

HOPPE-SEYLER'S ZEITSCHRIFT

für

PHYSIOLOGISCHE CHEMIE

unter Mitwirkung von

G. v. BUNGE-Basel, P. EHRLICH-Frankfurt a. M., EMIL FISCHER-Berlin, O. HAMMARSTEN-Upsala, G. HOPPE-SEYLER-Kiel, C. G. HÜFNER-Tübingen, K. H. HUPPERT-Prag, M. JAFFÉ-Königsberg, FR. KUTSCHER-Marburg, E. LUDWIG-Wien, CARL TH. MÖRNER-Upsala, K. A. H. MÖRNER-Stockholm, W. OSTWALD-Leipzig, C. A. PEKELHARING-Utrecht, E. SALKOWSKI-Berlin, E. SCHULZE-Zürich, H. THIERFELDER-Berlin

herausgegeben von

A. KOSSEL,

Professor der Physiologie in Heidelberg.

Band XLI, Heft 6.

(Schluß des Bandes.)

(Ausgegeben am 26. Mai 1904.)

STRASSBURG

VERLAG VON KARL J. TRÜBNER

1904.

XLI. BAND, SECHSTES HEFT.

Inhalt.

	Seite
Winterstein, E. Über einige Bestandteile des Emmentaler Käses. (Zweite Mitteilung)	485
Landsberg, Georg. Über den Alkoholgehalt tierischer Organe .	505
Zdarek, Emil. Untersuchung der Eier von <i>Acanthias vulgaris</i> , Risso	524
Abderhalden, Emil, Peter Bergell und Theodor Dörpinghaus. Die «Kohlehydratgruppe» des Serumglobulins, des Serum- albumins und des Eieralbumins	530
Bresler, Harry, W. Über die Bestimmung der Nucleinbasen im Saft von <i>Beta vulgaris</i>	535
Mörner, K. A. H. Einige Worte über das « β -Hämin»	542
Giemsa, G. Über den Schmelzpunkt des Glukuronsäuresemikar- bazons. (Erwiderung an Prof. E. Fromm.)	548
Rosin, Heinrich. Bemerkung zur Mitteilung von Rudolf Adler und Oskar Adler: «Über eine Reaktion im Harn bei der Behandlung mit Resorcin»	549

Für das nächste Heft sind Arbeiten eingegangen von:

B. Hafner, W. Jones, Oscar Simon und Hans Lohrlich,
Paul Mayer, L. Marchlewski und J. Hetper, H. Braeuning,
Otto Neubauer und W. Falta.

Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie erscheint in Bänden zu 6 Heften, jedes zu ungefähr 5—6 Bogen. Die Hefte erscheinen in Zwischenräumen von 1—2 Monaten. Preis des Bandes 12 Mark.

Die in dieser Zeitschrift zu publizierenden Arbeiten werden, wenn nicht der große Umfang derselben es untunlich erscheinen läßt, streng in der Reihenfolge, in welcher sie der Redaktion zugehen, aufgenommen. — Kurze Notizen oder Bemerkungen zu anderen Arbeiten werden in der Regel am Schluß des Heftes mitgeteilt. — Bereits in anderen Zeitschriften veröffentlichte Arbeiten, sowie Referate über bereits publizierte Arbeiten werden nicht aufgenommen.

Das Honorar beträgt für den Druckbogen 25 Mark. Von jeder Arbeit werden dem Verfasser 50 Separat-Abdrücke gratis geliefert.

Verlag von GUSTAV FISCHER in Jena.

Soeben erschien:

Statistische Vergleichstabellen zur praktischen Koprologie

bei fieberlosen Patienten.

Für Mediziner und Nahrungsmittelchemiker.

Von

Baron Dr. Oefele,

praktischem Arzte für Diabetes und andere Stoffwechselkrankheiten,
z. Zt. in Bad Neuenahr.

Preis: 4 Mark.

Verlag von KARL J. TRÜBNER in Straßburg.

Soeben erschien:

Die chemischen Schutzmittel des Tierkörpers bei Vergiftungen.

Von

Dr. Emil Fromm,

a. o. Professor für Chemie an der Universität Freiburg i. B.

8°. 32 S. 1903. Preis *M.* 1.—

«Die in bemerkenswerter Kürze und Klarheit geschriebene Broschüre versucht ein Bild des chemischen Rüstzeuges zu geben, dessen sich der Tierkörper bei denjenigen Vergiftungen bedient, deren Verlauf man chemisch verfolgen kann»

Naturwissenschaftliche Wochenschrift. N. F. III. Nr. 23.

«Der Inhalt dieser Arbeit läßt sich kurz nicht wiedergeben. Wir empfehlen aber ihre Lektüre allen, die an toxikologisch-chemischen Fragen Interesse haben.»

Pharmaceutische Zeitung 1903, Nr. 86.

Untersuchungen über die Nucleine und ihre Spaltungsprodukte.

Von

Dr. A. KOSSEL.

8°. 18 S. 1881. Preis *M.* 1.—.

**Ich kaufe stets u. zu guten Preisen
Serien u. Jahrgänge dieser Zeitschrift
Oskar Rothacker, Buchhandlung f. Medicin, Berlin, Friedrichstr. 105^b**

BEITRÄGE
ZUR
ANTHROPOLOGIE ELSSASS-LOTHRINGENS.

HERAUSGEGEBEN

VON

Dr. G. SCHWALBE,

Professor der Anatomie an der Universität Strassburg.

Erstes Heft: **Die Schädelformen der elsässischen Bevölkerung in alter und neuer Zeit.** Eine anthropologisch-historische Studie über siebenhundert Schädel aus den elsässischen Ossuarien von Dr. med. Edmund Blind. Mit einem Vorwort von Dr. G. Schwalbe; mit zehn lithogr. Tafeln und einer Karte. 4^o. VIII, 112 S. 1898. *M* 15.—.

Zweites Heft: **Die Körpergrösse der Wehrpflichtigen des Reichslandes Elsass-Lothringen.** Nach amtlichen Quellen bearbeitet von Dr. G. Brandt, Stabs- und Abtheilungsarzt im Feld-Art.-Regt. Nr. 15. Mit drei kolorirten Karten. 4^o. VII, 82 S. 1898. *M* 8.—.

Drittes Heft: **Der Schädel von Egisheim.** Von Professor Dr. G. Schwalbe. Mit sechzehn Abbildungen im Text und einer Lichtdruck-Tafel.

**Die Schädelformen im Schorbacher Bein-
hause.** Von Dr. med. Edmund Blind. Mit einer
Abbildung im Text, sieben lithographischen Tafeln und
einer Karte.

4^o. 86 S. 1902. *M* 12.—.

„Den Arbeiten von Ecker und Ammon für Baden, von J. Ranke für Bayern reihen sich in ausgezeichneter systematischer Weise die Arbeiten der Strassburger anthropologischen Schule an, die unter G. Schwalbes Führung einen der Brennpunkte anthropologischer Forschung in Deutschland bildet. Es war ein besonders glücklicher Gedanke des Leiters der dortigen Anatomie, alle daselbst eingelieferten Leichen auf ihre wichtigsten anthropologischen Merkmale zu untersuchen, und so hat sich bereits ein genau beobachtetes Material von 2700 Individuen beider Geschlechter und aller Altersstufen dort angesammelt, von denen 1800 allein dem Unterelsass angehören. Aber das ist nicht das einzige Material, auch Beobachtungen an Lebenden (besonders bei Rekrutenaushebungen), sowie Grabreste aus alter und neuerer Zeit dienen mit zur Gewinnung des Gesamtbildes der Anthropologie Elsass-Lothringens, das in Einzeluntersuchungen zur Darstellung kommen und nicht nur die Typen der jetzigen Bevölkerung, sondern auch möglichst eingehend die Wandlungen der somatischen Verhältnisse des Landes im Laufe der Zeiten umfassen wird...“

Emil Schmidt, Globus 1898.

