

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Züchtungsforschung, Müncheberg, Mark.)

Eine Methode zur Bestimmung des Rohproteingehaltes in Zuchtmaterial.

Von **P. Schwarze** und **R. von Sengbusch**.

I. Einleitung.

Die Steigerung des Eiweißtrages unserer Kulturpflanzen, der von zwei Größen — dem Gesamtertrag und dem prozentualen Eiweiß-

gehalt — bestimmt wird, ist eine wichtige züchterische Aufgabe der Gegenwart (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9). Für ihre Lösung spielt die Erhöhung des prozentualen Eiweißgehaltes, dies sich voraussichtlich leichter und in größerem Umfange erzielen

¹ „Süßlupine“ ges. gesch. Warenzeichen.

läßt als eine Steigerung der Gesamterträge, die größere Rolle. Hoher Eiweißgehalt ist nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen wahrscheinlich stark polymer bedingt. Formen mit erblichem hohen Eiweißgehalt treten daher nur selten auf und lassen sich nur mit einer Methode auffinden, die die Untersuchung eines sehr umfangreichen Zuchtmaterials gestattet.

Zur Methodik der Eiweißuntersuchung im weiteren Sinn gehört auch die Behandlung des Materials vor der eigentlichen Eiweißbestimmung, die Entnahme von Durchschnittsproben und die Ermittlung der Bezugsgrößen, des Frisch- und Trockengewichtes. Die Art der Vorbehandlung und bis zu einem gewissen Grade auch die Eiweißbestimmung selbst richten sich nach der Eigenart des in Bearbeitung befindlichen Materials. Samen müssen eine andere Behandlung erfahren als Kraut oder Knollen, und die Probenahme ist bei Einzelpflanzen eine andere als bei Sorten und Stämmen. Bestimmend für die letztere ist u. a. die bei den einzelnen Kulturpflanzen sehr verschiedene Modifizierbarkeit des Eiweißgehaltes durch Außenbedingungen (Boden, Klima usw.), deren Kenntnis auch eine wichtige Voraussetzung für die Beurteilung der Untersuchungsergebnisse ist.

Eine für die Selektion in Frage kommende Methode zur direkten, vom Tierversuch unabhängigen Bestimmung des verdaulichen Eiweißes oder aller vom tierischen Organismus verwertbaren Stickstoffverbindungen besitzen wir nicht. Doch darf der Gesamtstickstoff insofern als relatives Maß für die verdaulichen Stickstoffverbindungen aufgefaßt werden, als zwischen diesen und dem Gesamtstickstoff in der Regel Proportionalität besteht. Die Gesamtstickstoffbestimmung darf daher bei der Selektion auf hohen „Eiweiß“-Gehalt Anwendung finden, es müssen aber bei den ausgelesenen Formen die einzelnen, besonders die für die Ernährung wichtigen Fraktionen des Gesamt-N mit Spezialmethoden ermittelt werden, da das Verhältnis verdaulicher Stickstoff: Gesamtstickstoff wohl in der Regel, doch nicht unbedingt ein festes ist.

Da die Ausarbeitung einer eigentlichen Schnellmethode zur Gesamt-N-Bestimmung sehr schwierig erschien, haben wir zunächst bereits vorhandene bewährte N-Bestimmungsmethoden umzugestalten versucht, und zwar die bekannte Destillationsmethode und die kolorimetrische Bestimmung mit Hilfe von Neßlers Reagens. Bei beiden Verfahren wird der organisch gebundene Stickstoff nach KJELDAHL in Ammonsulfat übergeführt und als Ammoniak bestimmt, und

zwar im ersten Falle nach Zugabe von Lauge durch Destillation in eine Schwefelsäurevorlage, deren Aciditätsabnahme titrimetrisch ermittelt wird, im letzteren Falle durch Messung der Farbtintensität und damit der NH_3 -Konzentration nach Zugabe von Neßlers Reagens zu einem aliquoten Teil des Aufschlusses.

Aus bestimmten, später zu erörternden Gründen haben wir bisher fast ausschließlich die Destillationsmethode angewandt, deren technische Seite so umgestaltet wurde, daß sie nunmehr den Forderungen, die an eine Selektionsmethode gestellt werden müssen, weitgehend genügt. Ihre Brauchbarkeit hat sich in der Praxis bei der Untersuchung von mehr als 150000 Proben verschiedenster Art (Körner, Brei, Kraut, Mehl z. B.) erwiesen. Die große Leistungsfähigkeit wird erzielt durch die Anwendung der Serien- an Stelle der Einzelanalyse, durch strenge Arbeitsteilung und die Verwendung handlicher Apparate und billiger Chemikalien.

II. Vorbehandlung des Materials.

I. Probeentnahme.

Unsere Untersuchungen erstreckten sich auf Sorten, Zuchtstämme und Einzelpflanzen, und zwar war der Eiweißgehalt¹ in Grünmasse, Körnern und Knollen zu ermitteln. Zur Untersuchung kann immer nur eine begrenzte Materialmenge gelangen, die jedoch so entnommen sein muß, daß ihre Analyse auch tatsächlich einen Wert ergibt, der dem jeweiligen durchschnittlichen Eiweißgehalt entspricht.

Wie bei allen derartigen Untersuchungen darf auch bei der Prüfung des Eiweißgehaltes nur unter gleichen Außenbedingungen (Boden, Klima, Ernährungsverhältnisse) gewachsenes Material verglichen werden.

Die Probeentnahme hängt wie auch die weitere Verarbeitung ganz von der Eigenart des Materials ab. Sie soll daher für die verschiedenen untersuchten Kulturpflanzen getrennt beschrieben werden.

