

Über die Bestandteile des Emmentalerkäses.

V. Mitteilung.

Von

E. Winterstein.

(Aus dem agrikulturehemischen Laboratorium der E. T. H. in Zürich.)
(Der Redaktion zugegangen am 2. Februar 1919.)

In den früheren in dieser Zeitschrift veröffentlichten Arbeiten¹⁾ wurde gezeigt, daß bei dem sogenannten Reifungsvorgang des Käses die Eiweißkörper der Milch das Parakasein und das Albumin etc. in gleicher Weise gespalten werden, wie durch Fermente oder Bakterien. Es konnten aus normalen Käsesorten alle beschriebenen Eiweißspaltungsprodukte isoliert werden, mit Ausnahme jedoch des Arginins, welches in keinem Emmentaler Käse aufgefunden werden konnte. In Fortsetzung dieser Untersuchung haben wir uns auch mit den Bestandteilen von verschiedenen Sorten Magerkäse beschäftigt. Auch in diesen fanden wir kein Arginin, nur einmal in einem für unsere Untersuchungszwecke speziell hergestellten Magerkäse, der 7 Wochen alt war, konnte eine kleine Menge der genannten Base aufgefunden werden. Da auch ein normaler Käse, entgegen allen Behauptungen, nur kleine Mengen von Ammonsalzen enthält, welche aus dem Arginin über den Harnstoff entstehen können, so mußte man sich fragen, wie das Arginin bei der Käsereifung weiter zerfällt. Die neben den kristallinen Spaltungsprodukten enthaltenen Eiweißkörper: Polypeptide, Peptone, Tyrokasein und Tyroalbumin, wie wir sie genannt haben, enthalten nach unseren Untersuchungen nicht mehr

¹⁾ Diese Zeitschrift, Bd. 36, S. 28 (1902), Bd. 41, S. 485 (1904), Bd. 47, S. 28 (1906), Bd. 59, S. 138 (1909).

Arginin im Molekül, wie das Kasein oder Parakasein. Aus dem Arginin können durch fermentative Wirkung bekanntlich entstehen: Agmatin, 1-4-Diaminobutan, Ornithin, Harnstoff und Ammoniak. Es ist uns nun gelungen, im Magerkäse Harnstoff und Ornithin nachzuweisen. In einem normalen Emmentalerkäse wurde 1-4-Diaminobutan bisher noch nie aufgefunden, auch nicht beim Verarbeiten von sehr großen Mengen. Es scheint auch in einem sachgemäß fabrizierten Magerkäse nicht vorzukommen, denn in einer aus 3 kg Magerkäse gewonnenen sogenannten Lysinfraktion wurde diese Base nicht aufgefunden. Die Ergebnisse der Untersuchung mit Magerkäse sollen später ausführlich mitgeteilt werden. Es sei aber hier schon bemerkt, daß die von uns untersuchten Sorten von Magerkäsen bedeutend weniger kristallinische Spaltungsprodukte enthielten als die früher von uns untersuchten Fettkäse. Die Ergebnisse der qualitativen Prüfung auf kristallinische Spaltungsprodukte stimmte auch mit den Resultaten verschiedener quantitativen Analysen überein. Während in einem Fettkäse ca. 3% Stickstoff auf nichteiweißartige Stickstoffverbindung entfallen, betrug die Menge dieses Stickstoffs im Magerkäse in manchen Fällen weniger als 1%.

Im folgenden soll nun kurz mitgeteilt werden, wie die Darstellung von Harnstoff und Ornithin gelang.

Wir verwendeten für diese Untersuchung einen sogenannten Zentrifugen-Magerkäse, dessen Wassergehalt 14,3% betrug. Durch Extraktion des zuvor im Vakuumexsikkator und dann im Trockenschrank vollständig getrockneten Käses mit Äther wurden 4,7% Ätherextrakt erhalten. R. Fosse¹⁾ hat gezeigt, daß Xanthydrol sich mit Harnstoff bei Gegenwart von Eisessig zu dem sogenannten Harnstoffdixanthy, einer im Wasser nahezu unlöslichen, in anderen Lösungsmitteln nur schwer löslichen, bei 261° C. schmelzenden Verbindung, kondensiert.