Über einige Bestandteile des Emmentaler Käses.

II. Mitteilung.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium des Polytechnikums in Zürich.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. April 1904.)

In der ersten Abhandlung¹⁾ wurde gezeigt, daß im geblähten, aber ausgereiften Emmentaler Käse neben primären Eiweißspaltungsprodukten, wie Leucin, Tyrosin, Histidin und Lysin, auch einfachere stickstoffhaltige Substanzen, nämlich Ammoniak, Tetramethyldiamin, Guanidin und Pentamethyldiamin sich vorfinden, letztere treten als sekundäre Spaltungsprodukte des Arginins bzw. des Lysins im Käse auf. Die Untersuchung über die einzelnen Bestandteile des Emmentaler Käses wurde im Interesse der Molkereitechnik fortgeführt, um zu prüfen, ob gereifte Käse von abnormer Beschaffenheit in ihrer qualitativen Zusammensetzung Unterschiede von normalen Produkten aufweisen. Trotzdem die Untersuchung noch fortgeführt wird, möchte ich doch an dieser Stelle in aller Kürze die wesentlichsten bis jetzt gewonnenen Ergebnisse veröffentlichen.

Als Material für die im folgenden beschriebenen Untersuchungen diene vorzugsweise ein junger ca. 3 Monate alter abnormer Käse sogenannter Preßler-Käse. Einige Resultate sind an andern Materialien gewonnen worden, worüber ich dann an geeigneter Stelle Mitteilung machen werde.

Im folgenden beschreibe ich zunächst die auf Grund verschiedener Erfahrung ausgearbeiteten Methoden, die sich zur Isolierung sowohl der stickstoffhaltigen als auch der stickstofffreien Bestandteile aus der gleichen Portion des Untersuchungsmaterials eignen. Der Käse wird durch Abschaben von der Rinde²⁾ befreit, der Rest in Stücke von einigen

¹⁾ Diese Zeitschrift Bd. XXXVI, S. 28.

²⁾ Über die bei Untersuchung der Rinde gewonnenen Ergebnisse soll an andrer Stelle berichtet werden.

hundert Gramm zerschnitten und in einem geheizten Raum auf Pergamentpapier zum Trocknen hingelegt. Das so vorbereitete Material läßt sich nun auf einer Reibe leicht zu einer krümeligen Masse zerkleinern, welche in dünne Schichten ausgebreitet und noch längere Zeit bei 18° liegen gelassen wurde, bis nur noch eine unbedeutende Gewichtsabnahme zu konstatieren war. Das lufttrockne Material wurde nun zunächst mit Petroläther oder mit einem Gemisch von Petroläther und wenig verdünnter Salzsäure im Perkulator extrahiert und sodann in einem Thörnerschen Extraktionsapparat möglichst vollständig mit Äthyläther entfettet, das gewonnene Fett wurde behufs Untersuchung auf Cholesterin, Lecithin und freie Fettsäuren in gut verschlossenen Gefäßen aufbewahrt.

In einem Falle — es handelte sich um einen Käse, nach dessen Genuß Vergiftungserscheinungen auftraten — wurde aus dem mit salzsäurehaltigem Petroläther gewonnenen Extrakt Cholin isoliert. Über die diesbezüglichen Versuche ist folgendes anzugeben. Das gewonnene Extrakt wurde längere Zeit in einem Scheidetrichter stehen gelassen, wobei sich die salzsaure Lösung von der Fettlösung trennte, erstere wurde mit Bleiessig ausgefällt, das Filtrat mit Schwefelsäure entbleit, die bleifreie Lösung mit Phosphorwolframsäure gefällt und aus dieser Lösung die Basen in bekannter Weise isoliert. Die Basenlösung wurde mit Salzsäure neutralisiert und der nach dem Eindunsten dieser Lösung erhaltene Sirup mit absolutem Alkohol extrahiert, die alkoholische Lösung mit Platinchlorid versetzt; es kristallisierte alsbald ein Platindoppelsalz aus, welches aus Wasser umkristallisiert wurde, die Kristalle stimmten im Aussehen mit dem Platindoppelsalz des Cholinchlorhydrats überein, das aus dem Doppelsalz mit Hilfe von Schwefelwasserstoff isolierte Chlorhydrat gab alle für das Cholin¹⁾ charakteristischen Reaktionen.

Der bei Extraktion mit Äther verbliebene Rückstand

¹⁾ Das Cholin dürfte durch Spaltung aus dem Lecithin hervorgegangen sein. Dieser Befund stimmt mit den von Kutscher bei der Selbstverdauung der Hefe gefundenen Ergebnissen überein. Kutscher und Lohmann, Die Endprodukte der Pankreas- und Hefeselbstverdauung. Diese Zeitschrift Bd. XXXIX, S. 314.

wurde an der Luft getrocknet, wobei eine weiße, pulvrige Masse resultierte, dieselbe wurde mit einer 4—5fachen Menge Wasser bei 30° digeriert, die Flüssigkeit durch ein Seihtuch gegossen, der Rückstand gut ausgepreßt und in der gleichen Weise nochmals mit Wasser extrahiert. Aus diesem Rückstand wurde nach der in der ersten Publikation angegebenen Vorschrift¹⁾ das Caseoglutin isoliert. Über diesen merkwürdigen in Alkohol löslichen Eiweißkörper sei hier noch folgendes mitgeteilt. Derselbe liefert bei der Spaltung mit Säuren neben Aminosäuren auch die Eiweißbasen Histidin, Arginin, Lysin und Ammoniak, aber in einem andern Verhältnis, wie die letztern aus Casein erhalten wurden. Nach den von U. Suzuki in unserem Laboratorium durchgeführten Untersuchungen wurden bei der Spaltung mit konzentrierter Salzsäure folgende Ausbeuten an Basen erhalten:

100 g Caseoglutin (Trockensubstanz) gaben

2,3 % Histidin

1,26 % Arginin

2,90 % Lysin.

Der Stickstoffgehalt des untersuchten Caseoglutins betrug 15,52 % der Trockensubstanz. Bei der Spaltung mit konzentrierter Salzsäure und Fällen der Lösung mit Phosphorwolframsäure wurden 32,5 % des Gesamtstickstoffs in dieser Fällung vorgefunden, davon entfallen 11,9 % auf Ammoniak, somit 20,6 % N auf die Basen und Huminsubstanzen.

Das wässrige Extrakt wurde unter Zusatz von Toluol in hohen Zylindern stehen gelassen, wobei sich eine schleimige Masse am Boden der Gefäße ansammelte. Die Flüssigkeit wurde nun durch dickes Papier filtriert, wobei eine nur schwach opalisierende Lösung²⁾ erhalten wurde; da die Filtration außerordentlich langsam von statten geht, so müssen die Filter öfters gewechselt werden. Zuweilen gelang es nicht, auf diese Weise ein klares Filtrat zu erhalten; eine Klärung konnte aber auf Zusatz einiger Tropfen Gerbsäure und einiger Kubikzenti-

¹⁾ l. c.