A. Getreide.

Es ist bekannt, daß die Körner einer Ähre im Eiweißgehalt große Unterschiede aufweisen, daher kommt die Einzelkornuntersuchung für eine Auslese eiweißreicher Formen nicht in Frage. Zerlegt man die Ähre in einen oberen, mittleren und unteren Abschnitt und untersucht

¹ Unter Eiweiß ist in dieser Arbeit Rohprotein bzw. Gesamtstickstoff zu verstehen, und zwar Rohprotein bei Grünmasse und Körnern und Gesamtstickstoff bei Knollen (Kartoffeln, Rüben, Topinambur).

diese getrennt, so ergibt sich, daß die Körner des mittleren Abschnittes im allgemeinen eiweißreicher sind als die des oberen und unteren. Die Körner des mittleren Abschnittes besitzen meist auch das größte Tausendkorngewicht. Deutliche Unterschiede im Eiweißgehalt und ebenfalls im Tausendkorngewicht zeigen auch die Körner aus verschiedenen Ähren derselben Pflanze (Tab. 1) und aus Ähren von Geschwisterpflanzen (Tab. 2).

Tabelle 1.
Rohproteingehalt von Körnern aus verschiedenen Ähren derselben Pflanze.

Weizen	Zahl der Ähren	% Rohprotein	
		Variationsbreite	Ø
Pfl. I	8	18,6—21,7	20,6
Pfl. II	9	16,0—21,7	18,1

Tabelle 2. Rohproteingehalt der Körner von Geschwisterpflanzen.

Weizen	Zahl der Pflanzen	% Rohprotein	
		Variationsbreite	Ø
Abstammung I	15	15,9—19,5	17,7
Abstammung II	16	17,3—21,8	19,6

Für Einzelpflanzenuntersuchungen muß deshalb eine Durchschnittsprobe aus den Körnern der gesamten Pflanze, für Sorten- und Stammuntersuchungen eine Durchschnittsprobe aus den Körnern möglichst vieler Pflanzen hergestellt werden.

Zur Untersuchung gelangen Proben von 2 g, bei Einzelpflanzen, da das Material beschränkt ist, meist je eine, bei Stämmen und Sorten je zwei. Diese Menge läßt sich nach unserer Methode gut verarbeiten und enthält eine größere Zahl von Körnern, so daß sich die zwischen den Einzelkörnern bestehenden Unterschiede ausgleichen. Die Proben können daher unzerkleinert entnommen und verarbeitet werden.

B. Kartoffeln.

In der Kartoffelknolle ist das Eiweiß nicht gleichmäßig verteilt. Die innerste stärkearme Lage der Rindenschicht ist eiweißreicher als die übrigen stärkepeichernden Gewebeschichten. Es war daher anzunehmen, daß es nicht angängig sei, zur Bestimmung des prozentualen Eiweißgehaltes einer Knolle nur Teile von dieser zu analysieren. Es hat sich jedoch gezeigt, daß diese Unterschiede relativ geringfügig sind und innerhalb einer tragbaren Fehlergrenze liegen. Für die Auslese kommt aber die Einzelknollenuntersuchung trotzdem nicht in Frage, da zwischen den Knollen derselben Staude größere

Unterschiede im Eiweißgehalt bestehen können (Tab. 3). Zur Bestimmung des Eiweißgehaltes

Tabelle 3. Gesamtstickstoff in den einzelnen Knollen von Kartoffelstauden.

Staude	Zahl der Knollen	% Stickstoff		
		Variationsbreite	Ø	
1	19	0,24—0,40 0,95—1,65	0,32 1,27	in Frischs. in Trockens.
2	16	0,29—0,40 0,98—1,66	0,34 1,32	in Frischs. in Trockens.
3	15	0,19—0,39 0,93—1,76	0,28 1,15	in Frischs. in Trockens.

der Knollen einer Staude muß also deren gesamtes Knollenmaterial verarbeitet werden. Soll der durchschnittliche Eiweißgehalt der Knollen eines Klons ermittelt werden, so muß eine Durchschnittsprobe von Knollen möglichst vieler Pflanzen zur Verarbeitung gelangen; denn auch im Eiweißgehalt der Knollen verschiedener Pflanzen desselben Klons können bedeutende Unterschiede vorhanden sein (Tab. 4).

Tabelle 4. Gesamtstickstoff in den einzelnen Stauden eines Kartoffelklons.

Zahl der Stauden	% Stickstoff		
	Variationsbreite	Ø	
12	0,28—0,36 1,11—1,53	0,32 1,30	in Frischsubstz. in Trockensubstz.

Von großem Einfluß auf den Eiweißgehalt sind Klima und Boden, wie die Untersuchung verschiedener Herkünfte derselben Sorte zeigte (Tab. 5). Es wurde auch ein Düngungsversuch

Tabelle 5. Gesamtstickstoff verschiedener Herkünfte zweier Sorten.

	Zahl der Herkünfte	% Stickstoff		
		Variationsbreite	Ø	
Parnassia	69	0,23—0,47 0,91—1,97	0,36 1,38	in Frischs. in Trockens.
Industrie	59	0,26—0,44 1,11—1,78	0,32 1,34	in Frischs. in Trockens.

analysiert, der zum Ergebnis hatte, daß Stickstoffgaben der verschiedensten Form und Menge wohl den Ertrag, den prozentualen Eiweißgehalt hingegen nicht wesentlich zu steigern vermögen.

