

# Die Eignung von Pepsin verschiedener Herkunft zur Bestimmung der Pepsin-Salzsäurelöslichkeit von Eiweiss in Grünfutter und Dürrfutter

Autor(en): **Bickel, H. / Roulet, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **49 (1958)**

Heft 1

PDF erstellt am: **08.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982526>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Die Eignung von Pepsin verschiedener Herkunft zur Bestimmung der Pepsin-Salzsäurelöslichkeit von Eiweiss in Grünfutter und Dürrfutter

Von *H. Bickel* und *M. Roulet*

(Gutsverwaltung und Landw. Versuchsanstalt, Liebefeld-Bern)

## 1. Problemstellung

Für die Berechnung des Futterwertes landwirtschaftlicher Futtermittel, ausgedrückt in Stärkeeinheiten, ist einerseits die chemische Analyse und andererseits die Verdaulichkeit der Rohnährstoffe massgebend. Die Verdaulichkeit der Rohnährstoffe wird durch den Tierversuch ermittelt. Da es nicht möglich ist, für jede Futterwertermittlung einen Tierversuch durchzuführen, ist man darauf angewiesen, die Verdaulichkeit der Rohnährstoffe zu schätzen. Dabei bedient man sich gerne einer Schätzungsmethode, die darauf beruht, die Eiweissverdaulichkeit *in vitro*, das heisst die Löslichkeit des Eiweisses in Pepsin-Salzsäure chemisch zu bestimmen. Aus der Eiweissverdaulichkeit lassen sich Rückschlüsse auf die Verdaulichkeit der Rohnährstoffe ziehen. Diese Methode hat sich besonders bei der Berechnung des Futterwertes von Rauhfutter weitgehend eingebürgert. Die Analysengenauigkeit der Bestimmung des pepsinsalzsäurelöslichen Eiweisses übt dabei einen nicht unerheblichen Einfluss auf das Resultat der Futterwertermittlung aus. Bei eiweissarmen Futtermitteln — und als solche sind die Rauhfutter im allgemeinen und das Grün- und Dürrfutter im besonderen zu bezeichnen — macht sich dieser Einfluss besonders stark geltend. Eine Analysendifferenz von beispielsweise rund 0,5 % löslichem Eiweiss kann im Dürrfutter einen Unterschied von ein bis zwei Stärkeeinheiten ausmachen.

Aus diesen Gründen wurde die proteolytische Wirksamkeit verschiedener im Handel erhältlicher Pepsinsorten auf Grün- und Dürrfutter geprüft. Der proteolytische Wirksamkeit von Pepsin wird entweder als den Vorschriften einer Pharmacopöe entsprechend oder in Form von Verhältniszahlen angegeben. Die Verhältniszahlen (z.B. 1 : 3000) bezeichnen, wie viele Teile eines gekochten Hühnereiweisses von einem Teil des betreffenden Pepsins *in vitro* verdaut werden.

## 2. Geprüfte Pepsinsorten und Analysenmethoden

Wir verwendeten vier verschiedene Pepsinsorten, die vom Handel frisch geliefert und folgendermassen bezeichnet wurden:

Pepsin Ph.H.V.  
Pepsin 1 : 3000  
Pepsin DAB 6  
Pepsin 1 : 10 000

Zunächst wurde die proteolytische Wirksamkeit der Pepsine auf Kasein geprüft. Diese Prüfungsmethode, die wir der Ph.H.V. entnahmen, schien sich für unsere Zwecke besser zu eignen als die Prüfungsmethode mit Hühnereiweiss (*Wiegner und Pallmann* [1938] und DAB 6). Es wurde bei früheren Prüfungen von Pepsin zu verschiedenen Malen beobachtet, dass eine eindeutige Aussage über die proteolytische Wirksamkeit auf Hühnereiweiss nicht immer mit genügender Sicherheit gemacht werden konnte.

Die Prüfungsmethode ist unten im Wortlaut der Ph.H.V. wiedergegeben. Für die Herstellung der nötigen Kaseinlösung verwendeten wir das im Handel erhältliche Kasein nach *Hammarsten*.

