Die Matrix der Fische

VII.

Essentielle Aminosäuren in *Abramis*
und *Salmo (Pisces)* sowie *Tubifex (Vermes)*¹⁾

Von ULRICH A. CORTI, Zürich

(Mitteilung aus der Eidg. Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz an der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich)

Eingegangen am 8. Februar 1950

I

Untersuchungen zur Ermittlung der am Aufbau der Organismen beteiligten sogenannten *essentiellen Aminosäuren* bieten nicht nur theoretisches, sondern auch ernährungswissenschaftliches Interesse. Aus diesem Grunde wurde einer unserer gewöhnlichsten einheimischen Nutzfische, der Brachsen, *Abramis brama* L. (♀ von 244,0 g Frischgewicht, 21 cm Länge [gemessen von der Maulspitze bis zum beschuppten Schwanzende] und 9,5 cm maximaler Höhe), der Hydrolyse unterworfen.

Der Brachsen wurde grob zerlegt und dann mit 250 cm³ Salzsäure (spezifisches Gewicht 1,19) während 20 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde das gesamte Hydrolysat filtriert. Der Filtrerrückstand wurde mit wenig Wasser ausgewaschen; er wog nach dem Trocknen bei 105° 1,40 g. Das mit dem Waschwasser vereinigte Filtrat (530 g = 475 cm³) wurde mit Äther extrahiert. Der Auszug hinterließ nach dem Abtreiben des Äthers 14,8 g eines wohl vorwiegend aus Fettsäuren bestehenden Rückstandes. Nun wurde das mit Äther extrahierte Hydrolysat mit wasserfreiem Natriumkarbonat auf den p_H -Wert 4,25 neutralisiert, wobei sich ein Niederschlag bildete, der nach dem Absaugen und Trocknen bei 105° 45,6 g wog. Erhalten wurden 396,7 cm³ filtriertes Neutralisat mit einem Gesamtstickstoffgehalt (KJELDAHL) von 5,029 g. Mit Einschluß der Gesamtstickstoffwerte der oben erwähnten Rückstände (1,40 g $\rightarrow$ 0,036 g N; 45,6 g $\rightarrow$ 1,159 g N) ergibt sich für den 244,0 g schweren Brachsen ein N-Total von 6,22 g (2,55%).

¹⁾ 6. Mitteilung (im Druck) siehe C. r. XXIII^e Congr. Chimie industr. (Barcelona) 1949.
5. Mitteilung (im Druck) siehe Verh. Schweiz. naturf. Ges. (Lausanne), 1949.

Die mikrobiologische Bestimmung einiger Aminosäuren im Fischhydrolysat ($396,7 \text{ cm}^3$; $p_H 4,25$) ergab folgende Werte:

Aminosäure	mg/cm ³ Hydrolysat	g/396,7 cm ³ Hydrolysat (~ 244 g Fisch)	g/kg Körper-Frisch- gewicht
Valin	3,2	1,269	5,20
Leuzin	6,25	2,479	10,16
Isoleuzin	4,4	1,746	7,16
Threonin	3,2	1,269	5,20
Methionin	2,71	1,075	4,41
Zystin	0,5	0,198	0,81
Phenylalanin	3,3	1,309	5,36
Tyrosin	1,7	0,666	2,73
Arginin	8,6	3,369	13,81
Histidin	1,36	0,533	2,18

Nach freundlicher Mitteilung des Eidgenössischen Fischereinspektors, Herrn A. MATHEY-DORET, werden in der Schweiz jährlich rund 300 t Zypriniden gefangen. Davon entfallen schätzungsweise 50 t auf Brachsen. Rechnet man die weiter oben angeführten Analysenergebnisse auf diesen Jahresertrag von 50000 kg Brachsen um, so erhält man für die einzelnen Aminosäuren folgende runde Werte:

Aminosäure	1	2
Valin	260 kg	650
Leuzin	510 kg	820
Isoleuzin	360 kg	820
Threonin	260 kg	710
Methionin	220 kg	1830
Zystin	40 kg	550
Phenylalanin	270 kg	530
Tyrosin	135 kg	370
Arginin	1090 kg	2490
Histidin	110 kg	915

Die Kolonne 2 enthält die Anzahl erwachsener Personen, deren jährlicher Minimalbedarf an essentiellen Aminosäuren mit den in der Kolonne 1 angeführten Mengen gedeckt werden kann (R. A. HARTE, J. J. TRAVERS, *Human Amino Acid Requirements*, Science 105, 15/16 [1947]).