Bei Einzelpflanzenuntersuchungen wird bis auf einige Reserveknollen das gesamte Material mittels einer Reibemaschine zu einem feinen Brei zerrieben, bei Klonuntersuchungen eine Durchschnittsprobe von mehreren Kilogramm. Für die Zerkleinerung dieser großen Proben ist

die Alexanderwerk-Universal-Küchenmaschine 2437 geeignet, mit der sich in der Stunde 200 bis 300 kg Knollen zu einem feinen Brei verarbeiten lassen. Ein wesentlicher Vorteil dieser Maschine besteht darin, daß sie sich schnell und mühelos reinigen läßt. Von dem Brei werden nach raschem aber gründlichen Durchrühren Proben von etwa 10 g für die Analyse entnommen.

C. Rüben.

Für die Probeentnahme bei Einzelrüben wurde eine Reihe von Untersuchungen durchgeführt, die Aufschluß über die Verteilung des Eiweißes in der Rübe geben sollten. Dabei wurde festgestellt, daß die äußeren Teile des Rübenkörpers reicher an Stickstoff, Trockensubstanz und gelösten Stoffen sind als die inneren. Die höchsten Werte wurden im Rübenkopf gefunden.

Durch zwei senkrecht zueinander geführte Medianschnitte wurden mehrere Rüben in je 4 symmetrische Teile zerlegt und diese getrennt verarbeitet. Es ergab sich, daß die vier zur gleichen Rübe gehörigen Werte gut übereinstimmen.

Eine größere Anzahl von Rüben wurde mit der Bohrmaschine zweimal gebohrt und der Bohrbrei analysiert. In der Regel stimmten die beiden zusammengehörigen Werte gut überein. Für Einzelrübenuntersuchungen ist demnach die Untersuchung eines Bohrstiches ausreichend (Tab. 6). Bei Stamm- und Sortenuntersuchungen

Tabelle 6. Stickstoff in Rüben.

Rübe Nr.	% Stickstoff in Bohrstich	
	1	2
17	0,090	0,102
5	0,093	0,117
2	0,094	0,100
1	0,094	0,116
14	0,102	0,125
6	0,105	0,119
13	0,109	0,125
8	0,114	0,122
3	0,115	0,112
9	0,116	0,095
15	0,120	0,122
7	0,120	0,141
16	0,123	0,147
12	0,128	0,137
4	0,135	0,158
10	0,165	0,174
11	0,182	0,206

wird eine größere Zahl von Rüben gebohrt, der gesamte Bohrbrei gut durchgemischt und ein aliquoter Teil, etwa 10 g, untersucht. Wir verwendeten anfangs für die Untersuchungen nur Rübenbrei, haben aber festgestellt, daß die

Untersuchung von Rübensaft bis auf unbedeutende Abweichungen zu denselben Ergebnissen führt. Zur Gewinnung des Saftes wird Rübenbrei mit der Hand durch ein Tuch gepreßt. Die Proben werden nicht gewogen, sondern, was einfacher und genauer ist, mit einer Pipette entnommen. Rübensaft läßt sich leichter verbrennen und ist für den Versand vom Züchter zur Untersuchungsstelle besser geeignet als Brei.

D. Topinambur.

Es liegen ähnliche Verhältnisse wie bei Kartoffeln und Rüben vor. Zwischen Knollen derselben Staude sind deutliche, jedoch geringere Unterschiede als bei Kartoffeln vorhanden (Tab. 7), die zwischen Stauden desselben Klons

Tabelle 7. Gesamtstickstoff in den Knollen von drei Topinamburpflanzen.

Pflanze	Zahl der Knollen	% Stickstoff		
		Variationsbreite	Ø	
1	3	0,31—0,39	0,36	in Frischs.
		1,53—1,90	1,76	in Trockens.
2	9	0,54—0,58	0,56	in Frischs.
		2,25—2,62	2,38	in Trockens.
3	3	0,23—0,26	0,25	in Frischs.
		0,96—1,14	1,05	in Trockens.

können erheblich sein (Tab. 8). Zur Bestimmung des durchschnittlichen N-Gehaltes einer Staude müssen mehrere Knollen, zur Bestimmung des

Tabelle 8.

Gesamtstickstoff in den einzelnen Stauden von drei Topinamburklonen.

Klon	Zahl der Stauden	% Stickstoff		
		Variationsbreite	Ø	
00	49	0,34—0,50	0,48	in Frischs.
		1,53—2,36	1,92	in Trockens.
02	49	0,24—0,44	0,35	in Frischs.
		1,03—1,81	1,44	in Trockens.
832	50	0,22—0,36	0,27	in Frischs.
		1,01—1,96	1,35	in Trockens.

durchschnittlichen N-Gehaltes eines Klons eine Durchschnittsprobe aus Knollen möglichst vieler Pflanzen hergestellt und davon aliquote Teile untersucht werden. Aus dem Brei ausgedrückter Saft ergibt etwa dieselben Werte wie dieser.

E. Luzerne.

Bei Einzelpflanzenuntersuchungen genügt es, einen Teil der Pflanze (Hälfte oder Viertel) zu verarbeiten (Tab. 9). Bei Klonuntersuchungen muß wiederum eine Durchschnittsprobe aus Teilen einer größeren Anzahl von Pflanzen her-

Tabelle 9. Rohproteingehalt in verschiedenen Teilen von Luzerne-Pflanzen.