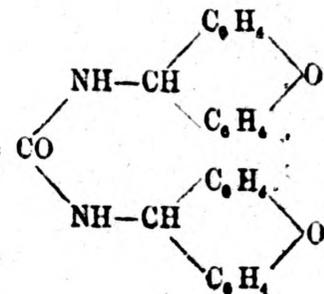
Untersuchungen dieses Verfassers ergaben, daß nur wenige andere Stickstoffverbindungen mit Xanthydrol reagieren.

¹⁾ Ann. de l'institut Pasteur. Vol. 30, page 525 (1916).

Wir benutzten das Xanthydrol zur Abscheidung des Harnstoffes; da aber der Käse verschiedene Stickstoffverbindungen enthält, deren Verhalten zu Xanthydrol noch nicht untersucht worden ist, entfernten wir diese zuvor, so gut als möglich. Der von der Rinde befreite Magerkäse wurde fein zerrieben und an der Luft gut getrocknet. 2,4 kg dieser trockenen Masse wurden mit etwa der fünffachen Menge 95%igem Alkohol in der Siedehitze extrahiert, der alkoholische Extrakt zum größten Teil vom Alkohol befreit und der sirupöse Rückstand in viel Wasser gegossen, wobei sich Kaseoglutin ausschied. Die davon getrennte wässrige Lösung wurde mit Petroläther ausgeschüttelt, mit Schwefelsäure schwach angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Um die Ausscheidung zu beschleunigen, wurde 2 Stunden gerührt. Die Wolframate wurden für sich untersucht. Im Filtrat davon wurden die Säuren mit Bariumhydroxyd entfernt, die schwach bläulich gefärbte Lösung mit Essigsäure neutralisiert und eine konzentrierte Lösung von Merkurinitrat hinzugefügt. Es entstand eine weiße Fällung. Diese wurde auf dem Filter ausgewaschen, zwischen Fließpapier getrocknet, mit Wasser verrieben und mit Schwefelwasserstoff zersetzt, Alkohol hinzugefügt und vom Quecksilbersulfid abfiltriert. Die erhaltene grünlich gefärbte konzentrierte Lösung wurde mit 3 Volumina Eisessig sauer gemacht und mit einer 10%igen Lösung von Xanthydrol in Methylalkohol versetzt. Nach einiger Zeit schieden sich feine Nadeln aus. Sie wurden nach 24stündigem Stehen von der Flüssigkeit getrennt und mit Methylalkohol wiederholt ausgewaschen. Die Kristalle wurden nun aus kochendem Pyridin umkristallisiert. Sie zersetzten sich bei raschem Erhitzen bei 258—259° C. Eine N-Bestimmung ergab folgende Zahlen:

Gefunden
N 6,71%

Berechnet für $C_{27}H_{20}N_2O_3$ =
N 6,66%



Die Zahlen stimmen befriedigend auf Harnstoffdixanthyl. Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß der von uns untersuchte Magerkäse Harnstoff enthielt und daß dieser höchst wahrscheinlich aus dem Arginin durch fermentative Spaltung entstanden war¹⁾.

O. Winterstein²⁾ hat das Verfahren von R. Fosse nachgeprüft. Dieses Verfahren dürfte sich vielleicht auch zur Harnstoffbestimmung in Molkereiprodukten eignen. Nach den Angaben der genannten Autoren werden durch Xanthydrol in saurer Lösung nicht gefällt: 1. Ammoniak; Methyl-, Di-, Trimethylamin; 2. Guanidin, Kreatin, Kreatinin; 3. Arginin; 4. Glykokoll, Hippursäure, Alanin, Leucin, Asparagin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Tyrosin, Tryptophan, Harnsäure, Xanthin; 5. Hühner- und Bluteiweiß, Gelatine, Fibrin, Wittepepton; 6. Glycerin, Erythrit, Mannit, Glukose, Laevulose, Saccharose, Dextrine; 7. Ameisen-, Essig-, Propion-, Butter-, Valeriansäure; 8. Alkoholsäuren: Glykolsäure, Milchsäure, Zitronensäure, Weinsäure; 9. Zweibasische Säuren: Oxalsäure, Bernsteinsäure; 10. Ammoniumkarbonat, Ammoniumoxalat, Ammoniumchlorid, Natriumammoniumphosphat, Ammoniumsulfat, Ammoniumnitrit.