²⁾ Die geringe Opaleszenz dürfte wohl auf Spuren von Fett zurückzuführen sein.

meter Bleiessig erzielt werden. Das klare Filtrat wurde nun unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure zum Sieden erhitzt, wobei sich ein Eiweißkoagulum ausschied, dasselbe wurde von der Flüssigkeit durch Filtration getrennt, gut ausgewaschen und mit Alkohol und Aether behandelt. Die so erhaltene Substanz bildet ein weißes amorphes in verdünnten Säuren und Laugen unlösliches Pulver, welches alle die bekannten Eiweißreaktionen gibt. Der Stickstoffgehalt der lufttrocknen Substanz betrug 15,5 %. Die Ausbeute an dieser Substanz, welche ich mit dem Namen Tyroalbumin belegen möchte, war in den verschiedenen untersuchten Käsesorten eine wechselnde: die Ausbeute schwankte zwischen 0,2—0,4 % der entfetteten, lufttrocknen Käsemasse.

Der wässerige Auszug enthält nun noch Peptone, Aminosäuren, die basischen Eiweißzersetzungsprodukte, gewisse organische Säuren, anorganische Salze und andere bis jetzt noch nicht genügend untersuchte Produkte. Dieses wässerige Extrakt wurde mit Bleiessig gefällt, das Filtrat hiervon mit Schwefelsäure vom Blei befreit und die bleifreie Lösung mit Phosphorwolframsäure gefällt, aus dem Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag wurde die Säure mit Baryt entfernt und aus dieser Lösung die Aminosäuren abgeschieden, deren Trennung nach der Estermethode von E. Fischer durchgeführt wurde.

In den folgenden 2 Abschnitten beschreibe ich zunächst die bei Untersuchung des Bleiessig- und Phosphorwolframsäureniederschlags erhaltenen Ergebnisse, im letzten Abschnitt werden die Aminosäuren besprochen.

I. Der Bleiessigniederschlag.

A. Die stickstofffreien Substanzen.

Was die Darstellung dieses Niederschlags betrifft, so ist folgendes anzugeben. Die vom Tyroalbumin getrennte Lösung wurde zunächst eingeengt und mit einer konzentrierten Bleiessiglösung versetzt, bis keine Fällung mehr auftrat, der Niederschlag wurde nach 24 stündigem Stehen auf einer Nutsche abgesogen, mit Wasser ausgewaschen, sodann mit Wasser

wieder zu einem Brei angerührt und wieder auf die Nutsche gebracht, die vereinigten Filtrate wurden nach dem unter Abschnitt II angegebenen Verfahren weiter verarbeitet. Der Bleiessigniederschlag wurde in Wasser suspendiert und mit Schwefelwasserstoff zersetzt, die vom Bleisulfid getrennte, gelbgefärbte Lösung wurde in einem Falle zur Sirupkonsistenz eingedunstet und die salzsäurehaltige Flüssigkeit über Natronkalk aufgestellt. Nach längerem Stehen schieden sich kleine Kristalle aus, welche die Flüssigkeit allmählich durchsetzten. Um die Kristalle von der dunkelbraunen sirupösen Mutterlauge zu trennen, wurde mit etwas Wasser verdünnt und auf der Nutsche so gut als möglich abgesogen, der Rückstand wurde mit absolutem Alkohol ausgekocht, wobei die Kristalle in Lösung gingen, diese Lösung wurde von der dabei entstandenen amorphen Ausscheidung getrennt, und nun stark eingeengt; die wieder ausgeschiedenen Kristalle konnten durch wiederholtes Extrahieren mit Alkohol von den dunkelgefärbten Beimengungen befreit werden, sie wurden nun wiederholt aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert und so in reinem Zustande erhalten. Die Ausbeute betrug 5 g aus einem Kilo lufttrockner entfetteter Käsemasse. Die Kristalle erwiesen sich als Bernsteinsäure: sie schmolzen unzersetzt bei 182° , bei vorsichtigem Erhitzen sublimierten sie vollständig unter Entwicklung zum Husten reizender Dämpfe, die Kristalle gaben ferner beim Erhitzen mit Ammoniak und Reduktion mit Zinkstaub die von C. Neuberg¹⁾ angegebene Pyrrolreaktion. Das durch Neutralisieren mit Baryumhydroxyd erhaltene Baryumsalz besaß den richtigen Ba-Gehalt. Gefunden 54,01 %. Berechnet 54,21 % Ba.

Da wegen des Bleichloridgehaltes²⁾ des Bleiniederschlags beim Zersetzen mit Schwefelwasserstoff eine stark salzsäurehaltige Lösung resultiert, welche stark zersetzend einwirkt, versuchte ich in anderen Fällen die organischen Säuren durch

¹⁾ Über den Nachweis der Bernsteinsäure. Diese Zeitschrift Bd. XXXI, S. 574.

²⁾ Das Chlorblei entsteht auf Zusatz von Bleiessig aus dem im wässrigen Auszug vorhandenen Natriumchlorid. Bekanntlich wird die Oberfläche der frischen Käsemasse mit Kochsalz bestreut.

Äther auszuschütteln; da aber dabei eine dicke Emulsion entstand, welche sich auch nach mehrtägigem Stehen nicht von der Flüssigkeit sonderte, und da manche organische Säuren im Äther nur sehr schwer löslich sind, verfuhr ich behufs Isolierung der organischen Säuren und Trennung derselben von den stickstoffhaltigen Verbindungen in folgender Weise: die vom Bleisulfid getrennte Lösung wurde auf dem Wasserbade auf 40° erwärmt, bis der Geruch nach Schwefelwasserstoff verschwunden war, die Lösung wurde nun mit Baryt nahezu neutralisiert, wobei eine hauptsächlich aus Phosphaten und Sulfaten bestehende Fällung entstand, welche geringe Mengen Citrat einschloß. Diesen Niederschlag bezeichne ich mit 1. Die von dieser Fällung getrennte Flüssigkeit wurde stark eingeeengt, wobei eine beträchtliche Menge von Kristallen sich ausschied, dieselben wurden von der sirupösen Mutterlauge getrennt und mit wenig Wasser ausgewaschen. Behufs Isolierung der organischen Säuren aus den Gemengen der Barytsalze führte ich dieselben in ihre Äthylester über, ein Verfahren, welches meines Wissens bisher zur Abscheidung und Trennung organischer Säuren in der physiologischen Chemie noch nicht benutzt worden ist. Ich verfuhr dabei wie folgt: Die Barytsalze wurden in Wasser suspendiert, das Baryum mit Schwefelsäure quantitativ ausgefällt, die vom Baryumsulfat getrennte Flüssigkeit wurde zunächst auf dem Wasserbade, dann im

Da durch geeignetes Esterifizieren der Säuren eine hohe Ausbeute an Estern erzielt werden kann und beim Destillieren derselben im Vacuum keine Zersetzungen eintreten, so gewinnt man aus künstlich hergestellten Gemischen von organischen Säuren und Salzen anorganischer Säuren die ersteren beinahe vollständig und getrennt zurück, da die Siedepunkte der Ester in manchen Fällen weit auseinander liegen. So siedet z. B. der Äpfelsäureäthylester bei 7 mm Druck bei $120-122^{\circ}$, der Bernsteinsäureäthylester bei gleichem Druck bei $93-95^{\circ}$ und der Zitronensäureester bei 7 mm bei 160° . Ich habe eine Reihe diesbezüglicher Versuche ausgeführt. So erhielt ich z. B. aus einem Gemisch von 5 g Bernsteinsäure, 5 g Äpfelsäure, 2 g Baryumchlorid und 3 g Calciumphosphat bei 7 mm Druck 2 Fraktionen, von welchen die erste zwischen $95-105^{\circ}$, die zweite zwischen $105-125^{\circ}$ überging. Die Gesamtmenge der Ester betrug 9,3 g. Es soll versucht werden, nach diesem Verfahren organische Säuren aus Pflanzenteilen zu isolieren.