Pflanze	Teil	% Rohprotein in der Frischsubst.	∅
1	1	4,69	4,50
	2	4,31	
	3	4,50	
	4	—	
2	1	4,56	4,58
	2	4,56	
	3	4,31	
	4	4,88	
3	1)	4,88	4,89
	2) außen	4,69	
	3)	5,00	
	4)	5,25	
	5) innen	4,03	

gestellt werden, da die Unterschiede zwischen den einzelnen Pflanzen eines Klons ebenfalls bedeutend sein können (Tab. 10). Die Durch-

Tabelle 10. Rohproteingehalt in den einzelnen Pflanzen eines Luzerneklons.

Pflanzen	% Rohprotein		∅
	Variationsbreite		
54	3,06—5,13	4,10	in Frischs.
	22,44—28,38	25,41	in Trockens.

schnittsprobe wird unmittelbar nach der Entnahme gewogen und anschließend getrocknet, zunächst an der Luft und vor dem Mahlen im Trockenschrank bei 80°. Von dem gut durchgemischten Mehl werden Proben von 1 g für die Rohproteinbestimmung entnommen.

2. Die Ermittlung der Bezugsgrößen.

Chemische Analysen haben nur dann Wert, wenn die Ergebnisse vergleichbar sind. Dafür ist eine exakt feststellbare Größe nötig, auf die die ermittelten Werte bezogen werden. Als Bezugsgröße kommen im Rahmen dieser Arbeit nur Frisch- und Trockengewicht in Frage. Resttrockengewicht, Oberfläche, Rohfaser usw. spielen nur dann eine Rolle, wenn die Analysen für physiologische Fragestellungen ausgewertet werden sollen. Die Bezugsgröße der Praxis ist das Frischgewicht, die Ermittlung ist deshalb in jedem Falle nötig. Da der Wert eines pflanzlichen Produktes aber von seinem Trockensubstanzgehalt abhängt, ist auch dessen Bestimmung meist unerlässlich.

A. Die Bestimmung des Frischgewichtes.

Das Material muß vor dem Wägen so behandelt werden, daß größere unkontrollierbare Wasserverluste nicht eintreten können. Krautiges Ma-

terial (Lupinen, Luzerne, Kartoffelkraut z. B.) wird unmittelbar nach dem Schnitt gewogen. Bei Kartoffel- und Topinamburknollen, auch bei Rüben, ist darauf zu achten, daß kein welkes, sondern nur völlig turgeszentes Material zur Untersuchung gelangt. Zerriebenes Material muß rasch und besonders sorgfältig verarbeitet werden, weil die Gefahr des Wasserverlustes sehr groß ist und auch geringe Verluste schon ins Gewicht fallen, wenn nur kleinere Proben abgenommen werden. Bei sehr wasserreichem Brei ist zu berücksichtigen, daß beim Stehen leicht eine Entmischung von festem und flüssigem Anteil eintritt.

Für Samenuntersuchungen spielt das Frischgewicht als Bezugsgröße nur eine unwesentliche Rolle, da der Wassergehalt von Samen keine feststehende, sondern eine von den Lagerungsbedingungen abhängige Größe ist. Getreide-, Lupinen- und Hanfkörner, die mehrere Wochen im Laboratorium, also bei annähernd gleicher Temperatur und gleicher Feuchtigkeit gelagert haben, unterscheiden sich im Wassergehalt nur unmerklich. Man kommt also, gleichmäßige Lagerung vorausgesetzt, zu vergleichbaren Werten, wenn man auf lufttrockene Substanz bezieht. Zur Bestimmung des Wassergehaltes genügt dann die Untersuchung einer einzigen, dem Durchschnitt des gesamten Materials entsprechenden Körnerprobe. Zweckmäßiger jedoch ist es, wenn das Material vor der Verarbeitung bei einer bestimmten Temperatur bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wird.

B. Die Bestimmung der Trockensubstanz.

Das Material für Samenuntersuchungen (Getreide, Lupinen, Hanf u. a.) wird vor der Rohproteinbestimmung 10 Stunden bei 80° getrocknet. Um möglichst viele Proben im Trockenschrank unterbringen zu können, werden je 10—20 g der unzerkleinerten Körner, bei Einzelpflanzenuntersuchungen entsprechend kleinere Mengen, in Tüten abgefüllt. Längeres Trocknen führt nur noch zu geringfügigen Gewichtsveränderungen, die auf das Ergebnis praktisch ohne Einfluß sind. Aus den dargelegten Gründen wird das Material vor dem Trocknen nicht gewogen.

Die Trocknung von kohlehydratreichem Kartoffel-, Rüben- und Topinamburbrei gestaltet sich etwas schwieriger. Um Wasserverluste zu vermeiden, muß sehr rasch gearbeitet werden. Deshalb ist es nicht möglich (zur Vereinfachung der Berechnung) immer gleichgroße Mengen einzuwägen. Zweckmäßig werden etwa 10 g des gut gemischten Breies in gewogene Petrischalen

gebracht, diese sofort geschlossen und zur Ermittlung des Frischgewichtes gewogen. Nach zwölfstündigem Trocknen bei 80° und anschließendem Erkalten der Schalen im Exsiccator wird durch ein zweites Wägen das Trockengewicht festgestellt. Da Vorversuche ergeben haben, daß längeres Trocknen auf das Gewicht praktisch ohne Einfluß ist, wird Trocknen und Wägen nur noch zu gelegentlichen Kontrollen wiederholt, gewöhnlich jedoch nur 12 Stunden getrocknet.

Krautiges Material wird entweder sofort in den Trockenschrank gebracht oder erst an der Luft und dann im Schrank bei 80° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Von Luzerne und Kartoffelkraut entnehmen wir erst nach dem Trocknen und Mahlen Proben zur Rohproteinbestimmung, da eine zum Zerkleinern von frischem Kraut geeignete Häckselmaschine nicht vorhanden ist.