«Zur Prüfung der proteolytischen Wirksamkeit des Pepsins benützt man eine Kaseinlösung, eine Kasein-Vergleichlösung und eine Pepsinlösung, welche in folgender Weise herzustellen sind:

*Kaseinlösung:* 0,100 g Kasein wird in ein trockenes Messkölbchen von 50 cm<sup>3</sup> Inhalt gegeben und durch Anschütteln mit wenig Wasser aufgeschwemmt. Die Aufschwemmung wird mit ca. 25 cm<sup>3</sup> Wasser verdünnt und unter Umschwenken mit 1 cm<sup>3</sup> 0,1n-Natronlauge versetzt. Das Kasein wird unter Erwärmen auf 40° durch Umschwenken, unter Vermeidung von Schütteln, gelöst (was nicht mehr als eine halbe Stunde erfordern soll). Die Lösung verdünnt man mit ca. 15 cm<sup>3</sup> Wasser, lässt ohne umzuschwenken 2,6 cm<sup>3</sup> n-Salzsäure in das Kölbchen fließen, schwenkt dann rasch um, bis sich das ausgefallene Kasein wieder gelöst hat, und ergänzt nach dem Abkühlen auf gewöhnliche Temperatur mit Wasser auf 50 cm<sup>3</sup>.

*Kasein-Vergleichlösung:* 4 cm<sup>3</sup> der obigen Kaseinlösung (genau gemessen) werden in einem Messkölbchen von 100 cm<sup>3</sup> Inhalt mit ca. 50 cm<sup>3</sup> Wasser verdünnt, mit 2,3 cm<sup>3</sup> n-Salzsäure versetzt und mit Wasser auf 100 cm<sup>3</sup> ergänzt.

*Pepsinlösung:* 0,100 g Pepsin wird auf eine Mischung von ca. 5 cm<sup>3</sup> Wasser und 5 cm<sup>3</sup> 0,1n-Salzsäure, die sich in einem Schälchen befindet, aufgestreut. Man lässt ruhig stehen, bis das Pulver sich gelöst hat, bzw. untergesunken ist. Dann wird die Mischung mit Wasser verlustlos in einen Messkolben von 1 Liter Inhalt gespült und mit Wasser auf 1 Liter ergänzt.

*Wertbestimmung:* In einem dickwandigen Reagenzglas von ca. 13 mm innerer Weite mit Glasstopfen mischt man 5 cm<sup>3</sup> der Kaseinlösung mit 3,8 cm<sup>3</sup> Wasser und 1,2 cm<sup>3</sup> der frischhergestellten Pepsinlösung, stellt das Gemisch sogleich in ein konstantes Wasserbad von 40° C und belässt es dort während 1 Stunde. Nach dieser Zeit wird die Verdauung durch Zugabe von 0,3 cm<sup>3</sup> Natriumacetat unterbrochen. Gleichzeitig mischt man, ohne zu schütteln, in einem zweiten, gleichweiten Reagenzglas 10 cm<sup>3</sup> Kasein-Vergleichlösung mit 0,3 cm<sup>3</sup> Natriumacetat (Vergleichstrübung). Das Reagenzglas mit der verdauten Kaseinlösung wird nun ca. 4 Minuten lang in Wasser von gewöhnlicher Temperatur eingestellt. Vergleicht man alsdann binnen 3 Minuten die beiden Reagenzgläser, so darf die Trübung der verdauten Probe höchstens gleich stark sein wie diejenige der Vergleichstrübung.»

Die oben erwähnten Pepsinsorten wurden für parallele Einzelbestimmungen des pepsinsalzsäurelöslichen Eiweisses in drei Klee gras- und vier Heuproben verwendet. Sie dienten ausserdem für weitere 43 Doppelbestimmungen des lös-

lichen Eiweisses in Dürrfutter. Dabei wurde im Prinzip nach der Methode von *Sjollema* und *Wedemeyer* vorgegangen, die an den eidg. landwirtschaftlichen Versuchsanstalten üblich und unter anderem im Handbuch von *Wiegner* und *Pallmann* (1938) beschrieben ist. In Abänderung der ursprünglichen Arbeitsvorschrift wurde in Anbetracht des geringen Rohfettgehaltes der untersuchten Proben deren vorgängiges Entfetten nicht vorgenommen.