Vacuum bei 40° zum Sirup eingedickt, der Verdampfungsrückstand mit der 20fachen Menge absoluten Alkohols übergossen und unter Eiskühlung Salzsäuregas eingeleitet, nach 24stündigem Stehen wurde im Vacuum bei 30° verdunstet und die Veresterung in gleicher Weise nochmals wiederholt, der nach dem Verdampfen des Alkohols verbliebene braune sirupöse, salzsäurehaltige Rückstand wurde mit Wasser und Pottasche geschüttelt und die Flüssigkeit ausgeäthert, nach dem Verdunsten des Äthers hinterblieb ein neutral reagierender schwach gefärbter Sirup. Da die Menge der so erhaltenen Ester nur eine geringe war, so konnte eine fraktionierte Destillation nicht vorgenommen werden; die Ester wurden daher mit Kalilauge verseift, die entstandenen Kalisalze mit Bleiacetat gefällt, die Bleifällung gut ausgewaschen mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die bleifreie Lösung eingedunstet.

Aus der Fällung 1 wurde auf diese Weise eine geringe Menge eines Sirups erhalten, welcher mit Bleiessig eine in verdünnter Essigsäure unlösliche Fällung gab, auf Zusatz von Barytlösung entstand eine kristallinische Ausscheidung. Die Lösung gab ferner die von Denigès angegebene Reaktion mit Mercurisulfat und Permanganatlösung auf Zitronensäure. In der Chemiker-Zeitung¹⁾ berichtet v. Spindler über folgende Reaktion auf Zitronensäure: werden einige Kubikzentimeter der zu prüfenden Lösung mit Quecksilbersulfat gekocht und zu der Flüssigkeit 2 ccm Bichromatlösung 5 : 100 hinzugefügt,²⁾ so tritt noch in sehr starker Verdünnung eine gelbe Fällung auf. Da ich nicht genügend Material zur Verfügung hatte, um eine Analyse des Baryumsalzes auszuführen, wurde auch diese Reaktion, von deren Brauchbarkeit ich mich überzeugt hatte, ausgeführt und zwar mit positivem Erfolg. Eine kleine Menge des Sirups wurde in 5 ccm Wasser gelöst, mit einigen Tropfen Mercurisulfat³⁾ versetzt und darauf einige Tropfen Bichromatlösung hinzugefügt, es entstand allmählich eine gelbe kristallinische Fällung.

¹⁾ Chemiker-Zeitung. Jahrgang 28, S. 15.

²⁾ Ebenda S. 148.

³⁾ Ich benützte hierzu eine nach Kossels Angaben bereitete Mercurisulfatlösung, wie man sie zum Ausfällen des Histidins verwendet.

Es darf auf Grund dieser Ergebnisse wohl behauptet werden, daß der Niederschlag 1 Zitronensäure einschloß; es ist allerdings auffallend, daß die Menge der Zitronensäure nur eine sehr geringe war. Bekanntlich enthält ein Liter Milch ca. 1—2 g Zitronensäure in Form von Salzen; es soll nun später noch geprüft werden, ob der mit Wasser extrahierte Rückstand auch noch unlösliche Salze organischer Säuren enthält, um zu entscheiden, ob die organischen Säuren bei dem Reifungsvorgang des Käses auch eine Veränderung erleiden.¹⁾

Aus der kristallinen Ausscheidung der Barytsalze, welche zum allergrößten Teil aus Baryumchlorid bestand, wurde nach dem beschriebenen Verfahren Bernsteinsäure isoliert. Die Ausbeute betrug 0,25 g aus 1800 g entfetteter Käsemasse.

Die Ausbeute an Bernsteinsäure war also eine sehr wechselnde. Im ersten Falle erhielt ich aus einem Kilo entfetteter Käsemasse 5 g, in einem anderen Falle aus 1800 g fettfreier Käsemasse nur 0,25 g Bernsteinsäure. Da aber die Isolierung der Bernsteinsäure nach dem im Eingang dieses Abschnittes geschilderten Verfahren mit sehr erheblichen Substanzverlusten verknüpft war, so muß die Menge der Bernsteinsäure in dem ersten untersuchten Material eine weit größere gewesen sein. Die große Menge Bernsteinsäure fand sich in dem Käse vor, aus welchem ich auch die sekundären Eiweißzeretzungsprodukte: Tetramethylendiamin, Guanidin und Pentamethylendiamin isolieren konnte. Bekanntlich entsteht aus dem Milchzucker durch bakterielle Zersetzung neben Milchsäure auch Bernsteinsäure. Aber auch die Möglichkeit, daß bei der Zersetzung des Eiweißes²⁾ unter Mitwirkung von Mikroben Bernsteinsäure gebildet werden kann, ist nicht ausgeschlossen. So werden Aminosäuren durch gewisse Bakterien in Ammoniak und Säuren gespalten. Es kann also aus Asparaginsäure in dieser Weise Bernsteinsäure entstehen. Diese Annahme scheint umsomehr

¹⁾ Die Zitronensäure kann durch Mikroben in verschiedener Weise zersetzt werden. Vergl. Die Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien. O. Emmerling.

²⁾ Es sei daran erinnert, daß beim Zersetzen von Eiweiß mit Baryt unter Druck Bernsteinsäure gebildet wird. E. Schulze, Diese Zeitschrift, Bd. IX, S. 108.

berechtigt, als bei Untersuchung der Aminosäuren des in Rede stehenden Käses nur wenig Asparaginsäure und Glutaminsäure isoliert werden konnte. Es sei ferner noch darauf hingewiesen, daß bei der Oxydation des Arginins Guanidin und Bernsteinsäure gebildet wird.¹⁾ Da dasjenige Material, welches neben dem relativ unbeständigen Guanidin, so beträchtliche Mengen Bernsteinsäure enthielt, so kann letztere wohl durch sekundäre Zersetzung aus dem Arginin hervorgegangen sein.