2

Aus einer Anzahl *ab ovo* in einem Fließwasseraquarium, unter *nabezu ausschließlicher, reichlicher Fütterung mit frischer Rindsleber* gezüchteter, 874

bis 884 Tage alter (Alter ab Schlüpfstag gerechnet) Regenbogenforellen, *Salmo irideus* W. Gibb., wurde sorgfältig eine Gesamtmenge von 1000 g grätefreien *Muskelfleisches* herauspräpariert und sofort in konzentrierte Salzsäure eingetragen.

1000 g frisches Forellenmuskelfleisch (Wassergehalt 78,0%) wurden mit 865 g Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 während 16 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde filtriert und der Filtrerrückstand mit destilliertem Wasser gründlich ausgewaschen. Der Rückstand wog nach dem Trocknen bei 105° 16,6 g. Er lieferte bei der Extraktion mit Äther 11,9 g Extraktivstoffe (Fettsäuren u. a.). Der unlösliche Rest (Huminstoffe) wog 4,1 g. Sein Stickstoffgehalt (KJELDAHL, betrug im Mittel aus drei Bestimmungen 4,77%; die Ausbeute an Asche (zwei Analysen) lag im Mittel bei 0,90%. Das salzsaure Hauptfiltrat inkl. das Waschwasser wurde mit 250 g kalzinierem Natriumkarbonat neutralisiert und auf ein spezifisches Gewicht (d_{15}^{15}) von 1,26 eingedampft. Hierbei schieden sich keine Stoffe aus. Das konzentrierte Hydrolysat wog 595,8 g. Gesamtstickstoffgehalt des konzentrierten Neutralisates nach KJELDAHL, im Mittel aus zwei Bestimmungen, 1,79 Gew.-%.

Das neutralisierte Hydrolysat aus Muskelfleisch von *Salmo irideus* wurde nun mikrobiologisch¹⁾ auf seinen Gehalt an verschiedenen *Aminosäuren* geprüft, wobei als Testsubstanz für alle Aminosäuren stets die *l*-Form diente. Die Ergebnisse der einschlägigen Untersuchungen finden sich in der nachfolgenden Tabelle zusammengestellt.

Aminosäure	mg/cm ³ Hydrolysat	In Prozent des frischen Muskelfleisches	In Prozent des getrockneten Muskelfleisches
Arginin	20	0,95	4,30
Zystin	11	0,52	2,63
Glutaminsäure	35	1,66	7,52
Histidin	10	0,47	2,15
Isoleuzin	7,1	0,34	1,53
Leuzin	4,2	0,20	0,90
Methionin	3,9	0,18	0,84
Phenylalanin	5,2	0,25	1,12
Threonin	5,4	0,26	1,16
Tryptophan ²⁾	0	0	0
Tyrosin	1,6	0,08	0,34
Valin	18	0,85	3,87
Total			26,36%

¹⁾ Herrn Dr. V. KOCHER, Leiter des Mikrobiologischen Laboratoriums Basel, St.-Jakob-Straße 350, danke ich auch an dieser Stelle bestens für die Durchführung der Analysen des Forellenmuskelfleischhydrolysates.

²⁾ Das Tryptophan wurde unter den gewählten Hydrolysenbedingungen zerstört.

Die in der Trockensubstanz (22,0%) des Muskelfleisches ermittelten Aminosäuren (26,36%) entsprechen ca. 54% des vorhandenen Gesamtstickstoffs. Bemerkenswert ist der relativ hohe Gehalt des Forellenfleisches an Arginin, Zystin, Glutaminsäure und Valin.

3

Unter den für gewisse fließende Abwässer typischen Begleitorganismen gehören die *Tubifiziden*, eine Familie der *Oligochaeta* aus der Klasse der *Cli-tellata*, zu den bekanntesten Erscheinungen. Diese interessanten Würmer werden von Aquarienliebhabern vielfach als Fischfutter verwendet. Ihr bisweilen massenhaftes Auftreten in Tropfkörpersystemen (biologischen Abwasserreinigungsanlagen) und die damit verbundene leichte Zugänglichkeit der Tubifiziden bot Anregung zur Prüfung der Frage, ob diese Würmer sich vielleicht als Rohstoffquelle zur Gewinnung der in der Physiologie und Therapie eine bedeutende Rolle spielenden essentiellen Aminosäuren eignen würden.

Wir haben uns aus einem Tropfkörper der Technischen Versuchsstation unseres Institutes ausreichende Mengen von Tubifiziden (*Tubifex* sp.) beschafft und letztere mit frischem Wasser gründlich reingespült. Hierauf wurde das Material sorgfältig getrocknet; es enthielt darnach 8,5% Gesamtstickstoff, was auf einen Gehalt von annähernd 50% Roheiweißsubstanz schließen läßt.