Für das Trocknen von krautiger Grünmasse steht uns ein von der Firma Heraeus gebauter elektrischer Trockenschrank mit künstlicher Luftumwälzung zur Verfügung. Die Ausmaße des Schrankes (innen 800 × 800 × 1800 mm) ermöglichen die gleichzeitige Unterbringung einer großen Anzahl von Proben, namentlich dann, wenn das Material an der Luft oder in einer Darre vorgetrocknet wird. Die Trocknung im Schrank erfolgt im Heißluftstrom und geht äußerst rasch von statten.

Die Temperatur von 80° ist statthaft, wenn nur der Gesamtstickstoff bestimmt werden soll. Sollen jedoch die einzelnen Fraktionen des Gesamtstickstoffes und das verdauliche Eiweiß bestimmt werden, so muß eine tiefere Temperatur gewählt werden, da sonst Verschiebungen zwischen diesen Fraktionen eintreten können.

Zum Mahlen verwenden wir eine Schrotmühle mit Vorbrechwalze (MK 125 vom Alexanderwerk). Eine Vorzerkleinerung ist bei dieser Mühle nicht notwendig.

III. Die Rohproteinbestimmung.

1. Der Aufschluß.

Zur quantitativen Bestimmung des Gesamtstickstoffes mit der Destillations- oder der colorimetrischen Methode muß das Material zunächst mit Schwefelsäure verascht werden. Zusätze von katalytisch wirkenden Salzen (Cu-, Hg u. a.) oder sauerstoffabspaltenden Verbindungen (Wasserstoffsperoxyd, Kaliumpersulfat z. B.) beschleunigen den Verbrennungsvorgang. Wegen ihrer intensiveren und rascheren Wirkung sind die letzteren den Schwermetallsalzen vorzuziehen.

Aufschluß und Destillation nehmen wir in denselben Kolben vor. Diese fassen 250 ccm, besitzen Normalschliff und werden nach dem Aufschluß mit Hilfe von Drahtspiralen an der Destillationsapparatur befestigt. Die Materialmengen werden so gewählt, daß nach dem Aufschluß im Höchsthalle 5—8 ccm Flüssigkeit vorhanden sind und nach dem Verdünnen mit Wasser und Zugabe von Lauge noch der zu kräftigem Sieden notwendige Raum bleibt.

Die zum möglichst raschen Aufschluß nötigen Mengen von Säure und Wasserstoffsperoxyd — dieses allein verwenden wir zur Beschleunigung des Aufschlusses — werden von der Art und Menge des zu untersuchenden Materials bestimmt. Gewöhnlich werden 5 ccm Schwefel-

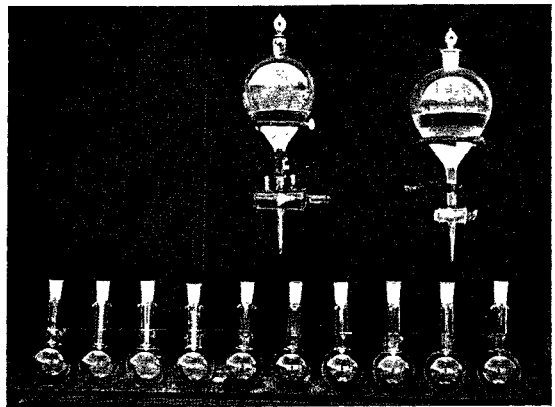


Abb. 1. Abfüllvorrichtungen für Schwefelsäure und Wasserstoffsperoxyd.

säure zugegeben, bei schwer verbrennbarem Material oder größerer Einwaage 2 × 5 ccm, und zwar mittels einer automatischen Abfüllvorrichtung, deren Hahnkücken 2 Bohrungen von je 5 ccm Inhalt besitzt, die sich beim Drehen des Hahnes abwechselnd füllen und entleeren. Das Vorratsgefäß ist birnenförmig und faßt etwa 2 Liter (Abb. 1). Unmittelbar nach der Schwefelsäurezugabe werden 2 ccm Wasserstoffsperoxyd zugesetzt, nach halbstündigem Erhitzen weitere 2 ccm bis der Aufschluß beendet, d. h. der flüssige Rückstand farblos und klar ist. Die Zugabe erfolgt ebenfalls aus einem Abfülltrichter mit Hahnbohrungen von je 2 ccm Inhalt.

Zum Aufschluß benutzen wir anfangs Reagenzien von hohem Reinheitsgrad, Kjeldahlschwefelsäure mit 7% Anhydrid und Perhydrol. Es hat sich jedoch gezeigt, daß weniger reine, billigere Reagenzien (Schwefelsäure z. A. mit 8—10% SO₃ und Wasserstoffsperoxyd tech-

nisch 40%) für die Massenauslese vollauf genügen. Der Preisunterschied ist außerordentlich groß (bei der Säure fast 1:6, beim Wasserstoff-superoxyd mehr als 1:5) und wirkt sich entsprechend auf die Kosten der Untersuchungen aus.