B. Die stickstoffhaltigen Bestandteile des Bleiessigniederschlags.

Die von den auskristallisierten Barytsalzen abgesogene Mutterlauge wurde mit Schwefelsäure sauer gemacht, die vom Baryumsulfat getrennte Flüssigkeit mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, die Fällung in bekannter Weise mit Baryt zersetzt, der Überschuß an Baryt mit Schwefelsäure quantitativ ausgefällt; die Lösung wurde sodann bei niedrigerer Temperatur eingedunstet. Nach dem Erkalten wurde die hellgelbe sirupöse Flüssigkeit tropfenweise in viel absoluten Alkohol gegossen, wobei eine amorphe weiße Fällung entstand, dieselbe wurde nach einiger Zeit von der Flüssigkeit getrennt, mit absolutem Alkohol und Äther behandelt und im Exsikkator getrocknet. Ich bezeichne diese Substanz als α -Pepton. Aus der alkoholischen Lösung wurde nach dem Abdestillieren ein sirupöser in Alkohol löslicher Rückstand erhalten; diesen bezeichne ich mit β -Pepton. Über das im Alkohol unlösliche α -Pepton sind folgende Angaben zu machen: Die Substanz ist zerfließlich, ihre wässrige Lösung wird auf Zusatz von Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Pikrinsäure und Quecksilberchlorid gefällt, die Fällungen sind in kochendem Wasser relativ leicht löslich. Tannin, Brückes Reagens und Uranacetat geben starke Fällungen. Platinchlorid, Ferrocyankalium mit Essigsäure erzeugen keine Fällungen. Die Biuretreaktion fällt positiv aus, die Schwefelbleireaktion ist sehr schwach. Beachtenswert ist das völlige Ausbleiben der Millonschen und der Tryptophanreaktion nach Hopkins.

¹⁾ F. Kutscher, Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 413.

Der Stickstoffgehalt der im Exsikkator getrockneten Substanz betrug 15,05⁰/₀.

0,3172 g Substanz gaben 42,5 ccm Gas bei 720,8 mm und 14° C
= 0,04732 g N.

Zur weiteren Charakterisierung dieses α -Peptons wurde nun diejenige Menge Stickstoff ermittelt, welche nach dem Spalten des Eiweißes in den Phosphorwolframsäureniederschlag eingeht. 0,6 g wurden mit konzentrierter Salzsäure gekocht und die Flüssigkeit nach dem Verdünnen mit Phosphorwolframsäure gefällt; in diesem Niederschlag wurden 0,3935 g Stickstoff gefunden. Demnach entfallen 6,55⁰/₀ Stickstoff der Trockensubstanz beziehungsweise 43,55⁰/₀ des Gesamtstickstoffs auf die Basen und Ammoniak. Huminsubstanzen waren bei dieser Spaltung des α -Peptons nicht entstanden.

Es wurden nun ferner 5 g dieses Peptons durch Kochen mit konzentrierter Salzsäure gespalten, aus der Zersetzungsflüssigkeit die Basen mit Phosphorwolframsäure gefällt und dieselben nach Kossels Verfahren mit Silbernitrat und Baryt getrennt; dabei wurden neben kleinen Mengen Histidin und Arginin 1,8 g Lysinchlorid erhalten, dies entspricht einer Ausbeute von 28,8⁰/₀ Lysin. Es sei bemerkt, daß nach den Untersuchungen von L. Hart¹⁾ und H. C. Haslam²⁾ einige Albumosen bei der Spaltung mit Schwefelsäure große Ausbeuten an Lysin ergaben. Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag wurde mit Baryt von den Säuren befreit und die Lösung eingedunstet, aus dieser Lösung wurden 2,1 g Aminosäuren erhalten, welchen kein Tyrosin beigemischt war. Ob dieses Pepton ein ganz einheitlicher Körper war, ist nicht sicher festgestellt, da mir nicht genügend Material zur Verfügung stand, um dasselbe aus Alkohol umzufällen. Dieses α -Pepton gleicht in mancher Beziehung dem von E. Fischer und E. Abderhalden³⁾ im Casein durch Verdauung erhaltenen Polypeptid.

¹⁾ Über die quantitative Bestimmung der Spaltungsprodukte der Eiweißkörper, Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 547.

²⁾ Quantitative Bestimmung der Hexonbasen in Heteroalbumose und Pepton, Diese Zeitschrift, Bd. XXXII, S. 54.

³⁾ Über die Verdauung des Caseins durch Pepsinsalzsäure und Pankreasferment, Diese Zeitschrift, Bd. XL, S. 219.

Das im Alkohol lösliche β -Pepton gibt mit den bekannten Eiweißfällungsmitteln starke flockige Fällungen. Die Fällung mit Phosphorwolframsäure ist in viel heißem Wasser zum Teil löslich, beim Erkalten scheiden sich kuglige Aggregate aus, an manchen dieser Aggregate war eine radialfaserige Struktur zu erkennen.¹⁾ Dieses Pepton unterscheidet sich vom α -Pepton dadurch, daß es mit Millonschem Reagens eine starke Fällung gibt, welche allmählich intensiv rot gefärbt wird, ferner wird dieses Pepton durch Platinchlorid gefällt, die Fällung ist in heißem Wasser löslich. Die Biuretreaktion und die Bleiprobe fallen positiv aus, letztere allerdings sehr schwach. Die Reaktion auf Tryptophan ist negativ.

Nach dem Abscheiden der Peptone mit Phosphorwolframsäure resultierte ein Filtrat, welches noch stickstoffhaltig war. Dieses Filtrat wurde behufs Entfernung der überschüssigen Phosphorwolframsäure mit Barythydrat alkalisch gemacht, die Flüssigkeit von der blauen Fällung abfiltriert und im Filtrat der Baryt mit Schwefelsäure quantitativ ausgefällt, aus der eingeeengten Lösung scheiden sich 1,8 g einer bei 202° schmelzenden Substanz aus, welche noch untersucht werden soll.

II. Der Phosphorwolframsäureniederschlag.

Über die Darstellung dieses Niederschlags ist folgendes anzugeben: Das Filtrat vom Bleiessigniederschlag wurde mit Schwefelsäure vom Blei befreit, die Lösung auf ca. 4 Liter eingeeengt und mit einer gesättigten Lösung von Phosphorwolframsäure gefällt, wobei anfänglich eine voluminöse Fällung entsteht; der Zusatz erfolgt solange, bis nur noch eine feinkörnige, milchige Ausscheidung entsteht, welche das Kalium einschließt. Die Fällung wird nach längerem Stehen abgesogen, mit 5%iger Schwefelsäure ausgewaschen, beim Eindunsten der Flüssigkeit scheidet sich noch eine weitere Menge eines kristallinen Wolframats aus. Die beiden Fällungen

¹⁾ M. Siegfried hat aus Leim ein Glutokyrin genanntes Pepton dargestellt, welches eine kristallinische Phosphorwolframsäureverbindung gibt. Zur Kenntnis der Hydrolyse des Eiweißes, Ber. d. mathematisch-physischen Klasse der Königl. Sächs. Gesellschaft der Wissenschaften zu Leipzig, 1903, S. 63.

wurden gesondert in bekannter Weise auf die Basen nach den Vorschriften von Kossel verarbeitet. Die bei Untersuchung dieser Niederschläge erhaltenen Ergebnisse entsprechen zum Teil den in der ersten Abhandlung angegebenen Befunden. Aus normalen sowie abnormalen Käsen konnte kein Arginin¹⁾ erhalten werden. Histidin wurde stets aufgefunden, die Quantität des aus dem Silbernitratniederschlag isolierten Histidinchlorids schwankte von 0,1—0,2% der fettfreien Käsemasse. Dem Histidinchlorid war stets eine beträchtliche Menge sirupöser Mutterlauge beigemischt, welche die Reindarstellung des Histidinchlorids außerordentlich erschwerte. Es gelang aber, nach wiederholtem Umkristallisieren Präparate zu erhalten, welche die der Theorie entsprechende Chlormenge enthielten und deren Drehungsvermögen mit den von A. Kossel für das Histidinchlorid angegebenen Werten übereinstimmte.