2 g der im 50—60° C warmen Luftstrom vorgetrockneten Substanz wurden in ein Becherglas von 600 bis 800 cm<sup>3</sup> Inhalt gebracht und mit 480 cm<sup>3</sup> Wasser, 1 g Pepsin und 10 cm<sup>3</sup> 25 % Salzsäure versetzt. Das Gemisch wurde rasch auf 37 bis 40° C erwärmt und in einem Brutschrank bei 37 bis 40° C (im Wasser gemessen) 48 Stunden lang unter wiederholtem Umrühren stehen gelassen. Nach 24 Stunden wurden weitere 10 cm<sup>3</sup> 25 % Salzsäure zugesetzt. Die Lösung wurde durch einen Faltenfilter (S & S Nr. 560) filtriert und der Niederschlag mit warmem Wasser bis zur Freiheit von Chlorionen (Prüfung mit Silbernitrat) ausgewaschen. Niederschlag und Filter wurden, nach Trocknung bei 60° C, nach *Kjeldahl* aufgeschlossen.

Durch diese Methode wird zunächst das *unlösliche* Eiweiss bestimmt. Das pepsinsalzsäurelösliche Eiweiss ergibt sich aus der Differenz zwischen dem gesamten Roheiweiss, bzw. gesamten Reineiweiss und dem unlöslichen Eiweiss. Im folgenden werden die Ergebnisse von Bestimmungen des unlöslichen Eiweisses anstelle derjenigen des löslichen Eiweisses angegeben und diskutiert. Dieses Vorgehen erweist sich deswegen als zweckmässiger, weil sich die Ergebnisse der Bestimmungen des unlöslichen Eiweisses besser für Vergleiche eignen; *die Schlussfolgerungen aus den Bestimmungen bleiben sich dabei gleich*. Diese Tatsache bestätigte sich durch Kontrollrechnungen und Vergleiche, die mit den Bestimmungen des löslichen Eiweisses, und zwar des Roheiweisses, durchgeführt wurden und auf die im folgenden Abschnitt nicht weiter eingegangen wird.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

Die Prüfung der vier Pepsinsorten nach der erwähnten Vorschrift ergab, dass drei Sorten den Anforderungen der Ph.H.V. entsprachen und eine Sorte die Anforderungen nicht erfüllte:

Pepsin Ph.H.V.	:	konform
Pepsin 1 : 3000	:	konform
Pepsin DAB 6	:	nicht konform
Pepsin 1 : 10 000	:	konform

Die parallelen Einzelbestimmungen des unlöslichen Eiweisses in den drei Klee gras- und vier Heuproben ergaben folgende Resultate:

*Unlösliches Eiweiss in der gemahlenen, lufttrockenen Substanz*

Nr.	Material	Pepsinsorten			
		Ph.H.V.	1 : 3000	DAB 6	1 : 10 000
		‰	‰	‰	‰
3415	Klee gras	2,28	2,28	2,78	2,12
3427	Klee gras	3,33	3,45	4,33	3,43
3672	Klee gras	2,65	2,84	3,33	2,76
3488	Heu	2,58	2,54	3,37	2,69
3508	Heu	2,73	2,73	3,43	2,67
3639	Heu	2,87	3,00	3,41	2,78
3642	Heu	3,11	2,98	3,13	3,06
	Mittel	2,79	2,83	3,40	2,79

Die Resultate wurden nach der Methode der einfachen Streuungszerlegung (*Linder, 1951*) auf ihren Aussage wert untersucht. Es ergaben sich:

1. keine gesicherten Unterschiede zwischen den mit Pepsin Ph.H.V., Pepsin 1 : 3000 und Pepsin 1 : 10 000 gewonnenen Resultaten;
2. sehr stark gesicherte Unterschiede ( $P < 0,001$ ) zwischen den mit diesen drei Produkten einerseits und Pepsin DAB 6 andererseits ermittelten Ergebnissen.