Die beim erstmaligen Zusatz von Wasserstoff-superoxyd auftretende sehr heftige Reaktion führt unter starker Erhitzung und Aufschäumen zu weitgehender Zersetzung der organischen Stoffe. Meist verbleibt eine klare, gelb bis braun gefärbte Lösung, die beim Erhitzen wohl vorübergehend schwarz wird, aber dabei nur ganz schwach oder überhaupt nicht schäumt. Größere Schwierigkeiten hatten wir anfangs bei der Verarbeitung von Saft und Brei von Kartoffeln, Rüben und Topinambur. Die Schaumbildung war derartig stark, daß der Aufschluß längere Zeit beaufsichtigt werden mußte, und auch dann

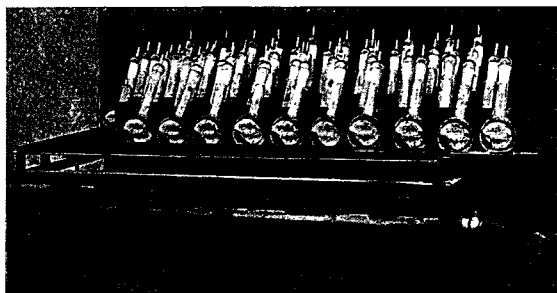


Abb. 2. Veraschungsapparatur.

ging noch eine größere Anzahl von Analysen durch Übersäumen verloren. Läßt man aber die Probe mit Schwefelsäure allein längere Zeit stehen, am besten über Nacht, so unterbleibt beim Erhitzen das Schäumen nahezu völlig.

Unsere Veraschungsapparatur (Abb. 2) besitzt 80, in 8 Zehnerreihen angeordnete Brennstellen. Jeder dieser Brennerreihen ist durch einen Hahn regulierbar. Die Brenner sind gleichmäßig gearbeitet und geben gleichgroße und gleichheiße Flammen. Zur Befestigung der Kolben dienen Bleche, die in das Veraschungsgestell eingeschoben werden. Im Boden dieser Schieber befinden sich in Abständen von 10 cm zehn der Größe der Kolbenkugel angepaßte Löcher. Der Kolbenhals lehnt gegen eine Wand, die am oberen Ende Drahtklemmen zum Befestigen trägt. Größe, Gewicht und Form der Schieber sind so bemessen, daß sie sich bequem handhaben lassen.

Bei der Beschickung der Kolben muß darauf geachtet werden, daß der Hals möglichst sauber bleibt. Das bereitet keinerlei Schwierigkeiten

bei der Verarbeitung von Samen oder Pulver, vorausgesetzt, daß der Kolbenhals innen trocken ist. Kartoffel-, Topinambur- und Rübenbrei wird mit Hilfe langer Löffel eingeführt. Bei der Verarbeitung von Rübenbohrstichen wird der Bohrerzylinder nach Abnehmen der Spitze in einen tarierten Kolben eingeschoben und die Rübenmasse mit Hilfe eines Stempels herausgestoßen.

2. Bestimmung des Gesamtstickstoffes nach Kjeldahl durch Destillation.

Das beim Kjeldahl-Aufschluß entstandene Ammoniak wird nach Zusatz von Natronlauge destilliert und in einer Vorlage mit Schwefelsäure bekannter Konzentration aufgefangen. Die nicht verbrauchte Schwefelsäure wird gegen Methylorange mit Lauge zurücktitriert.

Die Destillationsapparatur (Abb. 3) ist so eingerichtet, daß zehn Bestimmungen gleichzeitig destilliert werden können. Da mit strömendem Dampf gearbeitet wird, ist die Destillation bereits nach 10 Minuten beendet. Die Apparatur ist aus 10 Einzelapparaten zusammengesetzt, die aus je einem Kolben und einem Aufsatz mit 2 Röhren zur Dampfzu- und -ableitung bestehen. Durch das Dampfzuleitungsrohr wird auch die Lauge zugeführt. Für alle 10 Apparate ist ein gemeinsamer Kühler aus Eisenblech mit Stützen an den Ein- und Austrittsstellen der Kühlerröhren vorhanden. Auf einem besonderen Stativ sind die Apparate nebeneinander befestigt, daß die gesamte Apparatur nur wenig Raum einnimmt und auf der einen Seite alle Vorlagen, auf der anderen Seite alle Destillierkolben in einer Reihe liegen (Abb. 4 u. 5). Die Kolben, die wie die Aufsätze Normalschliff tragen, werden einzeln an die Apparatur angesetzt und mit Hilfe von Drahtspiralen festgehalten. Als Vorlagen dienen Erlenmeyerkolben von 300 ccm Inhalt. Sie sind auf einem Gestell derartig befestigt, daß sich alle gleichzeitig ansetzen und abnehmen lassen. Dieses Gestell trägt am Boden Federkränze, in die die Kolben durch leichten Druck eingesetzt werden. Während der Destillation werden die Vorlagen in einem Bad mit fließendem Wasser gekühlt. Dieses Bad trägt an den beiden Querwänden Eisenwinkel, die in Einschnitte von eisernen, auf dem Tragbrett befestigte Stützen passen. In diese wird das Wasserbad eingeschoben. Jede Stütze hat zwei übereinander gelegene Einschnitte. Wird das Wasserbad in den oberen Einschnitt geschoben, so tauchen die Vorstöße in die vorgelegte Schwefelsäure ein, schiebt man es in den unteren Einschnitt, so

befinden sich die Vorstöße auch innerhalb der Vorlagen, tauchen aber nicht mehr ein. Das Ausrichten der Vorstöße, die durch Gummischlauch mit den Kühlerröhren verbunden sind und deswegen nicht genau in einer Reihe stehen, geschieht mit Hilfe einer besonderen, am Kühlerstativ befestigten Vorrichtung. Sie ist aus starkem Eisendraht hergestellt, der in Abständen von 10 cm (Abstand der Vorlagen) scharf eingebogen ist. Wenn die Vorrichtung vor dem Ansetzen des Wasserbades niedergeklappt wird, liegen die Vorstöße in den Vertiefungen. Beim Anheben des Wasserbades wird sie, sobald die Vorstöße in die Kolbenhälse eingeführt sind, zurückgeschlagen.