0,1722 g Substanz gaben 0,1177 g AgCl. Daraus berechnet sich ein Chlorgehalt von 16,90%.

Eine Lösung von 2,2492 g Substanz in 10 ccm 10%iger Salzsäure drehte im 200mm-Rohr im S. V.-Apparat 11,6° nach rechts.

Daraus berechnet sich $(\alpha)_D = + 8,9^\circ$.

Die von den ersten Mutterlaugen getrennten Kristalle gaben noch weitere Fraktionen, deren Gehalt an Chlor aber geringer war.

0,1308 g Substanz gaben 0,0873 g AgCl = 16,50% Cl

0,2140 » » » 0,1409 » » = 16,38% »

Um Aufschluß über die dem Histidin beigemischte Substanz zu erhalten, wurden sämtliche Mutterlaugen, welche beim Umkristallisieren des Histidinchlorids verschiedener Provenienz erhalten wurden, vereinigt und nach den Angaben von A. Kossel und A. Patten²⁾ bei Gegenwart von Schwefelsäure mit Mercurisulfat gefällt, aus dieser Fällung wurde noch eine ansehnliche Quantität von ganz reinem Histidin erhalten. Die vom Mercurisulfatniederschlag getrennte Flüssigkeit wurde mit Hilfe von Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit, die vom

¹⁾ Es scheint, daß das Arginin weiter zersetzt wird, die bei Untersuchung der sogenannten Lysinfraktion erhaltenen Ergebnisse scheinen darauf hinzuweisen, daß dem Lysin Diaminovaleriansäure beigemischt ist.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXVIII, S. 39.

Schwefelquecksilber getrennte Flüssigkeit wurde etwas eingengt, mit Phosphorwolframsäure ausgefällt, die aus diesem Niederschlag isolierte Basenlösung mit Schwefelsäure neutralisiert und bis zur beginnenden Kristallisation eingedunstet; die Flüssigkeit erstarrte im Exsikkator zu einer kristallinen Masse. Dieselbe wurde mit Hilfe von Baryumchlorid in das Chlorhydrat verwandelt und die Lösung desselben wieder konzentriert, aus dieser Lösung schied sich nochmals etwas Histidin aus. Es scheint also, daß unter diesen Umständen eine quantitative Abscheidung des Histidins mit Hilfe von Mercurisulfat nicht zu erreichen ist. Trotz vieler Bemühungen ist es mir bisher noch nicht gelungen, die in der Silberfällung neben Histidin auftretende Substanz in analysenreinem Zustand zu erhalten. Das Histidin bildet nur einen geringen, aber konstanten Bestandteil der basischen Stoffe des Käses. Weitaus die größte Menge der basischen Spaltungsprodukte findet sich in der «Lysinfraktion» vor, welche neben Lysin auch Pentamethylen-diamin, Tetramethylen-diamin und vielleicht auch Ornithin (Diaminovaleriansäure) enthält. Die Untersuchung dieser Fraktion ist im Gange. Der Phosphorwolframsäureniederschlag schließt auch Nucleinbasen ein. Wird nämlich die mit Salpetersäure neutralisierte Basenlösung mit Silbernitrat versetzt, so entsteht eine in Salpetersäure und auch in Ammoniak unlösliche Fällung, aus welcher eine kleine Menge einer Substanz isoliert werden konnte, welche die Murexidreaktion gab.

III. Die Aminosäuren.

Die von den Basen mit Hilfe von Phosphorwolframsäure befreite Flüssigkeit enthält nun neben Aminosäuren noch unbekannte Substanzen, anorganische Salze und wahrscheinlich auch organische Säuren. Diese Flüssigkeit wurde mit einer siedenden Barytlösung alkalisch gemacht und darauf sofort mit Schwefelsäure neutralisiert und das vorhandene Baryum aus der Lösung mit Schwefelsäure quantitativ ausgefällt, auf diese Weise gelingt eine völlige Abscheidung der überschüssigen Phosphorwolframsäure. Die Flüssigkeit wurde von der blauen Fällung abfiltriert, der Rückstand wiederholt mit Wasser aus-

gekocht, die Filtrate wurden in großen flachen Schalen bis zur beginnenden Kristallisation eingedunstet; aus diesen ersten Kristallfraktionen wurde Tyrosin isoliert. Behufs Reinigung des Tyrosins wurde die ammoniakalische Lösung des letzteren mit einigen Tropfen Bleiessig versetzt, das Filtrat mit Salpetersäure angesäuert und mit Hilfe von Schwefelwasserstoff entbleit, aus der nun mit Ammoniak neutralisierten Lösung schied sich das Tyrosin in den charakteristischen Kristallen aus. Bei Untersuchung des spezifischen Drehungsvermögens der Tyrosinpräparate verschiedener Herkunft wurden folgende Ergebnisse erhalten:

I. Eine Lösung, welche in 10 ccm 3,87%iger Salzsäure 0,3682 g Substanz enthielt, drehte im S. V.-Apparat bei 14° C. 2,7° nach links; demnach ist $(\alpha)_D = -12,6^\circ$.

II. Eine Lösung, welche in 10 ccm 3,87%iger Salzsäure 0,5116 g Substanz enthielt, drehte bei 14° C. im 200mm-Rohr 3,5° nach links; daraus berechnet sich für $(\alpha)_D = -11,7^\circ$.

III. Eine Lösung, welche in 10 ccm 3,87%iger Salzsäure 0,1521 g Substanz enthielt, drehte bei 15° C. im 200mm-Rohr 11,8° nach links; demnach ist $(\alpha)_D = -9^\circ$.

Emil Fischer¹⁾ fand für ein aus Casein dargestelltes Tyrosin $(\alpha)_D^{20} = -13,2^\circ$, für ein aus Kartoffelknollen dargestelltes Tyrosin fanden E. Schulze und E. Winterstein²⁾ $(\alpha)_D^{16} = -16,1^\circ$. Es scheint demnach, daß den aus Käse isolierten Tyrosinpräparaten racemisches Tyrosin beigemischt war. Die weitere Verarbeitung der vom Tyrosin befreiten Aminosäuren und der verschiedenen Mutterlaugen wurde bei den verschiedenen Materialien nicht genau in gleicher Weise durchgeführt. Ich beschreibe im nachstehenden nur zwei Versuche. Für den ersten Versuch verwendete ich ein Ausgangsmaterial, welches aus 4000 g fettfreiem Rückstand von einem normalen Käse und aus 3300 g fettfreiem Rückstand von einem 3 Monat alten Käse erhalten wurde. Dieses Material bestand aus 110 g Trockensubstanz und 396 g dickflüssiger Mutterlauge, dasselbe wurde mit 1½ l absolutem Alkohol aufgeköcht, die Flüssigkeit

¹⁾ Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft, Bd. 32, S. 3446.

²⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XXXV, S. 310.

nach längerem Stehen von der kristallinen Ausscheidung getrennt, erstere wieder eingedunstet und die Extraktion mit absolutem Alkohol so oft wiederholt, bis keine Ausscheidung mehr stattfand.