Hingegen entstehen Verbindungen mit Pyrrol, Indol und Skatol. Es soll daher geprüft werden, ob man Harnstoff nach dieser Methode in Molkereiprodukten rasch und sicher bestimmen kann.

Nachweis des Ornithins.

Von dem gleichen Magerkäse³⁾ wurden 4 kg zuvor mit Äther extrahiert und dann mit 10 Liter warmem Wasser behandelt, die Flüssigkeit abgesogen und mit lauwarmem Wasser nachgewaschen. Im Filtrat wurden die Eiweißkörper mit Blei-

¹⁾ Die Milch soll auch kleine Mengen freien Harnstoff enthalten, in einer Milchprobe fanden wir aber keinen vor, es muß daher die Frage später nochmals geprüft werden.

²⁾ Über Harnstoffbestimmungen mit Xanthydrol. Dissertation Zürich 1918.

³⁾ Das Untersuchungsmaterial hatten wir uns kurz nach Ausbruch des Krieges verschafft und für die Untersuchungen vorbereitet und unter Alkohol oder gut verschlossen aufbewahrt.

essig ausgefällt. Das Filtrat von der Bleifällung wurde mittels Schwefelwasserstoff vom Blei befreit und auf ca. 3 Liter eingedunstet. Nun wurden 80 ccm konzentrierte Schwefelsäure hinzugefügt und mit Phosphorwolframsäure versetzt, bis nur noch eine Trübung eintrat. Die ausgewaschene Fällung wurde in bekannter Weise mit Baryt zersetzt und das Basengemisch mit einem Überschuß von Silbernitrat und Baryt versetzt. Das vom Silberniederschlag getrennte braune Filtrat wurde mit Salzsäure schwach angesäuert, vom Chlorsilber abfiltriert und die Flüssigkeit zunächst wieder etwas konzentriert. Nun wurde die Lösung bei Gegenwart von Natriumhydroxyd mit Benzoylchlorid benzoiliert. Die ausgeschiedene schmierige Masse wurde mit Salzsäure zersetzt, die Benzoesäure durch Ausäthern entfernt, die Salzsäure durch wiederholtes Eindunsten und zuletzt durch Aufbewahren über Natronkalk möglichst entfernt. Die Chloride wurden mit Silbersulfat in die Sulfate und die letzteren mit Baryt in die freien Basen verwandelt. Die erhaltenen Carbonate wurden nach den Angaben von A. Kossel und F. Weiß¹⁾ mit alkoholischer Pikrinsäure gefällt und das Ornithinpikrat vom Lysinpikrat nach den genannten Autoren²⁾ getrennt. Das Pikrat wurde mit Salzsäure zerlegt und das Platindoppelsalz hergestellt. Es besaß einen Gehalt von 35,73% Platin und 39,12% Cl, berechnet für $C_5H_{12}N_2O_2H_2PtCl_6$ — 35,9% Pt und 39,24% Cl. Bei den früheren Untersuchungen über die basischen Bestandteile des Emmentalerkäses hatten wir schon beobachtet, daß aus der mit Phosphorwolframsäure versetzten Lösung sich sofort eine starke Fällung ausscheidet. Im Filtrat davon erfolgte dann eine weitere Ausscheidung, die bei der Untersuchung hauptsächlich der Lysinfraktion angehörte. Nach den Angaben der zuletzt genannten Autoren dürfte die von uns erhaltene Fällung zum Teil aus Ornithinphosphorwolframat bestehen. Diese Beobachtung im Zusammenhang mit den Angaben von Kossel und Weiß³⁾ und dem eben

¹⁾ A. Kossel und F. Weiß. Diese Zeitschrift, Bd. 68, S. 160 (1910).

²⁾ loc. cit.

³⁾ loc. cit.

geschilderten Befund machen es wahrscheinlich, daß auch der normale Fettkäse Ornithin enthält¹⁾. Neben den beiden Spaltungsprodukten scheint auch Agmatin vorzukommen. Außerdem enthält der Magerkäse Spuren von Paraoxyphenyläthylamin. Über das Vorkommen dieser Base soll später berichtet werden.

¹⁾ Schon früher wurde die Beobachtung gemacht, daß das Pikratgemisch der Lysinfraktion sich in zwei Anteile durch Umkristallisieren trennen ließ.