster Zeit haben sich auch V. Henriques und C. Hansen<sup>3)</sup> mit der Frage der Eiweißsynthese im tierischen Organismus beschäftigt. Ihre an Ratten angestellten Versuche führten, soweit sie mit entsprechenden Produkten ausgeführt sind, zu denselben Schlußfolgerungen, wie wir sie bereits aus unseren ersten Versuchen gezogen haben. Es ist jedoch fraglich, ob Stoffwechselversuche an einzelnen Ratten exakte Schlüsse erlauben, denn die Fehlerquellen kommen bei den überaus geringen Stickstoffmengen doch sehr in Betracht, außerdem ist zu bedenken, daß bei den relativ großen Stickstoffmengen, die die Verfasser den Ratten verabreichten, die eventuell vorhandenen komplizierteren Produkte an und für sich schon ausreichen konnten.

Die mitgeteilten Versuche führen zu weiteren Fragestellungen. Wir haben zu unseren Untersuchungen absichtlich Casein gewählt, weil uns dieser in der Ernährung des wachsenden Säuglings eine so hervorragende Rolle spielende Eiweißkörper die meisten Garantien für ein Gelingen der Versuche zu geben schien, denn es dürfte angenommen werden, daß er alle erforderlichen, zum Teil ja immer noch unbekanntes Bausteine des Eiweißes enthielt. Es wird nun von Interesse sein, auf gleiche Weise auch andere Eiweißkörper zu untersuchen.

<sup>1)</sup> Emil Abderhalden, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, S. 17, 1905.

<sup>2)</sup> Archiv für experimentelle Path. und Pharmak., Bd. XLVIII, S. 303, 1902.

<sup>3)</sup> Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 417, 1905.

Bei unseren Versuchen hatte das Versuchstier mit der Nahrung stets größere Mengen freier Aminosäuren erhalten. Um festzustellen, ob unter diesen Umständen unveränderte Aminosäuren in den Harn übergehen, unterwarfen wir in jedem Versuche den gesammelten Harn der  $\beta$ -Naphthalinsulfureaktion. In keinem Falle konnten wir Aminosäuren nachweisen.<sup>1)</sup>

---

<sup>1)</sup> Eine jüngst von Franz Erben publizierte Arbeit (Diese Zeitschrift, Bd. XLIII, S. 320, 1905) veranlaßt uns zur Mitteilung von im Sommer 1904 gemachten Beobachtungen bezüglich des Gehaltes von normalem Harn von Menschen an Aminosäuren. Es ist uns in keinem Falle gelungen, aus sehr großen Harnmengen (je 50 l Harn) nach erfolgter Eindampfung resp. Eindampfung mit Hilfe des  $\beta$ -Naphthalinsulfochlorids resp. der Veresterungsmethode Aminosäuren zu isolieren. Nach unseren Erfahrungen sind beide genannten Methoden für den «quantitativen» Nachweis von Aminosäuren nicht geeignet, erstere Methode ist außerdem dann schon mit Schwierigkeiten verknüpft, wenn ein Gemisch verschiedener Aminosäuren vorliegt. Unter diesen Umständen ist, wie jüngst Abderhalden und Barker (Diese Zeitschrift, Bd. XLII, S. 524, 1904) hervorgehoben haben, die Estermethode vorzuziehen. Aber auch diese bereitet wegen der großen Salzmengen oft Schwierigkeiten und muß noch mehr den gegebenen Verhältnissen angepaßt werden. Andere Untersuchungen haben unsere Versuche nach dieser Richtung unterbrochen. Sie sollen aber wieder aufgenommen werden.