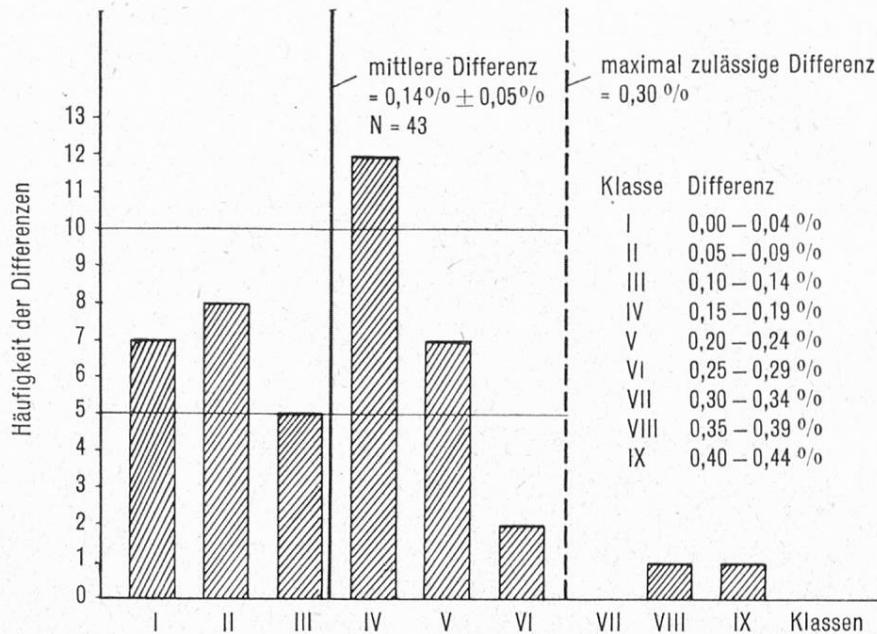
Ein Vergleich der proteolytischen Wirkung der Pepsine auf Kasein, geprüft nach den Vorschriften der Ph.H.V., mit derjenigen auf das Eiweiss von Rauhfutter, ermittelt nach der Methode *Sjollemas-Wedemeyer*, lässt eine Uebereinstimmung der Ergebnisse erkennen:

*Das den Anforderungen der Ph.H.V. nicht entsprechende Pepsin hatte eine deutlich geringere Wirksamkeit auf das Eiweiss der Rauhfutterproben als die der Ph.H.V. konformen Pepsine.* Es dürfte daraus hervorgehen, dass die Prüfmethode der Ph.H.V. für unsere Zwecke gut geeignet war. Sie erlaubte die proteolytische Wirksamkeit mit Sicherheit zu erfassen, und ihre Zuverlässigkeit bestätigte sich in den Versuchen mit Rauhfutter.

Die mittleren Differenzen zwischen den Bestimmungen mit Pepsin DAB 6 und den übrigen Sorten betragen in der Reihenfolge der Tabelle 0,61 ‰, 0,57 ‰ und 0,61 ‰. Sie seien wie folgt mit Differenzen verglichen, die bei Doppelbestimmungen unter Verwendung von jeweils ein und derselben Pepsinsorte entstehen können:

In 43 Dürrfutterproben wurden Doppelbestimmungen des unlöslichen Eiweisses vorgenommen. Die Doppelbestimmungen erfolgten vollständig getrennt durch zwei verschiedene Personen ungefähr im gleichen Zeitpunkt. Bei 9 Doppelbestimmungen wurde Pepsin Ph.H.V., bei 34 Doppelbestimmungen Pepsin 1 : 3000 verwendet. Die Differenzen zwischen den Einzelwerten der Doppel-

bestimmungen wurden in Klassen mit 0,05 % Breite gruppiert und in der untenstehenden Graphik eingetragen. Der niedrigste Wert liegt bei 0,00 %, der höchste Wert bei 0,40 %. Als Mittelwert wurde 0,14 % mit einem Vertrauensbereich von  $\pm 0,05$  % ( $P = 0,001$ ) errechnet. Der häufigste Klassenwert liegt bei 0,15 bis 0,19 % (Klasse IV).