40,0 g *Tubifex* trockensubstanz wurden mit einer Mischung aus 80 cm³ Salzsäure 1,19 und 90 cm³ Wasser während 16 Stunden (effektive Kochdauer) unter Rückfluß zum Sieden erhitzt (Ölbadtemperatur 120–125°). Während der Hydrolyse machte sich starker Geruch nach Schwefelwasserstoff bemerkbar. Nach dem Erkalten des Hydrolysates wurde dasselbe filtriert. Die Ausbeute an blankfiltriertem Hydrolysat betrug 260 g (240 cm³) inkl. etwas Waschwasser. Der abgesaugte und getrocknete Hydrolysenrückstand wog 6,76 g. Nun wurde das Roheiweißhydrolysat mit 30prozentiger Natronlauge neutralisiert ($p_H = 5,10$). Der anlässlich des Neutralisierungsprozesses ausfallende Niederschlag wog nach dem Trocknen 2,25 g. Das filtrierte Neutralisat wurde mit Wasser auf ein Volumen von 310 cm³ ergänzt. Es diente in dieser Form zur Bestimmung einer Anzahl essentieller Aminosäuren mittels mikrobiologischer Methoden. Die Analysenergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle mitgeteilt. Das Tryptophan ist bei den von uns gewählten Hydrolysenbedingungen zerstört worden.

Aus diesen Resultaten geht hervor, daß das *Tubifex*eiweiß bei der Hydrolyse beachtliche Mengen wertvoller Aminosäuren liefert, ein Umstand, der das Problem der Proteingewinnung aus Abwasserorganismen in ein neues Licht rückt. Es wäre jedenfalls interessant, neben *Tubifex* noch weitere Abwasserorganismen auf ihre Eignung als Eiweißquelle zu prüfen, da

Aminosäure	mg/cm ³ Hydrolysat	g Aminosäure pro kg <i>Tubifex</i> trockensubstanz
Valin	3,19	28,7
Leuzin	5,4	48,6
Isoleuzin	2,9	26,1
Threonin	3,0	27,0
Methionin	1,54	13,9
Zystin	0,64	5,8
Phenylalanin	2,7	24,2
Tyrosin	0,8	7,2
Arginin	2,74	24,7
Histidin	1,1	9,9

sich auf diesem Wege unter Umständen Einnahmen aus Abwasserreinigungsanlagen erschließen lassen, die einen Beitrag an die Verminderung der Betriebskosten eben dieser Anlagen zu leisten imstande wären. Es sei in diesem Zusammenhang nur an die Vorschläge zur Verwertung gewisser zuckerhaltiger Abwässer für die Gewinnung von Hefe (*Torula*) erinnert. Man wird im Hinblick auf die vorstehend mitgeteilten Befunde den optimalen Entwicklungsbedingungen, z. B. von Tubifiziden und der Beschaffung dieser Organismen in für technische Zwecke ausreichenden Mengen vermehrte Aufmerksamkeit schenken müssen. Bekanntlich bringen auch die am Belebtschlamm teilhabenden Kleinlebewesen zahlreiche Inhaltsstoffe des Abwassers durch Einbau in ihr Soma auf eine biologisch höhere Wertstufe. Diese Werte sollten irgendwie realisiert werden.

SUMMARY

The amount of 10 and 11 amino acids respectively has been estimated in (a) a complete specimen of *Abramis brama*; (b) muscles of *Salmo irideus*; (c) *Tubifex* sp.

LITERATURVERZEICHNIS

- ÅGREN, G., Acta Physiol. Scand. 7, 134-146 (1944); C. A. 39, 4405. Ders. ibid. 8 305-11 (1944); C. A. 39, 4989.
 ARRIGONI, L., und FISHER, L., J. Amer. Pharm. Assoc. 32, 155-160 (1943).
 POTTINGER, S. R., und BALDWIN, W. H., Proc. 6th Pacific Sci. Congr. Pacific Sci. Assoc. 1940, 453; C. A. 35, 5583.
 POTTINGER, S. R., und BALDWIN, W. H., Com. Fisheries Rev. 8, Nr. 8, 5-9 (1946); C. A. 41, 539.
 SHARPENAK, A. E., BALASHOVA, O. N., und PERZOVSKAYA, Voprosy Pitaniya 3, Nr. 6, 57-63 (1934); C. A. 31, 6265. Cf. ibid. 6, Nr. 1, 34-36 (1937); C. A. 32, 5092.