Der Dampf wird in einem mit Gas geheizten Kessel aus Eisenblech erzeugt. Nach Öffnung

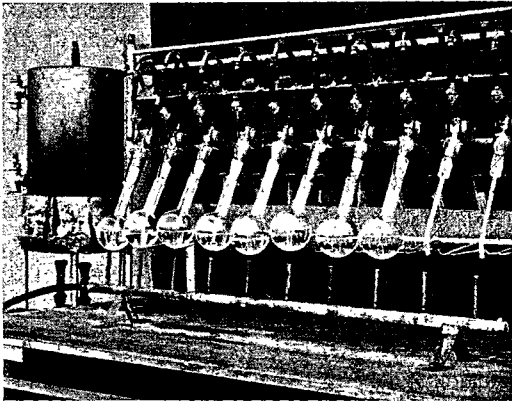


Abb. 3. Destillationsapparatur.

des Sperrhahnes strömt er zunächst in ein oberhalb der Apparatur verlaufendes Rohr, von diesem aus durch 10 Abzweigungen in die einzelnen Apparate. Der Sperrhahn liegt zwischen Dampfgefäß und Apparatur, ein zweiter Hahn, am Ende des Verteilerrohres, dient zum Regulieren des Dampfstromes.

Wie der Dampf, wird auch die Lauge durch ein Rohrsystem aus einem hochgestellten Vorratsgefäß (50-Liter-Ballon) den einzelnen Apparaten zugeleitet. Sie müssen nacheinander geöffnet werden, da sich sonst die Lauge nicht gleichmäßig verteilen würde. Da es beim Destillieren nur darauf ankommt, daß das Reaktionsgemisch stark alkalisch reagiert, d. h. Lauge im reichlichen Überschuß vorhanden ist, so kann diese nach Schätzung zugegeben werden. Im Reaktionsgemisch befindliches Kupfersulfat läßt den Umschlag der Reaktion erkennen. Technische Natronlauge (1,35) mit etwa 32% NaOH, die nahezu 50% billiger ist als die gewöhnlich

für Stickstoffbestimmungen verwendete Kjeldahlauge (100 kg = 25 bzw. 45 RM.) hat sich als hinreichend rein erwiesen. Der Gehalt an

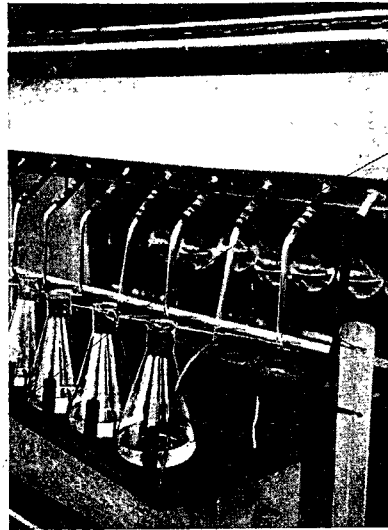


Abb. 4. Destillationsapparatur.

störenden Verunreinigungen wird bei jedem neuen Ballon kontrolliert.

Die 10 zum Erhitzen der Destillierkolben

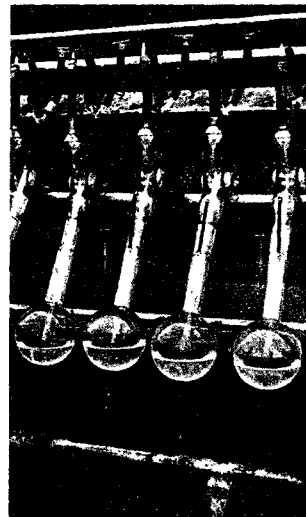


Abb 5. Destillationsapparatur.

nötigen Brenner besitzen ein gemeinsames Zuleitungsrohr und einen gemeinsamen Absperrhahn.

Die Verwendung von Normalschliffapparaten hat den Vorzug, daß die Verbindung zwischen Kolben und Destillieraufsatz unbedingt dicht

Zeit wird auch die im Laufe der letzten Jahre auf Grund praktischer Erfahrungen vervollkommnete Destillationsmethode angewandt. Wie eingangs erwähnt, wurde zunächst parallel dazu die colorimetrische Bestimmung mit Hilfe von Neblers Reagens angewandt, späterhin jedoch der Destillationsmethode der Vorzug gegeben, weil sie sich nach unseren Erfahrungen vielseitiger anwenden läßt und der Untersuchungsgang einfacher ist und deshalb weniger Fehlermöglichkeiten birgt. Die Unsicherheit, die unseren mit der colorimetrischen Methode gewonnenen Ergebnissen anhaftete, mag darauf zurückzuführen sein, daß den neutralisierten Aufschlüssen kein Puffer zugesetzt wurde. Die störende hohe Acidität läßt sich durch Zugabe von Boratpuffer (DIRCKS 1) und Anwendung eines nach der Vorschrift von AUTENRIETH bereiteten stark alkalischen Neblers Reagens (WERR 10) beseitigen. Die Arbeiten von DIRCKS und WERR haben gezeigt, daß sich die colorimetrische Methode für züchterische Zwecke gut verwenden läßt.