Analysendifferenzen bei Doppelbestimmungen des pepsinsalzsäureunlöslichen Eiweisses in 43 Dürrfutterproben

Für die Festlegung eines maximal zulässigen Analysenfehlers dürfte es angebracht sein, den bei der Streuungszerlegung aus Parallelbestimmungen ermittelten Vertrauensbereich anzuwenden. Er erstreckt sich für  $P = 0,05$  auf  $\pm 0,168$  %. Es scheint uns daher gerechtfertigt zu sein, eine maximal zulässige Differenz zwischen den Einzelwerten von Doppelbestimmungen bei 0,34 % ( $= 2 \cdot 0,168$ ) oder etwas strenger bei 0,30 % festzulegen. Zwei von 43 Bestimmungen wiesen eine höhere Differenz auf und wurden deshalb ein drittes Mal wiederholt.

Vergleicht man die Differenzen zwischen den mit vier Pepsinsorten durchgeführten parallelen Einzelbestimmungen (Tabelle) mit den Differenzen zwischen den Einzelwerten der Doppelbestimmungen mit jeweils gleichem Pepsin (Graphik), so bestätigt sich die auf Grund der Streuungszerlegung gemachte Aussage, wonach eine Differenz von rund 0,60 % nicht zufälliger Natur sein kann; das Pepsin DAB 6 hatte offenbar eine geringere proteolytische Wirkung als die übrigen drei Pepsine. Diese Aussage erscheint umso berechtigter zu sein, als die parallelen Einzelbestimmungen von *einer* Person, die Doppelbestimmungen jedoch von jeweils *zwei* Personen durchgeführt wurden. Erfahrungsgemäss stimmen Doppelanalysen, die von ein und derselben Person gewonnen wurden, besser überein als solche, die durch zwei Personen ausgeführt wurden.

#### 4. Zusammenfassende Schlussfolgerung

Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse sei vorgeschlagen:

1. Zur Prüfung des Pepsins auf seine Brauchbarkeit für die Bestimmung des löslichen Eiweisses in Grün- und Dürrfutter ist die Prüfungsmethode der Ph.H.V. (Prüfung mit Kasein) anstelle der Methode des DAB 6 (Prüfung mit Hühnereiweiss) anzuwenden.
2. Die Bestimmung des pepsinsalzsäurelöslichen Eiweisses in Grün- und Dürrfutter ist nur mit Pepsin durchzuführen, das den Anforderungen nach den Vorschriften der Ph.H.V. entspricht.

*Dijkstra* (1957) formuliert einen ähnlichen Vorschlag für die landwirtschaftlichen Versuchsanstalten in Holland, nach dem in Zukunft für alle Futtermittel nur Pepsin 1:10 000 verwendet werden soll.

Erfahrungsgemäss kann Pepsin bei ungünstiger Lagerung einen Teil seiner proteolytischen Wirksamkeit einbüssen. Es empfiehlt sich daher, die Prüfung nach Ph.H.V. von Zeit zu Zeit durchzuführen und die Lagerungsvorschriften der Ph.H.V. zu beachten.

#### Zusammenfassung

Es wurde die proteolytische Wirksamkeit von Pepsin verschiedener Herkunft auf Grün- und Dürrfutter geprüft. Auf Grund der Untersuchungen wird vorgeschlagen, zur Bestimmung des verdaulichen Eiweisses *in vitro* nur Pepsin zu verwenden, das den Vorschriften der Pharmacopoea Helvetica V entspricht.

#### Résumé

On a examiné l'action protéolytique de pepsines de diverses provenances sur des fourrages verts et des fourrages séchés. Sur la base des observations faites on recommande de n'utiliser — pour le dosage de l'albumine digestible *in vitro* — qu'une pepsine qui corresponde aux exigences de la pharmacopée suisse V.

#### Summary

Examination of the proteolytic action of various pepsins on green and dried fodder. For the determination of the digestible albumine *in vitro* it is recommended to use a pepsin of a purity corresponding to the requirements of the Swiss Pharmacopoea V.

#### Literatur

- G. *Wiegner* und H. *Pallmann*, Anleitung zum quantitativen agrikulturchemischen Praktikum, 2. Aufl., Berlin 1938.  
A. *Linder*, Statistische Methoden, 2. Aufl., Basel 1951.  
N. D. *Dijkstra* und D. *Van der Schaaf*, Onderzoek naar de voederwaarde van gebroeid hooi II, Versl. landbouwk. Onderz. No. 63.9, 's-Gravenhage, 1957.