Es hinterblieben nun 147 g eines in Alkohol löslichen Rückstandes, welcher noch kleine Mengen Aminosäuren einschloß. Beim Verestern von 50 g dieses Rückstandes wurden noch ca. 9 g Aminosäuren isoliert.

Die Menge der bei 60° getrockneten, zuvor mit absolutem Alkohol ausgewaschenen kristallinen Ausscheidungen betrug 246 g, dieselben wurden nun nach E. Fischers Angaben verestert. Die Substanz wurde mit ca. 2 l absolutem Alkohol übergossen und unter Kühlung Salzsäuregas bis zur Sättigung eingeleitet, wobei die Aminosäuren in Lösung gingen, es hinterblieb ein zum größten Teil aus anorganischen Salzen bestehender schmieriger Rückstand; nach 24stündigem Stehen wurde die Flüssigkeit von den anorganischen Salzen abgegossen, das Unlösliche mit absolutem Alkohol verrieben, die Flüssigkeit abgesogen und der Rückstand mit Alkohol ausgewaschen. Die Menge der ausgeschiedenen Salze betrug 44 g, es wurden somit 202 g Aminosäuren verestert. Die salzsaure Lösung wurde nun zunächst in flachen Schalen bei 40° eingeeengt und sodann bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur im Vacuum zum Sirup eingedickt und die Veresterung in gleicher Weise noch zweimal wiederholt. Es resultierte nun ein hellbraun gefärbter Sirup, aus welchem die Aminosäureester mit Hilfe von Natronlauge, Pottasche und Äther isoliert wurden. Bei der Destillation derselben im Vacuum wurden folgende Fraktionen erhalten:

Fraktion	Druck	Temperatur	Gewicht
I	8,5 mm	15— 38°	3,05
II	7 »	38— 60°	38,5
III	7 »	60— 78°	40,6
IV	6 »	78—100°	15,7
V	6 »	100—120°	6
VI	6 »	120—140°	14,1
VII	6 »	140—165°	7,1
VIII	6 »	165—180°	12,6

Im Fraktionierkolben verblieben 6 g Rückstand. Die Ge-

samtausbeute an Aminosäureestern betrug somit 142,66 g aus 202 g Ausgangsmaterial.

Fraktion I.

Aus dieser Fraktion wurden 0,2 g Glykokoll¹⁾ isoliert. Die Hauptmenge dieser Fraktion bestand aus Alanin.

Das Chlorhydrat des Glykokollesters schmolz bei 143°. Das Alanin wurde durch eine Stickstoffbestimmung identifiziert.

0,21 g Substanz gaben 30,3 ccm Gas bei 16° C. und 722 mm = 0,03352 g N = 15,94% N. Berechnet für $C_3H_7NO_2$: 15,87%.

Fraktion II.

Die aus dieser Fraktion dargestellten Aminosäuren wurden in drei Kristallfraktionen zerlegt, die leicht lösliche wurde in das Kupfersalz verwandelt und das in der Hitze ausgeschiedene Leucinkupfer von der blauen Lösung getrennt. Es resultierte nach dem Konzentrieren ein in blauen Blättchen kristallisierendes Salz, welches in die freie Säure zurückverwandelt wurde. Diese Aminosäure erwies sich als reine Aminovaleriansäure.

0,1282 g Substanz gaben 14 ccm Gas bei 13,5° C. und 720 mm = 0,01563 g N;

0,211 g Substanz gaben 0,3960 g CO ₂ und 0,1804 g H ₂ O	
Berechnet für C ₅ H ₁₁ O ₂ N	Gefunden
51,28% C, 9,40% H, 11,98% N.	51,18% C, 9,49% H, 12,19% N.

Das Kupfersalz der Säure besaß den richtigen Wert an Kupfer.

0,0810 g Substanz gaben 0,0219 g CuO = 21,59% Cu
Berechnet 21,49% Cu.

Das spezifische Drehungsvermögen betrug in 20%iger Salzsäure + 27,2°.

0,5435 g Substanz in 10 ccm 20%iger Salzsäure gelöst drehten im 200mm-Rohr im S. V.-Apparat 8,6° nach rechts.

Fraktion III und IV.

Aus Fraktion III wurde noch ein Kupfersalz isoliert, dessen Kupfergehalt auf Aminovaleriansäure stimmte.

¹⁾ Nach E. Fischer (Diese Zeitschrift, Bd. XXXIII, S. 157) scheint das Caseinmolekül keinen Glykokollkomplex zu enthalten. Es ist denkbar, daß das gefundene Glykokoll dem Laktalbumin entstammt, das in den Molken der frischen Käsemasse enthalten ist. Eine Untersuchung dieses Eiweißkörpers hat Herr E. Strickler zum Teil durchgeführt.

0,0800 g Substanz gaben 0,0215 g CuO = 21,39% Cu.

Die aus dem Kupfersalz isolierte Säure wurde in zwei Kristallfraktionen zerlegt. Die erste besaß einen Stickstoffgehalt von 12,35%, die zweite von 12,62%.

- I. 0,1276 g Substanz gaben 14 ccm Gas bei 718,1 mm und 13,5° C.
 II. 0,1336 » » » 14,95 » » » 719,3 » » 13,5° »

Die Fraktion III schloß somit noch Aminovaleriansäure ein, der Hauptanteil aber war Leucin.

Die verbliebenen bei 100° getrockneten Aminosäuren der beiden Fraktionen wurden mit absolutem Alkohol ausgekocht und aus den alkoholischen Extrakten die Pyrrolidinkarbonsäure isoliert. Erhalten wurden 0,55 g Kupfersalz der racemischen α -Pyrrolidinkarbonsäure.

0,215 g Substanz verloren bei 110° 0,0255 g Wasser und gaben 0,0520 g CuO.

Berechnet für $C_{10}H_{16}O_4N_2Cu \cdot 2H_2O$	Gefunden
10,99% H_2O , 21,81% Cu.	10,91% H_2O , 21,69% Cu. ¹⁾

Aus dem im Alkohol löslichen Anteil der Kupfersalze wurden 0,8 g eines Sirups erhalten, der sich leicht in absolutem Alkohol auflöste und aus dieser Lösung auf Zusatz von Äther als Sirup gefällt wurde. Da alle Versuche, diese Substanz kristallisiert zu erhalten, fehlschlagen, wurde sie mit Phenylcyanat gekuppelt, die dadurch gewonnene klebrige, schwach rosa gefärbte Substanz durch Erhitzen mit Salzsäure in das Hydantoinderivat verwandelt, welches nach einmaligem Umkristallisieren aus Wasser bei 140° schmolz. Da der Schmelzpunkt etwas zu niedrig war, wurde noch eine Stickstoffbestimmung ausgeführt.

0,1210 g Substanz gaben 14,3 ccm Gas bei 16° und 722 mm = 0,01582 g Stickstoff.

Berechnet für $C_{12}H_{12}O_2N_2$	Gefunden
12,96% N.	13,07% N.

Die Fraktionen III und IV schlossen somit kleine Mengen Pyrrolidinkarbonsäure ein.

Fraktion V, VI, VII.