Bei der Destillationsmethode wird der gesamte, im Veraschungskolben verbleibende Aufschluß mit 30 oder 60 ccm Wasser verdünnt, der Kolben an die Apparatur angesetzt und nach Zugabe von Lauge im Überschuß (erkennbar am Farbumschlag) destilliert. Zur Vorselektion wird in alle Vorlagen eine bestimmte Menge Lauge gegeben. Genau gemessen, d. h. in der gewöhnlichen Weise titriert (Paralleluntersuchung) evt. auch zurücktitriert, werden dann nur die am Umschlag des Indicators kenntlichen Plusvarianten.

Bei der colorimetrischen Methode (7) wird der Aufschluß bis zur Marke des Veraschungskolbens aufgefüllt, dieser mit einem Gummistopfen verschlossen und geschüttelt. Dann wird genau 1 ccm des Aufschlusses abgenommen, die Abnahme ebenfalls zu einem bestimmten Volumen aufgefüllt und geschüttelt, mit Neblers Reagens versetzt, wieder geschüttelt und dann schließlich im Komparator oder Photometer gemessen. Der Arbeitsgang ist also komplizierter und reicher an Fehlerquellen und erfordert außerdem mehr Arbeitskräfte als bei der Destillationsmethode.

Zur Durchführung von 350—400 Bestimmungen je Tag nach der Destillationsmethode sind 5 oder 6 gut eingearbeitete, aber nicht besonders geschulte Kräfte und für die schwierigen Arbeiten (Einstellen der Lauge z. B.) und zur Beaufsichtigung eine technische Assistentin nötig. Für Einwiegen, Veraschen, Destillieren, Titrieren und Spülen der Kolben wird je eine Arbeitskraft gebraucht, bei der Verarbeitung

von Rüben und Kartoffeln eine weitere zum Abnehmen der Brei- bzw. Saftproben.

Der Verbrauch an Chemikalien ist äußerst gering, die Kosten je Untersuchung betragen nur etwa 2—5 Pfg. Die Kosten für Gas und Wasser sind, auf die Einzeluntersuchungen umgerechnet, ebenfalls äußerst niedrig.

Zur Kontrolle der Untersuchungen wird jeder Serie ein Standard beigegeben (Mehl oder möglichst homogenes Körnermaterial), der genau dieselbe Behandlung erfährt wie das zu untersuchende Material und immer denselben Wert ergeben muß. Abweichungen von diesem Wert zeigen Fehler an und machen eine Nachprüfung des Untersuchungsganges notwendig (Prüfung der Apparatur, der Einwaage, der Chemikalien — Schwefelsäure, Lauge, Wasserstoffsperoxyd — und vor allem der eingestellten Lösungen — Schwefelsäure und Lauge).

Mit der Apparatur lassen sich ebenso genaue und zuverlässige Ergebnisse erzielen wie mit den üblichen Kjeldahlapparaturen. Es wurden damit bisher etwa 150 000 Bestimmungen durchgeführt, davon im letzten Jahr allein gegen 100 000. Die Leistungsfähigkeit der Methode und ihre Eignung für züchterische Zwecke ist also erwiesen. Die bisherigen Untersuchungen haben ferner gezeigt, daß der Erfolg der Auslese nicht allein von der Zahl der Untersuchungen bestimmt wird, sondern daß auch andere Faktoren, insbesondere die Anzucht des Materials und die Probenahme dafür entscheidend sind.

Die in der Arbeit beschriebenen Glasgeräte wurden von der Fa. C. Geyer in Berlin, die Gestelle für Aufschluß- und Destillationsapparatur von der Fa. P. Sellin & Co. in Münchenberg/Mark hergestellt.

Literatur.

1. DIRCKS, B.: Bestimmung von verdaulichem Eiweiß und Futterwert. Schulungsbriefe des Reichsverbandes der deutschen Pflanzenzuchtbetriebe Berlin 8 (1935) und Kühn-Archiv 39 (1935).
2. HONECKER, L.: Die Stellung der Gerste in der Erzeugungsschlacht mit besonderer Berücksichtigung der Braugerste. Prakt. Bl. Pflanzenbau 14, 325.
3. MASSENBACH, Frhr. v.: Eiweißherzeugung durch Gerstenbau. Forschungsdienst 2, 298 (1936).
4. SCHWANITZ, F., u. P. SCHWARZE: Die physiologischen Grundlagen für die Züchtung von ertrag- und eiweißreichen Sorten bei unseren Getreidearten. Forschungsdienst 4, 19 (1937).
5. SCHWANITZ, F., u. P. SCHWARZE: Die genetischen Grundlagen für die Züchtung von ertrag- und eiweißreichen Sorten bei unseren Getreidearten. Forschungsdienst 4, 60 (1937).
6. SENGBUSCH, R. v.: Chemie und Pflanzenzüchtung I. Vortrag gehalten im Kaiser-Wilhelm-In-

stitut für Züchtungsforschung, Müncheberg (1935).

7. SENGBUSCH, R. v.: Chemie und Pflanzenzüchtung II. Öl-, Eiweiß- und Faserbestimmungen. Vortrag, gehalten in Halle a. d. S. am 18. 6. 1935.

8. SENGBUSCH, R. v.: Chemie und Pflanzenzüchtung III. Vortrag, gehalten auf der Tagung des

Forschungsdienstes, Würzburg am 18. 9. 1935. Forschungsdienst Sonderheft 2 (1935).

9. SENGBUSCH, R. v.: Wege, auf denen die Pflanzenzüchtung zur Lösung des Eiweißproblems beitragen kann. Forschungsdienst 1, 260 (1936).

10. WERR, F.: Ein Verfahren zur serienmäßigen Bestimmung des Eiweiß in Getreide. Landw. Jahrb. 84, 27 (1937).