Aus diesen drei Fraktionen wurden insgesamt 9 g Phenylalanin isoliert. Ferner wurden daraus 0,5 g Glutamin-

¹⁾ Der Kupfergehalt bezieht sich auf das wasserfreie Salz.

säure und 1,7 g Asparaginsäure gewonnen. Nach dem Auskristallisieren der Asparaginsäure hinterblieben 2,5 g Mutterlauge, welche wahrscheinlich das Serin einschlossen.

Fraktion III und VIII.

Beim Einstellen dieser beiden Fraktionen in ein Kohlen säureäthergemisch erstarrten die dickflüssigen Fraktionen zu einer hornartigen Masse, welche bei allmählichem Steigern der Temperatur kristallinisch wurden. Bei Fraktion VII resultierte daneben eine Flüssigkeit, welche durch Absaugen von den Kristallen befreit wurde; dieselbe lieferte noch etwas Phenylalanin. Das Phenylalanin wurde durch eine Kupferbestimmung identifiziert und durch sein sonstiges charakteristisches Verhalten erkannt. Das Kupfersalz enthielt 16,12% Kupfer. Berechnet 16,2%. Das Präparat gab bei der Oxydation mit Bichromat und Schwefelsäure Benzoesäure, bei der Oxydation trat der charakteristische Geruch nach Phenylacetaldehyd auf. Eine Lösung der Substanz in verdünnter Schwefelsäure gab auf Zusatz von Phosphorwolframsäurelösung eine Ausscheidung öliger Tropfen, die allmählich zu großen blättrigen Kristallen erstarrten.

Für den zweiten Veresterungsversuch verwendete ich ein aus verschiedenen Käsen gewonnenes Ausgangsmaterial, welches in ähnlicher Weise wie beim ersten Versuch mit Alkohol extrahiert worden war. Aus den alkoholischen Lösungen isolierte ich nach den neuerdings von E. Fischer und E. Abderhalden¹⁾ angegebenen Verfahren Pyrrolidinkarbonsäure,²⁾ die im Alkohol unlöslichen Aminosäuren wurden verestert.

Bei der Destillation der Ester wurden folgende Fraktionen erhalten:

Fraktion	Druck	Temperatur	Gewicht
I	14 mm	60— 75°	6,9
II	12 »	75— 85°	54,1
III	12 »	85— 97°	11
IV	10—12 »	97—115°	3,8

¹⁾ Über die Verdauung des Caseins durch Pepsinsäure und Pankreasfermente E. Fischer und E. Abderhalden, Diese Zeitschr., Bd. XL, S. 216.

²⁾ Siehe folgende Seite.

Fraktion	Druck	Temperatur	Gewicht
V	10—12 mm	115—125°	3,4
VI	10—12 »	125—135°	5,1
VII	10 »	135—148°	2,3
VIII	10 »	148—165°	4,5
IX	10 »	165—170°	3,2
X	10 »	170—180°	2,1

Die zweite Fraktion wurde nochmals bei 12 mm rektifiziert und in drei weitere Fraktionen zerlegt. Die Hauptmenge 45 g gingen bei 83° über.

Aus den einzelnen Fraktionen konnten Aminovaleriansäure, Leucin, Phenylalanin, Glutaminsäure und Asparaginsäure isoliert werden. Das bei diesem Versuche erhaltene Ergebnis weicht somit von den Resultaten des ersten Versuches insofern ab, als Glykokoll und Alanin nicht aufgefunden werden konnten. Ferner ist beachtenswert, daß hier die Menge Phenylalanin nur 1,8 g betrug, also wesentlich weniger als im ersten Falle. Die in verschiedenen Käsen auftretenden Aminosäuren weisen also nicht nur in qualitativer Zusammensetzung, sondern auch in bezug auf die Quantitäten beträchtliche Differenzen auf.

Um aus den alkohollöslichen Anteilen die Pyrrolidincarbon-säure zu isolieren, verfuhr ich wie folgt: Der Alkohol wurde abgedunstet und der Rückstand im Vacuum eingedunstet, bis keine Gewichtsabnahme mehr stattfand, dieser Rückstand wurde nun mit viel absolutem Alkohol lange Zeit unter Null Grad stehen gelassen, wobei sich 47 g Substanz ausschieden. Die von dieser Ausscheidung getrennte Lösung wurde wieder eingedunstet, der Verdampfungsrückstand in Wasser gelöst, mit Quecksilbersulfat gefällt, aus dem Filtrat wurde das Quecksilber mit Schwefelwasserstoff und die Schwefelsäure mit Baryt quantitativ entfernt, die konzentrierte Lösung wurde mit Kupferhydroxyd gekocht und das grüngefärbte Gemisch der Kupfersalze mit Alkohol ausgezogen, wobei eine bedeutende Menge Sirup zurückblieb; die Isolierung der racemischen Pyrrolidinkarbonsäure aus diesem Gemisch von Kupfersalzen ist mir nicht gelungen. Das in Alkohol lösliche Kupfersalz lieferte 0,5 g Sirup, welcher mit Phenylcyanat das bei 142° schmelzende, für die Pyrrolidinkarbonsäure charakteristische Hydan-

toin lieferte.¹⁾ Die mit Quecksilbersulfat erhaltene Fällung gab nach dem Zersetzen mit Schwefelwasserstoff eine Lösung, welche die Tryptophanreaktion sehr schön zeigte.

Eine ausführliche Publikation mit einer möglichst vollständigen Zusammenstellung der auf die Chemie des Käses bezüglichen Arbeiten soll, nach Beendigung der noch im Gange befindlichen Untersuchungen über die verschiedenen Käsesorten, an anderer Stelle erfolgen.²⁾

Rückblick auf die Resultate.

Im Emmentaler Käse findet sich eine Reihe von Stickstoffverbindungen vor, die man als primäre Spaltungsprodukte der in der frischen Käsemasse enthaltenen Eiweißstoffe ansehen kann, nämlich: Glykokoll, Alanin, Aminovaleriansäure, Leucin, Pyrrolidinkarbonsäure, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Tryptophan, Histidin und Lysin, ob Oxyaminosäuren vorhanden sind, ist noch nicht festgestellt. Die Quantität, in der die einzelnen Spaltungsprodukte auftreten, scheint eine wechselnde zu sein. Neben den genannten Stoffen finden sich aber auch einfachere Stickstoffverbindungen, nämlich Tetramethylendiamin, Guanidin, Pentamethylendiamin und Ammoniak vor. Man darf annehmen, daß Tetramethylendiamin und Guanidin aus dem Arginin, Pentamethylendiamin aus dem Lysin durch Spaltung hervorgegangen sind und daß diese Spaltung durch die im Käse vorhandenen Mikroben bewirkt worden ist. Neben den kristallinen Spaltungsprodukten treten auch Peptone (Polypeptide?) auf, von denen zwei von mir dargestellt und charakterisiert werden konnten. Außerdem konnten auch Nucleinbasen und Cholin im gereiften Käse nachgewiesen werden. Als stickstofffreie Bestandteile des Käses nenne ich noch Bernsteinsäure und Zitronensäure; daß daneben auch Milchsäure sich vorfindet, ist schon länger bekannt.

¹⁾ Es gelang somit aus dem Rohgemisch der Aminosäuren die Pyrrolidinkarbonsäure ohne Veresterung zu isolieren.

²⁾ Die Fortführung dieser Untersuchung ist durch eine vom schweizerischen Departement des Innern in dankenswerter Weise gewährte Subvention ermöglicht worden.